

포도 흰송이 증상과 관련된 *Hanseniaspora(Kloeckera)* sp.의 분리 및 동정이에령 · 김근곤¹ · 정영륜*경상대학교 생명과학부 미생물학과, ¹(주)제일그린산업Identification of *Hanseniaspora (Kloeckera)* sp. Related with White Dusty Symptom of the GrapeYeryeong Lee, Geun Gon Kim¹ and Young Ryun Chung*

Department of Microbiology, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

¹Research Institute, JGreen Inc., Changnyung, Gyeongnam 635-806, Korea

(Received on September 2, 2005)

An epidemic of the white dusty covering of grape clusters and canes by dust-like particles occurred in many vineyards near Gimcheon, Gyeongbuk area since 2000. Although the covering was severe, it seldom resulted in appreciable damage to vine health except drastical reduction of grape quality. It appears that the abnormal growth of a resident yeast *Hanseniaspora (Kloeckera)* sp. is related to the white dusty covering on the grape surface.

Keywords : Grape, *Hanseniaspora (Kloeckera)* sp., White dusty covering

최근 진행된 한·칠레간 자유무역협정(FTA) 체결에 따라 우리나라 농산물 시장이 개방되기 시작하였으며, 특히 칠레에서 생산된 포도 수입이 증가되면서 국내 포도생산 농가가 많은 영향을 받을 것으로 예측되고 있다. 따라서 외국산 포도와 경쟁을 하기 위해서는 효과적인 시비 및 적절한 병충해 방제로 생산단가를 낮추는 것과 가능하면 화학농약 및 비료를 적게 사용하는 친환경적인 방법으로 포도를 생산하여 포도의 질과 가격 경쟁력을 높이는 방법이 대안으로 생각되고 있다(박, 2004).

이러한 이유로 경북 김천지역에서는 포도 작목회를 중심으로 1999년도부터 포도의 친환경 재배가 시작되었다. 이 시기 이후로 김천지역의 포도에는 전에는 발견되지 않았던 이상한 증상이 계속적으로 나타나기 시작하였는데, 성분이 알려지지 않은 하얀 가루가 포도송이 표면 및 가지, 잎을 뒤덮어 포도의 상품가치를 급격히 떨어뜨리는 일명 '흰송이' 증상이 발생되었다. 1999~2000년도에는 거의 모든 농가에서 발생되었으며, 2001년 이후에도 지속적으로 전체 김천지역 농가의 평균 30% 이상에서 발생

되었고, 2005년에는 영동, 울산, 광주 지역의 일부 포도 농가에서도 이 증상이 발견되었다(포도 작목회 농민들과의 개인적인 대화). 이러한 증상은 5~6월경부터 조금씩 발생하여 7~8월경에 가장 심하게 나타나는데, 하얀 가루를 손으로 문지르거나 닦아내면 포도 과일 자체는 깨끗하며 특별히 썩거나 하는 발병증상은 보이지 않았다(Fig. 1). 다만 이로 인하여 과일이 마치 농약을 많이 뿌린 것처럼 하얗게 덮이므로 상품가치를 낮추어 많은 농민들이 심각한 피해를 입었다고 한다. 이러한 피해에도 불구하고 이 증상에 대한 정확한 원인 규명이 되어 있지 않아 본 연구에서는 우선 이러한 흰송이 증상을 나타내는 흰가루에 대한 미생물학적 분석과 원인을 규명하고자 하였다.

흰송이 가루의 미생물학적 분석. 흰송이 증상의 발생 생태 조사 및 그 원인을 밝혀내기 위하여 지난 3년간 이러한 증상이 가장 심하였던 김천지역 4 농가를 방문하여 발병 정도와 증상이 심하게 나타난 포도과일 시료를 채취하였다. 채취한 포도 표면으로부터 하얀 가루를 백금으로 긁어내어 멸균 증류수에 100~1000배로 희석한 후 희석액 0.1 ml를 유산균 선택배지인 MRS(Difco Co.)배지와 효모 분리 배지인 SDA(Sabraud Dextrose Agar, Difco Co.)배지에 도말하였다. 도말된 배지를 항온배양기(30°C)에 넣

*Corresponding author

Phone) +82-55-751-5945, Fax) +82-55-759-0187

E-mail) yrchung@gsnu.ac.kr

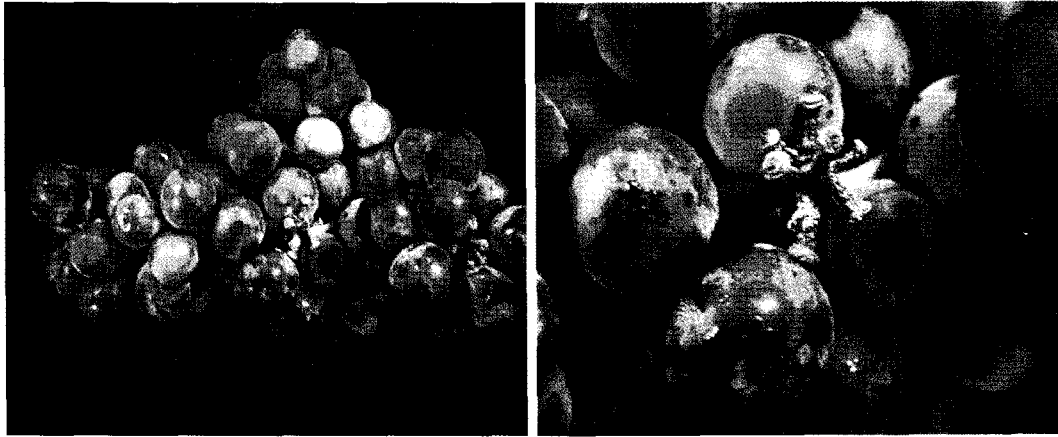


Fig. 1. Symptoms of the white dusty covering of grape fruits by *Hanseniaspora* sp.

고 2일 동안 배양한 후 나타난 균총 중 우점 종으로 보이는 균주 10개를 순수분리 하였고, 분리한 균주들을 SDA 사면배지에 배양하여 4°C 냉장고에 보관하면서 실험에 사용하였다. 흰송이 시료로부터 순수 분리된 균총 중 균의 형태를 광학현미경으로 관찰한 결과 균주 중 2개는 세균이었고 나머지 8개의 균주는 형태가 거의 같은 효모(yeast)로 확인되었다. 따라서 8개 균주 중 3개 균주를 선택하여 API (Analytic Profile Index) 20 C AUX kit (bioMérieux, Marcy-I' Etoile, France)를 제조자의 사용방법에 따라 사용하여 분리된 효모를 동정하였다. 먼저 SDB(Sabraud Dextrose Broth, Difco Co.) 5 ml에 분리된 3균주를 30°C에서 24시간 배양한 후, 그 배양액을 원심 분리하여 상등액은 버리고 가라앉은 세포 침전물을 모은 후, 0.85% NaCl medium 2 ml를 넣어 침전물을 현탁시켜 탁도를 2 McFarland로 맞추었다. 그 다음 현탁액 100 µl를 배양액(C medium)에 넣어서 혼합한 후, 생리 화학적 반응을 조사하기 위한 실험 strip에 배양현탁액 55 µl를 분주하여 30°C에서 48~72시간 배양하였다. 배양 후 반응 결과를 ATB Expression(bioMérieux, Marcy-I' Etoile, France) 자료에 대입하여 최종 동정하였다.

그 결과 동정한 3 균주 모두 포도과일의 표면에 일상적으로 존재하는 효모인 *Hanseniaspora*(무성세대 *Kloeckera*)의 일종으로 확인되었다(Table 1, 2). 이 효모는 포도주 제조시 발효 초기에 관여하는 종류 중의 하나로 발효가 진행되어 알콜농도가 5~6%에 도달되면 대부분 생장이 억제된다. 그러나, 이 효모는 포도주 향기 생성에 중요한 역할을 하는 것으로 알려지기는 하였으나 포도주 제조시 초산과 지방산 등을 생성하여 정상적인 포도주 발효에 심각한 문제를 일으키는 중요한 균으로 밝혀졌다(Bujdoso 등, 2001a, 2001b). 특히, 이 증상의 발생이 친환경 미생

Table 1. Physiological responses of *Hanseniaspora* strains to various nutrients in API 20C AUX kit^a

Substrate	Yeast 1	Yeast 2	Yeast 3
Glucose	+ ^b	+	+
Glycerol	- ^b	-	-
2-Keto-D-Gluconate	+	-	-
L-Arabinose	-	-	-
D-Xylose	-	-	-
Adonitol	-	-	-
Xylitol	-	-	-
Galactose	-	-	-
Inositol	-	-	-
Sorbitol	-	-	-
α-Methyl D-Glucosamine	-	-	-
Cellobiose	+	+	+
Lactose	-	-	-
Maltose	-	-	-
Saccharose/Sucrose	-	-	-
Trehalose	-	-	-
Melezitose	-	-	-
Raffinose	-	-	-

^aAPI (Analytic Profile Index) 20 C AUX kit (bioMérieux, Marcy-I' Etoile, France) was used for identification of yeast strains.

^b+, positive response; -, negative response.

Table 2. Identification and similarity of yeast strains isolated from white covering dusts on the surface of grape fruits

Strains	Mycelia formation	Name	Similarity (%) ^a
yeast 1	-	<i>Hanseniaspora (Kloeckera)</i>	99.9
yeast 2	-	<i>Hanseniaspora (Kloeckera)</i>	99.3
yeast 3	-	<i>Hanseniaspora (Kloeckera)</i>	99.3

^aAPI (Analytic Profile Index) 20 C AUX kit (bioMérieux, Marcy-I' Etoile, France) was used for identification of yeast strains.

물제제의 사용이 늘어나기 시작한 2000년부터 급격히 증가하였던 사실과 당(sugar)에 의해 이 균주들의 생육이 촉진된다는 사실로 미루어 볼 때 흰송이 증상의 심한 발생은 적어도 농민들이 사용한 과도한 당분과 관련이 있을 것으로 생각된다. 이러한 사실은 2000년부터 3년 동안 김천지역 포도 재배 농장에서 이 증상이 가장 심하게 발생하였던 작목회 4개 농가에서 2004년, 2005년도 2년간 본 연구자의 권고로 일체의 당분을 포함한 액비 등의 염면 살포를 중지한 결과 다른 지역의 일부 농장에는 이 증상이 계속 발생되고 있으나 현재까지 이들 농장에는 증상이 전혀 발생되지 않은 것으로 뒷받침 된다고 할 수 있다(자료 미제출).

요 약

최근 수년간 김천지역 대부분의 포도 과수원에 심하게 발생되었던 일명 '흰송이' 증상을 나타내는 흰가루의 주 미생물은 포도 표면에 존재하면서 포도주 발효시 중요한 문제를 일으키는 효모균 *Hanseniaspora (Kloeckera) sp.*으로 동정되었으며, 이러한 증상의 발생은 과도하게 사용된

당분과 관련이 있을 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 김천 농협이 용역사업비 지원으로 수행되었으며, 연구 수행을 위하여 많은 도움을 주신 김천 포도 작목회 농민 여러분, 고 김종일(전 한국 포도회 부회장)님과 김천농협 윤재천 과장께 감사드립니다.

참고문헌

- Bujdoso, G., Egli, C. M. and Henick-Kling, T. 2001a. Inter-and intra-specific differentiation of natural wine strains of *Hanseniaspora (Kloeckera)* by physiological and molecular methods. *Food Technol. Biotechnol.* 39: 19-28.
- Bujdoso, G., Egli, C. M. and Henick-Kling, T. 2001b. Characterization of *Hanseniaspora (Kloeckera)* strains isolated in finger lakes wineries using physiological and molecular techniques. *Food Technol. Biotechnol.* 39: 83-91.
- 박택균. 2004. 계간 포도. 겨울호(87권). (사)한국포도회. 114 pp.