

博士學位論文

柑橘 검은점무늬병의 病原, 發生生態
및 藥劑防除에 관한 研究

Studies on Etiology, Ecology and Chemical Control of
Citrus Melanose Caused by *Diaporthe citri*



權 赫 謀

1996 年 12 月

柑橘 검은점무늬병의 病原, 發生生態 및 藥劑防除에 관한 研究

指導教授 韓 海 龍

權 赫 謀

이 論文을 農學博士 學位論文으로 提出함

1996 年 12 月

權赫謀의 農學博士 學位論文을 認准함



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

審査委員長

白 子 勳

委 員

김 중 榮

委 員

高 榮 基

委 員

문 주 경

委 員

한 해 0

濟州大學校 大學院

1996 年 12 月

**Studies on Etiology, Ecology and Chemical Control
of Citrus Melanose Caused by *Diaporthe citri***

Hyeog-Mo Kwon

(Supervised by Professor Hae-Ryong Han)

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF DOCTOR
OF AGRICULTURE

DEPARTMENT OF HORTICULTURE
GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

1996. 12

目 次

Summary	1
I. 緒 言	4
II. 研 究 史	6
III. 材 料 및 方 法	14
IV. 結 果 및 考 察	22
1. 病原菌의 分離同定 및 生理的 性質	22
1) 病原菌의 分離同定	22
2) 病原菌의 病原性 檢定	26
3) 病原菌의 遺傳的 變異 調查	27
4) 病原菌의 生育에 미치는 要因	34
2. 發病生態	39
1) 柄胞子의 發生 및 검은점무늬병 發生消長	39
2) 發病에 대한 濕潤時間 및 溫度의 影響	42
3) 感染時期 및 病症	45
4) 品種間 검은점무늬병 發病比較	47
3. 藥劑防除	52
1) 防除時期	52
2) 藥劑撒布量 및 展着劑 加用效果	53
3) 高濃度 藥劑 撒布 效果	54
4) 검은점무늬병 省力 防除 效果	55
V. 綜 合 考 察	60
VI. 摘 要	66
VII. 引 用 文 獻	69

柑橘 검은점무늬병의 病原, 發生生態 및 藥劑防除에 關한 研究

權 赫 謀

(濟州大學校 大學院)

Studies on Etiology, Ecology and Chemical Control of Citrus Melanose Caused by *Diaporthe citri*

Hyeog-Mo Kwon

(Graduate School, Cheju National University)

Summary

In order to elucidate the cause and control method of citrus melanose, the causal pathogen was isolated and identified, the pathogenicity, genetic variation and growth physiology of the pathogen were investigated, and the ecology and chemical control of the disease were studied. The results obtained were summarized as follows:

1. Identification and physiological properties of the pathogen

1-1. The pathogen isolated from dead twigs of citrus trees was identified as an imperfect fungus, *Phomopsis citri*, known to be the anamorph of *Diaporthe citri* and its pathogenicity was confirmed by the inoculation tests.

1-2. The size of pycnidia of *D. citri* was 112.2~614.4 μ m in diameter and that of α -spore of phialospore was 4.7~8.7 \times 1.9~3.5 μ m.

1-3. The 18 isolates tested were classified into 4 groups by cluster analysis of genetic similarity of RAPD.

1-4. The pathogen grew vigorously on PDA at pH 6.0~6.5 and the optimal temperature for the vegetative growth was 26°C.

1-5. Mycelial growth was best in the medium containing sucrose, starch or maltose as a carbon source and yeast extract or peptone as a nitrogen source.

2. Ecology of citrus melanose

2-1. Development of melanose was observed from the mid June to the late September with peaks in July and August, but this pattern varied with the area and year investigated.

2-2. Incidence of melanose had a significant correlation with rainfall, especially the amount of precipitation.

2-3. The conidia of *P. citri* germinated in 5 hr of wet condition at 23~26°C and disease development was observed in 10 hr with severity in prolonged period of wetness.

2-4. Melanose occurred throughout the whole growth period of fruit from the beginning of June to September, with the peak from late June to late July.

2-5. Symptoms of citrus melanose appeared as black spot, mud-caked and tear-stain patterns. Black spot pattern was the most frequent type, but mud-caked and tear-stain patterns were caused only by high density of inocula in rainfall.

2-6. The degree of disease severity was in the order of late maturing citrus species, early-maturing Satsuma mandarin, and common Satsuma mandarin. Significant differences were not found among cultivars of the same group.

3. Chemical control

3-1. The suitable period of chemical control for melanose was from the beginning of June to August and the most effective spray schedule for the control was the application at every 150 mm of precipitation accumulated. The chemical spray of 6 times at 15-day interval effectively controlled the disease, resulting in the degree of

disease severity of 10.2.

3-2. Proper volume of dilute chemical for spray was estimated to be 600 l /10 a in adult trees, but the volume could be reduced to 400~500 l /10 a by adding spreader.

3-3. In order to decrease the number of chemical sprays, the high concentration of fungicide could not be justified.

3-4. The labour required to spray with power sprayer, speed sprayer and sprinkler sprayings in the tree-thinned orchard was 59, 19 and 5%, respectively, compared with that with power sprayer in the orchard of dense planting.

3-5. Power sprayer in the tree-thinned orchard resulted in the highest level of chemical deposit to leaf of 82.2% throughout the canopy, while sprinkler in the orchard of dense planting the lowest level of 43.3% with little deposit in the lower part of canopy.

3-6. Power sprayer was most effective for the control of melanose with the degree of disease severity of 13.9 in the tree-thinned orchard. Degrees of disease severity in the orchard sprayed by sprinkler or speed-sprayer were 21.8 and 29.6, respectively. Sprinkler spray in the orchard of dense planting showed the least effectiveness with 32.3 of degree of disease severity. Similar trends were observed throughout the canopy levels.

3-7. Sprinkler with the upper and lower nozzles was very effective to increase the deposit of chemicals and to decrease the disease development.

3-8. The speed sprayer was more effective in 1/2 tree-thinned orchard than in the 1/4 tree-thinned, with more chemical deposit and reduced disease development.

I. 緒 言

濟州道 柑橘産業은 1968年度 以後부터 飛躍的으로 成長하여 1995年 現在 21,605ha의 재배면적에서 614,770톤이 生産되어(제주도, 1996) 우리나라 第2의 果樹로 浮上되었고 濟州道 農業所得의 60% 以上을 차지하는 基幹産業으로 發展되었다. 그러나 最近 WTO 出帆에 따른 國際 農業環境의 急激한 變化로 매우 어려운 실정에 처해 있기 때문에 濟州柑橘도 그 동안의 量的 生産에서 脫皮하여 高品質의 柑橘 生産으로 國際 競爭力을 提高시켜야 할 것으로 생각된다.

따라서 高品質 果實生産을 위해서는 高糖度系 品種育成 및 栽培技術의 開發도 必要하나 病害蟲의 防除技術 開發도 重要하다고 볼 수 있다.

最近 濟州道の 柑橘園에 發生하는 病害의 種類는 約 35種 程度이나 그 중 검은점무늬병(黑點病), 더덩이병, 潰瘍病, 바이러스병 등이 防除上 問題가 되는 主要 病害이며 前記 3種을 3大 病害라 할 수 있다.

검은점무늬병은 子囊菌에 의해 발생되는 病으로 잎, 가지, 果實 등에 發生하여 被害를 주지만 가장 問題가 되는 것은 果實의 被害이다. 특히 果實의 生育期인 6월부터 8월까지 降雨가 많은 濟州道에서는 검은점무늬병의 發病으로 果實의 外觀을 顯著하게 損傷시켜 商品性을 低下시키는 등 被害가 크다. 한편 나무의 主幹에 發病되고 있는 樹脂病, 그리고 貯藏後期에 發生이 많이 되고 있는 軸腐病도 마찬가지로 검은점무늬병균에 의해 惹起되는 病害이다(Bahgat, 1928, 安部, 1938; 牛山, 1979). 이러한 검은점무늬병 發生이 제주도에서 確認된 것은 1971年度の 防除 實態調査에서 記錄된 것이 처음이지만(백운하 등, 1974) 在來 柑橘이 先史時代부터 自生 또는 栽培되어 왔고 또한 1910年 日本으로부터 溫州蜜柑이 처음 導入되었으며 1960年代부터 經濟的 價値가 認定되어 많은 苗木이 導入된 點을 勘案할 때 오래전부터 發生되었던 것으로 推定된다. 그 以後 柑橘栽培가 장려되기 始作했던 60年代 後半으로부터 70年代 後半까지만 하여도 검은점

무늬병은 더듬이병, 潰瘍病에 비하여 防除의 重要度가 그리 크지 않았으나 80年代에 들어서면서부터 栽培面積 增加와 나무의 成木化, 密植化 등으로 現在는 重要度가 가장 큰 病害로 擡頭되고 있다.

검은점무늬병은 一般的으로 年 3, 4回 程度의 藥劑撒布에 의한 防除가 이루어지고 있으나 年度別, 地域別로 降雨量, 溫度 等 栽培環境의 變化로 인하여 感染時期와 發病程度에 差異가 생기기 때문에 防除效果도 不安定하다고 볼 수 있다. 더욱이 農村 勞動力의 不足으로 검은점무늬병의 傳染源이 되는 枯死枝 除去를 疏忽히 하거나 剪定가지의 園內 放置 等은 검은점무늬병 發生을 助長시키고 있는 實情이다.

지금까지 園內에서의 검은점무늬병에 대한 研究는 아주 微微한 狀態로 發生消長 調査나 검은점무늬병 防除藥劑의 選拔 程度에 지나지 않아 農家 指導에 어려움이 많으며 柑橘栽培 農家에서도 검은점무늬병 防除를 農藥에만 依存하고 있기 때문에 藥劑選定이나 撒布時期의 不適正으로 防除效果가 떨어지고 있어 早速히 防除適期, 防除回數, 省力防除 等の 技術開發이 이루어져야 하겠다.

本 研究의 目的은 검은점무늬병의 生理生態 및 防除法을 究明함으로써 效率的인 防除體系를 確立하는 데 있다. 검은점무늬병을 일으키는 病原菌을 分離同定하였고 RAPD에 의한 病原菌의 遺傳的 變異 分析, 菌의 生育에 미치는 營養源 및 環境 要因을 調査하였으며 검은점무늬병의 發生消長, 感染時期 및 症狀, 品種別 抵抗性 差異 等を 究明하였다. 아울러 藥劑 防除時期 및 回數 그리고 省力防除 方法에 대하여 檢討하였다.

II. 研 究 史

1. 病原菌의 分離同定, 病原性 및 生理的 性質

Fawcett(1911)는 stem-end rot으로 부터 病原菌을 分離하여 *Phomopsis citri* Fawcett로 命名하였으나, Wolf(1926)가 地上에 떨어져 있는 枯死枝로부터 검은점무늬병균의 完全世代를 發見하여 *Diaporthe citri* (FAW.) WOLF로 報告하였다. Bach와 Wolf(1928)는 病斑으로 부터 最初로 菌의 分離에 成功하였고, 그 이전에 Fawcett는 캘리포니아에서 軸腐病과 sell bark (鱗皮病)을 일으키는 病原菌을 *Phomopsis californica*로 命名하였지만 후에 樹皮上에서 完全世代를 發見하여 Wolf의 菌과 比較 檢討한 結果 *Diaporthe citri* 와 同一한 것으로 報告하였다(Fawcett, 1929).

검은점무늬병의 英名인 melanose는 Floyd(1912), Stevens 등(1918a, 1919b)이 菌을 分離하여 Fawcett가 發見했던 stem-end rot의 病原菌과 同一한 *Phomopsis citri*임을 確認함과 同時에, 검은점무늬병균이 寄主에 侵入後 細胞 內에서 原形質의 gum 物質을 分泌시키기 때문에 黑點이 생기며 이러한 黑點이 생기는 病을 melanose라 命名한데서 起因된다.

黑點病(검은점무늬병)과 樹脂病의 病名은 西田(1914)에 의해서 처음으로 報告되었으나 病原不明이라 하였으며, 1914년 그의 著書에서 Floyd와 Stevens의 研究를 紹介하면서 病原菌을 처음으로 *Phomopsis citri*로 기재하였다. Bahgat(1928)는 軸腐病이 검은점무늬병균과 同一 菌에 의해 發病되며 發病過程에 대하여 상세히 報告하였고, 瀧元(1932)도 Winston·Bowman과 Bahgat 등의 研究에 대하여 자세히 報告하면서 果實의 검은점무늬병과 軸腐病은 同一 病原菌인 *Phomopsis citri*에 의한 것으로 記述하였고, 安部(1938) 역시 검은점무늬병균에 의해서 樹脂病, 枝枯病, 검은점무늬병, 軸腐病 등이 유기된다고 하였다. 또한 水澤과 橫木(1929)도 樹脂病에 관한 研究에서 本病이 5월부터 11월에 걸쳐 發病되며 病原菌이 果實에 軸腐病을 일으킨다고 報告하였지만, 病原菌의 學名에 대해서는

*Phomopsis*屬의 一種으로 記錄했을 뿐이었고 그 후, 靑柳(1932)는 煤點病 研究에서 그 病原菌을 *Leptothyrium pomi* 라 했지만 安部(1938)는 그 菌을 *Phomopsis citri* Faw.에 가장 가까운 것이라 하였다.

검은점무늬병균의 形態와 크기에 대해서는 研究者에 따라 多少 差異를 보였는데(安部, 1938; Fawcett, 1936; 田中와 中村, 1950; 牛山, 1971; 大和, 1917) 北島(1978)는 柄子殼은 橢圓形 乃至 圓錐形으로 直徑이 100~430 μm 이고, 柄孢子는 α 孢子和 β 孢子 2種類로서 α 孢子는 無色 單胞로 橢圓形 이며, 크기는 5~9 \times 2~4 μm , β 孢子는 無色 單胞로 絲狀形이며 크기는 15~25 \times 1 μm 이고, 子囊은 47~60 \times 8~11 μm , 子囊孢子는 11~15.5 \times 3~5 μm 로 記載하였다.

검은점무늬병 發生에 대한 研究는 주로 不完全 時代인 柄孢子의 感染에 의한 것으로 지금까지 이에 대한 研究가 주를 이루고 있으나, Wolf(1926)나 Fawcett(1929) 등이 完全世代인 子囊菌 發生을 確認한 이래, 日本에서는 福岡(1937)가 各種 柑橘의 軸腐病으로부터 分離했던 病原菌을 枯枝上에 混合 培養하여 子囊殼을 形成시킨 以後, 大和(1968)가 德島縣 柑橘園內的 枯死枝에서 子囊殼 形成을 確認하였고, 牛山(1973)도 子囊殼이 圃場 내에서 약간의 頻度로 出現한다고 하였으며, 이에 대한 病原力을 檢定하는 등 完全世代에 대한 研究도 활발히 이루어졌다.

또한 검은점무늬병균의 病原性에 대해서 井上와 西ヶ谷(1965)은 柄孢子 20菌株에 대한 接種試驗에서 菌株에 따라 病原性이 다름을 報告하였고, 牛山(1973)는 子囊孢子和 柄孢子的 接種試驗 結果 거의 같은 樣相으로 發病되지만 子囊孢子的 病原力이 약간 강한 것같다고 하였다. 그리고 牛山(1975)는 검은점무늬병에 거의 類似한 小黑點 症狀으로부터 *Phomopsis*屬 菌을 分離하였으며, 이를 小黑點病(소립검은점무늬병)이라 命名하였다.

검은점무늬병균의 菌絲 發育은 北島(1978)는 16~28 $^{\circ}\text{C}$ 에서 良好하고 適溫은 24 $^{\circ}\text{C}$ 附近이라 했으나, 田中와 中村(1950)는 發育 最適溫度를 27~28 $^{\circ}\text{C}$ 사이, 安部(1938)는 28 $^{\circ}\text{C}$ 라 하였으며, 發育 最適 pH는 田中와 中村(1950)는 pH 6, 最低 pH 3, 最高 pH 11 附近이라 하였으나, 本間(1969)

等は 3.37~5.86에서 良好하고 그 以上이나 그 以下の pH에서 발육이 抑制된다고 하였다.

田中와 中村(1950)는 培地種類的 試驗結果 감자한천培地에서 胞子形成이 良好함을 報告하였고, 本間 等(1979)은 柄胞子の 發芽는 溫度에 따라 달라 25℃에서 10時間 經過後 發芽되며, 柑橘 果實의 主要 糖類인 果糖 5%液에서 發芽 및 發芽管 신장이 促進되었고 糖類 添加時 果糖 > 포도당 > 자당 順으로 發芽가 促進된다고 하였다.

모든 病原菌은 環境이라든지 여러 가지 要因에 의해 種의 分化和 變異體의 生成이 많아 分類上 어려움이 많다. 最近 開發된 人爲的 無作爲 primer를 利用한 random amplified polymorphic DNA (RAPD)는 生物體 個體들 間의 同定, 分類, 診斷, 集團 遺傳學, 系統分析, 遺傳子 地圖 作成 等に 有用하게 使用되고 있다(Huff 等, 1994; Welsh와 McClelland, 1990; William 等, 1990). 植物 眞菌에 있어서도 Crowhurst 等(1991)과 Grajal-Martin 等(1993)은 *Fusarium*의 race 分化에 대하여, Schafer와 Wastemeyer (1992), Manulis 等(1994)은 病原性和 非病原性 菌株를 區別하기 위하여, Guthrie 等(1992)은 *Colletotrichum graminicola*의 地理的 起源을 밝히기 위하여, 그리고 McDermott 等(1994)은 보리 흰가루병의 進化過程과 遺傳的 聯關關係를 究明하기 위하여 RAPD分析法을 使用한 바 있다. 그리고 最近에는 各種 植物病 診斷이나 農藥에 대한 抵抗性 個體의 判別에 많이 이용되고 있는 實情이나(Bek과 Ligon, 1995; Audy 等, 1994; Hartung 等, 1996; Koenraad와 Jones, 1992) 검은점무늬병균에 대한 研究는 實施된 바 없다.

2. 검은점무늬병의 發生生態

Burger 等(1923), Fawcett 等(1922, 1926, 1929, 1932), Floyd(1911), Winston 等(1927)은 검은점무늬병은 마른 가지에 형성되어 있는 病原菌이 果實의 生育 期間 中 降雨 時 빗방울에 섞여 果實이나 잎, 가지 等に 感

染됨으로써 發生되는 病害라 하였고, 山本(1991)는 氣象環境, 傳染源인 마른 가지의 發生量, 病原菌의 形成時期, 感染時期, 藥劑防除 有無 等に 따라 發病程度와 發病症狀 等 細部的인 生態는 크게 差異가 난다고 하였다.

검은점무늬병의 傳染源인 마른 가지는 비단 柑橘가지 뿐만 아니라 편백, 삼나무, 비파, 차 其他 樹種의 가지에도 胞子를 形成하며(牛山, 1967) 마른 가지에서의 胞子形成 時期는 여러 가지 要因에 의해서 달라지는데, 山本(1991)는 果園 內에서 果梗枝의 枯死枝는 6~9월에, 果梗枝 以外の 枯死枝는 5~9월에 많이 形成되어 傳染源이 된다고 하였으며, 溫州蜜柑園보다 夏橘園에서 發生이 많았고 6월에 形成된 枯死枝보다 5월에 形成된 枯死枝에서 胞子 溢出量이 많다고 하였다.

검은점무늬병은 주로 마른 가지 중의 柄胞子에 의해서 發生하지만(山本, 1991) 完全世代인 子囊胞子는 自然條件의 圃場內에서는 柄胞子보다 發生이 적다고 하였다(文和, 1971). 그 후 山本(1991)는 柄胞子の 發生量보다는 적은 量이지만 5월부터 降雨量 및 降雨 間隔에 關係없이 子囊胞子が 多量으로 發生함을 報告하였다. 胞子の 形成과 發育에 대한 報告는 많이 있는데 小泉(1965), 大林(1973)등은 柄子殼이나 胞子の 形成에는 光이 必要하며, 溫度範圍는 20~28℃이나 20℃가 適溫이고 α 胞子는 15~20℃에서 形成이 잘 되지만 그 以上の 溫度에서는 β 胞子が 많이 形成된다고 하였고, 倉本(1957)는 胞子는 直射光線 下에서는 4時間 以內에 死滅하지만 陰地에서는 1日 以上 生存한다고 하였다.

胞子の 飛散과 感染은 降雨에 의해서 이루어지는데 Winston과 Bowman (1923), 田中(1955)는 飛散거리가 짧아 樹冠內部 전염원이 發生要因이 된다고 하였지만, 山本(1991)은 廣範圍하게 胞子が 飛散함을 밝혔고 牛山(1973a, 1973b)는 40~100m 까지 飛散된다고 하였다. 또한, 松本 等(1980a)은 樹冠 外部 果實의 表皮가 이 病에 感受性이 높다고 하였고 本間와 山田(1969)도 陽光面의 果實이 陰地果實에 비해 發生이 많음을 報告하여 樹冠 外部 果實에 대한 多發原因을 밝혔고 이에 따라 나무 全體, 隣接樹, 隣接 果園에의 感染도 間接적으로 確認하였다.

검은점무늬병의 感染은 濕潤 時間 및 溫度와 密接한 關係가 있는데 有本와 本間(1988)는 感染이 20~25℃의 境遇 12時間, 10℃에서는 3日이 所要되며 發病까지는 25℃에서는 2日, 10℃의 낮은 溫度에서는 1週日이 所要된다고 하였다. 牛山(1976)은 24~28℃에서 8時間 以上 濕潤時間이 經過되어야 감염된다고 하였고, 有本 等(1980, 1982)은 接種 5時間만에 柄胞子가 發芽하여 8時間 後부터 侵入을 開始한다고하여 研究者에 따라서 多少 다른 結果를 보였다.

本間 等(1979)은 과피의 油胞液을 추출하여 病菌의 발아에 미치는 영향을 실험한 결과 75% 액에서는 발아가 현저히 억제되며 90% 이상의 용액에서는 전혀 발아되지 않았고 과실중의 수용성 펙틴은 病菌의 발아관 신장을 촉진시킨다고 하였다.

有本 等(1980)은 균사의 침입이 氣孔을 통하여 67%가 이루어지고 33%가 큐티클을 관통하여 침입함을 밝혔고, 病菌의 침입시 온주밀감 잎의 표피세포는 1일 후 과립화되며 2일 후에는 갈변되고 7일 후에는 최초 갈변된 표피세포를 중심으로 3~5층의 細胞가 반구형으로 갈변하는데 그 후 갈변 細胞群의 인접세포가 계속 분열하여 10~12층의 세포로부터 callus가 형성됨으로서 건전조직과 차단하는 자기방위 조직이 형성된다고 하였다(有本 等, 1982). 또한 검은점무늬병에 이병된 과실의 조직에서 침입한 病菌의 생육을 억제시키는 抗菌物質인 Phytoalexin을 분리하였고(有本 等, 1986a) 化學構造가 6,7-dimethoxy coumarin(scoparone)임을 밝혔다(有本 等, 1986b). 그리고 病菌의 침입시 세포의 異常分裂을 일으키는 세포분열 유도성분이 존재하는 데 건전조직에서는 검출되지 않기 때문에 傷處호르몬으로 추정하였으며(有本와 本間, 1986), 후에 γ -amino n-butyric acid (GABA)로 동정하였다(有本 等, 1991).

感染時期에 대해서는 研究者에 따라 약간씩 다른데 이는 試驗環境의 差異에서 오는 것으로 생각되는데, 山田와 山本(1961)은 落花後 3個月, 田中(1943), 佐佐木(1965) 等은 6個月間이라 하였고, Burger(1923), 大林와 松本(1964), Winston 等(1923)은 落花後 1個月半이라 하였다. 한편 山本

(1991)는 6年동안의 發病消長 調査 結果 發病時期는 平均的으로 6月 上旬이 發病 開始期이며 發病終期는 溫州蜜柑이 10月 中旬, 夏橘이 10月 下旬까지라 하였고 7月까지를 初期感染, 8月以後의 感染을 後期感染이라 하였다. 佐佐木(1965)도 後期感染에 대한 試驗結果 11月 上旬까지 感染되는 것을 確認하였는데 果實의 發育과는 關係가 없고 降雨條件이 支配한다고 하였다. 그러나 Burger 等(1923), Winston 等(1923), Ruehle과 Kuntz 等(1940)은 後期感染은 發生치 않음을 報告하였다. 한편 牛山(1979)는 검은점무늬병이 貯藏 中 軸腐病의 發生原因이 된다고 하였다. 佐佐木 (1965)는 검은점무늬병의 症狀에는 黑點形, 淚斑形, 泥塊形이 있는데, 이는 感染이 果實의 發育時期나 傳染源의 多少에 의해 病斑의 模樣이나 病斑色도 달라지기 때문이며 發育初期에 感染될수록 病斑이 검은 色을 띄며 表皮 위로 突出 되지만 果實發育이 進展되고 9月以後의 後期에 感染되면 色澤이 赤色 내지 赤褐色을 나타내고 突出도 되지 않는다고 하였다.

우리 나라에서는 金(1977)에 의해 1977年度에 잎에 대한 검은점무늬병 發生調査가 最初로 이루어 졌으나 發病이 극히 미미하다 하였고 果實의 境遇 1981年度 密植園의 間伐試驗 時 無處理區에서 30%의 罹病果率을 記錄한 바 있다(金 等, 1981).



3. 藥劑防除

Fawcett와 Lea(1926)는 마른 가지가 검은점무늬병 發生의 주 傳染源이라 하였으며 北島(1978)도 마른가지 내에 形成된 柄胞子が 發病原因이 되므로 마른 가지에서의 胞子形成 抑制는 防除 上 큰 意義가 있다고 하였다. 井上와 西々谷(1963)는 保菌枝의 發生機構 研究에서 圃場에 放置된 剪定가지는 6月부터 胞子を 形成하기 始作한다고 하였고, 山本(1991)도 5月 形成된 마른 가지에는 6月 中旬부터, 6월에 形成된 마른 가지는 7月 下旬부터 胞子を 形成한다고 하였다. 이러한 점을 勘案할 때 圃場에서의 마른 가지 除去는 耕種的 防除의 한 方法이라 할 수 있다.

小泉 等(1977), 小泉(1980), 中西와 小泉(1986) 등은 電子計算機를 利用한 검은점무늬병 發生 豫察 및 防除 simulation 모델을 作成하여 검은점무늬병 豫察과 藥劑防除에 應用한 바 있다.

Kuntz와 Ruehle(1939)은 검은점무늬병 防除는 剪定 時 傳染源인 마른 가지의 除去와 降雨前에 豫防을 위한 保護殺菌劑 處理가 重要하다고 하였다. 또한 牛山(1979), 本間 等(1989)은 圃場에서의 검은점무늬병 感染 果實은 貯藏後期에 貯藏病害인 軸腐病 發生과 매우 密接한 關係가 있기 때문에 圃場에서의 검은점무늬병 防除의 重要性을 強調하였다.

農藥 撒布時期에 대해서는 많은 研究 結果가 發表되었는데(井上와 芹澤, 1975; 井上 等, 1981; 大林, 1973; 大林와 松本, 1964a, 1967b), 北島(1978)는 研究者들의 結果를 土臺로 農藥 撒布時期를 6月 上中旬, 7月 上中旬, 8月 中下旬 3회로 記錄하고 있으나 降雨量에 따라서 2~3회 追加할 必要가 있다고 하였다.

검은점무늬병 防除를 위한 藥劑防除 試驗은 銅劑에 의한 防除를 위주로 (Bahgat, 1928; Burchfield와 Geonaga, 1923; Burger等, 1923; Childs, 1950; Graftrts 와 Foy, 1962; Fawcett, 1936; Kuntz 와 Ruehle, 1939) 상당히 많이 이루어졌다. 山田 等(1966)은 保護 殺菌劑의 機作과 效果試驗을 통하여 Captafol과 Dithianon, Mancozeb 등이 效果가 優秀하다고 하였고, 山本(1991)는 Captafol, Dithianon, Mancozeb, Maneb 등이 가장 優秀했고 다음이 Zineb, Chlorotalonil 등이라 하였으며, 農藥 附着量과 防除效果에 대한 試驗에서 表面張力이 낮은 藥劑는 附着量이 減少해 防除效果가 떨어진다고 하였다. 또한 機械油乳劑와 殺菌劑의 混用은 殺菌劑의 葉面 附着量을 減少시키지만 殘效期間이 길어지며 많은 殺菌劑에서 機械油乳劑의 混用으로 防除效果가 增進된다고 하였다. 이 외에도 검은점무늬병의 藥劑 防除 試驗이나 混用試驗에 대해서는 많은 結果가 報告되었다(林 等, 1978, 1980; 夏見와 山本, 1973; 山本, 1967).

一般的으로 水和劑 形態의 殺菌劑는 親水性, 懸水性, 濕展性 등이 좋아야 하므로 界面活性劑에 대한 研究가 많이 이루어졌으며(能勢, 1957; 鈴木

과 上杉, 1960), 山田(1978)는 殺菌劑 撒布 時 展着劑 加用으로 表面張力이 낮아지는 展着劑는 加用할 必要가 없으나 藥劑의 固着性을 增進시키는 性質의 展着劑를 加用하여도 좋다고 한 反面, 山本(1991)는 展着劑를 加用할 必要가 없다고 하였다.

스프링클러 防除는 竹中 等 (1970), 八田 等(1970), 小笠原 等(1977) 内田와 大垣(1971), 山本(1970) 等に 의해서 實用性이 確認되었는데, 山本(1991)는 스프링클러 防除 時 葉面 附着量은 表面張力이 가장 낮은 液(36.8 dyne/cm)에서는 撒布量 400 l /10 a에서 最大의 附着量을 보였고, 中間程度의 表面張力液(48.7~54.1 dyne/cm)에서는 800 l /10 a, 表面張力이 최고로 높은 液(72.5 dyne/cm)에서는 1,000 l /10 a의 撒布量에서 最高의 附着量에 달했다고 하였다. 한편 스프링클러에 의한 검은점무늬병 防除 藥劑 撒布效果는 動力噴霧機 防除와 마찬가지로 높았으며, 撒布量은 樹冠 容積, 栽植株數, 藥液의 表面張力 等に 따라 다르나 範圍는 400~ 1,200 l /10 a로 動力噴霧機에 비해 약간 많을 必要가 있다고 하였다. 金(1977)은 검은점무늬병 防除試驗에서 慣行濃度 3, 4回 處理와 150倍의 高濃度 1, 2回 處理 時 發病率에 큰 差異가 없음을 報告한 바 있다.



Ⅲ. 材料 및 方法

1. 病原菌의 分離同定 및 生理的 性質調查

1) 病原菌의 分離 및 同定

1995년 濟州道 一圓에 걸쳐 41個 農家의 柑橘園에서 直徑 0.3~1.0cm 程度의 다른 가지를 採集한 後, petridish에 濾過紙 3枚를 깔고 殺菌水를 充分히 供給한 다음 25 ± 1℃의 恒溫器에서 3~7日間 濕室 處理하였다. 여기에서 分離된 病原菌을 Potato dextrose agar(PDA)培地에 移植하여 18個 菌株(표 1)를 確保하였고 이를 同定 및 病原性 檢定, 遺傳的 變異 調查 時 實驗材料로 使用하였다.

Table 1. List of the isolates of *Diaporthe citri* obtained from dead twigs of citrus trees

Isolate	District of collection		Variety
Cu- 8	Cheju city	Odeung	Satsuma mandarin
Cu-16		Noheong	"
Cu-10		Hoichon	"
Pu- 1	Pugcheju-gun	Owa heul	"
Pu-18		Hamdug	"
Pu- 2		Hallim	"
Nu- 9	Namcheju-gun	Pyosun	"
Nu-11		Namwon	"
Nj- 4		Taiheung	Juzu
Nk- 5		Taiheung	Kumquat
Su-14	Seogwipo city	Donghong	Satsuma mandarin
Sg- 3		"	Grarpefruit
Sc- 6		"	Kawano-natsudaikai
Sm- 7		"	Marumelo
Sh-12		"	Hwangeum-Hakyul
Sn-13		"	Natsudaikai
Su-15		"	Satsuma mandarin
Sp-17		"	Hassaku

組織에 形成된 柄子殼이나 胞子의 형태와 크기는 解剖顯微鏡, 光學顯微鏡 그리고 走査顯微鏡(Hitachi, 日本)을 利用하여 調查하고 寫眞撮影을 하였는데 柄子殼과 胞子의 크기는 各菌株 共히 30개씩을 調查하였다.

2) 病原菌의 病原性 檢定

確保된 18菌株의 病原性을 調査하기 위하여 培養 菌株內 柄子殼에서 壓出되어 나온 孢子角의 柄孢子를 200倍의 顯微鏡에서 孢子數가 1視野當 200個 程度가 되도록 滅菌水로 稀釋한 後, 直徑 5mm의 濾過紙를 病菌의 懸탁액에 沈漬시켜 이 濾過紙 片편을 供試果(10果)의 果頂部 3部分에 4枚씩 附着시켜 接種한 다음 $25 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ 의 恒溫器에서 濕室 處理한 後 發病도를 調査하였다.

發病度는 農事시험연구 調査기준(농촌진흥청, 1995)에 準하여 罹病果의 病班 面積率에 따라 다음 數式에 의하여 算出하였다. : $\{[(A \times 1) + (B \times 3) + (C \times 5) + (D \times 7) + (E \times 9)] / n \times 9\} \times 100$. 이 數式에서 A는 1% 미만의 病班 面積率을 나타내는 열매의 수, B는 1~5%의 病班 面積率을 나타내는 열매의 수, C는 6~25%의 病班 面積率을 나타내는 열매의 수, D는 26~50%의 病班 面積率을 나타내는 열매의 수, E는 50% 이상 病班 面積率을 나타내는 열매의 수이고, n는 調査한 총열매수를 나타낸다.

3) 病原菌의 遺傳的 變異

(1) 菌株

基本菌株 18菌株(표 1)와 추후 2차로 蒐集한 柑橘 가지로부터 分離된 3個 菌株 (Cu-16-2; 濟州市 老衡洞, Sp-17-2,3; 西歸浦市 東烘洞) 그리고 1個의 *Diaporthe phaseolorum* 菌株 等 總 22個의 菌株를 供試하여 遺傳的 變異를 調査하였다.

(2) DNA 抽出

全體 DNA는 菌體로부터 尹(1992)의 方法을 變形하여 使用하였다. Potato dextrose broth(PDB)에서 14日間 培養한 菌體를 Buchner funnel에 濾過紙를 利用 收穫하고, 菌體 0.1g을 얼음으로 冷却시켜 유발에서 마쇄한 다음 lysis buffer (50 mM Tris-HCl pH 7.2, 50 mM EDTA pH 7.2, 3% SDS, 1%

2-mercaptoethanol) 1 ml를 添加하고 2.0 ml microcentrifuge tube에 옮긴 後 65℃에서 1時間 동안 處理하였다.

여기에 1 volume의 chloroform을 添加後 室溫에서 14,000 g 로 15分間 遠心分離하여, 分離된 상정액에 3 M NaOAc 0.1 volume과 isopropanol 1 volume 을 添加하여 混合한 後, 室溫에서 14,000 g 로 5分間 遠心分離하여 DNA를 沈澱시켰다. 沈澱物을 80% 에틸알콜로 洗滌한 後 乾燥시킨 다음 0.1 ml의 TE buffer(10 mM Tris-HCl pH 8.0, 0.1 mM EDTA)에 녹였다. 여기에 CsCl 100 mg을 添加하여 室溫에서 14,000 g로 5분간 遠心分離하여, 分離된 상정액에 1 volume의 isopropanol을 添加하여 混合한 後 室溫에서 14,000 g 으로 5분간 遠心分離하여 DNA를 沈澱시켰다. 沈澱物은 80% 에틸알콜로 洗滌 후 乾燥시킨 다음 0.1 ml의 TE buffer에 녹였다. genomic total DNA의 抽出狀態는 1.5% agarose gel에서 電氣泳動하여 觀察하였고 DNA의 量은 260nm에서의 흡광도(A₂₆₀)로 測定하였다.

(3) DNA의 增幅

Operon Technologies社로 부터 購入한 人爲 合成된 Kit A의 10-mer primer들 中에서 16가지를 本 實驗에 使用하였다. DNA 增幅反應을 위하여 5 ng genomic DNA의 용액에 1 mM MgCl₂, 0.2 mM primer, 0.75 U taq DNA polymerase (Finnzy mes Inc., Finland), 各各 250 μ M의 dATP, dTTP, dGTP, dCTP, 1 X buffer (20 mM Tris-HCl, pH 7.4 ; 100 mM KCl ; 0.1 mM EDTA ; 1 mM DTT ; 160 μg/ml BSA ; 50% glycerol ; 0.1% Tritone X-100) 등을 添加하여 總 25 μl로 하였고, 25 μl의 mineral oil을 混合液에 添加하였다. 增幅 條件은 Perkin-Elmer社의 Thermal cycler에서 cycle당 90℃ (denaturation) 30초, 40℃(annealing) 1分, 72℃(extension) 2分으로 프로그램하여 總 45 cycle을 遂行하였으며, 初期 denaturation을 2分동안 시켰고 마지막 extension은 5分間 補充하였다. 增幅된 DNA는 1.5% agarose gel로 電氣泳動한 다음, EtBr로 染色시킨 後 UV 光에서 比較 觀察하였다.

(4) Cluster 分析

모든 primer에 의해 증폭된 DNA 조각의 존재 여부에 따라서 존재는 1, 존재는 0으로 표시하였으며, 같은 길이의 band들은 동일한 것으로 했다. RAPD 분석을 위하여 유전자원간에 공통인 band 값인類似度指數(F)는 Dice의 방법(Rohlf, 1990)으로 계산하였다. 각菌株들간에類似度指數를 구한後類似度 matrix를作成하고, 이로부터 NTSYS-Pc에 들어있는 UPGMA(unweighted pair-group method algorithm)를이용菌株間系統圖를 만들었다(Rohlf, 1990).

4) 病原菌의 生育

검은점무늬병균의 生育에 미치는 溫度, pH, 培地의 種類, 營養源 等の 影響을 究明하기 위해 실시하였는데, 菌絲의 生育 溫度 試驗은 17℃로부터 3℃間隔으로 29℃까지의 5水準을 設定하여 PDA培地에서 遂行하였다.

pH의 影響을 조사하기 위하여 PDA培地를 利用하였으며 pH 4.0에서 pH 9.0까지 0.5 間隔으로 11段階를 設定 0.2N HCl과 NaOH 溶液으로 調整한 後 균을 接種하여 26±0.5℃의 恒溫器에서 培養하였다.

培地의 種類別 試驗은 PDA, malt extract agar (MEA), nutrient agar (NA), yeast malt agar (YMA), Czapeck's agar 等 5種類를 供試하였고, 窒素 및 炭素源 等 營養源 試驗의 境遇에는 Czapeck's agar를 基本培地로 하여 窒素源은 yeast extract, peptone, NaNO₃, (NH₄)₂SO₄, Ca(NO₃)₂ 등 5種類를 各各 100, 500, 1,000, 2,000, 3,000 ppm의 濃度를 두어 처리하였다. 炭素源으로는 glucose, galactose, fructose, sucrose, maltose, starch 等を 供試하여 各各 0.5, 1.0, 3.0, 5.0, 10.0, 20.0%로 濃度를 달리한 後 病原菌을 接種하고 26±0.5℃의 恒溫器에서 培養하였다.

全 試驗 共히 西歸浦市 東烘洞의 溫州蜜柑 柑橘園에서 蒐集한 가지로부터 分離된 Su-14菌株(표 1)를 使用하였는데 供試菌은 PDA培地에서 10日 程度 繼代培養한 菌을 直徑 5mm의 cork borer를 利用하여 hyphal disc

로 菌絲圓盤을 떼어 각 培地의 中央部에 接種 培養하였고, 菌絲生育은 7日間 調査하였다.

菌絲의 乾物重은 液體培地(100 ml)에 균을 접종하여 $26 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 의 Shaking incubator에서 5日間 培養 後, 濾過시켜 80°C 의 乾燥器에서 48時間 乾燥한 後 乾物重을 調査하였다.

2. 發病生態

1) 검은점무늬병 發生消長 및 柄孢子 發生

1985년부터 1988년까지 4年間 濟州市와 西歸浦市에 位置한 濟州農業試驗場의 同一 圃場에서 林溫州를 供試하여 5月 下旬부터 10月 上旬까지 7日間隔으로 검은점무늬병의 發病 狀況을 調査하였는데, 供試圃場은 검은점무늬병과 關係가 있는 藥劑는 撒布치 않았다. 한편 本病의 發生과 關係가 깊은 降雨量, 柄孢子 發生量 等を 調査하였다. 柄孢子的 飛散은 降雨時마다 雨水를 採取하여 200倍 顯微鏡下에서 計測하였고, 0.01 ml當 孢子數로 나타내었다.

2) 發病에 대한 濕潤時間 및 溫度의 影響

우선 濕潤時間과 溫度가 柄孢子的 發芽에 미치는 影響을 調査하기 위하여, slide glass 위에 200倍 顯微鏡 1視野當 250個 內外의 柄孢子 懸탁液을 點滴시켜 各 溫度別로 濕室處理 한 後 經時的으로 發芽率을 調査하였다. 濕潤時間과 溫度가 검은점무늬병 發病度에 미치는 影響 試驗에서는 나무에서 採取한 果實을 처리당 5果씩 供試하였고, 200倍 顯微鏡 1視野當 200個 內外의 柄孢子 懸탁液을 直徑 5mm의 濾過紙를 利用 果實 當 果頂部의 3部分에 接種시킨 後, 各 溫度別로 恒溫器 內에서 濕室處理하였으며, 處理別로 溫度別 濕潤 時間이 終了되면 滅菌水로 接種했던 懸탁액을 洗滌한 後 다시 濕室處理를 하였다. 14日 經過後 앞서 記述한 數式에 의해 검은점무늬병 發病度를 調査하였다.

3) 感染時期 및 病症

1992年 西歸浦市 동흥동에 位置한 柑橘研究所 柑橘園에서 pot 栽植 3年生 宮川早生 溫州를 開花期까지는 露地栽培와 同一條件으로 栽培한 後, 5月 下旬에 全 供試 pot를 비닐하우스에 옮겼다. 6月 上旬부터 9月까지 降雨時마다 果實當 5cm의 胞子角이 確認된 검은점무늬병 培養가지를 1枝씩 매달아 하우스 밖으로 옮겨 24時間 自然接種시킨 後, 하우스 內에 다시 넣어 降雨를 遮斷한 다음 發病을 確認하였다.

1993년에는 南元邑 下禮里의 柑橘研究所 柑橘園에서 20年生 宮川早生 3株의 果實을 과라핀 封紙로 싸운 後, 6月 上旬부터 9月 下旬까지 降雨時마다 封紙를 벗겨 自然接種(1果當 培養가지 1枝 設置) 시킨 後, 降雨가 끝나는 即時 封紙를 다시 싸우는 方法을 利用 검은점무늬병 發病 調査를 實施하였다.

4) 品種別 검은점무늬병 發病 比較

1992년부터 1993년까지 2年間 西歸浦市 동흥동의 柑橘研究所 品種保存園에서 早生溫州 5種(興津, 三保, 宮川, 松山, 立間), 普通溫州 5種(林, 杉山, 米澤, 실버힐, 南柑 20號), 晚柑類 8種(夏橘, 黃金夏橘, 金柑子, 八朔, 柚子, 淸見, 白柳 N.O., 丸實金柑)을 公試하여 시험을 수행하였고, 供試樹는 殺蟲劑와 검은점무늬병과 關係가 없는 殺菌劑만을 撒布하였으며 6월 10일부터 9월 30일까지 10일 間격으로 發病率을 조사하였다.

3. 藥劑防除

1) 防除時期

藥劑 防除時期와 回數 究明을 위해 1992년부터 1993년까지 2年間 宮川早生을 供試하여 Mancozeb (Dithane 엠-45) 水和劑 500倍液을 6月 1日부터 8月 15日사이에 3회로부터 6회까지 살포하는 10組合의 방제효과 시험을 遂行하였고, 한편으로는 累計降雨量이 150, 250, 350, 450, 550 mm 時마다 Mancozeb 水和劑를 撒布한 後 검은점무늬병의 發病度를 調査하였다.

2) 藥劑撒布量 및 展着劑 加用 效果

1985년부터 1988년까지 濟州農業試驗場 柑橘園에서 19년생 (栽植距離: 3.3×3.3 m, 平均 樹冠容積 8.6 m³) 林溫州 品種을 供試하여 實施하였다. Mancozeb 水和劑를 利用 藥劑 撒布量은 10a當 300 ℓ 부터 700 ℓ 까지 5水準을 細區로, 진착제(Polyoxy ethylene alkyl arylether · Sodium ligno sulfonate, 30%)의 加用(10 ml/20 ℓ)과 無加用을 主區로한 分割區 配置 3반복으로 처리하여 검은점무늬병 防除 效果를 調査하였다.

3) 高濃度 藥劑撒布 效果

1992年 西歸浦市 동흥동의 柑橘研究所 圃場에서 宮川早生을 供試하여 試驗을 遂行하였다. 供試 藥劑는 Mancozeb 水和劑를 使用하였으며 6月 1日부터 8月 20日까지 20日 間隔의 5回 撒布區를 對照區(500倍)로 하였다. 100倍液의 高濃度 處理區는 6月 10日, 7月 30日 2回處理區와 6月 10日부터 30日 間隔의 3回 撒布區를 두었고, 250倍液의 高濃度 處理區도 6月 10日부터 30日 間隔의 3回 撒布區를 두어 試驗을 遂行하였다.

4) 省力防除 試驗

(1) 防除 手段別 藥劑撒布 效果

本 試驗은 1995年 柑橘研究所 圃場에서 20年生 宮川早生을 供試하여 農藥撒布 手段別(高速噴霧機 防除, 스프링클러 防除, 動力噴霧機 防除)로 검은점무늬병의 防除效果를 究明하기 위해 實施하였다. 최초의 栽植距離는 2.7×2.7 m (120 株 / 10 a)였는데, 高速噴霧機 防除區는 4열중 1열을 間伐하여 通路로 利用하였고 스프링클러(노즐 : EINDOR CAT 900) 防除區와 動力防除區 共히 密植區와 1/2 間伐區로 區分하여 試驗을 遂行하였다.

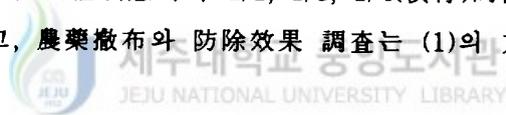
스프링클러 防除區는 1열 건너씩 間伐(2.7×5.4m)하였으며 動力 防除區는 農家에서 주로 행하고 있는 斜線 間伐(3.8×3.8m)을 하였다. 이때의 供試樹 平均 樹冠 面積率은 高速噴霧機 방제구 62%, 스프링클러와 動力 防除機의 密植區는 86%, 間伐區는 43%程度였다. 農藥 撒布量은 500 ℓ / 10 a

를 基準으로 하였고 살포약제는 Propineb(안트라콜) 水和劑 600倍(6月16日), Mancozeb 水和劑 500倍(7月 14日, 8月 8日, 8月 23日)였다. 스프링클러 防除 時 吐出壓力은 5~6 kgf/cm²로 하였고 검은점무늬병 發生調查는 앞서 기술한 수식에 의해 發病度를 調査하였다.

(2) 省力防除 時 防除效率 增大

高速噴霧機 防除와 스프링클러 防除時 防除效果를 높일 수 있는 方案을 檢討코자 柑橘研究所 圃場에서 20年生 宮川早生을 供試하여 試驗을 遂行하였다. 스프링클러 노즐 設置方法別 防除效果 試驗의 境遇, 防除區의 最初 栽植距離는 2.7×5.4m(60 株/10a, 樹冠面積率 43%)이며, 스프링클러 노즐 上部 設置區(慣行)는 7m 間隔으로 2m 높이에 노즐을 設置하였고, 노즐 上下部 設置區는 7m 間격으로 2m 높이에 노즐을 설치한 후 그 中間인 3.5m 地點에 0.5m 높이의 노즐을 설치하였다. 노즐은 共히 EINDOR CAT 900을 使用하였고 農藥撒布 및 防除效果 調査는 (1)의 方法과 同一하게 遂行하였다.

間伐方法別 高速 噴霧機 防除效果 試驗은 最初 栽植距離 2.7×2.7m (120 株/10a)의 密植狀態에서 1/2, 1/3, 1/4(慣行)間伐을 實施하여 處理區를 設定하였고, 農藥撒布와 防除效果 調査는 (1)의 方法과 同一하게 遂行하였다.



IV. 結果 및 考察

1. 病原菌의 分離同定 및 生理的 性質

1) 病原菌의 分離同定

濟州市, 西歸浦市, 南濟州郡, 北濟州郡 4개 地域의 一部 柑橘園에서 採集된 다른 가지에서 分離한 病原菌은 *Diaporthe citri* (不完全世代 *Phomopsis citri*) 로 同定되었다. 柑橘나무의 다른 가지에서 柄子殼과 柄胞子가 確認되었는데 柄子殼은 樹皮內에 單獨 또는 여러 개가 같이 存在하고 있었고 子座속 에 形成되어 있었으며 模樣은 橢圓形 또는 扁橢圓形이었다. 柄子殼의 內 壁에는 分生子梗이 존재하였고, 그 先端에 많은 分生胞子가 형성되어 있었다(그림 1).

다른가지를 濕室處理한 結果 孢子角이 溢出되었고 여기에서 分離한 柄 胞子を PDA培地에서 培養한 結果 많은 柄子殼과 柄胞子가 形成되었다 (그림 2 A-E). 柄子殼의 크기는 112.2~614.4 μm 범위로 平均 크기는 328.8 μm 였으며 菌株別로 크기가 多少 相異하였는데 柚子에서 分離한 Nj-4 菌 株의 柄子殼이 平均 398.4 μm 로써 가장 큰 편이었고, 溫州에서 分離한 Su-15 菌株의 柄子殼이 평균 281.0 μm 로 가장 작았다(표 2).

柄胞子是 α 胞子和 β 胞子 2種類가 觀察되었으며 α 胞子是 無色 單胞로 타원형이었고, β 胞子是 無色 單胞로 絲狀形이며 활처럼 약간 구부러졌고 대개의 境遇 한쪽 끝이 휘어 있었다(그림 2 C). 크기는 α 胞자가 4.7~ 8.7 \times 1.9~3.5 μm 범위였으며 평균 크기는 6.7 \times 2.3 μm 였고 β 胞子是 13.2~ 27.1 \times 0.8~1.6 μm 범위로 평균 크기는 22.1 \times 1.0 μm 였으며, 分離菌株에 따라 多少 크기의 差異가 있었다(표 2). 調査된 검은점무늬병균의 크기는 Fawsett(1936), 田中와 中村(1950) 등이 報告한 病原菌의 크기와는 거의 비슷하였으나 安倍(1938), 水澤와 橫木(1929) 등이 報告한 柄胞子の 크기 보다는 약간 작았다.

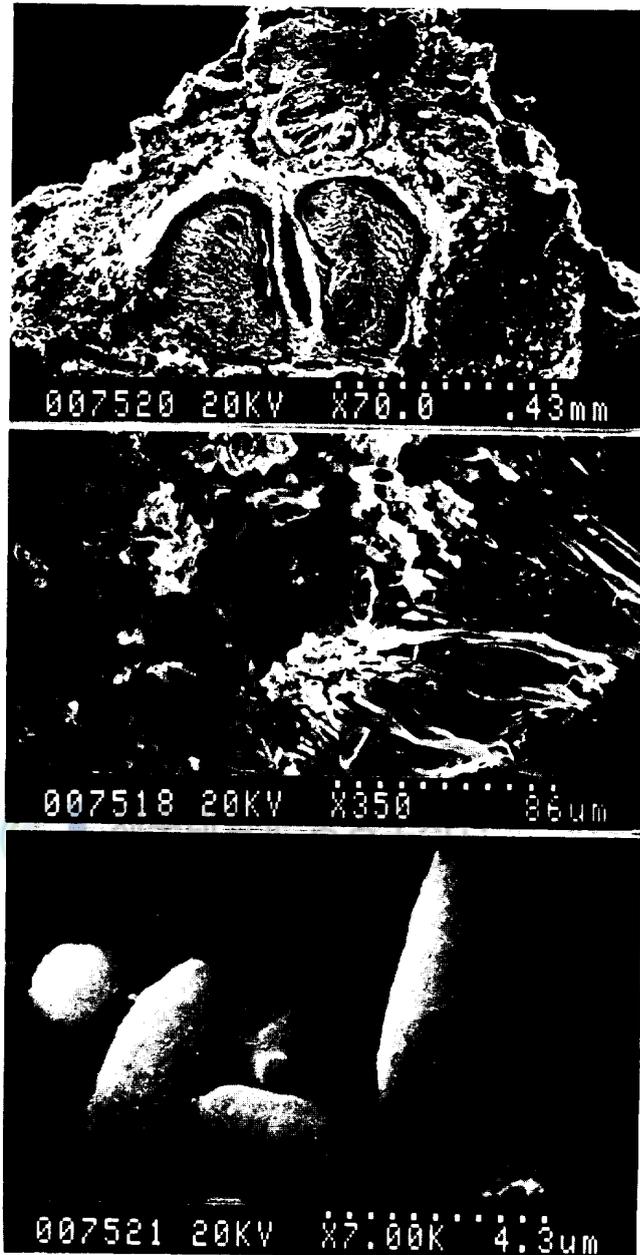


Fig. 1. Scanning electron micrographs of pycnidia (A) in the bark of citrus twigs, conidiophores and pycniospore (B) inside the pycnidium, and magnification of α -conidia (C) of *Phomopsis citri*.

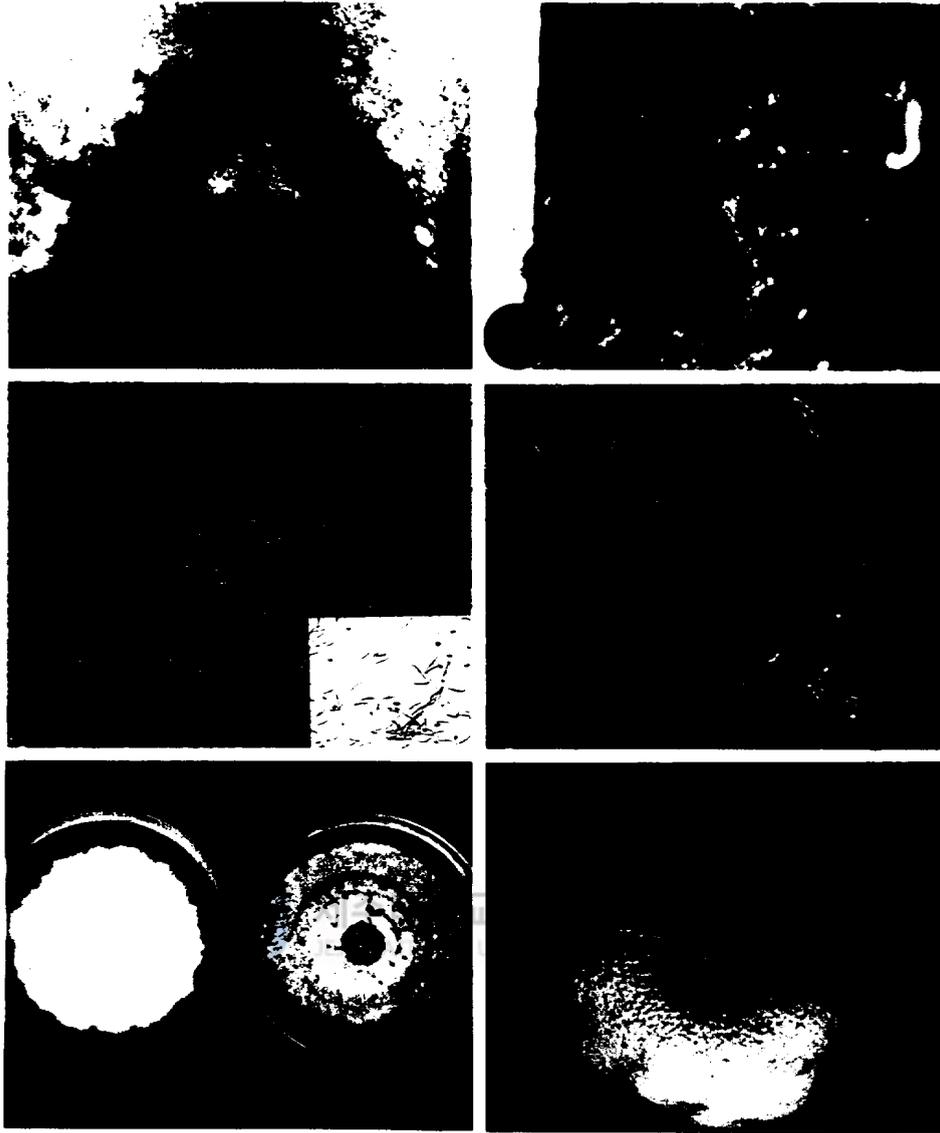


Fig. 2. Pictures showing causal fungus, *Diaporthe citri* and symptoms of citrus melanose.

- A: A longitudinal section of a pycnidium.
- B: Spore horns emerged from pycnidia on bark surface of citrus stem.
- C: α -conidia of *Diaporthe citri* and β -conidia (right below).
- D: Germinating α -conidia in water.
- E: Colony morphology of vegetative growth on PDA for 10 days (left) and pycnidia production on the same culture 40 days later.
- F: Symptom of citrus melanose developed on a fruit by artificial inoculation.

Table 2. Comparison of the size of pycnidia and phialospores of 18 isolates of *Diaporthe citri* obtained from twigs of citrus trees

Isolate	Diam. (μm) of pycnidium	Phialospore size (μm)			
		α -conidia		β -conidia	
		Length	Width	Length	Width
<i>D. citri</i> ^z	up to 600	6~10	2~3	20~30	0.5~1
Cu- 8	328.0 \pm 87.8 ^y (193.6-614.4) ^x	7.3 \pm 1.0 (4.7-8.7)	2.6 \pm 0.4 (1.9-3.5)	18.9 \pm 6.1 (13.5-24.1)	1.1 \pm 0.2 (0.8-1.6)
Cu-16	306.2 \pm 75.7 (148.8-453.6)	6.2 \pm 1.9 (4.6-8.8)	2.3 \pm 0.3 (2.0-3.1)	17.9 \pm 2.1 (14.4-24.4)	1.0 \pm 0.1 (0.9-1.3)
Cu-10	349.7 \pm 73.2 (173.0-511.5)	6.6 \pm 0.7 (4.7-8.1)	2.4 \pm 0.2 (2.0-2.8)	22.0 \pm 1.9 (19.1-25.4)	1.0 \pm 0.1 (0.8-1.3)
Pu- 1	316.8 \pm 65.4 (183.5-419.6)	7.0 \pm 0.8 (5.1-8.4)	2.3 \pm 0.2 (2.0-2.6)	21.7 \pm 2.1 (18.3-26.1)	1.1 \pm 0.1 (0.9-1.4)
Pu-18	351.2 \pm 52.7 (231.1-431.1)	6.7 \pm 0.6 (5.7-7.6)	2.3 \pm 0.1 (2.1-2.5)	20.7 \pm 2.9 (14.7-24.1)	1.1 \pm 0.1 (0.9-1.2)
Pu- 2	300.9 \pm 66.5 (198.3-405.2)	6.6 \pm 0.3 (5.6-8.1)	2.2 \pm 0.2 (2.0-2.6)	19.8 \pm 2.9 (15.3-24.1)	1.0 \pm 0.1 (1.0-1.2)
Nu- 9	296.8 \pm 65.4 (145.1-434.5)	6.8 \pm 0.4 (6.1-7.8)	2.3 \pm 0.1 (2.1-2.5)	19.6 \pm 2.7 (16.4-23.5)	1.0 \pm 0.2 (0.9-1.2)
Nu-11	313.6 \pm 48.4 (201.2-396.5)	6.7 \pm 0.8 (5.3-8.0)	2.2 \pm 0.2 (1.9-2.6)	20.1 \pm 2.0 (16.5-23.0)	1.1 \pm 0.1 (1.0-1.2)
Nj- 4	398.4 \pm 90.7 (201.3-554.6)	6.7 \pm 0.8 (5.5-8.3)	2.4 \pm 0.3 (5.5-8.3)	21.6 \pm 3.1 (14.2-26.3)	1.0 \pm 0.2 (0.8-1.4)
Nk- 5	376.5 \pm 63.5 (9316.5-512.0)	7.0 \pm 0.7 (5.6-8.0)	2.3 \pm 0.2 (2.0-2.6)	21.6 \pm 3.6 (17.1-27.1)	1.0 \pm 0.1 (0.9-1.1)
Su-14	323.1 \pm 82.4 (112.2-459.0)	6.6 \pm 1.4 (4.5-9.0)	2.5 \pm 0.4 (1.8-3.5)	17.6 \pm 3.1 (13.2-23.2)	1.0 \pm 0.2 (0.8-1.4)
Sg- 3	372.3 \pm 66.9 (296.0-516.0)	6.4 \pm 0.5 (5.6-7.5)	2.2 \pm 0.2 (1.9-2.5)	21.4 \pm 2.8 (17.7-26.3)	1.1 \pm 0.1 (0.9-1.2)
Sc- 6	304.8 \pm 59.9 (195.1-411.5)	6.7 \pm 0.9 (5.1-8.8)	2.2 \pm 0.3 (2.0-2.9)	21.7 \pm 3.8 (16.5-26.5)	1.1 \pm 0.1 (0.9-1.2)
Sm- 7	330.8 \pm 73.8 (211.5-451.7)	6.5 \pm 0.7 (5.0-7.8)	2.1 \pm 0.2 (2.0-2.5)	19.1 \pm 3.7 (14.5-24.1)	1.0 \pm 0.1 (0.9-1.1)
Sh-12	328.8 \pm 63.0 (184.5-411.3)	6.3 \pm 0.7 (5.1-7.7)	2.1 \pm 0.2 (2.0-2.5)	20.1 \pm 2.5 (18.0-23.2)	1.1 \pm 0.1 (1.0-1.1)
Sn-13	350.7 \pm 36.0 (311.1-441.0)	7.0 \pm 0.7 (6.1-8.2)	2.3 \pm 0.2 (2.0-2.6)	20.5 \pm 2.5 (16.5-24.2)	1.0 \pm 0.1 (0.9-1.2)
Su-15	281.0 \pm 79.8 (165.4-390.5)	7.3 \pm 0.5 (6.4-7.9)	2.5 \pm 0.4 (2.1-3.2)	22.3 \pm 2.6 (17.5-27.1)	1.1 \pm 0.1 (0.9-1.2)
Sp-17	288.3 \pm 40.1 (178.4-336.7)	6.6 \pm 0.5 (5.9-7.9)	2.2 \pm 0.1 (2.1-2.5)	20.4 \pm 2.4 (16.4-23.1)	1.0 \pm 0.1 (0.8-1.1)
Mean	328.8 \pm 66.2	6.7 \pm 0.8	2.3 \pm 0.3	22.1 \pm 2.9	1.0 \pm 0.1

^z Data from Punithalingam and Holliday (1973).

^y Numbers are averages \pm standard deviation of 30 pycnidia and conidia.

^x Range of size of 30 pycnidia and conidia.

2) 病原菌의 病原性 檢定

分離된 病原菌을 菌株別로 培地에 接種시킨 結果 供試菌株 대부분에서 菌絲 生長이 良好하였는데 그 중에서도 Nk-5, Sg-3 菌株가 가장 良好한 편이었다. 柄子殼 및 孢子角 生成은 Pu-2 菌株와 Su-15 菌株에서 다소 적은 傾向이었고, Nk-5, Sg-3, Sc-6 菌株에서는 다수의 柄子殼과 孢子角이 形成되어 分離 菌株別로 差異가 있었다 (표 3).

Table 3. Degree of mycelial growth, and production of pycnidium and spore horn of 18 isolates of *Diaporthe citri* on PDA

Isolate	Mycelial growth ^z	Pycnidium production ^y	Spore horn production ^y
Cu- 8	++ ^x	++	++
Cu-16	++	++	++
Cu-10	++	++	++
Pu- 1	++	++	++
Pu-18	++	++	++
Pu- 2	++	+	+
Nu- 9	++	++	++
Nu-11	++	++	++
Nj- 4	++	++	++
Nk- 5	+++	+++	+++
Su-14	++	++	++
Sg- 3	+++	+++	+++
Sc- 6	++	+++	+++
Sm- 7	++	++	++
Sh-12	++	++	++
Sn-13	++	++	++
Su-15	++	+	+
Sp-17	++	++	++

^z Degree of mycelial growth was examined 5 days after incubation at 25°C.

^y Pycnidium and spore horn productions were measured from 40-day-old PDA cultures.

^x +: little, ++: intermediate, and +++: abundant.

또한 菌株別로 病原性을 確認하기 위하여 果實에 接種해 본 結果 모든 菌株에서 검은점무늬병 症狀이 發現되었다(그림 2 F). 검은점무늬병 發病 果率은 全 菌株에서 40~100%로 나타났는데, Nj-4, Nk-5, Sg-3 菌株에서

100%의 發病果率을 보였으며, 發病度는 Cu-10, Pu-1, Su-15 菌株에서 낮았고 Nk-5, Sg-3, Nj-4, Sn-13 菌株에서 높은 편으로 菌株에 따른 病原性的의 差異가 認定되었다(표 4). 이와 같은 菌株에 따른 病原性的의 差異는 이미 井上와 芹澤(1968)가 보고한 바 있다.

Table 4. Pathogenicity to citrus fruits of 18 isolates of *Diaporthe citri* from citrus twigs when artificially inoculated with spore dropping to fruit surface in a growth chamber

Isolate	No. of fruits inoculated	% fruits infected	Degree of disease severity ^z
Cu- 8	10	70	12.2
Cu-16	10	60	11.1
Cu-10	10	40	6.7
Pu- 1	10	50	7.8
Pu-18	10	80	20.0
Pu- 2	10	50	10.0
Nu- 9	10	80	20.0
Nu-11	10	90	16.7
Nj- 4	10	100	26.7
Nk- 5	10	100	34.4
Su-14	10	70	10.0
Sg- 3	10	100	33.3
Sc- 6	10	80	20.0
Sm- 7	10	90	21.1
Sh-12	10	80	22.2
Sn-13	10	90	25.6
Su-15	10	60	8.9
Sp-17	10	90	23.3

^z Degree of disease severity = $\{(A \times 1) + (B \times 3) + (C \times 5) + (D \times 7) + (E \times 9) / n \times 9\} \times 100$, where A is the number of fruits with infested area of less than 1%, B with 1~5%, C with 6~25%, D with 26~50%, E with more than 50%.

3) 病原菌의 遺傳的 變異 調査

(1) RAPD patterns

各 菌株로부터 抽出한 DNA를 주형으로 하여 PCR를 實施한 結果, 모든 primer에서 多樣한 polymorphism이 觀察되었고 遺傳的 變異 分析이

可能하였다. 표 5에서 보는 바와 같이 본 실험에 사용한 16개의 primer에서 검출되는 증폭된 切片數는 8個(OPA-11)에서 26個(OPA-04)까지로 다양하게 나타났으며, 각 primer 당 切片數는 平均 19.8個였다. 그리고 증폭된 DNA 切片의 크기도 다양하여 分子量이 0.3 kb에서 3.0 kb까지 임을 알 수 있었다. 본 실험에 사용한 16개의 primer 중에서 증폭된 DNA 切片數가 비교적 많은 OPA-04(26個), OPA-07(25個), OPA-09(23個) 등을 이용한 RAPD band patterns을 그림 3, 4 및 5에 나타냈다. primer OPA-04와 OPA-07은 3' 末端的 鹽基配列이 -GGC[G]TG로 相同성이 높으나 5' 末端的 鹽基配列이 달랐고, primer OPA-09는 OPA-04와 OPA-07과 鹽基配列 上 相同성이 거의 없었다 (표 5).

Table 5. Code and sequence of the 16 primers used with the total number of amplified DNA fragments and size of polymorphic DNA fragments obtained with each primer in random amplified polymorphic DNA(RAPD) experiments

Code	Sequence 5' to 3'	No. of amplified fragments	Size of fragments(bp)
OPA-04	AATCGGGCTG	26	3000-400
OPA-05	AGGGTCTTG	22	2000-500
OPA-07	GAAACGGGTG	25	1800-450
OPA-08	GTGACGTAGG	20	3000-600
OPA-09	GGGTAACGCC	23	2400-400
OPA-10	GTGATCGCAG	17	2800-300
OPA-11	CAATCGCCGT	8	2800-600
OPA-12	TCGGCGATAG	18	2500-600
OPA-13	CAGCACCCAC	14	2000-300
OPA-14	TCTGTGCTGG	19	1900-400
OPA-15	TTCCGAACCC	20	2600-300
OPA-16	AGCCAGCGAA	25	1600-300
OPA-17	GACCGCTTGT	21	3900-400
OPA-18	AGGTGACCGT	16	1600-400
OPA-19	CAAACGTCCG	19	2100-350
OPA-20	GTTGCGATCC	25	3000-500

Primer OPA-04를 利用하여 全 分離菌株의 DNA를 增幅시켜 얻은 RAPD pattern에서 Sg-3 菌株와 Sp-17-3 菌株에서 가장 많은 26個의 절편이 檢出된 반면, Nu-9 菌株에서는 가장 적은 11個의 절편이 檢出되었다. 또한 分子量은 Pu-2 菌株에서 0.4 kb의 DNA 切片이 檢出되었으며, Sg-3, Sm-7, Cu-10 및 Nu-11의 菌株 等에서 3.0 kb의 절편이 檢出되었다(그림 3).

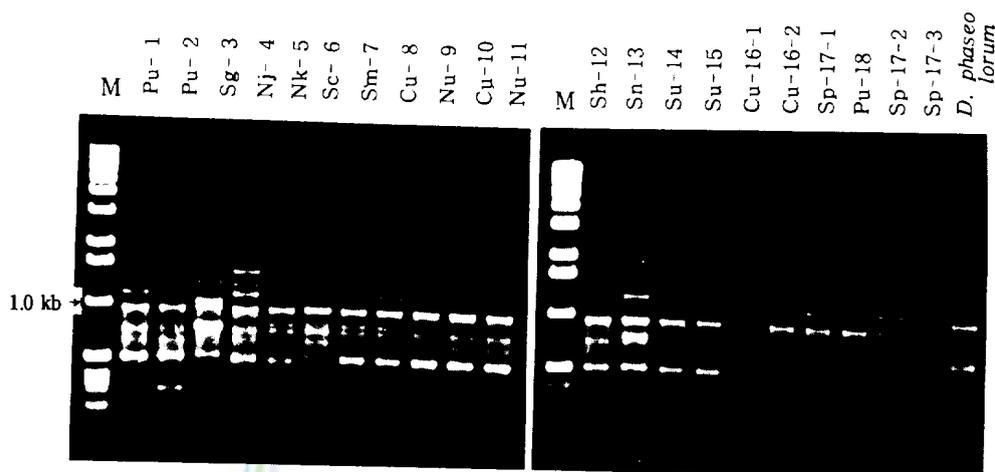


Fig. 3. RAPD patterns of 18 isolates of *Diaporthe citri* with primer OPA-04 (5'AATCGGGCTG3') on 1.5 % agarose gel. Lane M : 1 kb DNA ladder (Gibco BRL) for a molecular size marker.

한편, primer OPA-07를 利用한 RAPD pattern에서도 Sg-3 菌株에서 10個의 절편이 檢出되는 것으로부터 Cu-10과 Nu-11 菌株에서 25個의 절편이 檢出되는 것까지 多様な band pattern을 보였으며, 分子量은 Pu-2와 Nu-9 菌株에서 0.45 kb의 切片이, 그리고 Sp-17-1, Sp-17-2, Sp-17-3 菌株 및 *D. phaseolorum*에서 1.8 kb의 切片이 檢出되었는데, primer OPA-04를 利用했을 때보다 比較的 低分子量의 절편이 많이 檢出되었다(그림 4).

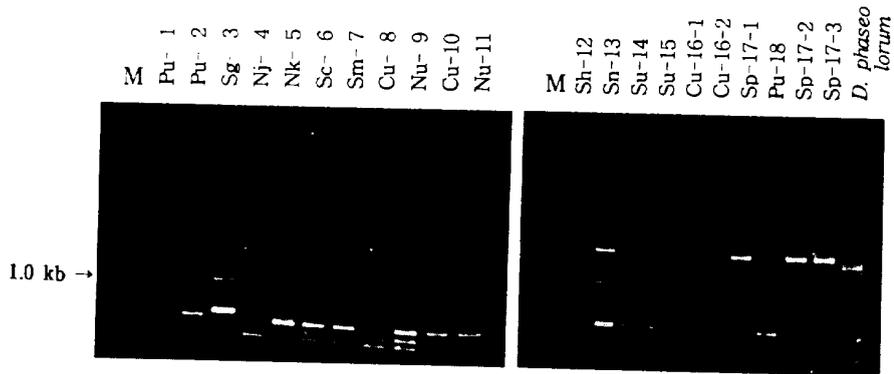


Fig. 4. RAPD patterns of 18 isolates of *Diaporthe citri* with primer OPA-07(5'GAAACGGGTG3') on 1.5 % agarose gel. Lane M : 1 kb DNA ladder (Gibco BRL) for a molecular size marker.

Primer OPA-09를 이용한 RAPD pattern에서는 분자량이 0.4 kb(Pu-2, Nu-9 菌株)에서 2.4 kb (Sg-3 菌株) 사이에 切片數가 8個 (Pu-8 菌株)로부터 23個 (Sg-3, Sn-13 菌株)까지 역시 多様な band pattern을 보였다(그림 5).

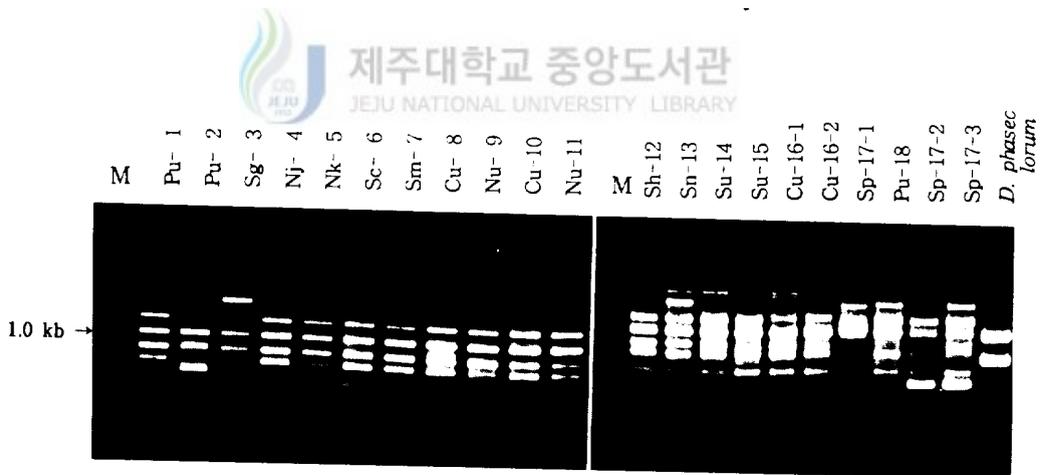


Fig. 5. RAPD patterns of 18 iaolates of *Diaporthe citri* with primer OPA-09(5'GGGTAACGCC3') on 1.5% agarose gel. Lane M : 1 kb DNA ladder (Gibco BRL) for a molecular size marker.

(2) Cluster 分析

RAPD pattern으로부터 各 菌株들間에 類似度 指數를 Dice의 方法(Rahlf, 1990)으로 計算한 matrix는 表 6과 같다.

全體 分離 菌株들 중에서 Sh-12와 Su-14, Cu-10과 Nu-11, Sh-12와 Su-15, Su-14와 Su-15, Cu-16-1과 Cu-16-2, Sp-17-2와 Sp-17-3의 類似度 指數는 各各 0.991, 0.987, 0.982, 0.973, 0.969, 0.960으로 높게 나타난 반면, Pu-2와 Sg-3은 他 菌株들에 相對적으로 낮은 類似度 指數를 나타냈고 *Diaporthe phaseolorum*은 상당히 낮은 類似度 指數를 나타냈다. 이 類似度 指數를 UPGMA에 入力하여 Cluster 分析 結果 그림 6과 같은 phenogram으로 나타낼 수 있었다. 21個의 *Diaporthe citri* 菌株와 1個의 *Diaporthe phaseolorum* 菌株들은 genetic similarity 0.74에서 A, B, C, D, E의 5개 그룹으로 나눌 수 있었는데, A 그룹에는 Pu-1, Nj-4, Nk-5, Sc-6, Sm-7, Cu-8 및 Nu-9의 7개 菌株가 속하였으며 이들 菌株 間에는 0.83에서 0.91의 遺傳的 類似性이 存在하였다. B 그룹에는 Cu-10, Nu-11, Sh-12, Sn-13, Su-14, Su-15, Cu-16-1, Cu-16-2, Sp-17-1, Pu-18, Sp-17-2 및 Sp-17-3의 12개 菌株가 속하였으며 이들 菌株 間에는 0.84에서 0.99의 遺傳的 類似性이 存在하였다. 그룹 C, D, E에는 各各 Pu-2, Sg-3, *D. phaseolorum* 菌株가 하나씩 存在하였다. 그룹 A와 B 간에는 74%의 類似性이 있었으며 그룹 B와 C 사이에는 64%의 類似性이, 그룹 C와 D 사이에는 55%, 그룹 D와 E 사이에는 27%의 類似性이 存在하였다.

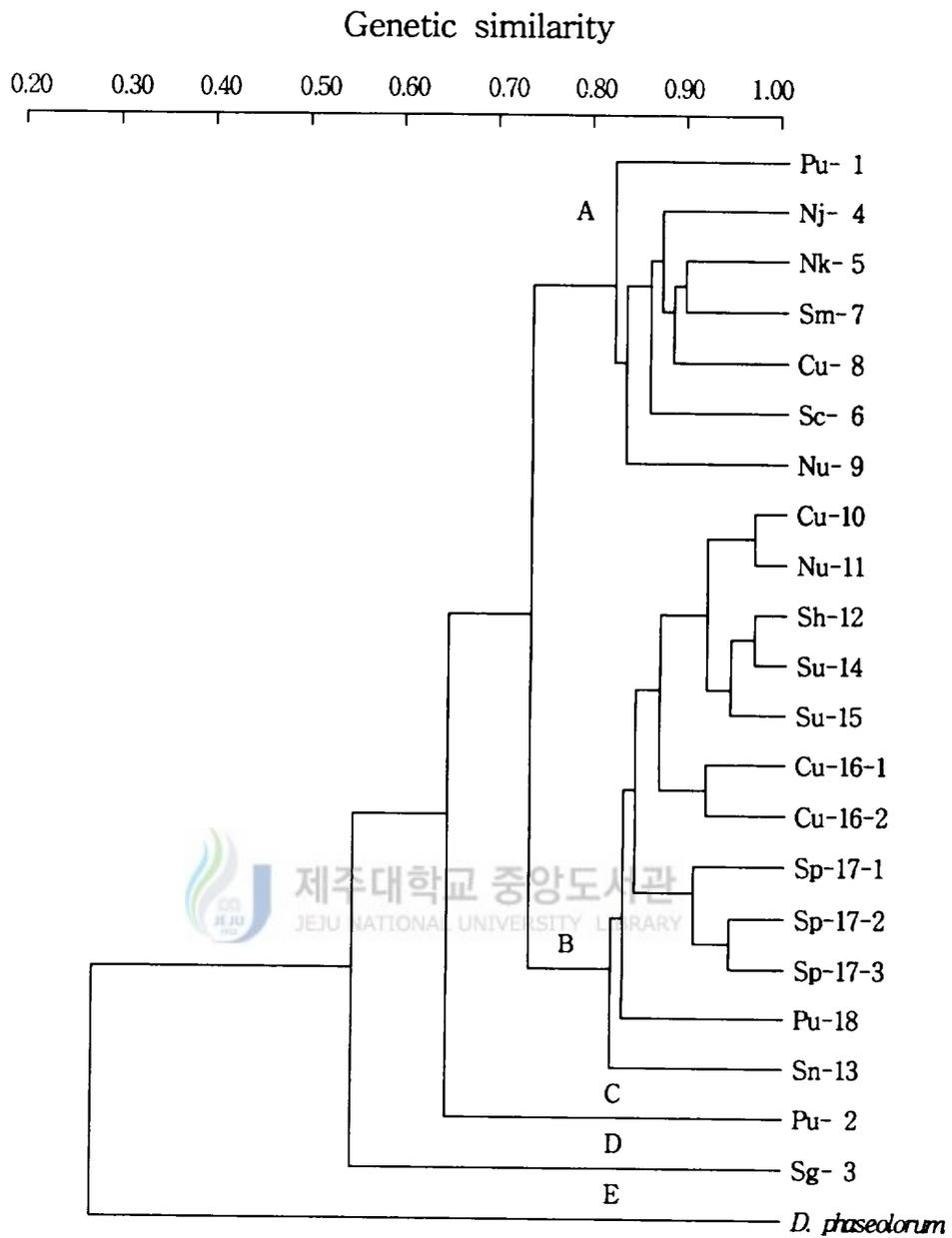


Fig. 6. Phenogram showing relationships among 21 isolates of *Diaporthe citri* and an isolate of *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae*, based on genetic similarities examined by a random amplified polymorphic DNA analysis with 16 primers.

4) 病原菌의 生育에 미치는 要因

(1) 溫度

菌絲의 生育에 미치는 溫度의 影響을 調査한 結果는 表 7과 같다. 菌絲는 26℃에서 가장 旺盛한 生育을 보였지만 乾物重으로 볼 때에는 20℃와 23℃에서 가장 좋았고 17℃와 29℃에서는 菌絲 生育이 약간 떨어졌으며 乾物重도 같은 傾向을 보였다. 이와 같은 結果는 田中等(1950)의 報告와도 一致하는 結果이지만 今後 細部的인 溫度水準을 두어 再檢討할 必要가 있다고 생각되었다.

Table 7. Effect of temperature on the vegetative growth and dry weight of *Diaporthe citri* on PDA

Temp. (°C)	Mycelial growth (mm)							Dry ^z weight (mg/Flask)
	24hr	48hr	72hr	96hr	120hr	144hr	168hr	
17	6.0	11.5	16.5	23.6	29.4	37.8	45.0c ^y	471.7b
20	8.4	19.5	30.3	42.8	53.0	63.9	73.4a	928.8a
23	8.0	19.1	30.0	43.3	54.7	65.6	74.1a	849.6a
26	10.5	23.8	33.6	46.0	54.9	67.6	78.5a	777.1a
29	9.9	20.1	26.0	34.1	42.4	48.8	57.5b	523.2b

^z Dry weight was measured five days after incubation.

^y Means within each column followed by the same letter are not significantly different ($P=0.05$) by Duncan's multiple range test.

(2) pH

培地上에서 菌絲 生育은 pH 7.0과 7.5에서 良好하였으나 乾物重은 pH 6.0, 6.5에서 무거운 傾向을 보여 菌絲 生育 程度와는 一致하지 않았다(표 8). 따라서, 乾物重으로 볼 때 pH 6.0~6.5가 適正 pH로 생각되어지며 이와 같은 結果는 適正 pH가 6이라는 田中와 中村(1950)의 報告와 비슷하였다.

Table 8. Effect of pH on the vegetative growth and dry weight of *Diaporthe citri* on PDA

pH	Mycelial growth(mm)							Dry ^z weight (mg/Flask)
	24hr	48hr	72hr	96hr	120hr	144hr	168hr	
4.0	6.8	16.7	22.8	26.0	31.9	50.6	56.4d ^y	289.4d
4.5	8.8	18.5	26.8	38.4	45.1	53.9	59.4cd	628.2bc
5.0	8.9	19.4	27.9	39.4	45.8	55.2	59.7cd	726.9b
5.5	6.8	18.0	26.3	38.2	45.2	51.5	56.4d	630.4bc
6.0	6.5	17.3	24.0	36.3	45.0	54.1	60.7c	1171.2a
6.5	8.6	18.4	27.0	40.1	48.4	55.6	62.9c	1160.4a
7.0	8.3	19.5	28.9	43.9	53.4	63.2	71.5a	449.0c
7.5	7.9	18.2	35.5	42.7	52.6	62.9	71.3a	462.7c
8.0	8.5	19.0	28.9	42.4	52.1	62.0	69.5ab	513.2a
8.5	8.2	18.8	28.7	42.6	53.8	63.7	71.5a	458.4c
9.0	8.1	18.6	27.6	41.4	50.7	59.7	67.4b	446.8c

^z Dry weight was measured five days after incubation.

^y Means within each column followed by the same letter are not significantly different ($P=0.05$) by Duncan's multiple range test.

(3) 培地の種類

5種의 培地를 利用하여 菌絲의 生育을 調査한 結果 PDA 培地에서 가장 生育이 旺盛하였고, 다음이 YMA 培地, MEA, NA, Czapeck's 培地 順이었으며 乾物重도 같은 傾向이었지만 다만 Czapeck's 培地보다 NA 培地에서 적었다(표 9). 이와 같이 PDA, YMA 培地에서 菌사의 生育이 양호한 것은 이들 배지에 菌의 生長에 필요한 질소원과 탄소원이 많이 함유되어 있기 때문에 생각된다.

Table 9. Vegetative growth rate of *Diaporthe citri* on various culture media

Media ^z	Mycelial growth(mm)							Dry ^y weight (mg/Flask)
	24hr	48hr	72hr	96hr	120hr	144hr	168hr	
PDA	9.8	18.5	29.3	39.4	48.9	58.8	67.9a ^x	855.9a
MEA	8.7	14.9	21.2	28.1	36.3	44.1	51.1c	273.2c
NA	7.8	13.7	18.6	25.2	31.0	36.7	40.7d	56.7d
YMA	9.9	17.6	26.2	35.7	44.5	51.8	58.2b	751.4b
CZA	6.6	11.3	14.6	19.9	24.0	28.7	32.6e	108.5d

^z PDA: potato dextrose agar, MEA: malt extract agar, NA: nutrient agar, YMA: yeast malt agar, CZA: Czapeck's agar.

^y Dry weight was measured five days after incubation.

^x Means within each column followed by the same letter are not significantly different ($P=0.05$) by Duncan's multiple range test.

(4) 營養源

菌絲의 生育에 미치는 營養源의 效果를 알아보기 위해 窒素源과 炭素源에 대한 濃度別 培地實驗을 實施한 결과는 표 10과 같다. 窒素源 中 菌絲의 生育에는 yeast extract가 가장 效果적이었고, 그 다음으로 peptone, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaNO_3 순이었다. 濃度別로 볼 때 yeast extract의 境遇 乾物重은 3,000 ppm에서 가장 무거웠으나 菌絲의 生育으로 볼 때에는 1,000 ppm에서 가장 양호하였다. peptone의 경우에도 濃도가 높을수록 菌絲 生育에 效果的이었지만 500 ppm區 이상에서 농도간 有意差는 인정되지 않았다. NaNO_3 의 경우는 500 ppm, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 는 500~1,000 ppm, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 는 1,000~3,000 ppm에서 良好한 生育을 보였고 대체로 질소가 많이 들어있는 배지조성쪽에서 생육이 다소 양호한 경향이었다.

炭素源 種類別로 볼 때 菌絲의 生育에는 sucrose, maltose, starch가 良好하였고 濃도가 높을수록 菌絲 生育에 效果적이었다(표 11).

특히 sucrose 20% 첨가배지에서 균의 생육이 양호하였는데 이는 당의 구조상 다른 다당류에 비해 균에 의한 흡수, 분해 등이 용이하기 때문인 것으로 생각된다.

Table 10. Effect of different concentrations of various nitrogen sources on vegetative growth of *Diaporthe citri* using czapeck's agar as basal media

Nitrogen source	Concentration (ppm)	Mycelial growth(mm)							Dry ^z weight (mg/Flask)
		24hr	48hr	72hr	96hr	120hr	144hr	168hr	
Yeast extract	100	5.6	11.6	18.3	27.0	34.1	43.7	52.1d ^y	184.8d
	500	6.0	13.1	24.3	37.3	51.6	64.4	76.7b	576.4c
	1000	6.2	13.6	26.3	40.8	54.8	70.4	83.4a	827.7b
	2000	6.7	14.5	26.8	39.4	52.3	64.0	76.3bc	799.5b
	3000	6.5	15.1	27.6	40.0	51.0	63.1	74.3c	1077.1a
Peptone	100	6.4	13.2	20.0	28.1	36.7	44.7	52.3d	160.4b
	500	7.1	14.3	25.3	34.7	45.0	55.4	65.7c	322.0a
	1000	6.8	13.9	24.7	35.0	47.2	58.6	71.3b	336.6a
	2000	6.6	14.9	25.7	37.9	51.7	64.8	77.0a	335.1a
	3000	6.5	14.3	26.2	39.2	53.9	65.3	78.0a	345.0a
NaNO ₃	100	5.2	9.1	13.5	17.4	22.9	26.7	31.8b	139.4b
	500	5.1	9.0	14.0	19.1	23.8	29.0	34.7a	200.1a
	1000	5.0	9.4	13.8	18.9	20.7	24.9	27.4cd	139.5b
	2000	5.1	8.3	13.8	17.3	19.9	22.6	25.4d	149.4b
	3000	5.1	9.1	13.9	16.8	19.5	23.7	27.7c	152.2b
(NH ₄) ₂ SO ₄	100	5.2	9.8	14.7	20.6	25.9	32.0	36.1ab	171.4b
	500	5.2	9.2	14.9	21.7	28.1	32.6	37.0ab	205.0a
	1000	5.2	9.7	15.2	21.7	28.1	32.9	37.8a	207.2a
	2000	5.4	9.6	15.0	19.8	27.0	31.7	36.8ab	176.8b
	3000	5.4	9.7	13.4	19.0	25.1	30.6	35.4b	166.2b
Ca(NO ₃) ₂	100	5.4	9.6	14.7	19.3	25.0	31.8	39.0d	156.6c
	500	5.3	10.8	16.4	20.9	25.5	32.3	39.1d	167.1c
	1000	5.7	10.4	15.8	21.0	27.3	34.7	42.8c	205.4b
	2000	5.6	10.9	19.2	25.1	31.3	38.8	47.2b	213.0b
	3000	5.7	11.0	20.2	26.4	33.8	43.0	51.7a	243.9a

^z Dry weight was measured five days after incubation.

^y Means within each column followed by the same letter are not significantly different ($P=0.05$) by Duncan's multiple range test.

Table 11. Effect of different concentrations of various carbon sources on the vegetative growth of *Diaporthe citri* on czapek's agar as basal media

Carbon source	Concentration (%)	Mycelial growth(mm)							Dry ^z weight (mg/Flask)
		24hr	48hr	72hr	96hr	120hr	144hr	168hr	
Glucose	0.5	6.7	8.2	10.2	12.0	14.9	17.4	19.5e ^y	87.1e
	1.0	7.1	8.9	11.3	13.0	15.6	18.8	19.9e	133.5e
	3.0	7.1	9.7	12.5	15.0	18.0	21.4	24.0d	280.0d
	5.0	7.3	10.3	14.0	17.2	20.1	24.1	26.9c	417.5c
	10.0	7.0	10.1	13.4	17.4	21.7	26.6	31.3b	764.0b
	20.0	7.1	9.9	13.1	17.2	24.2	29.0	34.0a	979.4a
Galactose	0.5	6.3	8.4	10.6	13.2	15.4	17.8	20.7f	56.6e
	1.0	6.9	9.0	11.2	14.6	16.5	18.9	22.3e	92.2e
	3.0	7.3	9.4	13.0	16.6	19.2	23.1	27.4d	254.2d
	5.0	7.0	10.0	13.2	17.2	22.1	26.3	31.8c	376.3c
	10.0	7.1	9.5	13.9	18.9	24.6	30.3	36.3b	627.3b
	20.0	7.3	10.9	15.6	20.7	27.8	33.9	39.8a	939.0a
Fructose	0.5	7.2	8.4	10.4	12.7	15.8	18.0	20.9c	51.1e
	1.0	7.3	9.6	12.2	14.4	17.2	19.6	21.6c	114.0e
	3.0	7.0	8.7	11.3	13.9	17.5	20.0	22.8c	264.1d
	5.0	7.6	9.9	12.3	15.6	19.9	22.5	27.3b	409.4c
	10.0	7.2	8.2	11.2	13.8	18.5	22.6	28.6b	697.9b
	20.0	6.8	8.8	12.3	17.5	24.0	31.3	39.2a	913.2a
Sucrose	0.5	6.4	8.2	10.1	12.2	15.3	18.8	22.3e	169.2d
	1.0	6.8	8.7	11.1	13.2	15.9	18.2	21.7e	187.0d
	3.0	7.0	9.3	12.7	15.5	19.4	24.3	26.5d	450.0cd
	5.0	7.3	10.5	14.4	19.6	24.5	28.2	32.6c	799.4c
	10.0	9.0	13.2	20.0	27.2	33.6	40.0	46.2b	2173.2b
	20.0	9.3	15.3	24.9	36.5	45.8	54.7	64.9a	3249.8a
Maltose	0.5	7.1	8.5	12.2	14.3	17.0	19.1	21.2f	110.0d
	1.0	7.1	9.0	11.6	14.5	17.6	20.1	22.7e	126.0cd
	3.0	8.4	10.9	13.9	16.3	20.0	22.9	26.2d	392.6cd
	5.0	8.5	12.8	16.3	20.2	24.4	26.3	29.1c	449.2c
	10.0	9.8	13.2	18.8	24.0	30.0	35.1	39.9b	1123.7b
	20.0	10.5	14.3	21.1	29.1	37.8	46.8	55.8a	2093.1a
Starch	0.5	5.8	6.8	9.1	10.9	13.8	16.3	19.1c	75.5d
	1.0	6.5	8.0	10.0	12.6	14.8	17.0	20.5bc	181.9d
	3.0	6.1	7.7	10.5	12.5	15.2	17.4	20.8bc	451.9c
	5.0	6.4	7.8	9.5	12.6	14.9	17.3	21.1bc	724.8b
	10.0	7.1	8.9	11.2	13.3	15.9	17.9	21.8b	1724.2a
	20.0	8.0	11.2	14.7	20.3	25.3	29.6	33.7a	1843.3a

^z Dry weight was measured five days after incubation.

^y Means within each column followed by the same letter are not significantly different ($P=0.05$) by Duncan's multiple range test.

2. 發病生態

1) 검은점무늬병 發生消長 및 柄胞子の 發生

20年生 林溫州를 供試하여 1985년부터 1988년까지 4年間 濟州市와 西歸浦市の 濟州農業試驗場 柑橋園에서 調査하였다. 濟州市의 경우 검은점무늬병은 1985年度에 7月 2日부터 發生하기 始作하여 9月 下旬까지 持續되었는데 대체적으로 7月 下旬까지는 發生量이 적었고 8月 中下旬에 많은 發病을 보였다. 柄胞子は 降雨의 패턴과 비슷하게 發生하여 飛散함을 알 수 있었고 8月 上中旬에 發生量이 많아 發病과 聯關이 있음을 確認 할 수 있었다. 1986年度에는 6月 11日부터 검은점무늬병이 發病하기 始作하여 9月 中旬까지 發病되었으며 7月 下旬과 8月 上旬頃 그리고 9月 上旬에 많은 發病을 보였다. 柄胞子の 飛散은 降雨時마다 있었으나 1985年度에 비해 적었다. 1987년에는 調査 全 期間동안 降雨가 고루 分布함에 따라 發病이나 柄胞子 飛散도 降雨패턴과 비슷한 傾向을 보였다. 6월 下旬에 처음 發病하였고 7月 下旬에 가장 많은 發病을 보였다. 1988년에는 대체로 降雨가 적은 해로써 7月 中旬까지 검은점무늬병 發生이 보이지 않았고 7月 下旬부터의 降雨로 인하여 8月 上旬에 높은 發病을 보였으며 9月下旬의 늦은 時期까지 發病이 계속되었다. 柄胞子は 降雨時마다 飛散되었으나 發生量은 적었다.

이상의 結果를 종합해 보면 검은점무늬병은 6月 中旬頃부터 果實에 發生하기 始作하여 9월까지 發病되었으며 7月 中下旬부터 8月 中旬사이에 가장 많은 發病을 보였다. 柄胞子は 降雨時마다 飛散되었는데 1985년에 가장 많았다(그림 7).

西歸浦의 境遇에는 1985년에 降雨量, 柄胞子 發生量, 發病 등이 濟州市의 調査結果와 비슷한 樣相을 보였지만, 1986년에는 9月以後에 降雨가 적어 後期感染이 濟州市보다 적은 傾向을 보였다. 1987, 1988년도는 濟州市와 비슷한 樣相을 보였다. 이상으로 볼 때 西歸浦에서 검은점무늬병은 6月 中旬頃부터 發生되어 9月 下旬까지 계속되었고, 降雨에 따라 柄胞子の 發生이나 發病의 差異를 보였으며, 濟州市와 西歸浦의 地域間 검은점무늬병 發生量도 큰 차이는 없었다(그림 8).

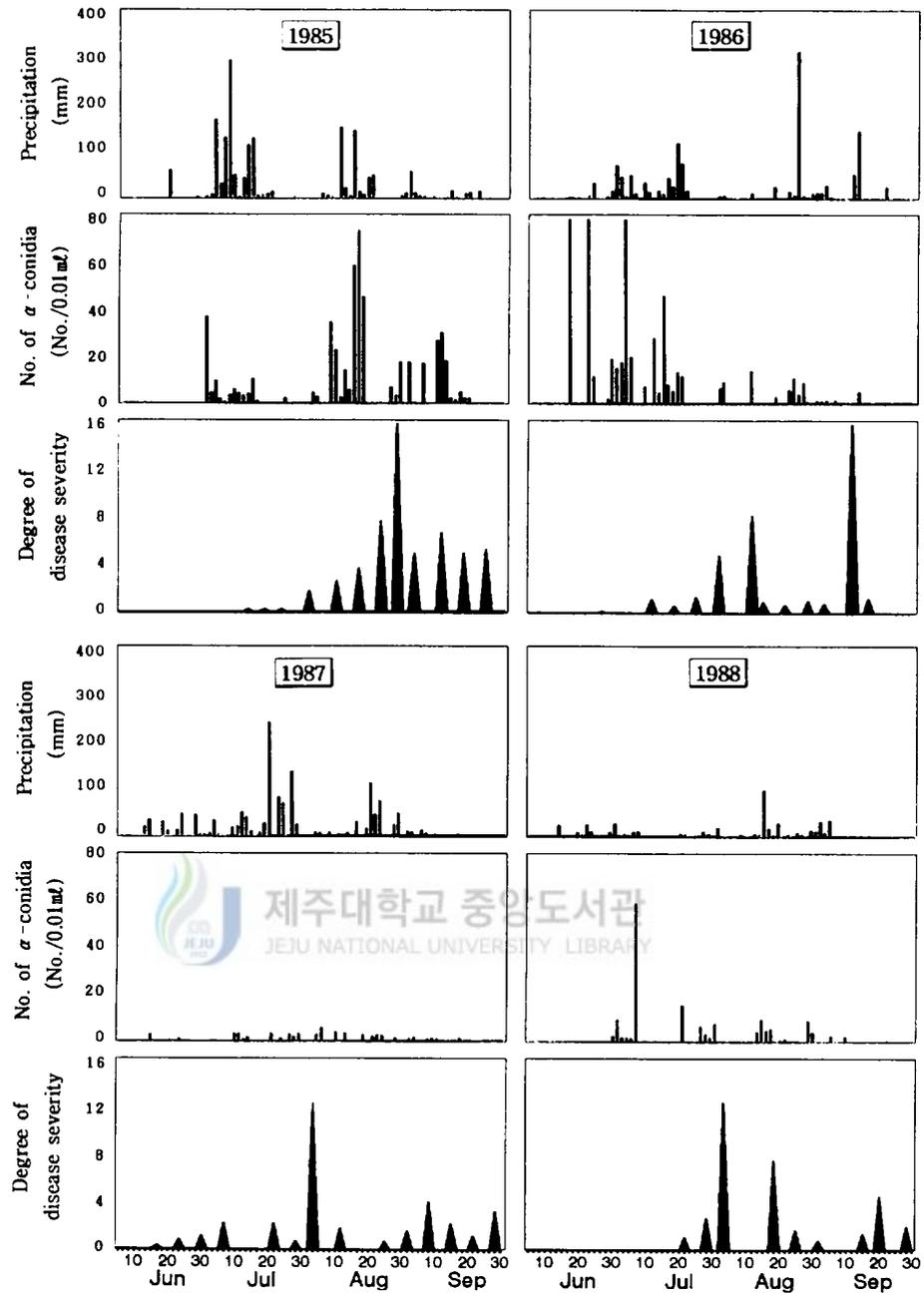


Fig. 7. Seasonal fluctuation of precipitation, number of conidia trapped in fields and the degree of disease severity of citrus melanose on fruits in Cheju city from 1985 to 1988.

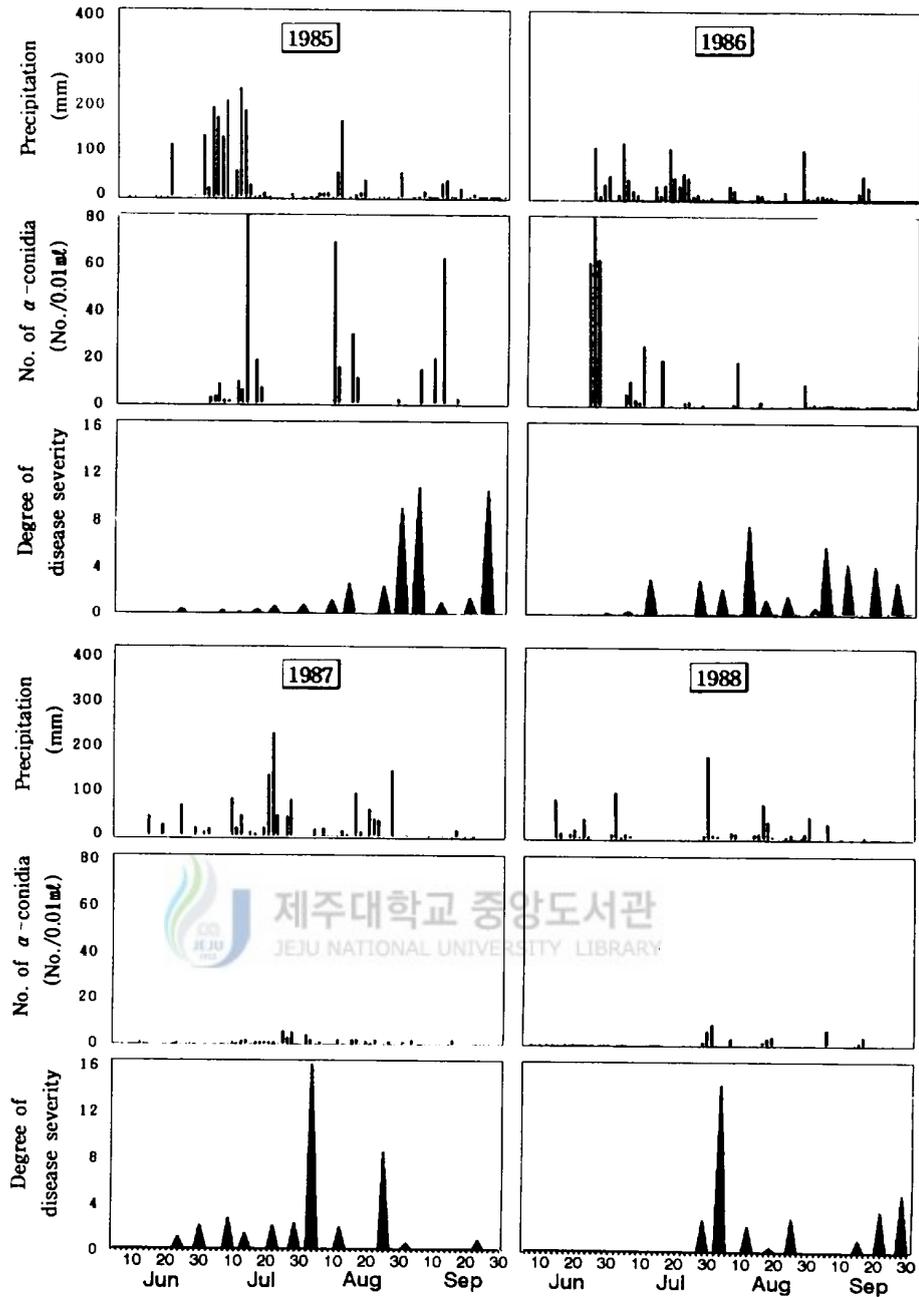


Fig. 8. Seasonal fluctuation of precipitation, number of conidia trapped in fields and the degree of disease severity of citrus melanose on fruits in Seogwipo city from 1985 to 1988.

1985년부터 1988년까지의 降雨와 發病과의 相關關係는 표 12와 같다. 濟州市와 西歸浦 모두 8月 上旬까지의 發病은 降雨量 또는 降雨日數와 유의한 正의 相關關係가 있었다. 後期感染의 경우 濟州市에서는 有意性은 없었으나 降雨와 밀접한 關係를 보였고, 西歸浦의 경우에는 降雨量과 유의한 相關關係가 인정되어 正의 相關關係가 있는 것으로 보였고 年間을 통해서는 濟州市, 西歸浦 共히 有意性은 없었으나 降雨日數보다 降雨量이 더 發病정도와 關係가 있는 것 같았다.

Table 13. Correlation of degree of disease severity of citrus melanose to amount of precipitation and number of rainy days in 1985 to 1988

Infection stage	Location	Independent variable	Correlation coefficient(r)
Early ^z	Cheju city	Amount of precipitation	0.6396
		No. of rainy days	0.9541*
	Seogwipo city	Amount of precipitation	0.8308*
		No. of rainy days	0.8622*
Late ^y	Cheju city	Amount of precipitation	0.5358
		No. of rainy days	0.6178
	Seogwipo city	Amount of precipitation	0.8474*
		No. of rainy days	0.1155
Early + Late	Cheju city	Amount of precipitation	0.4275
		No. of rainy days	0.3594
	Seogwipo city	Amount of precipitation	0.5270
		No. of rainy days	0.0372

^z Early : from June to early August.

^y Late : from mid August to early October.

2) 發病에 대한 濕潤時間 및 溫度의 영향

濕潤時間과 溫度가 柄胞子の 發芽에 미치는 影響은 그림 9와 같다. 그림에서 보는 바와 같이 柄胞子는 23℃와 26℃에서 培養 5時間後부터 發芽하기 始作하여 11時間 後에 50% 以上 發芽했고 15時間 後에 90% 以上 發芽되었는데 26℃에서 다소 發芽率이 높았다. 그러나, 20℃와 29℃에서는 7時間, 17℃에서는 11時間 後에 發芽가 始作되었으며, 17℃에서 發芽율이 가장 낮았다.

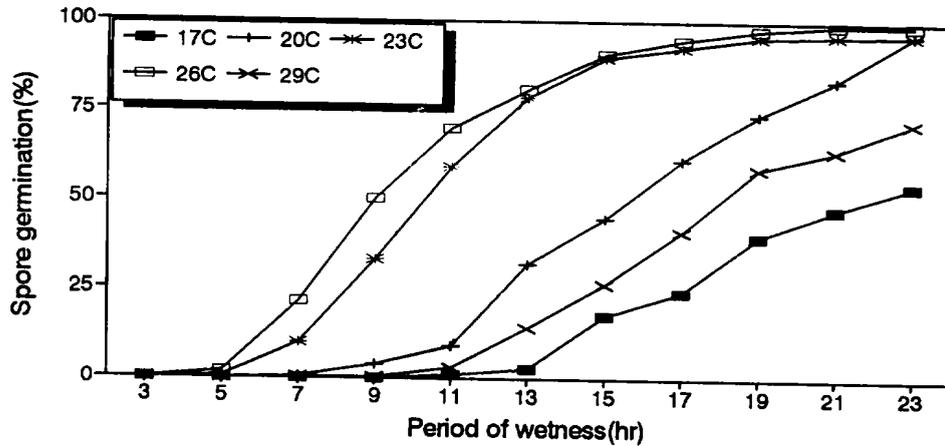


Fig. 9. Change in cumulative percent of conidial germination of *Diaporthe citri* as affected by temperature.

이상의 결과로 볼 때發芽에 가장 좋은溫度는 26℃로 생각되었으며 이는 有本等(1980, 1982)의 결과와도一致한다.

표 13은 果實表面에 柄孢子 懸濁液이 附着되어 있는 濕潤時間과 溫度가 發病에 미치는 影響에 대하여 實驗한 結果이다. 모든 溫度에서 公히 濕潤時間이 길어질수록 發病率이 높았고 發病程度도 심했으며 潛伏期도 짧아졌다. 17℃에서는 濕潤時間이 20時間 이상일 때부터 9日 後에 發病되었고, 20℃에서는 10時間 濕潤 時부터 5~8日 後에 發病되었다. 23℃, 26℃도 마찬가지로 10時間 濕潤 時부터 發病되었는데 23℃의 10時間 濕潤區는 8日 後에, 25時間 濕潤區는 5日 만에 發病되었고 26℃에서는 20時間 以上 濕潤時 3日 만에 發病되었으며 發病果率도 높았다. 그러나, 29℃에서는 15時間 濕潤時 9日 後부터 發病되기 始作했고 發病果率도 26℃보다 떨어졌다. 이상의 結果로 볼 때 검은점무늬병 發病에는 23~26℃에서 濕潤時間이 10時間 程度가 必要하며 濕潤 時間이 길어질수록 發病이 많아짐을 확인할 수가 있었는데 이와 같은 結果는 牛山(1976), 有本等(1982)의 報告와도 비슷하였다.

Table 13. Effects of temperature and wetness period on the development of citrus melanose on fruits examined by artificial inoculations in a growth chamber

Temp. (°C)	Period of wetness (hr)	Days required for symptom development	Symptom severity ^y	% fruits infected ^z
17	5	-	-	0.0
	10	-	-	0.0
	15	-	-	0.0
	20	9	+	13.3
	25	9	+	6.7
20	5	-	-	0.0
	10	8	+	6.7
	15	8	+	13.3
	20	7	+ ~ ++	20.0
	25	5	+ ~ ++	26.7
23	5	-	-	0.0
	10	8	+	13.3
	15	6	+	26.7
	20	5	+ ~ ++	46.7
	25	5	+ ~ ++	53.3
26	5	-	-	0.0
	10	8	+	33.3
	15	6	+ ~ ++	46.7
	20	3	++	80.0
	25	3	++	100.0
29	5	-	-	-
	10	-	-	-
	15	9	+	13.3
	20	8	+	40.0
	25	8	+	33.3

^z Disease development was observed 12 days after incubation at 25°C.

^y Symptom severity -: none, +: slight, ++: intermediate, +++: severe.

Note: Five fruits, 3 spots per fruit were inoculated by placing a drop of conidial suspension of *Diaporthe citri*.

3) 感染時期 및 病症

圃場에서 果實의 發育進展에 따른 시기별 自然接種 結果는 표 14와 같다. 1992년도에는 비닐하우스 내의 pot苗木을 降雨時마다 비닐하우스 밖에서 培養가지를 利用 自然接種 후, 다시 하우스에 넣어 降雨가 遮斷 되도록 하였으며, 1993년도에는圃場에서 接種 後 봉투를 씌워 降雨에 의한 再感染을 防止하였다. 2년에 걸쳐 幼果期인 6月 4일부터 9月 29일까지 接種試驗을 수행한 結果, 接種 全 期間을 통하여 發病되었는데 대체로 6月下旬부터 7月 下旬까지의 接種 時에 높은 發病度를 나타내었고 接種 時期가 늦어질수록 發病度는 低下하였다.

Table 14. Effect of time of inoculation on melanose development of fruits

Date of inoculation		Precipitation (mm)	No. fruits sampled	Degree of disease severity ^x
1992 ^z	Jun 4	65.0	17	54.2
	Jun 22	29.1	14	68.9
	Jul 12	43.0	21	69.3
	Aug 6	14.5	16	63.9
	Aug 25	105.0	12	45.9
	Sep 13	38.7	18	33.3
	Uninoculated	-	15	0.0
	1993 ^y	Jun 7	20.5	15
Jun 21		123.1	15	33.3
Jul 7		9.1	15	37.8
Jul 13		95.6	15	43.0
Jul 21		55.3	15	68.9
Aug 17		39.4	15	29.6
Sep 11		23.0	15	16.3
Sep 29		30.2	15	11.9
Uninoculated		-	15	0.0

^z Cultivated in greenhouse after natural inoculation.

^y Sealed with paraffin papers after natural inoculation.

^x See Table 4.

검은점무늬병 發病症狀은 黑點形과 泥塊形, 淚斑形으로 나타났으나 대부분의 果實에서는 黑點形 病班症狀을 보였고, 傳染源이 많아 빗방울 속

의 柄孢子 濃度가 짙을 때에는 泥塊形이나 淚斑形 病斑으로 나타났다(그림 10). 일반적으로 7月 이전의 感染 때에는 病斑의 黑點이 黑色~黑褐色으로 突出되었으며 突出部位 周邊에 흰색 테가 생겼다. 8月 以後부터는 感染時期가 늦어질수록 褐色~赤褐色으로 나타나며, 突出現狀이 점차 낮아지거나 없었고 흰색 테도 희미하거나 보이지 않았으며 9月 以後에는 症狀이 赤褐色~赤色으로 나타나 佐佐木(1965)의 보고와도 일치하였다.

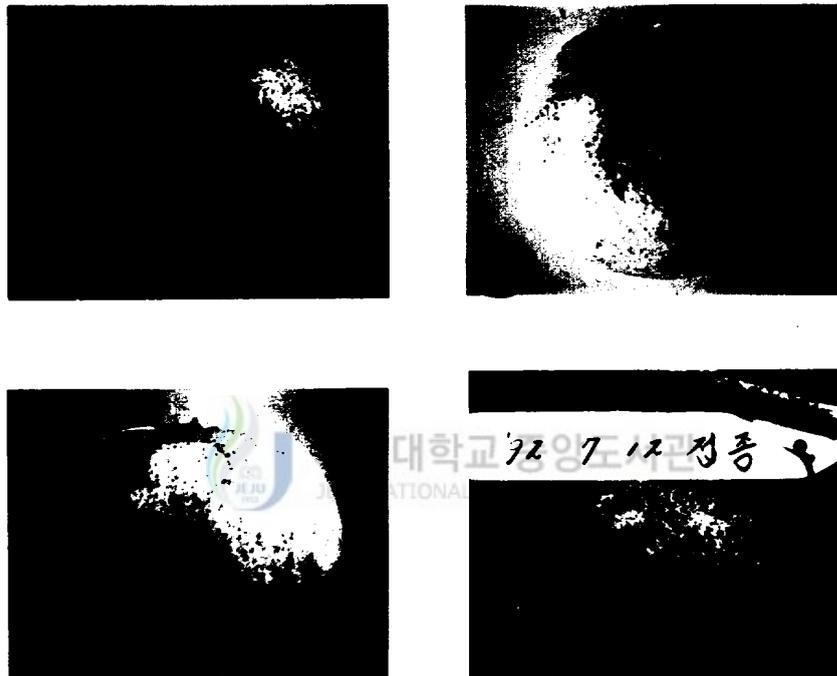


Fig. 10. Various symptoms of citrus melanose developed on fruits by natural inoculation.

- A : Black spot pattern. B : Mud-caked pattern.
 C : Tear-stain pattern.
 D : Typical symptom developed by artificial inoculation using dead twigs at the time of rainfall.

4) 品種間 검은점무늬병 發病 比較

興津早生 등 5品種을 供試하여 시기별 검은점무늬병 發病果率을 調査한 結果 供試品種 共히 8月 中旬에 100%의 發病果率을 나타냈다 (표 15). 品種別 發病度는 松山早生과 宮川早生, 立間早生에서 약간 많은 傾向을 보였는데, 이는 興津早生이나 三保早生보다 樹冠이 작고 結實이 直果위주로 着果되어 果梗枝가 많이 發生하기 때문인 것으로 생각된다(표 16).

Table 15. Changes in percent fruits infected with melanose of different cultivars of early-maturing Satsuma mandarin in 1992 and 1993

Date	% fruits infected										
	1992					1993					
	Okitsu	Miho	Miya gawa	Matsu yama	Tachi ma	Okitsu	Miho	Miya gawa	Matsu yama	Tachi ma	
Jun	10	10.0	7.5	10.0	12.5	12.5	5.0	7.5	7.5	5.0	7.5
	20	15.0	17.5	17.5	17.5	25.0	7.5	12.5	12.5	7.5	12.5
	30	20.0	17.5	32.5	37.5	35.0	10.0	12.5	12.5	10.0	15.0
Jul	10	25.0	22.5	35.0	37.5	40.0	22.5	20.0	25.0	35.0	37.5
	20	65.0	55.5	50.0	47.5	57.5	30.0	32.5	35.0	37.5	40.0
	30	67.5	70.0	65.0	50.0	65.5	47.5	45.0	40.0	40.0	47.5
Aug	10	100	100	100	90.0	97.5	57.5	57.5	75.5	75.0	65.0
	20	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	30	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Sep	10	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	20	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	30	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Table 16. Changes in degree of disease severity developed on fruits of different cultivars of early-maturing Satsuma mandarin in 1992 and 1993

Date		Degree of disease severity ²									
		1992					1993				
		Okitsu	Miho	Miya gawa	Matsu yama	Tachi ma	Okitsu	Miho	Miya gawa	Matsu yama	Tachi ma
Jun	10	1.7	0.8	1.1	1.4	2.2	0.6	0.8	0.8	0.6	0.8
	20	1.7	1.7	1.7	3.6	3.9	0.8	1.4	1.4	0.8	1.4
	30	3.3	2.5	4.7	8.6	9.4	1.1	1.4	1.4	1.1	1.7
Jul	10	5.0	3.6	6.7	8.1	10.6	4.2	3.3	5.0	5.8	7.2
	20	7.9	11.9	9.4	9.7	14.7	0.7	6.4	6.7	6.7	9.4
	30	18.0	16.1	19.2	15.6	19.7	10.3	8.3	8.9	9.2	7.8
Aug	10	26.7	33.9	37.8	27.8	31.9	19.2	18.2	24.2	24.4	19.7
	20	35.0	38.9	40.0	37.2	35.0	29.4	31.9	29.7	33.9	33.9
	30	37.2	41.7	41.1	38.3	36.1	31.7	33.9	33.3	36.1	34.4
Sep	10	40.0	41.7	42.8	48.3	38.3	47.8	45.6	52.2	53.9	53.9
	20	40.0	40.6	48.3	44.4	41.1	46.1	48.6	54.4	55.0	52.8
	30	38.9	40.0	48.3	45.6	41.7	47.2	46.1	52.8	54.4	52.2

² See Table 4.

普通温州는 早生温州에 비하여 약간 늦게 發病이 進展되었는데 이는 果實發育이 早生温州보다 약간 늦기 때문인 것으로 생각된다. 그러나 9月에는 供試 5品種 共히 100%의 發病果率을 보였다(표 16). 果實에 대한 品種別 發病度는 供試 5品種 共히 8月 上旬부터 增加되기 始作하여 9月 中旬까지 發病되었으며, 品種間 差異는 그다지 없는 傾向이었지만 南柑 20호 温州에서 약간 많은 傾向을 보였다(표 17).

Table 17. Changes in percent fruits infected with melanose of different cultivars of common Satsuma mandarin in 1992 and 1993

Date		% fruits infected									
		1992					1993				
		Haya shi	Sugi yama	Yone zawa	Sillver hill	Nam kan 20	Haya shi	Sugi yama	Yone zawa	Sillver hill	Nam kan 20
Jun	10	7.5	10.0	5.0	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	5.0	2.5
	20	10.0	17.5	10.0	5.0	7.5	7.5	7.5	10.0	2.5	7.5
	30	10.0	17.5	7.5	7.5	12.5	10.0	7.5	12.5	10.0	7.5
Jul	10	15.0	20.0	10.0	7.5	15.0	17.5	20.0	17.5	20.0	20.0
	20	20.0	35.0	25.0	22.5	25.0	25.0	27.5	30.0	21.0	27.5
	30	30.0	40.0	37.5	32.5	27.5	27.5	32.5	30.0	35.0	32.5
Aug	10	62.5	90.0	95.0	85.0	82.5	50.0	60.0	60.0	60.0	62.5
	20	92.5	100	92.5	92.5	100	85.0	87.5	90.0	95.5	97.5
	30	97.5	100	97.5	92.5	100	100	100	100	100	100
Sep	10	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	20	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	30	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Table 18. Changes in degree of disease severity developed on fruits of different cultivars of common Satsuma mandarin in 1992 and 1993

Date		Degree of disease severity ²									
		1992					1993				
		Haya shi	Sugi yama	Yone zawa	Sillver hill	Nam kan 20	Haya shi	Sugi yama	Yone zawa	Sillver hill	Nam kan 20
Jun	10	0.8	1.1	0.6	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.6	0.4
	20	1.1	1.7	1.1	0.6	0.8	0.8	0.8	1.1	0.8	0.7
	30	1.1	1.7	0.8	0.8	1.4	1.1	0.8	1.4	1.1	1.0
Jul	10	2.2	3.3	1.1	0.8	1.7	3.6	3.9	2.5	4.4	5.0
	20	4.4	7.2	5.0	3.1	3.9	5.6	7.5	8.3	6.1	6.4
	30	7.2	9.4	5.8	5.8	6.1	9.7	8.6	6.7	8.3	8.6
Aug	10	14.2	18.3	23.9	21.7	20.3	12.5	16.1	16.7	15.3	19.2
	20	26.4	27.6	15.5	23.6	27.8	22.2	24.2	21.4	27.2	25.8
	30	28.6	28.9	28.6	25.8	31.1	27.8	30.0	31.7	29.4	26.7
Sep	10	33.3	28.9	30.0	30.0	32.8	37.8	42.8	42.2	43.3	45.6
	20	30.1	31.1	33.9	31.1	34.4	47.8	48.3	46.1	47.2	47.8
	30	31.7	31.7	33.9	31.1	35.6	47.2	47.8	47.8	46.1	47.2

² See Table 4.

晚柑類의 品種別 發病果率은 8月 中旬에 거의 100%를 나타내었으며 (표 19), 발병도는 八朔, 柚子, 金柑子 등에서 대체로 높은 경향이였다. (표 20). 柑橘 系統別로 볼 때 全 系統 共히 대체로 검은점무늬병 發病이 많아 系統에 관계없이 검은점무늬병에 罹病性으로 생각되었으며, 그 중에서도 晚柑類에서 發病度가 약간 높았고 普通温州에서 낮은 傾向을 보였는데(그림 11), 이는 晚柑類의 경우 剪定을 생략하는 경우가 많아 다른 가지 發生이 많기 때문이 아닌가 생각된다. 이와 같이 供試 系統·品種間에 發病의 差異를 확인할 수 있었는데 감귤의 품종간 차이에 대하여는 이미 水澤와 橫木 等(1929)이 보고한 바 있다.

Table 19. Changes in percent fruits infected with melanose of different cultivars of late-maturing citrus in 1992 and 1993

Variety	year	% fruits infected											
		Jun			Jul			Aug			Sep		
		10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30
Natsu daidai	1992	2.5	5.0	7.5	10.0	37.5	45.0	100	100	100	100	100	100
	1993	5.0	10.0	12.5	17.5	32.5	37.5	65.0	100	100	100	100	100
Hwang-geum hakyul	1992	0.0	2.5	2.5	5.0	40.0	45.0	100	100	100	100	100	100
	1993	5.0	7.5	7.5	15.0	35.0	37.5	42.5	100	100	100	100	100
Marumelo	1992	2.5	10.0	10.0	12.5	47.5	52.5	100	100	100	100	100	100
	1993	2.5	10.0	10.0	15.0	37.5	42.5	75.0	100	100	100	100	100
Hassaku	1992	5.0	10.0	10.0	12.5	97.5	100	100	100	100	100	100	100
	1993	2.5	15.0	15.0	25.0	45.0	47.5	87.5	100	100	100	100	100
Juzu	1992	10.0	10.5	25.0	32.5	87.5	95.0	92.5	100	100	100	100	100
	1993	10.0	12.5	17.5	27.5	45.0	47.5	92.5	100	100	100	100	100
Kiyomi	1992	5.0	5.0	5.0	17.5	22.5	97.5	100	100	100	100	100	100
	1993	2.5	7.5	7.5	12.5	20.0	30.0	40.0	65.0	100	100	100	100
Sirayanagi N. O.	1992	7.5	7.5	7.5	35.0	42.5	87.5	95.0	100	100	100	100	100
	1993	5.0	10.0	10.5	22.5	32.5	42.5	80.0	100	100	100	100	100
Kumquat	1992	- ²	-	-	-	-	10.0	15.0	100	100	100	100	100
	1993	-	-	-	-	-	-	10.0	50.0	100	100	100	100

² Not investigated.

Table 20. Changes in degree of disease severity developed on fruits of different cultivars of late-maturing citrus in 1992 and 1993

Variety	Year	Degree of disease severity ^z											
		Jun			July			Aug			Sept		
		10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30
Natsu daidai	1992	0.3	0.6	0.8	1.1	8.6	10.0	33.3	34.4	36.7	39.4	42.8	42.5
	1993	0.6	1.1	1.4	4.4	8.1	10.3	18.6	32.8	32.8	52.2	52.8	51.7
Hwang-geum hakyul	1992	0.0	0.3	0.3	0.6	7.2	9.4	32.2	40.0	36.6	38.9	42.8	42.2
	1993	0.6	0.8	0.8	2.8	8.9	8.1	10.3	31.7	32.2	47.2	49.2	48.9
Marumelo	1992	0.3	0.6	2.2	2.5	11.4	12.5	36.1	39.4	39.2	44.4	50.1	50.0
	1993	0.3	0.6	1.1	4.4	9.7	9.2	25.3	34.4	35.0	60.0	59.4	58.1
Hassaku	1992	0.6	0.6	1.7	1.9	35.8	38.3	40.0	42.2	45.0	45.6	46.1	46.4
	1993	0.3	2.2	2.2	6.7	11.1	11.4	28.3	35.6	36.1	59.4	60.1	55.6
Juzu	1992	1.1	1.1	4.2	6.9	28.6	30.6	38.1	40.0	43.6	44.4	45.0	44.4
	1993	1.1	2.3	2.5	8.3	10.3	13.1	30.3	34.4	36.1	58.9	58.9	58.3
Kiyomi	1992	0.6	0.6	2.5	3.6	34.7	35.0	40.1	39.7	43.3	43.9	43.3	43.3
	1993	0.3	0.8	1.9	3.3	20.6	9.4	18.3	34.4	36.1	57.2	55.0	56.7
Sirayanagi N. O.	1992	0.8	0.8	6.7	9.2	29.2	32.8	39.4	43.3	44.4	45.0	48.3	47.7
	1993	0.6	1.1	1.1	4.7	9.2	10.8	20.6	34.4	35.6	57.8	57.5	56.1
Kumquat	1992	-	-	-	-	-	1.1	2.8	34.4	41.1	42.7	44.4	45.3
	1993	-	-	-	-	-	-	1.7	11.7	27.8	61.1	61.7	60.0

^z See Table 4.

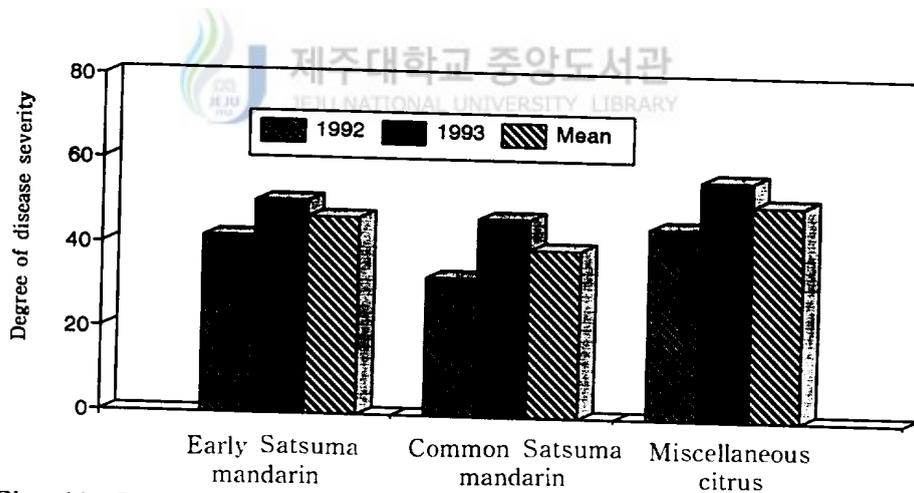


Fig. 11. Degrees of disease severity of melanose in three groups of citrus varieties in 1992 and 1993.

3. 藥劑防除

1) 防除時期

果實의 發育初期인 6月 1日부터 累計 降雨量 別로 農藥을 撒布한 後 防除效果를 檢討하였다. 累計 降雨量이 150 mm 時 藥劑를 撒布한 處理區에서 平均 5回의 農藥撒布로 7.8의 發病度를 나타내어 검은점무늬병의 防除에 가장 效果的이었으며 累計降雨量 250 mm 時의 藥劑 撒布區에서는 25.5의 發病度를 보여 防除效果가 떨어졌고 그 이외의 處理區에서는 높은 發病度를 나타내었다(표 21).

Table 21. Effect of spray schedule determined by cumulative precipitation on development of citrus melanose in 1992 and 1993

Spray schedule in terms of cumulative precipitation	Total no. of spray		Degree of disease severity ^z		
	1992	1993	1992	1993	Mean
Spray at every 150mm	4	6	9.2a	6.3a	7.8a ^y
Spray at every 250mm	3	4	17.1b	33.9b	25.5b
Spray at every 350mm	2	3	27.1c	44.9bc	36.0c
Spray at every 450mm	2	3	26.9c	54.5cd	40.8cd
Spray at every 550mm	2	3	27.5c	54.1cd	40.8cd
Control	-	-	40.5d	64.2d	52.8d

^z See Table 4.

^y Means within each column followed by the same letter are not significantly different ($P=0.05$) by Duncan's multiple range test.

표 22는 藥劑 撒布時期와 回數가 發病에 미치는 영향을 나타낸 것으로 기존의 農家 慣行撒布인 6月부터 8月까지의 3回 撒布區에서 25.3~38.4의 發病度를 보인 반면, 4回 撒布 時에는 19.8~26.7, 5回 撒布 時에는 19.3~25.6, 6月 1日부터 15日 間격으로 6回 撒布 時에는 10.2의 發病度를 보여 撒布回數가 많을수록 防除效果가 良好하였다.

Table 22. Effect of spray schedule on development of citrus melanose in 1992 and 1993

Total no. of chemical spray	Spray date						% fruits infected	Degree of disease severity ^z
	Jun		Jul		Aug			
	1	15	1	15	1	15		
3	S ^y	-	S	-	S	-	81.1e ^x	28.3c
3	-	S	-	S	-	S	88.9e	38.4d
4	-	S	S	S	-	S	70.0bc	19.8b
4	S	-	S	S	-	S	74.8cd	26.7c
5	S	S	-	S	S	S	78.2d	19.4b
5	S	S	S	-	S	S	68.2b	25.6c
5	S	S	S	S	-	S	72.9bc	24.8c
5	S	S	S	S	S	-	68.2b	19.3b
6	S	S	S	S	S	S	56.3a	10.2a
0	-	-	-	-	-	-	100.0f	50.3e

^z See Table 4.

^y Mancozeb was sprayed at labeled rate.

^x Means within each column followed by the same letter are not significantly different ($P=0.05$) by Duncan's multiple range test.

2) 藥劑撒布量 및 展着劑 加用效果

Mancozeb 水和劑 500培를 稀釋倍數로 하여 10a當 300ℓ부터 700ℓ까지 100ℓ 단위로 5水準의 撒布量을 設定하였고, 여기에 展着劑 加用撒布와 無加用 撒布의 防除效果를 檢討하였다. 展着劑 加用, 無加用 撒布區 모두 藥劑 撒布量이 많을수록 發病度가 적었으며, 展着劑 加用時 發病度가 낮아 防除效果가 향상되었다. 展着劑 加用的 경우에는 300ℓ/10a구에서 發病度가 약간은 높았지만 500ℓ/10a 이상의 撒布量 處理區와는 發病度 差異가 그다지 심하지 않았다. 展着劑의 無加用 時에는 500ℓ/10a 撒布量까지도 높은 發病度를 보였고 600ℓ/10a의 處理區에서 展着劑 加用的 300ℓ/10a 처리구와비슷한 結果를 보였다(표 23). 이와 같이 本 試驗에서는 展着劑 加用效果가 뚜렷하였는데 이는 固着性이 강한 展着劑는 殺菌劑와 混用해도 좋다는 山田와 西野 等(1978)의 報告와 一致하였다.

Table 23. Effects of the amount of the fungicide Mancozeb and addition of spreader on development of citrus melanose during 1985 to 1988

Fungicidal treatment	Amount of application (ℓ /10 a)	Degree of disease severity ^z				
		'85	'86	'87	'88	Mean
Mancozeb WP ^y + Spreader ^x	300	31.6a ^w	14.3c	15.5b	18.6a	20.0d
	400	25.2a	10.8ab	13.0b	16.1a	16.3c
	500	20.2a	9.7b	12.8b	15.9a	14.7bc
	600	22.5a	5.4a	5.7a	15.9a	12.4ab
	700	19.4a	2.3a	4.3a	14.2a	10.1a
Mancozeb WP	300	45.0c	19.5c	17.6bc	39.1b	30.3ab
	400	35.4bc	14.9bc	17.8bc	39.6b	26.9ab
	500	30.3ab	16.4bc	18.7c	33.5b	24.7ab
	600	23.5a	15.1b	12.5ab	18.8a	17.5a
	700	21.5a	9.9a	10.6a	19.4a	15.4a

^z See Table 4.

^y Dithane-M was applied at labeled rate.

^x Polyoxy ethylene alkyl aryether · sodium ligno sulfonate was added as a spreader at the rate of 10 ml/20 ℓ.

^w Means within each column followed by the same letter are not significantly different ($P=0.05$) by Duncan's multiple range test.

3) 高濃度 藥劑撒布 效果

藥劑 高濃度 撒布試驗을 實施한 結果는 표 24와 같다. 6月 1일부터 8月 20일까지 20日 間隔으로 適正 稀釋倍數인 Mancozeb 水和劑 500培의 5回 撒布區에서 18.3의 發病度を 나타낸 반면, 高濃度處理인 Mancozeb 水和劑 100培의 6月 10日과 7月 30日 2回 處理區에서 39.5, 6月 10일부터 1개월 間隔 3回 處理區는 23.7의 發病度を 나타내어 防除效果가 떨어졌고, Mancozeb 250培液 3回 處理區에서도 27.1의 發病度を 보여 高濃度 撒布效果가 인정되지 않았다. 이와 같은 結果는 金(1977)의 報告와도 一致하는 것으로 高濃度 撒布보다는 다른 方向에서의 撒布回數 減少를 위한 研究가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

Table 24. Effect of concentration and time of spray of the fungicide Mancozeb on development of citrus melanose in 1992

Dilution rate	Spray date	% fruits infected	Degree of disease severity ^z
100	Jun 10, Jul 30	90.7c	39.5c ^y
100	Jun 10, Jul 10, Aug 10	82.6b	23.7b
250	Jun 10, Jul 10, Aug 10	84.5b	27.1b
500	Jun 1, Jun 20, Jul 10, Jul 30, Aug 20	73.1a	18.3a
Control	-	100 d	50.3d

^z See Table 4.

^y Means within each column followed by the same letter are not significantly different ($P=0.05$) by Duncan's multiple range test.

4) 검은점무늬병 省力 防除 效果

高速噴霧機와 스프링클러에 의한 防除效果를 檢討하기 위하여 慣行方法인 動力噴霧機에 의한 人力防除를 對照로하여 試驗을 遂行하였다. 農藥 撒布時間은 密植園에서 動力噴霧機 防除時 110.2분(시간/10a/1인)이 所要된데 비하여, 間伐園에서는 65분이 所要되어 撒布努力이 41%정도 減少하였으며, 高速噴霧機 撒布(1/4간벌구)는 19% 水準, 스프링클러 防除의 경우에는

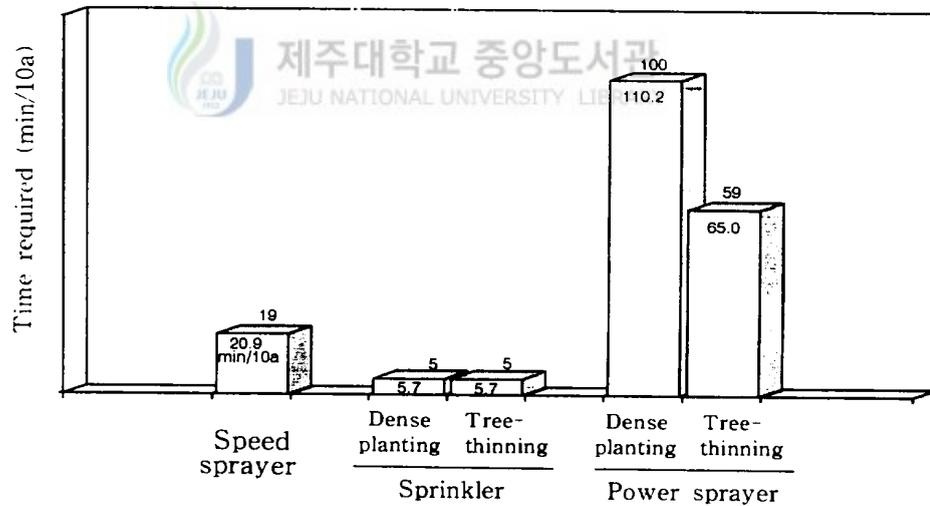


Fig. 12. Labour required for chemical spray in the different spray methods.

密植園, 間伐園(1/2간벌구), 共히 5% 水準으로 減少하여 撤布努力이 節減되었다(그림 12).

防除手段別 農藥 附着量 및 검은점무늬병 發病度는 표 25와 같다. 近距離에서의 農藥附着量은 動力噴霧機 防除時 密植園, 間伐園 共히 앞의 앞, 뒷면에 他處理보다 많이 附着되었으며, 高速噴霧機와 間伐園의 스프링클러 防除 時는 비슷한 附着量을 보인 반면, 스프링클러 防除의 密植園에서는 앞의 뒷면에 農藥附着量이 현저히 적었다. 遠距離에서의 農藥 附着量도 스프링클러 防除區의 密植園에서 적었다. 검은점무늬병 發病度 마찬가지로 動力噴霧機 防除區에서는 密植園이나 間伐園 모두 發病度가 낮았는데, 이는 사람이 직접 撤布했기 때문이며 스프링클러 防除의 密植園은 32.3의 發病度를 보여 防除 效果가 가장 저하되었다. 間伐園의 스프링클러 防除에 비해 高速噴霧機 防除區에서 防除 效果가 약간 낮았으나 有意性은 없었다.

防除方法에 따른 樹冠 部位別 農藥 附着量은 樹冠 上部의 경우 間伐園의 動力噴霧機 防除區에서 가장 많았고 密植園의 스프링클러 防除區에서 가장 낮았는데, 이와 같이 스프링클러 防除區(密植園)에서 農藥附着量이 적은 것은 遠距離에서는 특히 앞 뒷면에서의 農藥 附着量이 적어졌기 때문이다. 樹冠 中央部位에서도 上部와 마찬가지로 間伐園의 動力噴霧機 防除區에서 가장 많았으며, 그 다음이 密植園 動力噴霧機 防除區였고 密植園의 스프링클러 防除區에서 가장 적었으며 이와 같은 結果는 樹冠下部에서도 마찬가지였다. 검은점무늬병 發病도는 樹冠上部에서는 間伐園의 스프링클러 防除區에서 가장 적었고, 中央部位에서는 密植園 間伐園 共히 動力噴霧機 防除區에서 적었으며, 樹冠下部에서는 密植園의 스프링클러 防除區에서 發病도가 현저히 높아 防除效果가 떨어졌다.

스프링클러의 防除 施設時의 노즐設置 方法別 農藥 附着量과 검은점무늬병 發病度 調査結果는 표 26과 같다. 農藥 附着量은 處理別 有意性은 없었으나 노즐上部設置보다 上下部에 設置했을 때 많았는데 특히 近距離 遠距離 共히 앞의 뒷면에 많은 農藥이 附着되었다. 發病도도 노즐 上部設置 時보다 上下部 設置 時 낮았는데, 이는 撤布 藥液이 樹冠全體에 고루 附着되었기 때문으로 생각된다.

Table 25. Effect of spray methods and planting density on fungicide deposition and development of citrus melanose at different position in the canopy (1995)

Canopy level	Spray method	Fungicide deposit (%)					Degree of disease severity ^z		
		Short ^y distance		Long ^x distance		Mean	Short distance	Long distance	Mean
		Adoxial surface of leaf	Abaxial surface of leaf	Adoxial surface of leaf	Abaxial surface of leaf				
Upper	Speed sprayer	75.6ab ^t	43.4de	69.6a	18.5ab	51.8def	20.2cd	32.5	26.4cd
	Sprinkler A ^w	85.3ab	24.1fgh	71.5a	17.8ab	49.7ef	19.6bcd	32.1	25.6cd
	Sprinkler B ^u	80.0ab	37.0ef	83.0a	38.2a	59.6de	13.7abc	14.5	14.1ab
	Power sprayer A	81.5ab	80.0a	-	-	80.8ab	24.0d	-	24.0bcd
	Power sprayer B	88.9ab	77.0a	-	-	83.0ab	18.4bcd	-	18.4abc
Medium	Speed sprayer	77.0ab	50.0cde	72.3a	21.5ab	55.2def	23.6d	39.9	31.8de
	Sprinkler A	77.0ab	18.3gh	68.2ab	17.0ab	45.2fg	27.5de	33.8	30.7de
	Sprinkler B	79.3ab	31.8efgh	77.0a	27.0ab	53.8def	20.4cd	26.8	23.6bcd
	Power sprayer A	86.7ab	57.8bcd	-	-	72.3de	11.8abc	-	11.8a
	Power sprayer B	93.4a	74.8ab	-	-	84.1a	13.6abc	-	13.6ab
Lower	Speed sprayer	75.5ab	34.8efg	68.9ab	14.4ab	48.4ef	23.9d	37.5	30.7de
	Sprinkler A	67.1b	14.4h	46.3b	13.0ab	35.2g	35.9e	45.6	40.7e
	Sprinkler B	75.6ab	22.6efgh	63.3ab	17.8ab	44.8fg	26.8d	28.3	27.6cd
	Power sprayer A	80.0ab	46.7cde	-	-	63.4cd	7.5a	-	7.5a
	Power sprayer B	88.1ab	63.7abc	-	-	75.9b	9.7ab	-	9.7a
Mean	Speed sprayer	76.1a	42.9b	70.3a	18.1a	51.8c	22.5b	36.6b	29.6bc
	Sprinkler A	76.4a	17.7d	62.0a	16.0a	43.3d	27.4b	37.2b	32.3c
	Sprinkler B	78.3a	30.5c	74.5a	27.7a	52.7c	20.3ab	23.2a	21.8b
	Power sprayer A	82.7a	61.5a	-	-	72.1b	14.4a	-	14.4a
	Power sprayer B	90.1a	71.8a	-	-	82.2a	13.9a	-	13.9a

^z See Table 4.

^y Short distance : 1.85 ± 1.35 m.

^x Long distance : 4.35 ± 1.35 m.

^w A: Dense planting.

^u B: Tree-thinning.

^t Means within each column followed by the same letter are not significantly different ($P=0.05$) by Duncan's multiple range test.

樹冠 部位別로 볼 때 農藥 附着量은 樹冠 上部의 경우 노즐 上部設置와 上下部 設置 時 8.4% 程度의 差異를 보인 반면 樹冠 中部에서는 15.1%, 樹冠 下部에서는 13.1%의 差異를 보여 노즐을 上下部에 設置 했을 때 樹冠 中, 下部에 많은 農藥이 附着됨을 確認할 수 있었다. 發病度도 노즐 上下部 設置 時 樹冠의 中, 下部에서 노즐 上部 設置區에 비해 낮은 結果를 나타내었다. 이와 같은 結果로 볼 때 기존의 노즐 上部 固定 設置施設은 앞으로 노즐이 上下部에 自動的으로 移動되면서 撒布할 수 있는 施設로 改善되어져야 할 것으로 생각된다.

Table 26. Effect of nozzle arrangement of sprinkler sprayer on the deposition of the fungicide on citrus leaves and development of citrus melanose in 1995

Canopy level	Nozzle arrangement	Fungicide deposit (%)					Degree of disease severity ^z		
		Short ^y distance		Long ^x distance		Mean	Short distance	Long distance	Mean
		Adoxial surface of leaf	Abaxial surface of leaf	Adoxial surface of leaf	Abaxial surface of leaf				
Upper	Upper	81.5a ^w	28.9abc	72.2a	24.8ab	51.9bc	14.1a	8.8a	11.5a
	Lower and upper	82.6a	43.7a	79.3a	35.6a	60.3ab	14.3a	14.4ab	14.4ab
Medium	Upper	77.8a	21.9bc	72.5a	23.7ab	49.0bc	21.5bc	19.5bcd	20.5c
	Lower and upper	87.4a	45.6a	85.9a	37.8a	64.1a	14.7a	17.6bc	16.2b
Lower	Upper	75.5a	11.5c	61.9a	13.0b	40.5c	25.3c	26.2d	25.8d
	Lower and upper	74.1a	33.7ab	80.0a	26.7ab	53.6ab	18.2ab	22.6cd	20.4c
Mean	Upper	78.3a	20.8b	68.9a	20.5a	47.1a	20.2a	25.3a	23.1b
	Lower and upper	81.4a	41.0a	81.7a	33.3a	59.4a	15.7a	18.2a	17.0a

^z See Table 4.

^y Short distance : 1.85 ± 1.35m. ^x Long distance : 4.35 ± 1.35m.

^w Means within each column followed by the same letter are not significantly different ($P=0.05$) by Duncan's multiple range test.

표 27은 高速噴霧機 防除 時 검은점무늬병의 防除效果를 높이기 위하여 1/2, 1/3, 1/4 間伐區를 두어 試驗을 實施한 結果이다. 農藥 附着量은 기존의 方法인 1/4 間伐區에 비하여 1/2 間伐區에서 현저히 많았는데 이는 앞의 앞뒷면에 農藥이 고루 附着되기 때문이며 1/4 間伐區에서 附着量이 저조한 것은 遠距離의 앞뒷면에 撒布 農藥이 잘 附着되지 않았기 때문이다.

發病度 역시 1/4 間伐區에서 높아 防除效果가 저조하였고 1/2 間伐區에서 防除效果가 양호하였다.

수관부위별로 볼 때 農藥 附着量은 樹冠 部位에 관계없이 1/2 間伐區에서 많았고 1/4 間伐區에서 적었는데 1/2 間伐區의 경우에는 樹冠 전체의 잎뒷면에 많은 農藥이 附着된 반면 1/4 間伐區는 遠距離에서 잎뒷면의 農藥附着量이 低調하였기 때문이다. 발병도도 樹冠 部位에 관계없이 農藥 附着量이 많은 1/2 間伐區에서 發生이 감소하였다.

Table 27. Effect of tree-thinning on fungicide deposition and development of citrus melanose in the application by speed sprayer (1995)

Canopy Thinning level	Thinning amount	Fungicide deposit (%)					Degree of disease severity ^z		
		Short ^y distance		Long ^x distance		Mean	Short distance	Long distance	Mean
		Adoxial surface of leaf	Abaxial surface of leaf	Adoxial surface of leaf	Abaxial surface of leaf				
Upper	1/2	91.1ab ^w	77.8a	-	-	84.5a	13.5a	-	13.5a
	1/3	78.9ab	61.8ab	-	-	70.3b	18.8abc	-	18.8bc
	1/4	80.7ab	60.7ab	77.8	27.0	61.6bc	20.0bc	32.5	26.3bc
Medium	1/2	93.3a	73.7a	-	-	83.5a	15.7ab	-	15.7ab
	1/3	81.5ab	58.1ab	-	-	69.8b	24.7cd	-	24.1cd
	1/4	84.4ab	57.0ab	67.4	28.5	52.7c	23.6cd	39.9	31.8d
Lower	1/2	81.2ab	65.2ab	-	-	73.2a	17.6ab	-	17.6ab
	1/3	80.7ab	45.2b	-	-	63.0b	25.9d	-	25.9cd
	1/4	76.3b	48.8b	65.9	16.7	51.9c	23.9cd	37.5	30.7d
Mean	1/2	88.6a	72.2a	-	-	80.4a	15.6a	-	15.6a
	1/3	80.4a	55.0b	-	-	67.7b	23.0b	-	23.0b
	1/4	80.5a	55.5b	70.3	24.1	55.4b	21.5b	34.5	28.0b

^z See Table 4.

^y Short distance : 1.85 ± 1.35m.

^x Long distance : 4.35 ± 1.35m.

^w Means within each column followed by the same letter are not significantly different ($P=0.05$) by Duncan's multiple range test.

V. 綜合考察

柑橘 검은점무늬병은 마른 가지에 形成되어 있는 검은점무늬병균이 降雨時 빗방울에 섞여 飛散, 果實에 感染됨으로써 發病되는 病害로(Fawcett와 Lea, 1926; 山本, 1991) 柑橘 栽培 時 가장 問題가 되고 있다.

검은점무늬병균은 完全世代인 子囊孢子와(Bach와 Wolf, 1911; Fawcett, 1929; 福岡, 1937; 大和, 1968) 不完全世代인 柄孢子로 區分되는데 보통 柑橘園에서 흔히 發生, 飛散되고 있는 柄孢子에 대한 研究가 많이 이루어져 왔다.

本 試驗에서는 柑橘園에서 蒐集한 마른 가지로부터 菌을 分離한 結果 子囊孢子는 發見되지 않았고 柄子殼과 柄孢子만을 分離할 수 있었고 이들 病原菌의 크기나 形態 그리고 病原性을 調査한 結果 不完全世代인 *Phomopsis citri*로 確認되었다. 分離한 病原菌의 크기는 α 胞子인 경우 $4.7\sim 8.7 \times 1.9\sim 3.5 \mu\text{m}$ 정도였는데, 이는 Fawcett (1936), 田中와 中村(1950) 등이 報告한 病原菌의 크기와 거의 비슷했다. 그러나 安部(1938)는 α 胞子の 크기를 $5.01\sim 11.44 \times 2.57\sim 2.86 \mu\text{m}$, 그리고 水澤와 橫木(1929)는 $6.10\sim 12.20 \times 2.44\sim 4.39 \mu\text{m}$ 로 報告하였는데 연구자에 따른 포자크기의 차이가 어떤 원인에서 비롯되었는지 더욱 검토해야 할 것이다.

검은점무늬병균은 菌株에 따라 病原性에 差異가 있음이 밝혀졌는데 (井上와 芹澤, 1968) 本 試驗에서도 18개 菌株의 病原性을 檢討한 結果 菌株에 따라 差異가 있음을 確認할 수 있어 금후 더 많은 菌株를 確保하여 遺傳的 變異와 病原性 등에 대한 研究가 이루어져야 할 것으로 判斷되었다.

검은점무늬병균에 대한 抵抗性 柑橘의 品種育成이나 새로운 防除法을 開發하기 위해서는 이 菌에 대한 分化 與否나 分化 程度 調査는 필수적인 것이다. 本 試驗에서는 진균을 포함한 여러 生物에서 遺傳的인 多樣性을 調査하기 위하여 널리 사용되어져 온 RAPD 技術을 利用하여 柑橘 검은점무늬병균에 대한 遺傳的 變異 程度를 調査해 본 結果 크게 4個 그룹으로 나눌 수 있었는데 그룹 A와 그룹 B 間에는 74%의 類似性만이 存在하였지만 主要 major band에서는 거의 差異가 없고 minor band에서만 差異가 있어

이들 菌株間에는 實際적으로 큰 差異가 없는 것으로 생각되어진다. 反面에 C그룹인 Pu-2와 D그룹인 Sg-3 菌株는 다른 菌株들과 遺傳적으로 다르게 分化되었음을 알 수 있었다. 그러나 각 그룹들과 菌株의 採集場所 및 品種과는 아무런 關係가 없는 것으로 보아 柑橘 검은점무늬병균들은 地理的 位置나 品種에 따라 分化되지는 않은 것으로 여겨진다. Liyanage 等 (1992)은 柑橘에서 分離한 *Collectotricum gloeosporioids*의 ribosomal DNA의 分析에 의해 2가지 型으로 分類하였으며 이들은 培養的 特性이나 菌叢의 特徵, 그리고 베노밀에 대한 抵抗性 程度에 따라서도 差異가 있었음을 報告한 바 있다. 따라서, 本 試驗에서 다른 菌株들과 많은 差異를 보인 Pu-2와 Sg-3 菌株에 대해서는 今後 培養的 特性이나 病原性 等に 관한 研究가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

分離菌의 生育에 미치는 諸 要因을 檢討한 結果 供試 5種의 培地 中에서는 PDA가 菌의 生育에 가장 適當하여 田中와 中村(1950)의 報告와도 一致하였는데, 이는 배지조성물질 中에 菌의 生育에 필요로하는 탄소와 질소가 다른 배지보다 많이 들어있기 때문에 생각된다.

pH는 6.0~6.5에서 生育이 가장 旺盛하였지만 pH 4.5~5.5範圍에서도 生育이 良好하여 pH 6 부근에서 生育이 양호하였다는 田中와 中村(1950)의 報告와는 비슷하나 本間 等(1979)이 완충액의 pH를 2.2~8.13으로 調整하여 완충액 中에서의 병포자 발아상태를 슬라이드그라스 상에서 관찰한 結果 pH 3.37~5.86에서 발아관 신장이 좋았다는 보고와는 약간 달랐는데 이는 시험방법의 차이 때문에 생각된다.

營養源 中 炭素源으로서는 sucrose, starch, maltose 등에서 菌絲 生育이 良好하였는데 이는 단당류보다 다당류가 高에너지원이고 탄소원 흡수에 의한 pH 등 배지조성 變化가 다당류에서 적기 때문에 생각된다. 本間 等 (1979)은 fructose, glucose, sucrose 順으로 發芽 및 發芽管 伸長에 좋았다는 結果를 報告하였는데 本 시험에서도 배양 1일 후 까지는 5% 농도에서 비슷한 경향을 나타냈는데 이는 菌의 발아에는 單糖류가 効果적임을 암시하고 있다.

窒素源 中에서는 yeast extrat 添加時 生育이 좋았고 炭素源과 窒素源의 比較時 炭素源 添加 培地에서 良好한 生育을 보였는데 이는 菌이 窒素보다 是 炭素源 利用度가 더 높기 때문에 생각되었다.

검은점무늬병 發生은 6月 中旬부터 9月 下旬까지 지속적으로 이루어졌는데 주로 降雨頻度가 많고 降雨量이 많은 7, 8월에 많은 發病을 보였다.

山本(1991)는 검은점무늬병의 最初 發生은 6月上旬으로 報告하여 本 試驗 結果보다 약간 빨랐는데 이는 和歌山縣이 濟州보다 따뜻하여 發芽期, 開花期 등이 1週日정도 빠른 점을 勘案할 때 溫度의 影響으로 생각되나 4 年 동안의 本 조사에서의 초기 發病時期가 약간씩 다른 것은 강우의 영향으로 생각된다. 또한 4年間의 發生消長 調查 結果 濟州道에서는 7月末까지의 前期感染보다는 8月부터 9月까지의 後期感染이 많았는데 최근 果園에서 的 發生樣相도 그와 비슷한 傾向을 보이고 있다. 日本에서도 後期感染에 대하여 많이 언급하고 있으며 이에 대한 研究結果도 많이 이루어졌다(安部, 1938; 大森와 松本, 1964; 田中와 中村, 1950; 佐佐木, 1965; 山本, 1991). 그러나 Burger 등(1923), Winston 등(1927), Ruehle과 Kuntz(1940), 山田와 山本(1961) 등은 後期感染이 일어나지 않는다고 報告한 바도 있는데 이는 調查地의 環境差 異에 의한 것으로 推定된다.

山本(1991)는 검은점무늬병균은 4月부터 9月까지의 降雨에서 다량으로 發生함을 報告하였는데, 本 調查에서도 4月부터 10月上旬까지 柄孢子가 다 량으로 發生하여 같은 結果를 나타내었다.

검은점무늬병 感染은 溫度와 濕潤時間에 의해 좌우된다고 보고했는데 (倉本와 山田, 1957) 本 試驗 結果 23~26℃의 경우 10時間 濕潤時 發病이 되어 本間 等(1988)이 20~28℃에서 8時間 以上 濕潤時에 발병된다는 연 구결과와 비슷하였고 17℃, 29℃에서도 15시간 이상의 습윤상태에서는 발 병됨이 확인되어 온도와 습윤시간은 발병과 밀접한 관계가 있음이 확인되 었다.

1992~1993년도 실시한 圃場에서의 接種試驗 結果 검은점무늬병은 6月 上旬부터 發生되었지만 1985~1988년의 4年동안 수행한 發生消長 調查試

驗에서는 6月 中旬부터 發生이 되어 感染時期의 差異를 보였다. 이는 4년간 遂行한 發生消長 調査가 自然感染에 의한 것이었지만 1992~1993년도는 胞子角이 形成된 培養 가지를 果實마다 매달아 試驗을 수행했기 때문으로 생각되었다. 接種試驗 結果 검은점무늬병 症狀은 黑點形, 泥塊形, 淚班形 3종류로 나타났는데 일반적으로는 黑點症狀 發現이 많았다. 이와 같은 症狀發現의 差異에 대하여 佐佐木(1965)는 傳染源인 枯死枝에서의 柄胞子 形成量과 빛방울 中の 柄胞子 濃度の 差異때문이라 하였다.

品種別 검은점무늬병 差異에 대해서는 橫木 等(1929)이 報告한 바 있다. 本 研究에서는 같은 種內에서는 發病度 差異가 별로 없었으나 種間에는 差異가 있었다. 晚柑類 中 金柑, 八朔, 金柑子, 柚子 等은 대체로 검은점무늬병 發生이 다른 種보다 많은 傾向이었는데, 이는 溫州蜜柑과는 달리 剪定을 소홀히 하거나 自然形으로 栽培하는 경우가 많아 枯死枝 發生이 많기 때문으로 생각되며 金柑도 많은 果實이 着果되어 고사 과정지가 많기때문으로 推定되나 금후 그 原因에 대해서는 再檢討가 必要하다.

검은점무늬병 防除에 대해서는 銅劑에 의한 防除가 主를 이루었으나 (Bahgat, 1928; Burchfield와 Geonaga 1923; Burger 等, 1923; Childs, 1950; Graftrts와 Foy, 1962; Fawcett, 1936; Kuntz와 Ruehle, 1939) 有機合成 農藥 開發이 활발해지면서 현재는 많은 專門藥劑가 등장하였다. 그럼에도 불구하고 農藥 撒布時 防除效果가 不安定한데 이는 藥劑 撒布時期 및 撒布方法에 問題가 있는 것으로 생각된다.

本 研究에서는 農家에서 많이 사용하고 있는 Mancozeb 水和劑를 利用하여 防除時期, 回數, 高濃度 撒布效果, 防除 手段別 效果 등에 대해 檢討하였다. 防除時期 및 回數試驗 結果 累計 降雨量 150 mm 時마다 農藥을 撒布하는 處理區와 6月 1일부터 15日 간격으로 8月 下旬까지 6回 撒布 處理區에서 防除效果가 良好하였는데 6~8月の 氣象環境을 勘案할 때 累計 降雨量이 150 mm가 될 때마다 藥劑를 撒布하는 것이 좋을 것으로 判斷되었다. 이는 一定 期間을 정하여 農藥을 撒布할 경우 再 撒布時日 內에 많은 降雨가 있을 때에는 撒布農藥의 消失로써 검은점무늬병에 感染될 우려가 있기 때문이다.

防除時期에 대한 研究는 井上와 芹澤(1975), 井上 等(1981), 大林(1923), 大林와 松本(1964a, 1967b) 等 많은 研究者에 의해 수행되었으나 試驗 당시의 環境差異에 의해서 結果는 다소 相異하였다.

藥劑撒布量은 成木の 경우 農家에서는 10a당 500 l 를 基準으로 撒布하고 있는데 本 研究 結果 展着劑 加用時에는 400~500 l 의 撒布量으로도 防除 效果가 充分하다고 보나 展着劑를 加用치 않는 경우에는 600~700 l 의 撒布量이 必要할 것으로 생각되었다. 展着劑 加用은 農藥의 葉面 附着量이 떨어져 防除效果가 떨어진다는 山本(1991)의 報告가 있는데 반하여 山田와 西野(1978)는 固着性의 展着劑는 加用해도 좋다는 상반된 見解를 보이고 있었는데 本 試驗에서는 展着劑 加用效果가 뚜렷하였다. 農藥의 高濃度 撒布 目的은 農藥 撒布回數의 節減에 있는데 本 研究 結果에서는 Mencozeb 100배의 2~3回 處理時에도 검은점무늬병 發病도가 높아 高濃度 撒布效果가 認定되지 않았다. 이는 金(1977)의 報告와도 一致하였다.

최근 많은 柑橘栽培 農家에서 스프링클러를 設置하여 防除를 하고 있고 또한 일부 農家에서는 高速噴霧機를 使用하고 있으나 防除效果에 대해 精確한 資料가 없는 실정이다. 스프링클러 防除는 竹中 等(1970)에 의해 實用性이 確認된 後 八田 等(1970), 內田와 大垣(1971) 小笠原 等(1977), 山本(1991) 等 많은 研究者에 의해 研究된 바 있다.

本 研究에서는 動力噴霧機의 人力 防除를 대조로 하여 高速噴霧機와 스프링클러 施設을 利用하여 防除手段別로 防除效果를 檢討하였는데 農藥撒布 所要時間은 動力噴霧機防除에 비해 高速噴霧機 利用 防除 時에는 약 80%, 스프링클러 防除 時에는 95%정도 減少할 수 있어 努力節減 效果가 뚜렷하였으나 防除效果는 대체로 저조하였다. 이는 高速噴霧機 利用 防除時 3列을 남기고 1列을 間伐하여 高速噴霧機의 通路로 使用하게 되는데 농약을 살포하여도 中間列에서는 中段部 以下の 樹冠에 農藥 附着量이 상당히 떨어지게 되기 때문이다. 스프링클러 防除의 密植區도 密植으로 上部에 딱딱한 잎과 가지들로 층을 이루기 때문에 撒布 農藥이 樹冠 下段部까지 到達하기 어려운 狀態가 되기 때문에 생각된다. 그러나 스프링클러 防除

時 間伐區에서는 어느 정도 防除效果가 認定되었지만 樹冠의 中段部나 下
段部 특히 앞 뒷면의 農藥 附着度 增進을 위한 改善策을 강구하지 않으면
안될 것으로 생각되었다.

한편 이러한 점을 補強하기 위하여 스프링클러 施設 時 上部에 노즐을
設置하는 기존의 方法을 대조로 하여 노즐을 上部와 下部에 교호로 設置하
여 防除效果를 檢討한 結果 葉面의 農藥 附着量도 많아졌고 防除效果도 增
進되었다. 따라서 앞으로는 노즐이 상하로 움직이면서 농약이 자동으로 살
포될 수 있는 시설로 개선되어야 하리라 생각된다. 또한 高速噴霧機 利
用 防除時 1/2 間伐區에서는 기존의 1/4間伐區에 비하여 防除效果가 良好
하였지만 農家에서는 間伐에 의한 일시적인 收量 減少를 理由로 기피하는
實情이어서 認識의 轉換이 必要하다고 생각되었다.



VI. 摘 要

柑橘 검은점무늬병의 發病原因과 效果的인 防除方法을 究明하기 위하여 病原菌의 分離同定, 病原性, 遺傳的 變異 分析, 生育條件 등을 檢討하였으며 또한 發生 生態 및 몇가지 藥劑防除 方法에 대하여 實驗한 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 病原菌의 分離同定 및 生理的 性質

1-1. 柑橘의 마른 가지로부터 分離된 病原菌은 不完全 世代인 *Phomopsis citri*(完全世代 *Diaporthe citri*)로 同定되었고 接種試驗 結果 分離菌의 病原性을 確認할 수 있었다.

1-2. 검은점무늬병균 柄子殼과 α -胞子の 크기는 각각 $112.2 \sim 614.4 \mu\text{m}$ 와 $4.7 \sim 8.7 \times 1.9 \sim 3.5 \mu\text{m}$ 였다.

1-3. 18개의 分離菌株는 RAPD의 genetic similarity에 의한 cluster 分析 結果 4개 group으로 分類되었다.

1-4. 分離菌은 PDA培地에서 發育이 旺盛하였고, 適正 pH 範圍는 6.0~6.5였으며, 菌絲生育 最適溫度는 26℃였다.

1-5. 營養源別 菌絲의 生育을 調査한 結果 炭素源으로서는 sucrose, starch, maltose를, 窒素源으로서는 yeast extract, peptone을 添加한 培地에서 菌絲生育이 가장 良好하였다.

2. 검은점무늬병 發生生態

2-1. 검은점무늬병 發生消長 調査 結果 6月 中旬부터 시작하여 9月 下旬까지 發生하였는데 주로 7, 8월에 많은 發病을 보였으며 年次間 地域間 약간의 發病時期와 發病度 差異를 보였다.

2-2. 검은점무늬병의 發生은 降雨와 밀접한 關係가 있었는데 특히 降雨量과 검은점무늬병 發生과는 높은 相關關係가 있었다.

2-3. 검은점무늬병의 分生胞子는 23~26℃에서는 濕潤時間이 5時間 경과시부터 發芽하였고, 濕潤 10時間 後부터 發病되었으며 濕潤時間이 길어질수록 發病이 심했다.

2-4. 검은점무늬병 感染時期는 人爲接種 結果 6月上旬부터 9월까지 全果實의 發育期間을 통해 發病되었는데 6月下旬부터 7月下旬에 接種한 果實에서 가장 發病도가 높았다.

2-5. 검은점무늬병 病症은 黑點形, 泥塊形, 淚斑形이 나타났으나 黑點形 病斑이 대부분이었고 泥塊形이나 淚斑形은 빗방울속에 柄胞子 濃도가 높을 때 發生하였지만 發生量은 적었다.

2-6. 柑橘 種別 검은점무늬병 發病調査 結果 晚柑類에서 發病도가 가장 높았으며 그 다음이 早生溫州, 普通溫州 順이었고 같은 種內에서의 品種間 差異는 별로 없었다.

3. 藥劑防除

3-1. 검은점무늬병의 藥劑防除 時期는 6月 上旬부터 8월까지인데 累計降雨量이 150 mm 일때마다 撒布하는것이 效果的이었으며 藥劑撒布 回數는 15日 間隔 6回 撒布時 10.2의 發病도를 보여 防除效果가 良好하였다.

3-2. 藥劑撒布量은 成木의 경우 600 l /10 a가 적당할 것으로 생각되나 展着劑 加用時에는 400~500 l /10 a도 可能하였다.

3-3. 藥劑撒布 回數 減少를 위한 高濃度 藥劑 防除效果는 인정되지 않았다.

3-4. 防除 手段別 農藥 撒布時間은 密植園에서의 動力噴霧機 防除의 撒布時間과 비교했을 때 間伐園의 動力噴霧機 防除는 59% 水準이었고 高速噴霧機 防除는 19% 水準, 스프링클러 防除時에는 5% 水準이었다.

3-5. 防除 手段別 農藥 附着程度는 間伐園의 動力噴霧機 防除區에서 82.2%로 제일 높았고 密植園의 스프링클러 防除區는 43.3%로 가장 낮았다. 樹冠 部位別로 볼 때에도 動力噴霧機 人力撒布區에서 各 部位 모두 農藥 附着量이 많았으며 스프링클러 防除의 密植區에서 가장 적었는데 특히 下段部の 農藥 附着量이 적었다.

3-6. 防除 手段別 검은점무늬병 發病度도 動力噴霧機 防除의 間伐區에서 13.9의 發病度를 보여 가장 防除效果가 좋았으며 스프링클러 防除區의 間伐區와 高速噴霧機 防除區는 21.8, 29.6의 發病度를 보여 防除效果가 약간 떨어졌으며 스프링클러防除의 密植區에서는 32.3의 發病度를 나타내어 防除效果가 低調하였고 樹冠 部位別로 볼 때에도 비슷한 傾向을 보였다.

3-7. 스프링클러 防除 施設時 노즐을 上部에만 設置하는 것보다는 노즐 上下部 設置 時 農藥 附着程度가 높았고 發病度도 낮아서 效果的이었다.

3-8. 高速噴霧機 防除 時 1/4間伐보다는 1/2間伐시 農藥 附着量도 많았고 검은점무늬병 發病度도 낮아져 效果的이었다.

Ⅶ. 引用文献

1. 安部卓爾. 1938. 温州みかんのスターメラノズについて. 日植病報. 4 : 84-85.
2. 青柳寅雄. 1932. 柑橘煤點病とその藥劑撒布の適期について. 病蟲雜. 19 : 442-452.
3. 有本 裕, 本間保男, 見里朝正. 1980. *Diaporthe citri*によるカンキツ黒點病ならびに軸腐病に関する研究, 第2報 *D. citri*のカンキツ葉への感染過程. 日植病報. 46 : 575-581.
4. 有本 裕, 本間保男, 見里朝正. 1982. *Diaporthe citri*によるカンキツ黒點病ならびに軸腐病に関する研究, 第3報 *D. citri*の感染に對するカンキツ果實および葉の反應過程. 日植病報. 48 : 559-569.
5. 有本 裕, 本間保男, 見里朝正. 1986^a. *Diaporthe citri*によるカンキツ黒點病ならびに軸腐病に関する研究, 第4報 黒點病班中に生成される抗菌物質について. 日植病報. 52 : 39-46.
6. 有本 裕, 本間保男, 大澤富彦. 1986^b. *Diaporthe citri*によるカンキツ黒點病ならびに軸腐病に関する研究, 第5報 黒點病班中に生成される抗菌物質の化學構造について. 日植病報. 52 : 620-625.
7. 有本 裕, 本間保男.++++
1986. *Diaporthe citri*によるカンキツ黒點病ならびに軸腐病に関する研究, 第6報 黒點病班中の細胞分裂誘導物質について. 日植病報. 52 : 683-689.
8. 有本 裕. 1987. *Diaporthe citri*によるカンキツ黒點病ならびに軸腐病に関する研究, 第7報 カンキツの自己防衛反應における表皮細胞の役割. 日植病報. 53 : 7-13.

9. 有本 裕, 本間保男. 1988. *Diaporthe citri*によるカンキツ黒點病ならびに軸腐病に関する研究, 第9報 カンキツの自己反應に及ぼす光および温度の影響. 日植病報. 54 : 282-289.
10. 有本 裕, 大澤富彦, 本間保男. 1991. *Diaporthe citri*によるカンキツ黒點病ならびに軸腐病に関する研究, 第12報 黒點病班中の生成される傷ホルモン橡物質について. 日植病報. 57 : 568-572.
11. Audy, P., Laroche, A., Saindo, G., Huang, H. C., and Gilbertson, R. L. 1994. Detection of the bean common blight bacteria, *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* and *X. C. phaseoli* var. *fuscans*, using the polymerase chain reaction. *Phytopathology* 84 : 1185-1192.
12. Bach, W. J. and Wolf, F. A. 1928. The isolation of the fungus that causes citrus melanose and the pathological anatomy of the host. *Jour. Agr. Res.* 37 : 243-253.
13. Bahgat, M. 1928. The action of *Phomopsis californica* in producing a stem- end decay of citrus fruits. *Hilgardia* 3(6) : 153-181.
14. 백운하, 허만호, 홍관우. 1974. 감귤 병해충 방제실태. 혜성출판사. 1 - 43.
15. Beck, J. J., and Ligon, J. M. 1995. Polymerase chain reaction assays for the detection of *Stagonospora nodorum* and *Septoria tritici* in wheat. *Phytopathology* 85 : 319 - 324.
16. Burchfield, H. P. and Geonaga, A. 1957. Same factors governing the deposition and tenacity of copper fungicide spray. *Cont. Boyce. Thomp. Inst. Vol.* 19 : 141-156.
17. Burger, O. H., E. F. De Busk, and Briggs, W. R. 1923. Preliminary report in controlling melanose and preparing Bordeaux oil. *Fla. Agr. Exp. Sta. Bull.*(167) : 123-140.

18. Childs, J. F. L. 1950. Organic v. s. copper fungicides for control of melanose. *Phytopathology* 40 : 719-723.
19. Crafts, A. S. and Foy, C. L. 1962. The chemical and plant surface in relation to the use of pesticides and their residues. *Residue Review* 1 : 112-139.
20. Crowhurst, R. N., Hawthorne, B. T., Rikkerink, E. H. A., and Templeton, M. D. 1991. Differentiation of *Fusarium solani* f. sp. *Cucurbitae* races 1 and 2 by random amplification of polymorphic DNA. *Curr. Genet.* 20 : 391 - 396.
21. Fawcett, H. S. 1911. Stem-end rot of citrus fruits (*Phomopsis* sp.) Florida Agr. Exp. Sta. Bull. 107 : 1-23.
22. Fawcett, H. S. 1912. The cause of stem-end rot of citrus fruits (*Phomopsis citri*). *Phytopathology* 2 : 109-113.
23. Fawcett H. S., 1922. A new *Phomopsis* of citrus in california. *Phytopathology* 12 : 419 - 424.
24. Fawcett, H. S. and Lea, H. A. 1926. Citrus Disease and Their Control. 1st ed. London, 583pp.
25. Fawcett, H. S. 1929. Discovery of the perfect stage of a *Phomopsis* on Lemon bark. *Phytopathology* 19 : 113.
26. Fawcett, H. S. 1932. *Diaporthe citri* (Fow) Wolf the perfect stage of *Phomopsis citri* and *Phomopsis californica*(Abstr.) . *Phytopathology* 22 : 928.
27. Floyd, B. F. 1911. Melanose and stem-end rot. Florida Agr. Exp. Sta. Ann. Rept. 73-81.
28. Floyd, B. F. and Stevens, H. E. 1912. Melanose and stem-end rot. Florida Agr. Exp. Sta. Bull. 111 : 1-16.

29. Roads, A. S. and Devusk, E. F. 1931. Disease of citrus in Florida. Florida Agr. Exp. Sta. Bull. 229 : 1-213.
30. 福岡正信. 1937. 柑橘樹脂病特にその完全時代について. 日植病報. 7(1) : 32-33.
31. Grajal-Martin, M. J., Simon, C. J., and Muehlbauer, F. J. 1993. Use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) to characterize race 2 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*. Phytopathology 83 : 612 - 614.
32. Guthrie, P. A. I., Magill, E. W., Frederiksen, R. A., and Obvody, G. N. 1992. Random amplified polymorphic DNA markers : A system for identifying and differentiating isolates of *Colletotrichum graminicola*. Phytopathology 82 : 832 - 835.
33. 八田茂嘉, 山本省二, 松浦 誠, 夏見兼生. 1970. スプリンクラーによるカンキツ病害蟲防除に関する研究. 和歌山縣果樹園藝試験場臨時報告 1 : 36.
34. 林 武嗣, 西山好幸, 土屋輝雄, 井上一男. 1978. 静岡縣東部地方におけるカンキツ黒點病の發生要因と防除効果の解析, 1. 枯枝の發生實態とその要因. 關東病蟲害研究會報 25 : 75.
35. 林 茂嗣, 西山好幸, 土屋輝雄, 井上一男. 1980. 静岡縣東部地方におけるカンキツ黒點病の發生要因と防除効果の解析 2. 環境要因の實態と發病. 關東病蟲害研究會報 27 : 82.
36. 本間保男, 山田峻一. 1969. カンキツ黒點病の感染ならびに發病に關與する要因. 園藝試験場報告 B 9 : 85-97.
37. 本間保男, 有本 裕, 見里朝正. 1979. *Diaporthe citri*によるカンキツ黒點病ならびに軸腐病に關する研究, 第1報 胞子發芽に及ぼすカンキツ果實抽出液ならびに構成糖, 有機酸の影響. 日植病報. 45 : 9-16.

38. 本間報男, 有本 裕. 1988. *Diaporthe citri*によるカンキツ黒點病ならびに軸腐病に関する研究, 第8報 カンキツ組織における病原菌の病胞子發芽抑制物質の分布. 日植病報. 54 : 1-8.
39. 本間保男, 高橋墳治, 有本 裕. 1989. *Diaporthe citri*によるカンキツ黒點病ならびに軸腐病に関する研究, 第10報 カンキツ果梗基部への *Diaporthe citri*の進展および先在性抗菌物質の消長. 日植病報. 55 : 13-139.
40. Huff, D. R., Bunting, T. E., and Plumley, K. A. 1994. Use of random amplified polymorphic DNA markers for the detection of genetic variation in *Magnaporthe poae*. *Phytopathology* 84 : 1312 - 1316.
41. 北島博. 1978. 果樹の病害, 農業および園藝 53(3) : 465-471.
42. 井上一男, 西ヶ谷昭三. 1963. カンキツ黒點病に関する研究(Ⅱ) 枯枝の病原性ならびに發生生態について. 關西病蟲害研究會報 5 : 27-29.
43. 井上一男, 西ヶ谷昭三. 1965^a. カンキツ黒點病に関する研究(Ⅲ) 傳染について. 關西病蟲害研究會報 7 : 22-28.
44. 井上一男, 西ヶ谷昭三. 1965^b. カンキツ黒點病に関する研究(第4報)病原菌の生活力について. 静岡縣柑橘試験場報告 5 : 51-55.
45. 井上一男, 西ヶ谷昭三. 1965. カンキツ黒點病に関する研究(第5報)發生豫察方法. 静岡縣柑橘試験場報告 6 : 71-85.
46. 井上一男, 芹澤拙夫. 1968. カンキツ黒點病に関する研究(第6報) 菌株による病原性の差異. 静岡縣柑橘試験場研究報告(8) : 71-79.
47. 井上一男, 西ヶ谷昭三. 1972. カンキツ黒點病に関する研究 (第7報) 保菌枝の發生機構. 静岡縣柑橘試験場報告 10 : 76-83.
48. 井上一男, 芹澤拙夫. 1975. カンキツ黒點病の防除藥劑の殘效について. 日植病報. 41(3) : 305-306.

49. 濟州道. 1996. '96 農水産 基本現況. 47-50.
50. Koenraad, H., and Jones, A. L. 1992. The use of allelespecific oligonucleotide probes to characterize resistance to benomyl in field strains of *Venturia inaequalis*. *Phytopathology* 82 : 1354 - 1358.
51. 小泉銘冊. 1965. カンキツ黒點病の胞子形成ならびに胞子型に及ぼす光, 温度および湿度の影響. 果樹試験場報告 B4 : 127-137.
52. 小泉銘冊, 井上一男, 松本英起, 貞松光男. 1977. 電子計算機利用によるカンキツ黒點病發生豫察の試み. 植物防疫 31(4) : 197-144.
53. 小泉銘冊. 1980. 電子計算機利用によるカンキツ黒點病の發生および防除のシミュレーション. 果樹試験場報告 D2 : 39-82.
54. 河野 廣. 1977. スプリンクラ-散液防除に関する實驗的研究.
農業土木試験場報告 16 : 37-110.
55. 金野敬三. 1932. ミカン黒點病菌の豫防について. 病蟲害雑誌 19(1) : 70-72.
56. 金昌元. 1977. 柑橘病害에 관한 研究. 濟州試験場. 試験研究報告書 249-258.
57. 金漢鏞, 金承化, 文德永. 1981. 密植園에 대한 間伐效果 試驗.
濟州試験場 試験研究報告書 171-174.
58. 倉本 孟, 山田峻一. 1957. カンキツ黒點病の感染におよぼす環境條件の影響-とくにぬれの時間について. 果樹試験場報告 B2 : 25-86.
59. Kuntz, W. A. and Ruehle, G. D. 1939. Spraying and pruning for melanose control. Florida. State Hort. Soc. Res. 51 : 89-102.
60. Liyanage, H. D., McMillan, R. T., and Kistler, H. C. 1992. Two genetically distinct populations of *Colletotrichum gleosporioides* from citrus. *Phytopathology* 82 : 1371-1376.

61. 松本英紀, 石井卓男, 大森尙典. 1980^a. ウンシュウミカン果實の結果部位における黒點病感染症の差異. 四國植物防疫研究 15 : 63-68.
62. 松本英紀, 石井卓男, 大森尙典. 1980^b. カンキツ黒點病に對するウンシュウミカン果實の熱誘導感受性. 四國植物防疫研究 15 : 69-72.
63. Manulis, S., Kogan, N., Reuven, M., and Ben-Yephet, Y. 1994. Use of the RADP technique for identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* from carnation. *Phytopathology* 84 : 98-101.
64. McDermott, F. M., Brandle, U., Dutly, F., Haemmerli, U. A., Keller, S., Muller, K. E., and Wolfe, M. S. 1994. Genetic variation in powdery mildew of barley : Development of RAPD, SCAR, and VNTR markers. *Phytopathology* 84 : 1316-1321.
65. 水澤芳次郎, 横木國臣. 1929. 柑橘樹脂病に關する研究(第1報). 新奈川農試年報. 56 : 39.
66. 中西靜雄, 小泉銘冊. 1986. カンキツ黒點病の藥劑效果シミュレーション. 植物防疫 40(4) : 200-204.
67. 夏見兼生, 山本省二. 1973. カンキツ農藥の混用について(4)有機硫黃殺菌劑と他劑混用による黒點病防除效果. 關西病蟲害研究會報. 15 : 80-84.
68. 農村振興廳 . 1995. 農事試験研究 調査基準. 374.
69. 能勢和雄. 1957. 農藥散布と濡れについて. 植物防疫 11(4) : 149-151.
70. 西田藤次. 1914. 柑橘病害と豫防法. 123 - 128.
71. 小笠原靜雄, 木村義典, 伊井谷雄平, 木村陽登. 1977. スプリンクラ-多目的利用に關する研究 (第1報) スプリンクラ-園での藥液の散布量と付着量の關係. 廣島縣果樹試験場研究報告 3 : 15-20.
72. 大森熏. 1973. カンキツ黒點病菌の柄胞子形成におよぼす光の影響. 日植病報. 39 : 127-129.

73. 大森尚典, 松本英紀. 1964. 柑橘黒點病の感染時期に関する研究. 愛媛縣果樹試験場研究報告 4 : 19-29.
74. 大森尚典, 松本英紀. 1967. カンキツ果實の黒點病に對する經濟的防除時期について. 愛媛縣果樹試験場研究報告 5 : 47-57.
75. 大沼佐一. 1936. 温州蜜柑の黒點病豫防試験成績豫報. 中央園藝 397 : 25-29.
76. Punithalingam, E. and Holliday, P. 1973. *Diaporthe citri*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. No. 396. Commonwealth mycological institute, Kew, Surrey, England.
77. Rohlf, F. J. 1990. NTSYS-pc, numerical taxonomy and multivariate analysis system. State Univ. of New York, Stony Brook.
78. Ruhle, G. D. and Kuntz, A. 1933. Melanose and stem-end rot of citrus. Florida. Agr. Exp. Sta. Ann. Rept.: 349-140.
79. Ruhle, G. D. 1940. Melanose of citrus and its commercial control Florida Agr. Exp. Sta. Bull. 349 : 1-54.
80. 佐佐木篤. 1965. 温州ミカン果實における黒點病の後期感染. 日植病報, 30(5) : 246-252.
81. 佐佐木成則. 1965. 柑橘黒點病の防除劑について. 病蟲害雜誌 28(12) : 27-30.
82. Schafer, C., and Wostemeyer, J. 1992. Random primer dependent PCR differentiates aggressive from non - aggressive isolates of the oilseed rape pathogen *Phoma lingam* (*Leptosphaeria maculans*). J. Phytopathology 136 : 124-136.
83. Stevens, H. E. 1918. Melanose II. Florida Agr. Exp. Sta. Bull. 145 : 105-116.

84. Stevens, H. E. 1918. Florida citrus diseases. Florida. Agr. Exp. Sta. Bull. 150 : 1-110.
85. 瀧元清透. 1932. 柑橘 黒點病(*Phomopsi citri*). 日園雜. 40(11) : 1-8.
86. 鈴木照磨, 上杉康彦. 1960. 散布薬液の付着量について. 植物防疫 14 : 293.
87. 田中彰一. 1936. ミカンの黒點病豫防法について. 病蟲害雜誌 23 (5) : 11-14.
88. 田中彰一. 1943. ミカン黒點病およびそうか病の薬劑防除. 農業及園藝 18 : 1229-1223.
89. 田中彰一, 中村俊一郎. 1950. 柑橘黒點病菌に関する研究. 園藝學會雜誌 19 (3,4) : 177-184.
90. 田中彰一. 1955. 柑橘黒點病(メラノズ)に関する研究. 農業及園藝 30(6) : 765-770.
91. 竹中肇, 尾形亮補, 望月勝己, 小野勝己, 横山 洋. 1970. スプリンクラーによる防除について(1). 農業土木學會誌 38(7) : 453-458
92. 牛山欣司. 1967. カンキツの傳染に関する研究(第1報)カンキツ樹以外の樹種の枯枝での菌の繁殖について. 日植病報. 33 : 348.
93. 牛山欣司. 1971. 温州ミカンの黒點病に関する研究, (第1報) 胞子の感染, 發病時期について. 神奈川県園藝試験場研究報告 19 : 29-37.
94. 牛山欣司. 1973. 温州みカンの黒點病に関する研究, (第2報) 完全時代の存在と子のう胞子の原動力について. 日植病報. 39 (2) : 120-125.
95. 牛山欣司. 1973. 温州ミカンの黒點病に関する研究, (第3報) 胞子の飛散と付着生存について. 神奈川県園藝試験場研究報告 21 : 39-46.
96. 牛山欣司, 倉本 孟. 1975. カンキツの小黑點病(新稱). 植物防疫. 29(7): 21-25.

97. 牛山欣司. 1976. ウンシュウミカンの黒點病に関する研究, (第4報) 胞子の發芽侵入と感染細胞の組織化學的觀察. 新奈川縣園藝研報. 23 : 11-18.
98. 牛山欣司. 1979. ラビライト水和劑とマシン油乳劑混用によるミカン黒點病防除について. 農藥時代 139 : 13-17.
99. 牛山欣司. 1980. ウンシュウミカンの黒點病に関する研究, (第5報) ミカン園から檢出される微生物が黒點病の發生に及ぼす影響について. 新奈川縣園藝研報. 27 : 9-16.
100. 内田正人, 大垣智昭. 1971. スプリンクラ-によるカンキツ病蟲害防除法の確立に関する試験, (第1報) 各種病害蟲の防除効果について. 新奈川縣園藝試験場研究報告 19 : 21-28.
101. Welsh, J., and McClelland, M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. Nucl. Acids Res. 18 : 7213-7218.
102. Williams, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., and Tingey, S. V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res. 18 : 6531-6535.
103. Winston, J. R. and Bowman, J. J. 1923. Commercial control of citrus melanose. U.S.D.A. Citrus 259 : 1-8.
104. Winston, J. R., J. J. Bowman and Bach, J. 1927. Citrus melanose and its control. U.S.D.A. Bull. 1474 : 1-62.
105. Wolf, F. A. 1926. The perfect stage of the fungus which causes melanose of citrus. Jour. Agri. Res. 33 : 621-625.
106. 山田峻一, 山本省二. 1961. 柑橘黒點病および軸腐病の傳染に関する研究. 東海近畿農業試験場研究報告. 園藝部 6 : 108-116.
107. 山田峻一, 田中寛康, 小泉銘冊, 山本省二. 1966. カンキツ病害に對する

- 殺菌剤の合理化ならびに省力化に関する研究, I. 殺菌剤有効成分の redistribution とその病害防除効果. 園藝試験場報告 B5 : 75-86.
108. 山田駿一, 西野操. 1978. カンキツの病害蟲. 農産漁村文化協會. 22-23.
109. 山本省二. 1967. カンキツ黒點病の薬劑防除. 農業及園藝 42(8):71-74.
110. 山本省二. 1970. スプリンクラ-によるカンキツ病蟲害防除薬劑の撒布. 植物防疫. 24 : 361-354.
111. 山本省二. 1973. スプリンクラ-の散布施設と農薬の付着. 植物防疫 27(8) : 13-18.
112. 山本省二. 1991. カンキツ黒點病およびそばかすの生態と防除に関する研究. 和歌山縣果樹園藝試験場 特別研究報告. 1-95.
113. 大和浩國. 1968. 澁州ミカン枯枝中に形成されたカンキツ黒點病菌の完全時代について. 日植病報. 34 (5) : 390.
114. 大和浩國. 1971. 日本におけるカンキツ黒點病菌の完全時代. 日植病報. 37 : 355-356.
115. 大和浩國. 1976. カンキツに病原性を有する Diaporthe 屬菌の一種. 日植病報. 42 : 56-59.
116. Yoon, C. S.. 1992. Molecular systematics and population genetics of *Hypoxyton truncatum* sensu Miller using RAPD. Ph.D. thesis. University of Illinois.

謝 辭

本 研究와 論文이 이루어지기까지 指導鞭撻을 하여주신 韓海龍 博士님과 論文審査 過程에서 指導助言을 하여주신 白子勳, 文斗吉, 金忠會, 高榮珍 博士님께 깊은 感謝를 드립니다. 또한 大學院에서 講義는 물론 많은 指導를 하여주셨던 張田益, 朴庸奉, 蘇寅燮, 康 勳, 玄海男 博士님들께도 깊은 感謝를 드립니다.

그리고, 本 研究를 위해 많은 助言과 與件을 마련해 주신 柑橘研究所 文德永 所長님을 비롯한 모든 同僚職員들께도 感謝를 드리며 아울러 研究 遂行에 도움을 준 玄宰旭 妹弟, 金光植 研究官, 南基雄 博士와 保護研究室 職員, 原稿整理에 수고를 아끼지 않은 吳先熙, 夫庚善양에게도 심심한 感謝를 표합니다.

끝으로 物心兩面으로 도와주시고 念慮해주신 할머님과 아버님, 어머니님, 親族님들 그리고 어려운 與件속에서도 묵묵히 內助하여 준 아내와 사랑하는 아들 純哲, 純赫, 純和와 함께 이 榮光을 간직코자 합니다.