

어젠다코드	11-30-72		구 분	과제완결	
기술분야코드	V1	기술유형코드	P01	작목구분코드	VC-01
과제종류	기관고유		세세부사업		
연구과제 및 세부과제			수행기간	과제책임자 및 세부책임자	
유용미생물을 활용한 친환경 병해방제기술 개발			'12	환경농업연구과	권순배
1) 원예작물 지상부 병해의 친환경 방제기술 개발			'12	환경농업연구과	권순배
색인용어	유용미생물, 친환경 방제				

ABSTRACT

This study was conducted to screen eco-friendly control agents using natural products derived from plants and microbes. The results obtained are as follows ; ① Selection of a microbe that has potent antifungal activity against tomato leaf mold ; *Streptomyces* sp. ② Selection of two natural material that show potent antifungal activity against cucumber powdery mildew ; *Lentemis* sp. and *Tagetes* sp.

1. 연구목표

원예작물에 발생하는 병은 관행적으로 화학농약에 의존하여 방제하였으나 농약잔류에 대한 소비자의 우려로 이를 대체할 수 있는 기술개발이 필요하다. 또한, 국내 친환경농업인증 농산물의 시장규모가 커짐에 따라 국가적 친환경농자재 개발 사업이 확대되어 제품 개발의 다양화 수요에 대응이 필요하다. 식물에 함유되어 있는 이차대사산물은 진화상으로 mevalonate를 전구물질로하는 terpenoid합성경로, shikimic acid를 전구물질로 하는 phenol 합성경로, 아미노산을 전구물질로하는 nitrogen합성경로와 곤충생장조절물질(insect growth regulators)등으로 만들어지는 것으로 대별할 수 있다. 지금까지 밝혀진 이차대사산물은 약 24,000여 종으로서(Harborne, 1993), 지구상에 존재하는 약 40만종의 식물들이 각자 고유의 이차대사물질로 가진다고 가정할 때(Swain,1977), 아직까지 미지의 활성물질은 엄청나게 많을 것으로 생각된다. 이런 이유로, 연구기관 및 관련기업들이 천연물을 이용한 환경친화형 병해충 방제제의 개발을 위해 투자를 하고 있는 실정이다. 천연물에 근간한 병해충 방제제 개발 성공 사례로 피레스린, 로테논, neem tree(azadirachtin), 니코틴, 특히 근래에 들어서는 식물체 정유에 함유된 유효성분을 이용하여 CinnamiteTM, ValeroTM, EcoPCOTM, BioganicTM, HexacideTM 등 다양한 제품들이 개발되었다(Isman, 2002. LG Copping, 2004).

이와 같이 친환경 병해충 방제제로 식물체 또는 미생물의 이용성은 화합물의 이용 뿐 만 아니라 그 천연물 자체로서도 응용성이 넓기 때문에 연구대상으로 매우 유용한 자원이다. 본 연구에서는 오이 흰가루병과 토마토 잎곰팡이병 등 원예작물에 주로 발병하는 주요 병원균에 대한 천연물 소재 선발을 목표로 수행하였다.

2. 재료 및 방법

가. 공시재료

공시한 길항미생물 균주는 본원에서 수집한 *Bacillus amyloliguefaciens*, *B. polymixa*, *B. licheniformis*, *Pseudomonas putida*, *Streptomyces sp*, *Promicromonospora sp.*를 이용하였다. 식물 소재 50종은 분류학적으로 보증된 시료를 수집 사용하였다. *Bacillus*와 *Pseudomonas* 균주배양은 Nutrient broth와 PD 혼합배지에서 28℃, 3일간 배양하였다. 길항방선균 2종은 Nutrient broth(20% sugar)에서 28℃, 3일간 배양한 후 배양체의 생균불활성화(Ethanol, Acetic acid)과정을 거친 배양여액을 검정시료로 이용하였다. 또한 수집된 식물체는 50℃에서 2일간 건조기에 건조시킨 후 마쇄하여 분말로 만들고, 각각의 분말시료 30g씩을 취하여 메탄올 300ml에서 24시간 추출, 여과하여 40℃에서 감압 농축하여 식물 조추출물을 얻어, 생물검정 시료로 이용하였다.

나. 항균활성 검정

항균활성 검정에 이용한 병원균으로는 *Fulvia fulva*, *Pseudocercospora fuligena*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Pythium ultimum*, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*를 공시하여 생물검정에 이용하였다. *In vitro* 항균활성검정은 PDA배지에서 배양하여 사용하였다. 항균력 측정에는 배양된 균들의 agar-plug(Ø2mm)를 PDA 배지에 접종하고, 각 추출물 시료를 멸균증류수 또는 메탄올에 완전히 용해시켜 농도를 5,000ppm으로 하여 paper disc(Advantec Ø8mm filter, Toyo Roshi Kaisha, Japan)에 20µl씩 흡수시키고 충분히 건조시킨 후, 각 병원균이 접종된 agar-plug로부터 2.5cm 떨어진 지점에 밀착시켜 올려놓은 후, 48-60시간 배양하여 추출물에 의한 각 병원균 균사체의 성장억제 정도를 조사하였다. 흰가루병(*Sphaerotheca fuliginea*)의 항균활성검정은 유묘검정법을 이용하였다. 흰가루병에 대한 활성검정은 포트에서 생육시킨 오이 유묘에 추출물을 살포하고, 풍건시킨 후 미리 준비한 흰가루병 포자를 잘 혼합하여 각각의 유식물체에 접종하였다. 접종 후 배양실 (RH60%, 25℃)에서 1주일 발병시킨 후 병반 균총을 계측하여 병반면적율을 조사하였다.

3. 결과 및 고찰

각 균주별 액체배양한 길항미생물의 배양농도는 10^6 ~ 10^8 cfu 수준으로 안정적으로 배양이 가능하였다.(그림 1a). *Botrytis cinerea*에 대하여 항균활성이 높은 균주는 *Bacillus amyloliguefaciens*, *B. licheniformis*이 선발되었다. *Fusarium oxysporum*에 대하여는 *B. amyloliguefaciens*가 항균활성을 보였다(그림 1b). 또한 공시한 방선균 1종(*Streptomyces sp*)의 배양액은 토마토 검은잎곰팡이병(*Pseudocercospora fuligena*)에 대하여 항균효과를 나타냈다 (그림 2a, 2b).

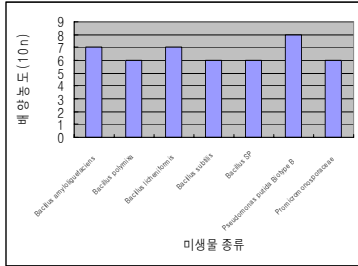


그림 1a. 공시균주 배양농도

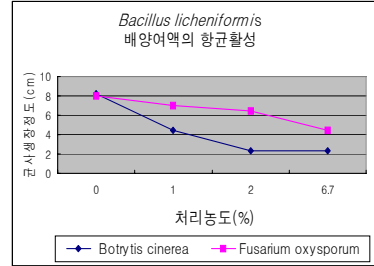
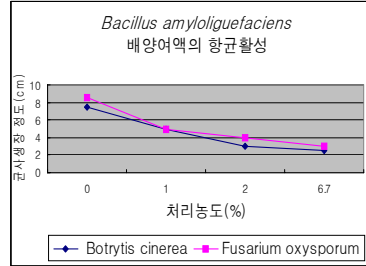


그림 1b. *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. licheniformis* 배양여액의 *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* 항균효과



그림 2a. 토마토 검은잎곰팡이병(*Pseudocercospora fuligena*) 병징 및 분생포자

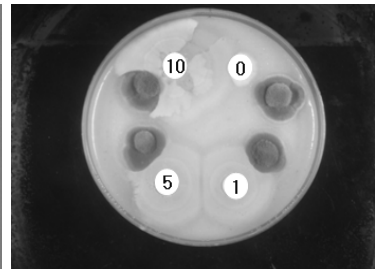


그림 2b. *Streptomyces sp.*의 *P. fuligena* 억제효과

식물 등 천연소재 50종의 추출물을 이용하여 박과류 흰가루병(*Sphaerotheca fusca*, *Sphaerotheca fuliginea*)에 대한 항균활성을 조사한 결과 4종의 추출물이 선발되었고, 그 중에서 *Lentemis sp.* 및 *Tagetes sp.* 추출물은 80% 이상의 오이흰가루병 방제효과가 확인되었다.

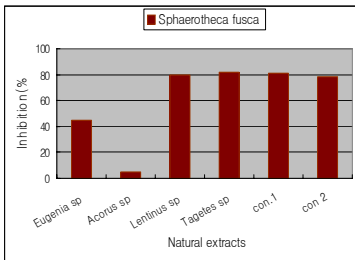


그림 3a. 50종 추출물에서 선발된 4종 추출물의 흰가루병 항균효과



그림 3b. *Lentemis sp.* 및 *Tagetes sp.* 추출물의 오이 흰가루병 억제 효과

4. 적 요

- 가. 토마토 잎곰팡이병 방제효과 우수 미생물 선발 : 1종
- 나. 오이 흰가루병 방제효과 우수 천연추출물 선발 : 2종

5. 인용문헌

Harborne, J. B. 1993. Introduction to Ecological Biochemistry(4th ed.). Academic Press, London.

Isman, M.B. 2002. Pesticides based on plant essential oils for management of plant pests and diseases. International Symposium, development of natural pesticides from forest resources. p1~9.

Jacobson, M. 1949. The structure of pellitorine. *J. Amer. Chem. Soc.* 71: 366~367.

L.G. Copping, 2004. A world compendium 'The Manual of Biocontrol Agents' *Third Edition of the biopesticide manual.* pp. 173-261.

Swain, T. 1977. Secondary compounds as protective agents. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 28: 479-501.

6. 연구결과 활용 : 기초자료

7. 연구원 편성

구분	소속	직급	성명	수행업무	참여년도
					'12
과제책임자	환경농업연구과	농업연구사	권순배	과제 총괄	○
1세부책임자	"	"	권순배	주관수행	○
공동연구자	인삼약초연구소	"	김성일	연구지원	○
"	환경농업연구과	"	문윤기	"	○
"	"	"	이재홍	"	○
"	"	"	정태성	"	○
"	"	"	최준근	"	○
"	"	전문위원	김충희	"	○