식물병연구
Research Article | Open Access
Res. Plant Dis. 24(1): 33-40 (2018)
https://doi.org/10.5423/RPD.2018.24.1.33

배검은별무늬병균과 배붉은별무늬병균에 대한 유기농자재들의 항균활성

Antifungal Activity of Agro-Materials against Pear Scab (*Venturia nashicola*) and Pear Rust (*Gymnosporangium asiaticum*) Fungi

송장훈 · 서호진*

농촌진흥청 국립원예특작과학원 배연구소

Janghoon Song and Ho-Jin Seo*

Pear Research Institute, National Institute of Horticultural & Herbal Science, Rural Development Administration, Naju 58216, Korea

***Corresponding author**
Tel: +82-61-330-1581
Fax: +82-61-330-1581
E-mail: shj2992@korea.kr

Received December 20, 2017
Revised February 8, 2018
Accepted February 8, 2018

This study was conducted to evaluate the antifungal activity of 19 agro-materials that have been registered for organic cultivation in Korea, after inoculation of pear leaves with *Venturia nashicola* and *Gymnosporangium asiaticum*. In *V. nashicola*, most of the nine agro- materials containing sulfur and copper completely inhibited spore germination, and some of the spores that germinated did not form appressoria. However, in only lime sulfur, Neobordeaux (cupric sulfate), and Wheengaris (sulfur) showed antifungal activity against *G. asiaticum*. Among the agro-materials containing plant extracts, Wheengarujaba (wood vinegar+spirits+rhubarb) inhibited conidial germination in *V. nashicola* and *G. asiaticum* by 100% and 71.6%, respectively. Among the agro-materials containing antifungal microorganisms, Cheongotan (*Streptomyces griseus*) reduced spore germination rate of *V. nashicola* to 88.8%; moreover, formation of appressoria or intracellular accumulation was not observed. Application of Topsid (*Paenibacillus polymyxa*) reduced spore germination rates in *V. nashicola* and *G. asiaticum* to 71.0% and 90.6%, respectively, and the formation of appressoria was not observed. Studying the antifungal activity of agro-materials because of cumulative applications under the field conditions is necessary, owing to their contact fungicidal effect and the induced-resistance by microbial metabolites and natural compounds.

Keywords: Agro-Materials, Antifungal activity, *Gymnosporangium asiaticum*, *Venturia nashicola*

서 론

배 과원에서 유기재배를 정착시키기 위해서는 유기재배 적합 품종 이용, 안정적 양분공급, 병해충 안전관리, 가공품 개발 등 생산적 여건과 더불어 안정적 유통환경이 요구되고 있다(Lim 등, 2012). 배나무의 문제 병해충 중 배 검은별무늬병은 발병과율이 48.9%에 이르도록 피해가 극심하며, 붉은별무늬병은 검은별무늬병과 함께 유기재배 농가에서 가장 관리가 어려운 병해로써 지적되고 있다(Song 등, 2013).

국내 유기재배 배 과수원의 경우 검은별무늬병과 붉은별무늬병의 방제를 위해 석회황합제와 보르도액을 사용하고 있으며, 연간 9–10회 수준으로 살균효과의 유기농자재를 사용하고

Research in Plant Disease
pISSN 1598-2262, eISSN 2233-9191
www.online-rpd.org

있다(Song 등, 2013). 일반적으로 농가에서는 석회황합제에 대한 의존도가 제일 높지만 잎에 약해를 발생하는 것이 문제점으로 지적하고 있다. 또한 보르도액을 많이 사용할 경우 수확기에 과실 표피가 검게 되어 상품성이 떨어지는 문제로 인해 최근에는 일부 농가에 한하여 이용되고 있다.

유기농자재로서 뿐만 아니라 관행 화학농약의 약효 증진을 목적으로 하는 대체 살균자재의 이용기술은 (1) 길항미생물을 활용하여 병원균의 전염원량을 감소시키는 생물적 방제기술, (2) 생물적 혹은 비생물적 활성제(elicitor)에 접촉시 식물체내에 잠재된 방어체계를 활성화시키는 식물저항성 유도기술, (3) 유도저항성과 항균효과를 동시에 혼합한 천연물 활용기술 등으로 구분할 수 있다(Stangarlin 등, 2011). 우리나라 병해관리용 유기농자재 총 90종 중 미생물제제 23, 황과 구리함유물 24종, 규산화합물 15종, 식물성 추출자재 24, 기타 4종이 등록되어 있는데(Rural Development Administration, 2014), 이들 자재가 배검은별무늬병균(*Venturia nashicola*)과 배 붉은별무늬병균(*Gymnosporangium asiaticum*)에 대해 어느 정도 항균활성을 가지는지 아직 명확하지 않다. 특히 황제, 석회황합제, 석회보르도액 등에 크게 의존하여 유기과수를 생산하고 있는 것은 다른 대체자재의 효과가 뚜렷하지 않거나(Cromwell 등, 2011; Holb, 2008; Jamar 등, 2010; Song 등, 2013), 실용화를 위한 안정적 제형개발이 미흡하기 때문이다(Wilson 등, 1997). 그러나 구리함유 유기농자재는 가축, 개, 토끼 등 포유동물에 노출되어 독성을 발휘하는 사례가 보고되고 있으므로(Albo와 Nebbia, 2004; Oruc 등, 2009), 살포량을 제한하려는 행정조치가 유럽연합, 호주 등지에서 추진되고 있다(OIECC, 2009; Portz 등, 2008).

따라서 우리나라 배 유기재배 농가에서 문제되는 병해에 대해 기존 유기농자재의 활용효과를 높이고 그 외 대체자재에 대한 항균활성을 검토하는 연구가 필요하다. 이에 본 연구는 무기살균제, 식물추출물, 미생물 등 우리나라에 등록된 병해관리용 유기농자재 중 19종에 대해 배검은별무늬병균과 배 붉은별무늬병균을 처리하고 배 잎 조직에서의 초기감염 억제효과를 검정하고자 수행하였다.

재료 및 방법

병해방제용 유기농자재 선택. 2012년 병해관리용 유기농자재 19종을 농촌진흥청 홈페이지(http://www.rda.go.kr)에 등록된 목록을 참고하여 선택하였다. 선택기준은 유효성분으로 구분하여 동일성분의 자재는 3개 이하로 하되 황 함유 자재는 5종으로 선택하였다. 선택한 자재는 2012년 5월 공급처 및 제조사로부터 구입하고 시험에 이용하였다. 또한 처리농도는 상품별 권장농도를 따랐으며, 배에 등록되지 않은 자재의 경우 타 과수의 권장농도를 적용하였다. 특히 석회황합제(유효성분 22%)는 400배, 600배, 800배, 1000배, 1200배로 세분하여 처리하였다(Table 1).

배검은별무늬병균의 잎 인공접종. 배검은별무늬병균은 2012년 5월 중순 전남 나주시에 소재한 국립원예특작과학원 배연구소의 무방제 시험포장(14년간 화학합성농약 무살포)에서 배 잎과 과실에서 발생된 이병조직을 시험 전 수집하여 멸균수로 분생포자를 수거하고 혼합하였다. 균 접종 하루 전에 미리 접종원을 멸균수로 희석하여 광학현미경에서 발아율을 측정하고, 90%이상 발아된 시료에서 접종원을 사용하였다. 접종에 사용한 검은별무늬병균의 분생포자는 멸균수로 희석하여 혈구계산반에서 1 ml당 1.5×10^4개 수준으로 조정하였다. 신고품종을 대상으로 전개된 지 10일 전후의 배 잎 세 장을 동일 나무의 발육지에서 채취하고, (1) 유기농자재를 충분히 살포한 후 약 2시간 동안 실내에서 자연 건조시키고 병원균을 분무하여 접종한 처리구와 (2) 멸균수를 살포 후 약 2시간 동안 실내에서 자연 건조시키고 검은별무늬병균을 접종시킨 대조구를 두었다. 그 후 20°C 항온기에서 36시간 습실 처리한 후 검경용 시료를 채취하였다.

배붉은별무늬병균의 잎 인공접종. 배붉은별무늬병균은 Ohata 등(1995)의 방법대로 2013년 4월 중순 나주, 순천, 광주 등 3개소의 가이즈카 향나무 가지에서 겨울포자퇴로 존재하는 병반을 수집하였다. 병든 가지를 흐르는 물에 한 시간 정도 유지시킨 다음 종이 타월로 수분을 가볍게 닦아 내었다. 그 후 5 리터 플라스틱 사각용기에 감염된 향나무 가지를 넣고 20°C 항온기에서 2일간 밀폐시켜 유지한 후, 바닥에 떨어진 담자포자를 수거하였다. 지역별로 수거된 담자포자는 5°C 냉장에 호일에 싸서 보관하다가 일주일 이내에 잘 혼합하여 시험에 이용하였다. 균 접종 하루 전에 미리 접종원을 멸균수로 희석하여 포자발아율이 85% 이상 되는 겨울포자퇴 포자를 접종원으로 이용하였다. 접종에 사용한 붉은별무늬병균의 담자포자는 멸균수로 희석하여 혈구계산반에서 1 ml 당 5.5×10^4개 수준으로 조정하였다. 신고품종을 대상으로 하였으며 잎 시료채취, 유기농자재 처리, 건조, 균 접종, 습실유지 등의 과정은 배검은별무늬병균의 접종과정과 동일하게 진행하였다.

항균활성 검경용 시료작성. Liberato 등(2005)의 방법을 변용하여, 병원균 접종 4일후 배 잎 시료 중앙부를 150 mm^2 수준으로 칼로 오린 다음 투명화액(aniline blue 3 g/l, 85% lactic

Table 1. List of organic agro-materials used in this study

Products (No. series)	Active ingredients or Sources (Common name of plant)	No. of registration	Registration to pear	Dilution (Fold, v/v)	Suppliers
Kofwhang	Sulfur	11-Yougi-4-160	yes	1,000	KOF. Ltd., Gyeogsan, Korea
Whangjae	Sulfur	09-Yougi-4-084	yes	500	Odors. Ltd., Umseong, Korea
Cleanguard	Sulfur	09-Yougi-4-088	no	500	CMC Korea. Ltd., Daejeon, Korea
Trilog	Sulfur	09-Yougi-4-098	no	500	NH Chemical. Ltd., Seongnam, Korea
Wheengaris	Sulfur	09-Yougi-4-100	no	2,000	Newgreenwell. Ltd., Chengyang, Korea
Lime sulfur	Sulfur, Calcium hydroxide	09-Yougi-4-093	no	400-1,200	Seoulwhangyeongsanup. Ltd., Naju, Korea
Pangsis	Sulfur, *Gardenia jasminoides* (cape jasmine)	11-Yougi-4-192	no	1,000	CMC Korea. Ltd., Daejeon, Korea
Neo-bordeaux	Cupric sulfate	08-Yougi-4-074	no	1,000	Youngil Chemical. Ltd., Daejeon, Korea
Tubortan	Cupric sulfate, Calcium hydroxide	09-Yougi-4-095	no	500	CMC Korea. Ltd., Daejeon, Korea
Jegyuntan	*Streptomyces lavendula*	10-Yougi-4-123	no	250	CMC Korea. Ltd., Daejeon, Korea
Jaenotan (KBC1010)	*Bacillus subtilis*	07-Yougi-4-010	no	200	Korea Bio Chemical. Ltd., Jinju, Korea
Cillus (GB0365)	*Bacillus subtilis*	07-Yougi-4-014	no	300	Greenbiotech. Ltd., Paju, Korea
Kyupect (AQ94013)	*Ampelomyces quisqualis*	07-Yougi-4-013	no	200	Greenbiotech. Ltd., Paju, Korea
Topsid (AC-1)	*Paenibacillus polymyxa*	07-Yougi-4-012	no	200	Greenbiotech. Ltd., Paju, Korea
Chorongchan (BCP)	*Simplicillum lamellicolae*	11-Yougi-4-154	no	200	Greenbiotech. Ltd., Paju, Korea
Cheongotan -104	*Streptomyces griseus*, diatomite	09-Yougi-4-101	no	100	BIG. Ltd., Daejeon, Korea
Tanjeobreak	Chitosan, oligosaccharides, vinegar, *Allium sativum* (garlic)	08-Yougi-4-036	no	1,000	Nambo. Ltd., Jinju, Korea
Vitabox	Spirits, *Rheum rhabarbarum* (rhubarb)	Gonsi-4-2-011	no	500	BIG. Ltd., Daejeon, Korea
Wheengarujaba	Wood vinegar, Spirits, *Rheum rhabarbarum* (rhubarb)	11-Yougi-4-184	no	500	Hyosung ONB. Ltd., Asan

acid)을 한 방울 떨어뜨리고 광학현미경 검경용 시료제작을 하였다. 검경용 시료를 알콜 램프 불꽃에 대고 끓도록 서서히 10–15초간 가열한 다음 5–20초간 실온에 두어 냉각시켰다. 그리고 잎 절편시료를 다시 한 방울의 투명화액에 넣고 검경용 시료제작을 한 다음 투명 메니큐어액으로 커버글래스 주변을 봉합하였다.

항균활성 검정. 발아관이 포자 길이의 1.5배 이상 전개되거나 부착기가 형성될 경우 발아된 것으로 계수하였으며, 분생포자 발아억제율은 {1–[(관찰포자수-발아포자수)/관찰포자수]}×100으로 3반복으로 산술하였다. 또한, 부착기형성 억제율은 발아한 분생포자만을 대상으로 하여 [1–(부착기형성 포자수/발아포자수)]×100으로 3반복으로 계산하였다.

세포간 유기농자재 집적도 관찰. 세포간 유기농자재가 집적하는 수준은 광학현미경으로 고정시료의 중앙지점을 관찰하여 집적면적에 따라 0–5의 지수(미관찰시 ‘0’, 1% 미만은 ‘1’, 1–5%는 ‘2’, 6–10%는 ‘3’, 11–25%는 ‘4’, 25% 이상은 ‘5’)로 구분하여 3반복으로 조사하였다.

통계분석. 잎 시료를 구당 3반복으로 채취하여 2회 반복시험을 수행하였고 자료 분석은 R 프로그램(R version 2.15.3, Institute for Statistics and Mathematics of WU, Wien, Austria, 2013)의 덩컨다중검정으로 유의성 95% 수준에서 분석하였다.

결과 및 고찰

배검은별무늬병균에 대한 유기농자재의 항균활성. 황과 구리가 함유된 유기농자재 9종 중 크린가드를 제외한 8종 모두가 배검은별무늬병균에 대해 91.6% 이상 포자발아억제율을 보였으며, 황제, 코프황, 트리로그, 석회황합제(400배, 600배, 800배), 네오보르도, 투보르탄 등에서 부착기를 관찰하지 못했고, 휜가리스, 크린가드, 석회황합제(1,000배, 1,200배), 팡시스 등에서 100% 부착기형성억제율을 보였다. 황을 유효성분으로 하는 유기농자재 중에서도 크린가드는 포자발아억제율이 59.1% 수준으로 낮은 항균활성을 보임에 따라 제품별로 차이가 있음을 확인하였다. 농가에서 가장 많이 이용되는 석회황합제의 경우 400–800배 처리구에서 포자발아억제율이 100%로 높았지만 1,000–1,200배 농도에서는 90%이하로 감소하는 결과를 확인하였다(Table 2). 배검은별무늬병균은 포자발아 후 형성된 부

Table 2. In vitro antifungal activity of agro-materials against pear scab (*Venturia nashicola*) and pear rust (*Gymnosporangium asiaticum*)

Group of active ingredients[a]	Products	*Venturia nashicola*		*Gymnosporangium asiaticum*		Index of intracellular accumulation (0–5)[d]
		Inhibition of conidial germination (%)	Inhibition of appressorial formation (%)	Inhibition of conidial germination (%)	Inhibition of appressorial formation (%)	
S	Whangjae	100.0±0[A, b]	NC[c]	53.9±2.1[C]	100.0±0.0[A]	0
S	Kofwhang	100.0±0[A]	NC	29.4±8.5[D-F]	81.5±2.3[C]	0
S	Trilog	100.0±0[A]	NC	20.4±5.3[E-G]	94.5±3.2[A-C]	1–2
S	Wheengaris	93.7±0.7[AB]	100.0±0.0[A]	100.0±0.0[A]	NC	1–2
S	Cleanguard	59.1±4.6[H]	100.0±0.0[A]	6.5±2.4[GH]	87.1±5.3[A-C]	0
LS	Lime sulfur (400×)	100.0±0[A]	NC	100.0±0.0[A]	NC	1–2
LS	Lime sulfur (600×)	100.0±0[A]	NC	100.0±0.0[A]	NC	1–2
LS	Lime sulfur (800×)	100.0±0[A]	NC	100.0±0.0[A]	NC	0-1
LS	Lime sulfur (1000×)	89.9±1.9[BC]	100.0±0.0[A]	100.0±0.0[A]	NC	0
LS	Lime sulfur (1200×)	83.2±3.4[C-E]	100.0±0.0[A]	100.0±0.0[A]	NC	0
S+PE	Pangsis	91.6±1.1[A-C]	100.0±0.0[A]	22.7±9.3[D-G]	100.0±0.0[A]	0
Cu	Neo-bordeaux	100.0±0[A]	NC	100.0±0.0[A]	NC	2–3
Cu	Tubortan	100.0±0[A]	NC	24.7±4.7[D-F]	96.7±3.3[AB]	0-1
PE	Wheengarujaba	100.0±0[A]	NC	71.6±8.4[B]	85.0±7.6[BC]	0-1
PE+AM	Vitabox	87.7±2.8[B-D]	56.3±4.1[C]	36.8±1.4[D]	86.1±7.7[A-C]	0
AM	Chorongchan	88.8±2.3[B-D]	66.7±16.7[C]	17.1±5.3[F-H]	97.8±2.2[AB]	2–3
AM	Jegyuntan	80.9±5.8[DE]	100.0±0.0[A]	14.7±5.0[F-H]	95.6±2.3[A-C]	0
AM	Cillus	76.4±2.1[E-G]	62.5±7.2[C]	34.7±5.5[DE]	93.2±3.9[A-C]	0
AM	Kyupect	75.0±5.4[E-G]	80.6±10.0[B]	1.6±1.6[H]	51.9±14.9[D]	0–1
AM	Topsid	71.0±2.4[FG]	100.0±0.0[A]	90.6±5.1[A]	100.0±0.0[A]	0
AM	Jaenotan	68.1±2.7[G]	61.7±7.3[C]	17.2±8.3[F-H]	89.0±2.4[A-C]	2–3
AM+OM	Cheongotan	87.7±1.3[B-D]	100.0±0.0[A]	67.0±5.7[BC]	95.2±4.8[A-C]	0
AM+OM	Tanjeobreak	78.4±6.7[EF]	100.0±0.0[A]	19.4±10.0[E-G]	17.9±2.4[E]	0
	Control	9.4±1.0[J]	10.1±2.4[D]	2.0±1.2[H]	58.9±4.2[D]	0

[a]Abbreviation: S=sulfur, LS=lime sulfur, Cu=copper, PE=plant extract, AM=antifungal microorganism, OM= organism-oriented materials.
[b]The same letters indicate no statistical difference at 5% level by Duncan's multiple range test.
[c]Not calculable.
[d]Categorized into 0 to 5 depending on range intracellular accumulation; '0' for no accumulation, '1' for <1%, '2' for 1–5%, '3' for 6–10%, '4' for 11–25%, and '5' for >25%.

착기(appressorium)를 통해 penetration pegs를 형성하고 세포벽 내 pectin층에 두껍게 균사층을 이루다가(Jiang 등, 2007) pectinases를 분비하여 외표피 내부의 세포질로 초기 감염이 진행된다(Park 등, 2000). 그러므로 배 검은별무늬병균의 초기 감염 수준을 해석하기 위해 배 잎 위에서의 포자 발아율과 부착기 형성율을 아는 것이 필요하다. 본 시험에 이용된 병해관리용 유기농자재 중 황, 구리 등이 함유된 유기농자재 대부분은 포자발아를 완전히 억제하였고, 일부 발아한 포자의 경우에도 부착기가 전혀 형성되지 않았다. 따라서 이들 자재는 배검은별무늬병균의 초기감염을 억제하는 자재로 이용 가능성이 높다고 판단된다.

식물추출물을 함유하는 유기농자재 중 흰가루자바와 비타박스는 포자발아억제율이 각각 100%와 87.7%로써 흰가루자바가 더 높았다. 비타박스의 경우 부착기형성억제율이 56.3%로써 다른 유기농자재에 비해 상대적으로 항균활성이 낮았다. 흰가루자바는 대황, 목초액, 주정을 혼합한 자재이며, 비타박스는 대황과 주정만을 함유하고 있다. 대황 추출액은 *Fusarium* 속 진균에 대해 포자발아와 균사생장을 완벽하게 억제할 수 있으며(Ghorbany 등, 2010), 목초액은 낮은 pH에서 페놀류의 항균활성이 높다(Oramahi와 Yoshimura, 2013; Velmurugan 등, 2009). 일반적으로 과수 유기재배지의 황제 및 석회황합제 연용에 따른 문제점으로 (1) 광합성 효율 저하와 화분발아 및 착과불량(MacHardy와 Gadoury, 1989), (2) 어린 과실 낙과 및 과실 생산량 감소와 동녹 발생 및 과실 상품성 저하(Holb 등, 2008), (3) 거미류, 이리응애류 등 유용한 해충천적자원 감소(Holdsworth, 1972) 등이 제기되고 있는데, 본 연구에서 이용된 흰가루자바와 비타박스는 이런 황 및 석회황합제의 문제점을 완화하는 대체자재로써 포장검정시 검토될 수 있다고 판단한다.

미생물 함유 제제로써 초롱찬과 청고탄은 제균탄, 씰러스, 큐펙트, 탑시드, 제노탄 등에 비해 포자발아억제율이 87.7-88.8%로 높았지만, 부착기형성억제율을 보면 청고탄만 부착기 형성이 완전하게 억제되었고 초롱찬은 66.7% 수준으로 비교적 낮은 억제율을 보였다. 초롱찬에 포함된 *Simplicillium lamellicola*는 기존에 진드기와 깍지벌레류에 대한 곤충병원성자재로 생물적 방제에도 활용되었고(Polar 등, 2005; Zare와 Gams, 2001), 청고탄에 함유된 *Streptomyces griseus*는 항생물질 actidione을 자체적으로 발생시켜서 직접적인 항균작용을 할 뿐만 아니라(Whiffen, 1948), 유도저항성 활성제(elicitor), 항균작용, 항세균작용, 항종양작용(antitumor) 등 생물활성이 보고 되었다(Shahidi 등, 1999). 본 연구에서 청고탄 처리 시 배 잎에서 88.8%의 포자발아억제율을 보이고 부착기도 형성되지 않았다. 제균탄에 함유된 *S. lavendulae*는 ileumycin 등 항생물질 6종을 생산하며(Rizk 등, 2007), 큐펙트에 함유된 *Ampelomyces* 속은 진균류 중 가장 자세하게 연구된 진균 기생체(mycoparasites)이자 식물병원균 생물방제제(biocontrol agents)로써 지금까지 상업화된 자재 중 농업현장에서 가장 잘 정착된 자재로 평가되고 있다(Kiss 등, 2004). 본 연구에서 제균탄과 큐펙트는 각각 포자발아억제율 80.9%와 75.0%, 부착기형성억제율 100%와 80.6%로써 대부분의 황 및 구리자재에 비해 낮은 항균활성을 보였다. 이러한 경향은 *Bacillus subtilis*를 함유하고 있는 제노탄과 씰러스에서도 비슷하게 관찰되었다. 한편, 탑시드에 함유된 *Paenibacillus polymyxa*의 균주들은 생물적 방제 시 중요한 가수분해효소 chitinases 등을 생성하고(Raza 등, 2008), 두 가지 형태의 항생물질을 생산하여 세균, 방선균, 진균 등에 항균활성과 전신저항성을 유도하는 활성제로 보고되었다(Beatty와 Jensen, 2002; Lee 등, 2013). 본 연구에서도 탑시드는 배 검은별무늬병균에 대해 포자발아억제율이 71.0% 수준이며 부착기형성도 이뤄지지 않았다.

키토산은 세균뿐만 아니라 진균에 있어서도 20–150 mg/l 수준의 저농도에서 80–95%의 균 생장 억제능력이 있다(Goy 등, 2009). 청고탄과 탄저브렉의 경우 공통적으로 키토산을 함유하고 있으며 배검은별무늬병균에는 78.4–87.7%의 포자발아억제율과 부착기형성이 완전히 억제되는 것을 관찰하였다.

배붉은별무늬병균에 대한 유기농자재의 항균활성. 친환경 유기농자재 19종의 배붉은별무늬병균에 대한 항균활성을 보면, 황, 구리 등이 함유된 농자재 9종 중 석회황합제, 네오보르도, 흰가리스 등 3종에 한하여 완전한 포자발아억제율을 확인하였다. 이처럼 유기농자재 주성분으로써 황과 구리가 공통적으로 함유하더라도 배붉은별무늬병균에 대한 항균활성이 큰 차이를 보이는 것은 각 자재들의 제조방법 및 제형에 따라 항균활성이 영향을 받을 수 있음을 시사한다. 배붉은별무늬병균에 있어서 초기 감염은 부착기를 형성하여 직접 각피침입을 하거나 균사형태로 기공 침입으로 이뤄지는데(Hiroshi, 1989; Mires와 Richardson, 1989), 배나무 잎의 초기 감염과정에서 본 연구에서 이용된 흰가리스, 석회황합제, 네오보르도 등 유기농자재는 붉은별무늬병균과 검은별무늬병균 모두에 대해 안정적 항균활성을 보였다.

식물추출물을 함유하는 유기농자재 중 흰가루자바만 오직 배붉은별무늬병균에 대해서도 71.6% 수준으로 비교적 높은 포자발아억제율을 보였고, 키토산을 공통적으로 함유하는 청고탄과 탄저브렉의 경우 오직 청고탄만 포자발아억제율 67.0%이고 탄저브렉은 19.4%로 낮은 활성을 보였다.

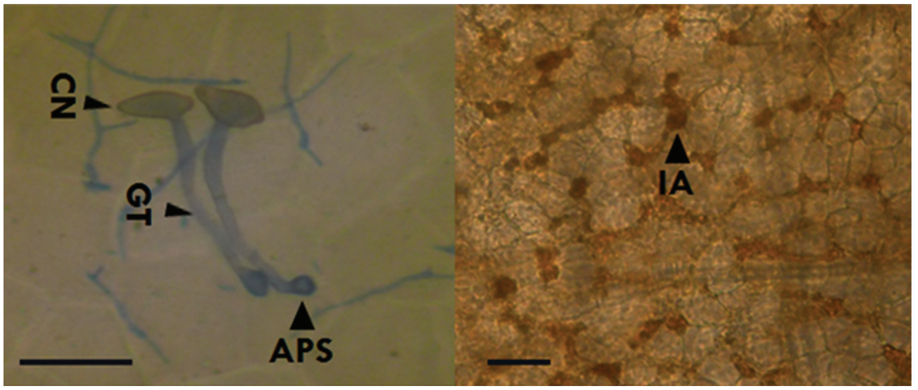

Fig. 1. Germination of *Venturia nashicola* conidia causing pear scab (left), and intracellular accumulation of fungicidal materials after application on pear leaf (right). Scale bars: 20 μm. CN: conidium, GT: germ tube, APS: appressorium, IA: intracellular accumulation of lime sulfur (with 400 fold dilution).

미생물 함유 제제로써 탑시드와 청고탄은 포자발아 억제효율이 각각 90.6%와 67.0%, 부착기형성억제율이 각각 100%와 95.2%로써 제균탄, 씰러스, 큐펙트, 초롱탄, 제노탄 등에 비해 양호하였다. 탑시드의 경우 청고탄에 비해 포자발아억제율이 높고 부착기형성도 이뤄지지 않아 미생물함유제제 중 배붉은별무늬병균에 대해 가장 우수한 항균활성을 보였다.

세포간 자재집적은 석회황합제를 누적적으로 살포하는 농가에서 흔히 관찰되는데, 주로 네오보르도, 초롱찬, 제노탄 등에서 '2'–'3' 수준이고, 트리로그, 흰가리스, 석회황합제 400배와 600배에서 '1'–'2', 투보르탄, 흰가루자바, 큐펙트 등은 '1' 이하의 미미한 수준에 그쳤다. 그러나 황제, 코프황, 크린가드, 팡시스, 비타박스, 제균탄, 씰러스, 탑시드, 청고탄, 탄저브렉 등은 세포간 자재집적이 관찰되지 않았다(Fig. 1). 석회황합제를 연속 살포시 약해 증상은 잎 크기가 작아지고 잎 가장자리가 타게 보이는데(Choi 등, 2010; Song 등, 2013), 본 연구의 관찰결과 석회황합제 400배와 600배에서 자재집적이 '1'–'2' 수준인 것과 실제 포장에서 약해 확인되는 농도와 일치되었다. 그러나 자재집적이 많았던 자재에 대해 실제 포장조건에서 연속살포 시 약해 여부 및 강우 조건별 집적자재의 유실수준, 또는 자재집적이 광합성 효율면에서 어느 정도 상관관계를 가지는지에 대해 향후 연구가 필요하다.

본 연구는 항균활성을 빠르게 측정하기 위한 방법으로써 떼어낸 배 잎에 유기농자재와 병원균을 처리하였는데, 이는 다른 연구에서도 널리 이용되는 방법이다(Liberato 등, 2005; Percival과 Boyle, 2009; Percival, 2010; Yepes와 Aldwinckle, 1993). 그러나 직접적인 접촉으로 인하여 발생되는 보호효과뿐만 아니라 미생물 대사산물과 천연화합물이 지니고 있는 유도저항성 효과도 고려하여 포장조건에서 누적적으로 살포하면서 종합적인 항균활성을 검토할 필요가 있다. 이를 위해 spectrophotometry 및 native gel electrophoresis를 이용하여 식물체내 병저항성 효소활성을 검정하는 연구가 추가적으로 필요하다.

요 약

본 연구는 무기살균제, 식물추출물, 미생물 등 우리나라에 등록된 병해관리용 유기농자재 중 19종에 대해 배검은별무늬병균과 배붉은별무늬병균을 접종하고 배 잎 조직에서의 항균활성을 확인하고자 수행하였다. 배검은별무늬병균에 대해 황, 구리 등이 함유된 유기농자재 9종 중에서 대부분은 포자발아를 완전히 억제하였고, 일부 발아한 포자의 경우에도 부착기가 전혀 형성되지 않았으나 배붉은별무늬병균에 대해서는 석회황합제, 네오보르도, 흰가리스 등에 한하여 항균활성을 보였다. 식물추출물을 함유하는 유기농자재 중 흰가루자바는 배 검은별무늬병균의 분생포자 발아를 완전하게 억제하였으며 배 붉은별무늬병균에 대해서도 71.6% 수준으로 비교적 높은 포자발아 억제효과를 보였다. 미생물 함유 제제로써 청고탄(*Streptomyces griseus*)은 배검은별무늬병균에 대해 88.8%의 포자발아억제율을 보이고 부착기도 형성하지 않으며 세포간에 자재집적이 확인되지 않았다. 탑시드(*Paenibacillus polymyxa*)는 배검은별무늬병균과 배 붉은별무늬병균에 대해 포자발아억제율이 각각 71.0%와 90.6% 수준이며 부착기형성도 이뤄지지 않았다. 향후 직접적인 접촉으로 인하여 발생되는 보호효과뿐만 아니라 미생물 대사산물과 천연화합물이 지니고 있는 유도저항성 효과도 고려하여 포장조건에서 누적적으로 살포하면서 종합적인 항균활성을 검토할 필요가 있다.

Conflicts of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

Acknowledgement

This research was supported by a grant (PJ009249) from Rural Development Administration.

References

Albo, A. G. and Nebbia, C. 2004. Incidence of poisoning in domestic carnivores in Italy. *Veter. Res. Commun.* 28: 83-88.

Beatty, P. H. and Jensen, S. E. 2002. *Paenibacillus polymyxa* produces fusaricidin-type antifungal antibiotics active against Leptosphaeria maculans, the causative agent of blackleg disease of canola. *Can. J. Microbiol.* 48: 159-169.

Choi, K. H., Lee, D. H., Song, Y. Y., Nam, J. C. and Lee, S. W. 2010. Current status on the occurrence and management of disease, insect and mite pests in non-chemical or organic cultured apple orchards in Korea. *Korean J. Organic Agric.* 18: 221-232. (In Korean)

Cromwell, M. L., Berkett, L. P., Darby, H. M. and Ashikaga, T. 2011. Alternative organic fungicides for apple scab management and their non-target effects. *Hortscience* 46: 1254-1259.

Ghorbany, M., Jafarpour, B. and Rastegar, M. F. 2010. Application of some plant products to control of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cumini* causing cumin wilt. *J. Plant Prot*. 24: 1.

Goy, R. C., Britto, D. and Assis, O. B. G. 2009. A review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polímeros* 19: 241-247.

Hiroshi, K. S. 1989. Diseases of Fruit Trees. Yokendo, Tokyo, Japan. pp. 240-253. (In Japanese)

Holb, I. J. 2008. Timing of first and final sprays against apple scab combined with leaf removal and pruning in organic apple production. *Crop Prot*. 27: 814-822.

Holdsworth, R. P. 1972. European red mite and its major predators: effect of sulfur. *J. Econ. Entomol*. 65: 1098-1099.

Lim, K. H., Choi, H. S., Kwon, O. D., Kang, S. S., Yim, S. H., Kim, Y. K. et al. 2012. Evaluation of potential nutrient contribution of overwintering cover crops in organic orchards. *Korean J. Organic Agric.* 20:173-183. (In Korean)

Jamar, L., Cavalier, M. and Lateur, M. 2010. Primary scab control using a 'during infection' spray timing and the effect on fruit quality and yield in organic apple production. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*. 14: 423-439.

Jiang, S., Park, P. and Ishii, H. 2007. Ultrastructural study on scab resistance expressed in epidermal pectin layers of pear leaves. *J. Gen. Plant Pathol*. 73: 314-323.

Kiss, L., Russell, J. C., Szentivanyi, O., Xu, X. and Jeffries, P. 2004. Biology and biocontrol potential of *Ampelomyces mycoparasites*, natural antagonists of powdery mildew fungi. *Biocontrol Sci. Technol.* 14: 635-651.

Lee, S. H., Cho, Y. E., Park, S. H., Balaraju, K., Park, J. W., Lee, S. W. et al. 2013. An antibiotic fusaricidin: a cyclic depsipeptide from *Paenibacillus polymyxa* E681 induces systemic resistance against Phytophthora blight of red-pepper. *Phytoparasitica* 41: 49-58.

Liberato, J. R., Barreto, R. W. and Shivas, R. G. 2005. Leaf-clearing and staining techniques for the observation of conidiophores in the *Phyllactinioideae* (*Erysiphaceae*). *Australas. Plant Pathol.* 34: 401-404.

MacHardy, W. E. and Gadoury, D. M. 1989. A revision of Mill's criteria for predicting apple scab infection periods. *Phytopathology* 79: 304-310.

Mires, C. W. and Richardson, E. A. 1989. Ultrastructure of appressorium development by basidiospore germlings of the rust fungus *Gymnosporangium juniperi-virginianae*. *Protoplasma* 148: 111-119.

Ohata, K., Araki, T., Kiso, A., Kudo, A. and Takahashi, H. 1995. Methods for Isolation, Cultivation, Inoculation of Plant Pathogens. Japan Plant Protection Association. pp. 235-236.

OIECC. 2009. National Standard for Organic and Bio-Dynamic Produce. 3.4 ed. Organic Industry Export Consultative Committee, Canberra, ACT, Australia. 4 pp.

Oramahi, H. A. and Yoshimura, T. 2013. Antifungal and antitermitic activities of wood vinegar from *Vitex pubescens* Vahl. *J. Wood Sci*. 59: 344-350.

Oruc, H. H., Cengiz, M. and Beskaya, H. 2009. Chronic copper toxicosis in sheep following the use of copper sulfate as a fungicide on fruit trees. *J. Vet. Diagn. Invest*. 21: 540-543.

Park, P., Ishii, H. Adachi, Y., Kanematsu, S. Ieki, H. and Umemoto, S. 2000. Infection behavior of *Venturia nashicola*, the cause of scab on Asian pears. *Phytopathology* 90: 1209-1216.

Percival, G. C. 2010. Effect of systemic inducing resistance and biostimulant materials on apple scab using a detached leaf bioassay. *Arboriculture & Urban Forestry* 36: 41-46.

Percival, G. C. and Boyle, S. 2009. Evaluation of film forming polymers to control apple scab (*Venturia inaequalis* (Cooke) G. Wint.) under laboratory and field conditions. *Crop Prot*. 28: 30-35.

Polar, P., Kairo, M. T. K., Peterkin, D., Moore, D., Pegram, R. and John, S. A. 2005. Assessment of fungal isolates for development of a myco-acaricide for cattle tick control. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 5: 276-284.

Portz, D., Koch, E. and Slusarenko, A. J. 2008. Effects of garlic (*Allium sativum* L.) juice containing allicin on *Phytophthora infestans* (Mont. de Bary) and on downy mildew of cucumber caused by *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. & M. A. Curtis) Rostovzev. *Eur. J. Plant Pathol*. 122: 197-206.

Raza, W., Yang, W. and Shen, Q. R. 2008. *Paenibacillus polymyxa*: antibiotics, hydrolytic enzymes and hazard assessment. *J. Plant Pathol.* 90: 403-414.

Rizk, M., Abdel-Rahman, T. and Metwally, H. 2007. Antibiotics production by *Streptomyces lavendulae* under different cultural conditions. *J. Food Agric. Environ*. 5: 412-415.

Rural Development Administration. 2014. List of agricultural chemicals registered for organic products quality management. URL http://www.rda.go.kr/

Shahidi, F., Arachchi, J. K. V. and Jeon, Y. J. 1999. Food applications of chitin and chitosans. *Trends Food Sci. Technol.* 10: 37-51.

Song, J. H., Lim, K. H., Cho, Y. S. and Lee, H. C. 2013. Current status of pest management and biodiversity in organic pear orchards in Korea. *Korean J. Organic Agric.* 21: 617-627. (In Korean)

Stangarlin, J. R., Kuhn, O. J., Assi, L. and Schwan-Estrada, K. R. F. 2011. Control of plant diseases using extracts from medicinal plants and fungi. In: Science against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances, ed. by A. Mendez-Vilas, pp. 1033-1042. Formatex Research Center, Badajoz, Spain.

Velmurugan, N., Han, S. S. and Lee, Y. S. 2009. Antifungal activity of neutralized wood vinegar with water extracts of *Pinus densiflora* and *Quercus serrata* saw dusts. *Int. J. Environ. Res.* 3: 167-176.

Whiffen, A. J. 1948. The production, assay, and antibiotic activity of actidione, an antibiotic from *Streptomyces griseus*. *J. Bacteriol.* 56: 283.

Wilson, C. L., Solar, J. M., Ghaouth, A. E. and Wisniewski, M. E. 1997. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Plant Dis*. 81: 204-210.

Yepes, L. M. and Aldwinckle, H. S. 1993. Selection of resistance to *Venturia inaequalis* using detached leaves from in vitro-grown apple shoots. *Plant Sci.* 93: 211-216.

Zare, R. and Gams, W. 2001. A revision of *Verticillium* section *Prostrata*. IV. The genera *Lecanicillium* and *Simplicillium* gen. nov. *Nova Hedwigia* 73: 1-50.