마늘 푸른곰팡이병 방제용 *Pantoea agglomerans* 59-4의 억제기작 해석김용기* · 권미경 · 예완해 · 홍성준 · 지형진 · 박종호 · 한은정 · 박경석¹ · 이상엽¹ · 이승돈²국립농업과학원 농산물안전성부 유기농업과, ¹농업생물부 농업미생물과, ²농촌진흥청 연구정책국 연구조정과Elucidation of Mode of Action of *Pantoea agglomerans* 59-4 for Controlling Garlic Blue MoldYong-Ki Kim*, Mi-Kyung Kwon, Wan-Hae Yeh, Sung-Jun Hong, Hyung Jin Jee, Jong-Ho Park, Eun-Jung Han, Kyung-Seok Park¹, Sang-Yeob Lee¹ and Seong-Don Lee²

Department of Organic Agriculture, Division of Agro-Food Safety, NAAS, RDA, Suwon 441-707, Korea

¹Department of Agricultural Microbiology, Division of Agricultural Biology, NAAS, RDA, Suwon 441-707, Korea²Department of Research Coordination, Division of Research Policy Bureau, RDA, Suwon 441-707, Korea

(Received on May 3, 2010; Accepted on May 18, 2010)

To screen for potential biocontrol agents against postharvest disease of garlics caused by *Penicillium hirsutum*, a total of 1292 isolates were isolated from the rhizosphere or rhizoplane of *Allium* species. Among them, S59-4 isolate was selected as a potential biocontrol agent by *in vivo* wounded garlic bulb assay. The isolate was identified as *Pantoea agglomerans* (Pa59-4) through Biolog system. Pa59-4 did not inhibit the mycelial growth of *P. hirsutum* in dual-culture with *P. hirsutum* on tryptic soy agar. In order to elucidate mode of action of Pa59-4 on biological control, nutrient competition between Pa59-4 and *P. hirsutum* was investigated by the simple method using tissue culture plates with cylinder inserts containing defusing membrane reported by Janisiewicz *et al.* (2000). The results showed that Pa59-4 effectively suppressed spore germination and mycelial growth of blue mold in the low concentration (0.5%) of garlic juice, but it did not suppress those of blue mold in the high concentration (5%) of garlic juice. This result suggests that the mechanism in biocontrol of garlic blue mold by Pa 59-4 may be involved in nutrient competition with *P. hirsutum* on garlic bulbs.

Keywords : Garlic blue mold, Nutrient competition, *Pantoea agglomerans* 59-4, Postharvest disease

유용미생물에 의한 식물 병에 대한 생물적 방제기작에 대한 연구는 여러 연구자 의해 수행되어 왔다. 국내의 경우 1980년 중반부터 고추채배시 큰 피해를 주는 역병을 방제할 목적으로 항균활성이 높은 길항균을 분리하여 생물학적 연구를 수행한 이래 지상부에 발생하는 흰가루병을 방제할 목적으로 흰가루병균에 항균활성이 있는 세균이나 중박기생하는 곰팡이를 분리하여 효능을 검증하고 현장에서 활용할 수 있도록 실용화 하는 등 생물학적 방제를 위한 억제기작에 대한 다양한 사례가 속속 보고되고 있다. 박 등(2006)은 벼 종자에 *Bacillus valimortis*

EXTN-1을 처리하면 각종 병원균에 대한 병 저항성을 유도하고 작물의 생육도 촉진한다고 보고한 바 있다.

국내에서 수행된 식물 병에 대한 생물학적 방제연구는 주로 역병, 균핵병과 같은 토양전염성 병이나 흰가루병, 잿빛곰팡이병과 같은 지상부 병해 방제용 미생물에 대한 연구가 대부분이며, 저장 중에 발생하는 병을 대상으로 한 연구는 전무한 실정이다.

저장 중 발생하는 병을 생물학적으로 방제할 경우에 병원균의 침입부위인 상처부위에 길항균을 직접 처리할 수 있고, 상처가 있는 부위는 영양원이 비교적 풍부하므로 길항균의 정착이 비교적 용이하다(Janisiewicz 등, 2000). 마늘저장병균(*Penicillium hirsutum*)을 포함한 대부분의 저장병균은 타가영양(necrotrophic)을 하므로 병원균 포자발아 및 병 발생을 위해서 특정 영양원이 필요하다. 특정

*Corresponding author

Phone) +82-31-290-0554, Fax) +82-31-290-0507

Email) yongki@rda.go.kr

미생물이 영양원 이용성이 우수하여 상처 부위에서 병원균과 영양적 또는 공간적 경쟁능력을 가질 경우 효과적으로 저장 중 부패를 줄일 수 있다.

지금까지 저장병에 대한 길항균의 생물학적 방제기작은 주로 항생작용(Stockwell 등, 2002; Wright 등, 2001; Pusey 등, 2008), 병저항성(Han 등, 2000, Wilson, 1994), lipopolysaccharide(Kochchi 등, 2006; Tsukioka 등, 1997)에 의한 것이 주로 보고되어 왔으나, 최근 들어서는 영양원 우수 경쟁균 처리에 의한 저장병의 생물학적 방제연구도 활발히 추진되고 있다(Janisiewicz 등, 2000; Meziane, 2006; Poppe 등, 2003).

본 연구에서는 마늘이나 양파 등의 *Allium*속 채소류의 근권으로부터 미생물을 분리하여 마늘 푸른곰팡이병균에 부패를 현저하게 억제하는 유용미생물을 선발하고, 항균활성 및 영양원으로서 탄소원과 질소원의 이용성을 조사하였고, 선발 미생물을 공시하여 마늘 푸른곰팡이병을 대상으로 병 억제기작을 구명하였다.

재료 및 방법

시험 병원균. 저장중에 푸른색 곰팡이 포자가 형성된 부패 마늘을 골라 포자를 루프에 묻힌 후 potato dextrose agar(PDA) 배지에 도말하여 얻은 균총을 취하여 20°C 항온기에서 5일간 배양하였다. 배지에 생긴 곰팡이 균총을 새로운 PDA 배지에 이식하여 이를 시험 균주로 이용하였다. 접종원은 병원균을 PDA 배지상에 14일간 배양한 후 배지에 20 ml의 멸균수를 첨가하고 부드러운 고무브러시로 문질러서 병원균 포자를 회수하고 hemacytometer로 계수하여 제조하였다.

마늘과 양파의 근권, 근면 및 표피서식 미생물분리. 마늘푸른곰팡이병균에 대한 길항균을 선발하기 위하여 마늘 재배지의 토양, 마늘과 양파의 근권, 저장 중인 마늘과 양파의 표면으로부터 진균과 세균을 분리하였다. 토양 시료는 토양 20 g에 물 200 ml를 첨가하여 상온에서 150 rpm으로 진탕한 후 이를 희석하였다. 마늘과 양파 뿌리 시료는 흐르는 물에 한번 수세한 후 가위로 잘게 절제하여 20 ml의 멸균수를 첨가하여 마쇄하고 이를 거즈에 걸러 얻은 여과액을 희석하였다. 저장 중인 마늘과 양파 시료는 표피를 잘 벗겨 가위로 적당한 크기로 자른 다음 2 ml의 멸균수를 첨가하여 마쇄하고 이를 거즈에 걸러 얻은 여과액을 희석하였다. 회수한 각각의 희석액에 대해서는 tryptic soy agar 배지(TSA) (Difco Laboratories, Detroit)에 각각 도말하여 단콜로니를 분리하였다.

길항균 선발. 길항균은 대치배양법과 마늘인편을 이용

Fig. 1. Microplate and cylinder used for testing nutrient competition between Pa59-4 and *Penicillium hirsutum*, a causing agent of postharvest decay of garlics.

한 생물 검정법을 이용하여 선발하였다. 2001년에는 항균활성이 높은 길항균을 선발하기 위하여 분리미생물과 푸른곰팡이병균을 TSA 배지상에 대치 배양하여 병원균 생장을 현저하게 억제하는 미생물을 선발하였다. 마늘푸른곰팡이병균은 PDA 배지상에 7일간 배양한 후 증류수에 10^6 포자/ml 농도로 현탁하여 7 mm paper disc에 피펫팅하여 접종하였고, 검정 대상 미생물을 paper disc에 같이 피펫팅한 후 배양하면서 항균활성 유무를 조사하였다 (Fig. 1).

2002년부터는 항균활성과 더불어 먹이경합 우수하거나 유도저항성을 일으키는 미생물을 선발하기 위하여 마늘 인편상에서 아래와 같은 방법으로 생물검정을 수행하여 병 진전을 억제하는 미생물을 선발하였다(이하 마늘인편 검정법이라 함). 마늘은 껍질을 벗긴 후 1% 차아염소산 나트륨에 1시간동안 표면살균하고 멸균수로 3번 씻어내고 건조시켰다. 마늘에 직경 2 mm, 깊이 1 mm의 구멍을 2개 내고 흘러넘치지 않을 정도로 길항균 현탁액을 구멍에 접종하였다. 약 30분 정도 건조 후 구멍에 *Penicillium hirsutum* 현탁액이 넘치지 않을 정도로 접종하여 습실 상자에 넣어 20°C 항온기에 7일간 배양하고 형성된 병반 직경을 기준으로 길항균을 선발하였다. 1차 선발에서는 처리 당 마늘인편 3개씩 3반복으로, 2차 선발시에는 처리 당 마늘인편 10개씩 3반복으로 시험을 수행하였다. 근권 미생물의 발병억제효과는 다음과 같은 계산식에 의해 조사 평가하였다.

발병억제효과(Suppressive effect, %)=

$$\{(\text{무처리 병반직경} - \text{처리구 병반직경}) / \text{무처리 병반직경}\} \times 100$$

길항균 동정. 길항력이 우수하거나 마늘인편검정에서 병 진전을 현저히 억제하는 균으로 선발된 균에 대해서는 그람염색을 하여 그람음성 및 그람양성을 판정하였으며, 그람음성 길항균에 대해서는 각각 Biolog GN plates

(Biolog, Inc., Hayward, CA)를 이용하고, 그람양성인 길항균에 대해서는 Biolog GP plates를 이용하여 탄소원 및 질소원의 이용성을 조사하여 동정하였다. 그람양성인 길항균에 대해서는 Bartholomew Michell의 방법을 응용한 Walts의 방법에 따라 7.5% malachite green과 0.25% safranin을 사용하여 내생포자 생성여부를 확인하였다.

길항균의 항균기작 조사. 선발한 길항균 Pa59-4의 항균활성을 알아보기 위하여 감자한천배지, TSA 및 1/10 TSA배지를 직경 9 cm 페트리디쉬에 20 ml/씩 분주한 후 병원균과 길항균 Pa59-4를 대치배양(배지 중앙에 푸른곰팡이병균을 접종하고 대각선으로 정사각형이 되도록 길항균 현탁액을 묻힌 paper disc를 치상)하여 푸른곰팡이병균에 대한 Pa59-4의 저지원 형성여부를 조사하였다.

영양원 경합여부 조사. Pa59-4의 영양원 경합능력을 검정하기 위하여 Janisiewicz 등(2000)이 사용한 방법에 따라 마이크로플레이트상에서 푸른곰팡이병균의 포자발아 및 성장정도를 조사하였다(Fig. 1). 길항균에 의한 영양분 이용효과를 검정하기 위하여 조직배양용 마이크로플레이트 (24구멍; Costor, Corning Inc., 뉴욕주, 미국)와 실린더(Millicell-CM; Millipore Corp., 메사추세츠주, 미국)를 사용하였다. 삽입 실린더는 바닥부분에 친수성 폴리테트라에틸렌 멤브레인 필터(구멍크기 0.45 μm)가 부착된 폴리에틸렌 실린더로 멤브레인 아래에는 spacer가 있어 나중에 용액을 포함하는 마이크로플레이트에 삽입 실린더를 놓았을 때 멤브레인 밑으로 용액이 자유스럽게 이동하기 용이한 것을 사용하였다.

멤브레인을 통한 용액의 이동여부는 crystal violet 용액을 실린더 내부에 넣고 물은 마이크로플레이트의 구멍에 넣거나 또는 그 반대로 하여 확인하였다. 길항균 PA59-4의 먹이경합능력 확인을 위하여 10% 또는 1% 마늘주스에 길항균 현탁액(1.0×10^8 cfu/ml)을 부피비로 동량 첨가하여 최종적으로 5% 또는 0.5% 마늘주스를 제조하여 마이크로플레이트의 well에 담았다. 대조로 물 단독, 0.5%와 5% 마늘주스를 조제하여 사용하였다. 푸른곰팡이병균

의 포자현탁액(2×10^5 포자/ml)은 마이크로플레이트 내에 정지한 실린더 안쪽에 0.4 ml/씩 접종하였다. 병원균과 길항균이 접종된 실린더를 포함하는 마이크로플레이트는 25°C에서 24시간과 48시간 인큐베이션한 후에 삽입실린더를 well로부터 꺼내어 막에 있는 물을 tissue paper로 닦아내고 membrane을 scalpel로 잘라내었다. 잘라낸 membrane은 슬라이드글라스로 옮겨 lactophenol-cotton blue로 염색하고 마운팅한 다음 광학현미경으로 포자발아 및 균사생장을 관찰하였다.

결과 및 고찰

파속 채소 근권 및 근면서식 미생물의 분리. 마늘푸른곰팡이병을 생물적으로 방제하기 위하여 2001년부터 2002년까지 2년에 걸쳐 파속채소의 근권 및 근면으로부터 표면서식미생물 1,292종을 분리하였다(Table 1). 2002년에 마늘인편을 이용한 생물검정을 통하여 선발한 길항균은 대부분 양파나 다른 작물보다는 마늘의 근권과 근면으로부터 주로 분리되었다.

마늘푸른곰팡이병 방제용 길항균 선발. 2002년에 선발한 158균주 중 89균주는 *in vitro* 항균성 검정을 통해서, 69균주는 마늘인편검정을 통해서 선발되었다. 항균성 검정을 통하여 선발한 길항균의 항균력을 배지상에서의 저지원 크기별로 구분하였을 때 저지원 직경이 10 mm 이상 되는 균주가 94.4%인 반면(Table 2), 마늘인편검정을 통하여 선발한 길항균은 오직 23.2%만이 10 mm 이상의 저지원을 나타냈을 뿐 76.8%의 길항균은 저지원을 전혀 생성하지 않거나 8 mm 미만의 저지원을 형성하는 것으로 나타났다(Table 3). *In vitro* 조건에서 푸른곰팡이병균에 대한 높은 항균성을 보이는 미생물이 *in vivo* 조건에서는 병 진전억제 효과가 낮은 경우가 매우 많다. 이는 마늘이 여러 가지 미생물의 생육을 억제하는 물질을 생성하거나 포함하고 있기 때문에 비록 항균활성이 높은 미생물이라 할지라도 처리한 부위에서 마늘이 내는 물질

Table 1. Isolation of effective microorganisms from rhizosphere and rhizoplane of *Allium* species collected in the field

Crop	Isolation part	No. of isolates			No. of selected isolates		
		2001	2002	Subtotal	2001	2002	2003
Garlic	Soil	51	434	485	4	45	1
	Root	105	501	606	17	111	0
Onion	Soil	66	0	66	1	0	0
	Root	108	0	108	3	0	0
Others	-	25	2	27	3	2	0
Total	-	355	937	1,292	28	158	1

Table 2. Inhibitory activity of antagonistic microorganisms selected through dual-culturing of microorganisms isolated from rhizosphere and rhizoplane of *Allium* species, and *Penicillium hirsutum*, causing storage decay of garlic

	Diameter (mm) of inhibition zone					Total
	<8	8~10.0	10.1~13.0	13.1~15.0	>15.1	
No. of isolates	1	4	62	14	8	89
Proportion	1.1	4.5	69.7	15.7	9.0	100

Table 3. Inhibitory activity of antagonistic microorganisms selected through bioassay on garlic cloves by co-inoculation of microorganisms isolated from rhizosphere and rhizoplane of *Allium* species, and *Penicillium hirsutum*, causing storage decay of garlic

	Diameter (mm) of inhibition zone					Total
	<8	8~10.0	10.1~13.0	13.1~15.0	>15.1	
No. of isolates	53	0	0	1	15	69
Proportion	76.8	0	0	1.5	21.7	100

Table 4. Classification of effective microorganisms according to antifungal activity range to *Penicillium hirsutum* on garlic cloves

	No. of antagonists at different suppressive effect (%)					Total
	<10	10.1~30	30.1~50	50.1~70	>70	
No. of isolates	37	11	9	2	99 ^a	158
Proportion (%)	23.4	7.0	5.7	1.3	62.6	100

^aTwenty nine isolates caused damage to garlic.

에 의해 생육이 억제되어 정착할 수 없을 경우 병원균의 생장을 억제하지 못하기 때문이라 사료된다. 항균활성을 기준으로 선발한 균주들은 저지원의 크기가 10.1~13.0 mm 인 균주들을 중심으로 정규분포를 하는 반면, 마늘인편상에서 생물검정을 통해 선발한 균주들은 저지능력이 전혀 없거나 매우 낮은 그룹과 저지능력이 매우 높은 그룹으로 이원화 되는 경향을 나타냈다. 그 원인은 항균활성만을 기준으로 선발할 경우에는 주로 미생물이 내는 항균활성물질에 의해 병원균의 생육이 억제되는 반면에 마늘인편검정법을 통해서 길항균을 선발할 경우에는 항균활성이 있는 길항균을 포함하여 먹이경합능력이 우수하거나 병 저항성을 유도하는 미생물도 함께 선발할 수 있기 때문이라 생각된다. 병원균에 대한 저지능력이 없으면서 발병을 억제하는 미생물은 먹이경합능력이 우수하거나 병 저항성을 유도하는 미생물로 사료되었다.

*In vitro*에서 항균성 검정시 항균활성을 보인 길항균 89종을 처리하였을 때의 푸른곰팡이병균의 포자색깔의 변화를 유형별로 구분하여 조사한 결과 항균활성을 보인 균주 중 24균주는 외관상 변화를 관찰할 수 없었으며, 63균주는 포자를 갈변시켰고, 1균주는 포자를 흑변시켰고, 1균주는 포자형성을 억제시키는 것으로 나타났다.

마늘 푸른곰팡이병 방제용으로 실용화할 수 있는 길항균을 선발하기 위하여 항균성 검정과 마늘인편검정에 의

하여 선발된 길항균 158종을 공시하여 마늘인편상에서의 병 진전 억제효과를 평가하였다(Table 4). 158균주 중 99균주는 병 진전을 70% 이상 억제하는 것으로 나타났으며, 99균주 중 29균주는 마늘에 대하여 병원성을 나타내어 마늘 푸른곰팡이병 방제에 사용하기는 곤란한 것으로 평가되었다.

푸른곰팡이병에 높은 발병억제효과를 보인 99균주 중 마늘에 병원성을 보인 29균주를 제외한 70균주를 가지고 3차에 걸쳐 발병억제효과를 검정한 결과 모든 시험에서 S5-1, S31-8, S38-9 및 S59-4균주가 우수한 효과를 나타냈다(Table 5).

길항균 동정. 마늘인편상에서 푸른곰팡이병에 대하여 우수한 억제효과를 보인 4종의 길항균과 2001년도 시험에서 생육촉진효과를 보인 5종의 길항균에 대해서는 세균학적 또는 생화학적 특성을 조사하였다. 균 동정을 위하여 그람염색을 하여 음성과 양성으로 구분한 후 그람 음성균은 Biolog GN plate로, 그람양성균은 Biolog GP plate에 접종하여 영양원(탄소원, 질소원)의 이용성을 조사하여 동정하였는데, 억제효과를 보인 4종의 길항균은 각각 S31-8은 *Klebsiella terrigena*, S38-9는 *Pseudomonas fluorescens*, S59-4는 *Pantoea agglomerans*로 동정되었으며, S5-1은 동정되지 않았다(Table 6). *P. agglomerans*는 사과와 배화상병의 생물적 방제를 위해 이용되기도 하고,

Table 5. Suppressive effect of isolated microorganisms on disease development caused by *Penicillium hirsutum* on garlic cloves

Isolate	Suppressive effect (%) ^a			Remarks
	1st trial	2nd trial	3rd trial	
R14-13	21.0	-	-	
R16-13	100 (decayed)	-	-	
R14-2	36.0	-	-	
SC1	5.0	-	-	
SC2	42.0	-	-	
R6-15	31.0	-	-	
S5-1	> 80	83	90	Selected
S10-2	> 80	83	83	
S10-4	> 80	100	83	
S14-4	> 80	83	83	
S21-2	> 80	83	83	
S29-1	> 80	83	83	
S31-8	> 80	100	100	Selected
S38-9	> 80	100	100	Selected
S44-1	> 80	100	83	
S47-1	> 80	83	83	
S52-1	> 80	83	83	
S52-4	> 80	83	83	
S59-4	> 80	83	100	Selected
J6-1	> 80	83	83	
J9-4	> 80	83	83	
J25-4	> 80	83	83	
J25-5	> 80	83	83	
J31-5	> 80	83	83	
J50-8	> 80	100	83	

^aSuppressive effect (%) = {(radii of infected lesions of untreated control samples – radii of infected lesions of treated samples)/radii of infected lesions of untreated control samples} × 100.

Fig. 2. Antifungal activity test by dual-culturing between Pa59-4 and *Penicillium hirsutum* on ten times-diluted TSA media. Inhibition zones were not formed between Pa59-4 and *P. hirsutum*.

사과와 배 저장 중에 발생하는 *Penicillium expansum*, *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer*를 방제하기 위해서 이 용되기도 한다(Nunes 등, 2001; 2002).

항균활성 검증. 선발한 길항균 Pa59-4가 푸른곰팡이병균에 대하여 항균활성을 가지고 있는지 알아보기 위하여 영양원이 풍부한 감자한천배지와 TSA 그리고 TSA를 1/10로 희석한 배지에서 병원균과 Pa59-4를 대치배양을 하여 저지원의 형성여부를 조사한 결과, 선발한 길항균 Pa59-4는 시험에 공시한 배지상에서 모두 저지원을 형성하지 않았다(Fig. 2). 따라서 길항균 Pa59-4는 푸른곰팡이병균에 대하여 항균활성은 없는 것으로 판명되었다. Stockwell 등(2002)에 따르면 사과와 배 화상병 방제용으로 사용되는 *P. agglomerans* strain Eh252는 *in vitro* 조건하에서 항균성물질을 생성하는데 이 물질은 사과와 배 화상병균의 성장을 현저히 억제하는 것으로 보고한 바 있다. Wright 등(2001)도 *P. agglomerans* strain Eh252가 *in vitro* 조건하에서 화상병균의 성장을 억제하는 두 가지 항생물질을 생

Table 6. Identification of the nine effective bacteria selected as control agents against *Penicillium* decay according to the Biolog Microstation System for bacterial identification

Isolate	Identification	Similarity	Closest species
R14-2	<i>Bacillus</i> sp.*	-	<i>Bacillus subtilis</i>
R14-13	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0.596	-
R16-13	<i>Bacillus subtilis</i> *	0.501	-
SC-1	<i>Bacillus licheniformis</i> *	0.560	-
SC-2	<i>Bacillus</i> sp.*	-	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
S5-1	unidentified	-	-
S31-8	<i>Klebsiella terrigena</i>	0.522	-
S38-9	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0.606	-
S59-4	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.646	-

*Endospore formation was confirmed by Walt's method.

산한다고 보고하였다. 그러나 본 시험에서 시험에 공시한 길항균 Pa59-4는 모든 배지 상에서 마늘푸른곰팡이병균에 대한 항균활성을 보이지 않았으므로 푸른곰팡이병균의 생장을 억제하는 항생물질을 생성하지 않는 것으로 판단되었다.

영양원 경합여부 조사. PFTE 멤브레인 필터를 이용하여 마늘푸른곰팡이병균과 Pa59-4의 nutrient competition을 조사한 결과, 0.5%와 5% 마늘주스에서는 모두 발아가 잘 되었으나 마늘주스에 PA59-4를 혼합하였을 경우에는 0.5% 마늘주스에서는 발아가 되지 않았고 5%에서는 마늘 주스만 처리하였을 때 보다 발아가 현저하게 억제되었다 (Table 7과 Fig. 3). Pa59-4는 항균활성에 의하여 푸른곰팡이병균을 억제하지 않는 것은 항균활성 검정결과 확인된 바 있고, Pa59-4가 영양원인 마늘주스를 적게 첨가해 주었을 때 푸른곰팡이병균의 포자발아와 균사생장을 현저하게 억제시킨 반면 마늘주스를 많이 첨가해 주었을 때에는 억제효과가 현저하게 저하되었고 길항균 Pa59-4와

함께 접종하였을 때 발아되지 않았던 병원균 포자를 신선한 5% 마늘 주스에 접종했을 때에는 다시 잘 발아되었던(자료생략) 것으로 보아 Pa59-4의 마늘 푸른곰팡이병 억제효과는 nutrient competition(영양원 경합)에 의한 것으로 판명되었다. Poppe 등(2003)은 감귤 푸른곰팡이병에 높은 방제효과를 보이는 *P. agglomerans*가 본 시험에 공시한 Pa59-4와 같이 영양원 경합에 의해 병 진전을 억제한다고 보고한 바 있다. Castoria 등(2001)은 사과저장 중에 발생하는 *B. cinerea*, *P. expansum*, *R. stolonifer*와 *A. niger*에 대한 억제효과가 우수한 *Aureobasidium pullulans* (LS-30)가 병원균에 대한 영양원 경합능력도 우수하고, 병원균 균사를 분해할 수 있는 exochitinase와 1,3-glucanase를 분비한다고 보고하였다. Calvente 등(1999)에 따르면 사과저장 중 부패를 일으키는 푸른곰팡이병에 억제효과가 우수한 *Rhodotorula glutinis*는 Rhodotorulic acid라는 siderophore를 생성함으로써 발병을 억제시킨다고 한다. 그러나 본 시험에 공시한 길항균 Pa59-4는 병원균에 대한 영양원 경합능력은 우수하나 대치배양에 의한 항균성 검정시 저지원이 전혀 형성되지 않은 것으로 보아 병원균 균사를 분해할 수 있는 효소를 생산하거나 직접 침입할 수 있는 능력은 없는 것으로 판단된다. Han 등(2000)은 근권에서 유도저항성을 일으키는 능력이 있는 미생물을 간편하고 신속하게 선발하는 방법에 대한 연구 결과를 발표하면서 본 시험에서 공시한 균과 동일한 종인 *P. agglomerans* strain E278Ar을 근권에 처리할 경우 무에 저항성을 유도하여 잎에 나타나는 무 세균성검은점무늬병을 방제할 수 있다고 보고한 바 있다. 따라서 본 시험에서 선발한 Pa 59-4를 근권에 처리했을 때 저항성을 유도하는지 여부를 오이를 가지고 시험하였는데, 유도저항성을 일으킨다는 결과를 얻지는 못하였다(자료 생략). Feng

Table 7. Suppression of conidial germination of *Penicillium hirsutum* by nutrient competition with PA59-4^a

Treatment	Sporulation of <i>Penicillium hirsutum</i> ^b
Water	-
0.5% garlic juice	+++
5% garlic juice	+++
Water + Pa59-4	-
0.5% garlic juice + Pa59-4	-
5% garlic juice + Pa59-4	++

^aInoculum concentration of *Penicillium hirsutum* was 10^5 spores/ml. Sporulation rate of *Penicillium hirsutum* was measured by observing spore germination and mycelial growth with three replications.

^bGermination rate: -, no germination; +, 10% ≥; ++, 11~50%; +++, ≤51%.

Fig. 3. Germination of the conidia on the membranes cut from the cylinders that were inserted for 24 h into wells containing, water (A), garlic juice at 0.5% (B), garlic juice at 5% (C), water + Pa59-4 (D), 0.5% garlic juice + Pa59-4 (E), 5% garlic juice + Pa59-4 (F), for an additional 24 h.

등(2006)은 벼에 내생하는 *P. agglomerans* YS19는 질소 고정 능력이 있어 벼 생장을 촉진하고 광합성 산물을 배당시키는 것으로 보고한 바 있어, 동일 종인 Pa59-4균주에 대해서도 이에 대한 검토가 필요할 것으로 사료된다.

요 약

마늘 저장병을 일으키는 푸른곰팡이병을 생물적으로 방제하기 위하여 마늘과 양파 등 파속 채소 근권 또는 근면으로부터 미생물 1,292균주를 분리하였다. 분리한 균주를 대상으로 푸른곰팡이병에 대한 항균성 검정과 마늘인편검정을 실시하여 최종적으로 푸른곰팡이병 진전을 현저히 억제하는 S59-4균주를 선발하였으며, Biolog system을 이용하여 동정한 결과 *Pantoea agglomerans* 59-4(Pa59-4)로 동정되었다. 선발한 길항균 Pa59-4의 억제기작을 조사하기 위하여 TSA배지 상에서 병원균과 대치 배양하였을 때 항균활성을 보이지 않았다. 길항균 Pa59-4과 병원균간의 영양원 경합여부를 Janisiewicz(2000)의 방법으로 조사한 결과, 저농도로 마늘즙액에 병원균과 길항균 Pa59-4를 함께 처리하였을 때, 길항균 Pa59-4는 병원균의 포자 발아 및 군사생장을 현저히 억제하였으며, 길항균 Pa59-4와 함께 접종하였을 때 발아되지 않았던 병원균 포자를 신선한 5% 마늘즙스에 접종했을 때에는 다시 잘 발아되는 것으로 나타나 길항균 Pa59-4균주의 억제기작은 영양원 경합에 의한 것으로 확인되었다. 이상의 결과로 볼 때, 길항균 Pa59-4는 마늘저장 중 부패를 줄일 수 있는 유망한 길항균으로 판단되었다.

참고문헌

- Calvente, V., Benuzzi, D. and de Tosetti, M. I. S. 1999. Antagonistic action of siderophore from *Rhizotorula glutinis* upon the postharvest pathogen *Penicillium expansum*. *Int. Biodeter. Biodegr.* 43: 167-172.
- Castoria, R., De Curtis, F., Lima, D. G., Caputo, L., Pacifico, S. and De Cicco, V. 2001. *Aureobasidium pullulans*(LS-30) an antagonist of postharvest pathogens of fruits: study on its modes of action. *Postharvest Biol. Technol.* 22: 7-17.
- Feng, Y., Shen, D. and Song, W. 2006. Rice endophyte *Pantoea agglomerans* YS19 promotes host plant growth and affects allocations of host photosynthates. *J. Appl. Microbiol.* 100: 938-945.
- Han, D. Y., Coplin, D. L., Bauer, W. D. and Hoitink, H. A. J. 2000. A rapid bioassay for screening rhizosphere microorganisms their ability to induce systemic resistance. *Phytopathology* 90: 327-332.
- Janisiewicz, W. J., Tworowski, T. J. and Sharer, C. 2000. Characterizing the mechanism of biological control of postharvest diseases on fruits with a simple method to study competition for nutrients. *Phytopathology* 90: 1196-1200.
- Kohchi, C., Inagawa, H., Nishizawa, T., Yamaguchi, T., Nagai, S. and Soma, G. I. 2006. Application of lipopolysaccharide derived from *Pantoea agglomerans*(IP-PA1) for health care based on macrophage network theory. *J. Biosci. Bioeng.* 102: 485-496.
- Meziane, H., Gavriel, S., Ismailov, Z., Chet, I., Chernin, L. and Hfte, M. 2006. Control of green and blue mold on orange fruit by *Serratia plymuthica* strains IC14 and IC1270 and putative modes of action. *Postharvest Biol. Biochem.* 39: 125-133.
- Nunes, C., Usall, J., Teixido, N. and Vinas, I. 2001. Biological control of postharvest pear diseases using *Pantoea agglomerans* CPA-2. *Int. J. Food Microbiol.* 70: 53-61.
- Nunes, C., Usall, J., Teixido, N., Fons, E. and Vinas, I. 2002. Postharvest biological control by *Pantoea agglomerans* (CPA-2) on golden delicious apples. *J. Appl. Microbiol.* 92: 247-255.
- Park, K., Diby, P. and Yeh, W. H. 2006. *Bacillus vallismortis* EXTN-1-mediated growth promotion and disease suppression in rice. *Plant Pathol. J.* 22: 278-282.
- Poppe, L., Vanhoutte, S. and Hofte, M. 2003. Modes of action of *Pantoea agglomerans* CPA-2, an antagonist of postharvest pathogens on fruits. *Eur. J. Plant Pathol.* 109: 963-973.
- Pusey, P. L., Stockwell, V. O. and Rudell, D. P. 2008. Antibiosis and acidification by *Pantoea agglomerans* strain E325 may contribute to suppression of *Erwinia amylovora*. *Phytopathology* 98: 1136-1143.
- Stockwell, V. O., Johnson, K. B., Sugar, D. and Loper, J. E. 2002. Antibiosis contributes to biological control of fire blight by *Pantoea agglomerans* strain Eh252 in orchards. *Phytopathology* 92: 1202-1209.
- Tsukioka, D., Nishizawa, T., Miyase, T., Achiwa, K., Suda, T., Soma, G. I. and Mizuno, D. 1997. Structural characterization of lipid A obtained from *Pantoea agglomerans* lipopolysaccharide. *FEMS Microbiol. Lett.* 149: 239-244.
- Wilson, C. L., Ghaouth, A., Chalutz, E. E., Droby, S., Stevens, C., Lu, Y. and Arul, J. 1994. Potential of induced resistance to control postharvest diseases of fruits. *Plant Dis.* 78: 837-844.
- Wright, S. A. I., Zumoff, C. H., Schneider, L. and Beer, S. V. 2001. *Pantoea agglomerans* strain EH318 produces two antibiotics that inhibit *Erwinia amylovora* in vitro. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 284-292.