식물병연구
Res. Plant Dis. 13(1) : 40-44 (2007)

Research in Plant Disease
©The Korean Society of Plant Pathology

키틴분해세균 *Chrobacterium* sp.와 *Lysobacter enzymogenes*의 배양액을 이용한 고추 흰가루병의 방제

서종찬 · 정현채[1] · 박서기*
순천대학교 식물의학과, [1]순천대학교 산림자원학과

Control of Powdery Mildew of Pepper Using Culture Solutions of Chitinolytic Bacteria, *Chromobacterium* sp. and *Lysobacter enzymogenes*

Chong Chan Seo, Hyunchae Jung[1] and Seur Kee Park*
Department of Agricultural Biology, Sunchon National University, Sunchon 540-742, Korea
[1]Department of Forest Resources, Sunchon National University, Sunchon 540-742, Korea
(Received on January 17, 2007)

Powdery mildew of pepper is one of the most devastating diseases which is occurring all the year under greenhouse condition. In this study, control efficacy against powdery mildew was evaluated by mixed culture solutions of two chitinolytic bacteria, *Lysobacter enzymogenenes* strain C-3 and *Chromobacterium* sp. strain C-61, cultivated in the chitin-supplemented medium. In all experiments, white powder on the reverse side of pepper leaves perfectly disappeared 3 days after application of mixed culture solutions. However, periods required for formation of new white powder on the same sites after application (control-lasting period) were largely differed according to environmental conditions. In particular, the control-lasting period was much longer when sprayed on 6 PM than 9 AM and especially, on rainy days than sunny days. This indicates that control efficacy of culture solution may be largely affected by environmental conditions after application. The undiluted culture solution resulted in a perfect control with control value more than 95% by application of 5-day-intervals under severely diseased field and 7-day-intervals under disease-started field. A ten-fold diluted product also showed control value more than 81% by application of the same method. These results suggest that this culture solution can be practically used to control powdery mildew disease in pepper plants.

Keywords **: Chitinolytic bacteria, Control, Culture solution, Pepper, Powdery mildew**

Leveillula taurica Arnaud에 의한 고추 흰가루병은 유럽 남부 및 지중해, 아시아, 아프리카, 미국 남부, 중앙 및 남아메리카 등의 따뜻하고 건조한 지역에서 발생하는 것으로 알려져 있으며(신, 2000), 우리나라에서는 비닐하우스 재배 고추에서 1980년 최초 보고되었다(차 등, 1980). 이 병은 처음 잎 뒷면에 서릿발 모양의 흰가루가 생겨서 점점 확대되는데, 흰가루(분생포자)가 바람에 날려 상위 잎으로 번져 간다. 이 병원균은 다른 흰가루병균들과 달리 내생균사를 형성하기 때문에(Correll 등, 1987), 흰가루가 있었던 부위의 앞면에는 담황색의 작은 반점무늬가 형성된다. 병세가 진전되면 반점주위가 황색으로 변하면서 결국 낙엽이 되기 때문에, 초세가 약해지고 과실의 착생과 비대가 불량해져 수량이 크게 감소하게 된다(Blazquez, 1976; 차 등, 1980; Reuveni 등, 1974).

이 병은 비닐하우스 재배 고추에서 4월 말부터 발생하기 시작하여 5월 중순에 확대되는 것으로 보고되었지만(차 등, 1980), 최근 전남지역의 비닐하우스에서는 년 중 계속 발생하고, 농약을 처리하지 않고서는 수확이 거의 불가능할 정도로 피해가 심하였다. 그러나 농약의 사용은 환경오염뿐만 아니라 고추의 잔류농약이 문제시 된다. 특히, 풋고추용으로 판매되고 있는 하우스 고추는 농약의 사용이 더욱 문제될 소지가 많다. 따라서 친환경적으로 방제할 수 있는 방법이 시급히 요구되고 있는데, 외국의 경우 mono-potassium phosphate, sodium 혹은 potassium

*Corresponding author
Phone) +82-61-750-3864, Fax) +82-61-750-3268
E-mail) parksk@sunchon.ac.kr

bicarbonate solution 등이 병 발생을 상당히 감소시키는 것으로 보고되었다(Fallik 등, 1997; Reuveni 등, 1998). 그러나 국내에서 재배되고 있는 고추 품종에서 흰가루병 저항성인 계통은 거의 없는 것으로 보고되었고(이 등, 2001), 생물적 방제에 대한 연구도 오이 흰가루병의 경우에는 많이 이루어졌으나(Elad 등, 1996), 고추 흰가루병의 경우에는 거의 이루어지지 않았다.

이전 연구를 통해 *Chromobacterium* sp. strain C-61과 *Lysobacter enzymogenes* strain C-3을 키틴함유배지에 대량 배양하여 오이에 살포하였을 경우 흰가루병에 대한 방제효과가 매우 우수하다는 것을 알 수 있었다(Her 등, 2005). 따라서 본 연구에서는 이 배양액을 고추에 살포하여 흰가루의 변화양상, 살포시기의 환경에 따른 병 방제효과, 포장에서 살포 농도 및 횟수에 따른 병 방제효과 등을 조사하였다.

재료 및 방법

키틴혼합배양액의 조제. 본 실험실에서 분리, 동정하여 이용되어 오던 두 키틴분해성 길항세균, *Chromobacterium* sp. strain C-61과 *L. enzymogenenses* strain C-3을 28℃, 180 rpm의 Nutrient broth에서 각각 1일간 배양하였다. 이 배양액 100 m*l*를 500 *l*의 키틴+최소영양배지(수돗물 1 *l* 당 $(NH_4)_2SO_4$ 0.6 g, KH_2PO_4 0.8 g, K_2HPO_4 0.6 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.04 g, 키틴 2 g)를 지닌 대량배양기에 접종하고 28℃에서 10일간 배양 후 병 방제에 이용하였다.

키틴혼합배양액의 흰가루병 방제효과. 키틴혼합배양액의 흰가루 분해능력은 흰가루가 분포하고 있는 고추 잎에 살포 후 육안으로 조사하였다. 이의 분해 능력은 대조구로서 물만 처리하였던 것과 비교하였다. 또한 배양원액을 오전 9시에 살포하였을 경우와 오후 6시에 살포하였을 경우, 그리고 오후 6시에 살포 후 다음날 건조하였을 경우와 비가 왔을 경우의 병 방제효과 지속기간을 조사하였다. 여기에서 병 방제효과 지속기간은 배양액 살포 후 사라진 흰가루가 다시 나타나기 시작할 때까지의 기간으로 하였다.

키틴혼합배양액의 흰가루병 방제효과는 전남 순천시의 두 비닐하우스 포장에서 조사되었다. 한 포장은 2006년 4월 20일 청양고추를 정식하여 5월 21일에 병이 심하게 발생(약 20% 정도 이병엽율)하고 있었다. 이 포장의 경우 배양원액과 10배 희석액을 20 *l*당 40평 정도에 5일 간격 4회 살포하였다. 다른 포장은 2006년 5월 10일에 피망을 정식하여 6월 7일 병이 발생하기 시작하였는데, 이 포장의 경우 동일한 방법에 의해서 7일 간격 3회 살포되었다. 두 포장 모두 3반복으로 실시되었고 최종 약제 살포 10일 후의 이병엽율을 조사하여 방제가로 환산하였다. 방제가는 (무처리구의 이병엽율−처리구의 이병엽율)/무처리구의 이병엽율×100으로 환산되었다.

결과 및 고찰

배양액의 흰가루(균사 및 분생포자) 분해능력. *L. enzymogenes* strain C-3와 *Chromobacterium* sp. strain C-61의 키틴혼합배양액에 의한 고추 흰가루병 방제 가능성

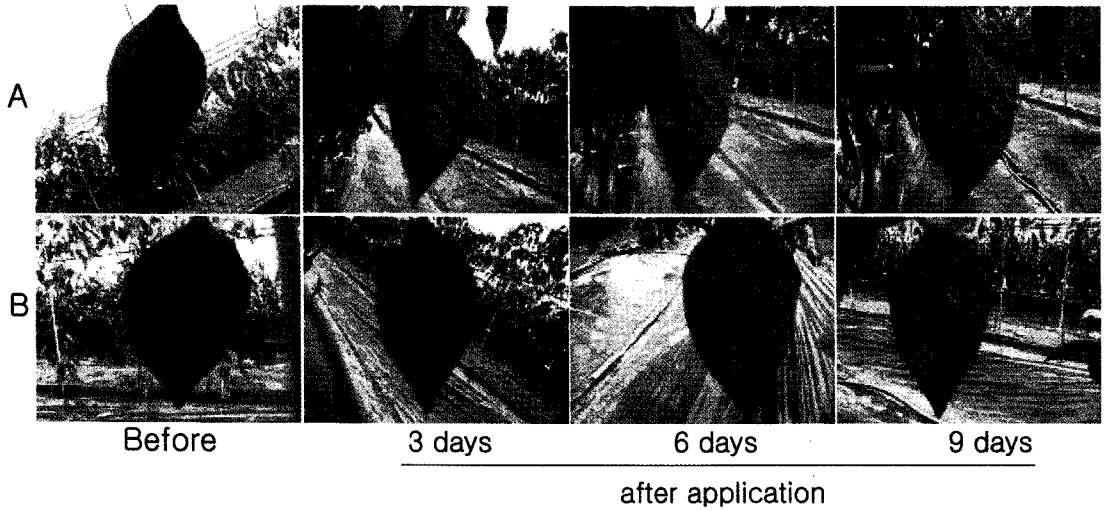

Fig. 1. Changes of white powder on the pepper leaves by application of culture solution (**A**) and water (**B**). The culture solution was obtained from growth of *Lysobacter enzygemones* and *Chromobacterium* sp. strain C-61 in mass-incubator (500 *l*) filled with the chitin-supplemented minimal medium.

여부를 탐색해보기 위하여 배양액 처리 후의 흰가루 변화 양상을 관찰하였다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 배양액을 처리하였을 경우에는 처리 후 1일째부터 흰가루가 감소되기 시작하여 3일 이후에는 거의 관찰되지 않은 반면, 물을 처리하였을 경우에는 흰가루가 계속 번져감을 알 수 있었다. 기간이 더 경과하면 흰가루가 없어지면서 괴사 반점으로 변하고 결국 낙엽이 되는데, 배양액을 처리하였을 경우에는 그러한 현상이 더 빨리 일어났다(Fig. 1).

기존에 *Stenotrophomonas maltophilia*로 명명되었던 *Lysobacter enzymogenes* 균주(Sullivan 등, 2003)는 chitinase를 비롯한 다양한 효소(Dunne 등, 1997; Zhang과 Yuen, 2000a,b) 및 항생물질(Jakobi와 Winkelmann, 1996)을 분비하는 것으로 알려져 있고, *Chromobacterium* sp. strain C-61도 chitinase가 여러 토양병원균의 억제에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Park 등, 2005). 우리는 이들 두 균주를 chitin이 함유된 배지에서 배양하였을 경우 배양액속에 세균뿐만 아니라 chitinase와 다양한 키틴올리고머들이 들어 있다는 것을 알 수 있었다. 더욱이 이 배양액을 오이 흰가루병에 살포할 경우 동일 농도의 세균만 살포하였을 경우 보다 더 우수한 병 방제효과를 지닌다는 것을 알 수 있었다(Her 등, 2005). 따라서 본 배양액에 의한 고추 흰가루의 분해는 두 길항세균뿐만 아니라 이들이 생산하는 여러 항균물질 혹은 항균효소, 그리고 키틴올리고머들이 복합적으로 작용하여 일어났을 것으로 생각된다.

배양액을 처리하였을 경우 흰가루 부위의 더 빠른 괴사증상이 고추뿐만 아니라 토마토에서도 관찰되었지만, 오이에서는 관찰되지 않았다. 즉, 흰가루가 없어지면서 자연적으로 괴사 증상이 나타나는 작물에서만 관찰되었다. 또한 고추에서 흰가루 부위의 더 빠른 괴사증상은 다른 흰가루병 방제용 미생물제나 미생물이 들어 있지 않은 친환경 방제제의 처리에 의해서도 일어났다. 특히, 난황유(달걀+식용유)의 처리에 의해서도 흰가루 부위의 더 빠른 괴사 증상이 관찰되었다. 따라서 배양액처리에 의한 더 빠른 괴사 증상이 처리된 길항미생물에 의해서 일어난 것이 아니라 흰가루가 없어지면서 자연적으로 나타나는 현상으로 생각된다. 그러나 이와 같은 현상은 약해로 오인될 소지가 많기 때문에 앞으로 그 원인을 정확히 구명해주어야 될 것 같다. 한편, 건전 잎의 경우에는 배양액의 처리에 의해서 어떠한 피해도 관찰되지 않았다. 따라서 흰가루 분해 능력이 우수한 본 배양액은 고추 흰가루병 방제제로 이용될 수 있을 것으로 판단되었다.

배양액의 살포시기에 따른 병 방제효과. 배양액 살포에 의해서 사라진 흰가루가 다시 나타나는 기간(병 방제효과 지속기간)은 실험할 때 마다 크게 달랐는데, 이들은 살포 후의 환경조건에 크게 영향을 받았기 때문으로 판단되었다. 즉, Table 1에서 보는 바와 같이 아침(오전 9시)보다는 저녁(오후 6시)때 살포하였을 경우에 사라진 흰가루가 훨씬 더 늦게 나타나기 시작하였고, 특히 비 오는 날 살포하였을 경우에는 새로운 흰가루가 매우 늦게 나타나기 시작하였다.

Table 1. Diversity of control-lasting period according to timing of application in the greenhouse

Timing of application		Control-lasting period (day)[a]
Middle May	9:00 am	3
	6:00 pm	6
Early June	Sunny day	4
	Rainy day	10

[a]Control-lasting period indicates terms required for formation of new white powder after application.

이와 같은 결과는 살포된 배양액의 수분이 더 오랫동안 유지될수록 병 방제효과가 더 지속될 수 있다는 것을 암시한다. 잎 위에 살포된 배양액이 더 오랫동안 유지되면 길항세균의 생육과 활동에 더 유리할 것이다. 이로 인하여 병 방제효과가 더 오래 지속될 가능성도 있을 것이다. 한편, 고추 흰가루병은 일반적으로 건조한 지역에서 많이 발생하고(신, 2000), 특히, 흰가루병균의 포자는 잎 표면의 물에 침지되었을 경우 크게 피해를 받는 것으로 알려져 있다(Elad 등, 1996). 따라서 살포된 배양액의 수분 유지는 흰가루병균의 생육에 더 불리한 조건을 조성하여 병 방제효과가 더 지속되었을 가능성도 있다.

결론적으로 흰가루병 방제효과를 극대화시키기 위해서는 살포된 배양액의 수분이 오랫동안 유지될 수 있는 방법들을 강구해야 된다는 것을 제시한다. 본 실험에서처럼 오전 보다 저녁때 살포하는 것도 하나의 방법이 될 수 있을 것이다. 또 본 실험에서 조사되지 않았지만, 하우스내의 습도를 높여 주는 것도 살포된 배양액의 수분을 더 오랫동안 유지할 수 있는 하나의 방법이 될 것이다. 그 외에 살포된 배양액의 증발이 잘 이루어지지 않는 물질(예; 난황유)들과 섞어 살포하는 방법들도 강구해볼만 하다. 우리는 오이 흰가루병에서 배양액을 살포하고 3일 후에 물만 살포하더라도 병 방제효과가 훨씬 더 오래 지속된다는 것을 알 수 있었다. 이와 같이 살포후의 수분 유지가 흰가루병 방제에 매우 중요하기 때문에, 살포후의 수분 유지를 위한 다양한 방법과 그로 인한 병 방제효과를 조사 중에 있다. 우리는 또한 동일 잎일지라도 살포된 부분의 흰가루만 제거되고, 접촉되지 않은 흰가루에 대해서

Table 2. Control efficacy of culture solution on powdery mildew of pepper under two greenhouses conditions

Greenhouse (Cultivar)	Applied concentration	Diseased leaf (%)[c]	Control value (%)
I: (Chungyang)[a]	Undilution	1.2a	95.3
	10× dilution	4.7b	81.6
	Untreated	25.6c	-
II: (Pimang)[b]	Undilution	1.3a	94.9
	10× dilution	3.2a	85.0
	Undilution	21.3b	

[a]I greenhouse was transplanted with cv. Chungyang on 20 April and severely diseased on 21 May. Applications were conducted total 4 times at 5-day-interval and diseased leaves were investigated 10 days after last application.
[b]II greenhouse was transplanted with Pimang on 10 May and the disease started to occur on 7 June. Applications were conducted total 3 times at 7-day-interval and diseased leaves were investigated 10 days after last application.
[c]Differences in letters indicate in a significant difference between treatments based on Duncan's multiple range test at P=0.05.

는 전혀 영향을 미치지 못한다는 것을 알 수 있었다. 따라서 배양액을 잎에 고루 살포하려는 노력도 필요할 것으로 생각되었다.

배양액의 살포 농도 및 횟수에 따른 병 방제효과. 본 배양액의 실제 사용 가능성을 타진해 보기 위하여 두 비닐하우스 포장에서의 병 방제효과를 조사하였다. 배양 원액의 경우 병 발생이 심한 포장(약 20% 정도의 이병엽율)에서는 5일 간격, 병이 발생하기 시작한 포장에서는 7일 간격 살포함으로서 병이 거의 발생하지 않고, 10배 희석액은 원액에 비하여 병 방제효과가 감소하였지만, 두 포장 모두에서 81% 이상의 방제효과를 나타냈다(Table 2).

이상의 결과에 의해서 우리는 본 배양액을 고추 흰가루병 방제에 이용할 수 있겠다는 생각을 갖게 되었다. 그러나 앞으로 보다 더 효율적이고 경제적인 살포농도, 살포 간격 및 횟수 등이 결정되어야 될 것 같다. 예를 들어 배양원액의 경우 병 발생이 시작한 포장에 7일 간격으로 살포하여 병이 더 이상 진전되지 않았기 때문에 살포 간격을 더 넓혔을 경우의 병 방제효과가 검토되어져야 될 것 같다. 또한 10배 희석액에서 81% 이상의 방제 효과를 보여주었기 때문에 희석배수는 더 낮추고 살포 간격은 더 넓혔을 경우의 방제효과 등이 검토되어져야 될 것 같다. 아울러, 본 배양액에 의한 병 방제효과는 환경에 크게 영향을 받기 때문에 계절에 따른 효율적인 병 방제 매뉴얼도 수립되어야 될 것 같다. 이들에 대한 실험은 현재 계속 진행되고 있다.

본 실험에 이용된 배양액은 균주와 배지의 제공에 의해서 농민들이 직접 배양해서 사용할 수 있도록 500 *l* 용의 간이배양기에서 조제되었다. 여기에서 나온 배양액(500 *l*)은 약 1,000평의 고추에 살포될 수 있기 때문에 원액을 이용하더라도 상당히 큰 면적에 살포될 수 있고, 희석을 하였을 경우에는 더욱 넓은 면적에 살포될 수 있다. 또한 본 배양액은 저렴한 시약들로 조성된 배지에서 조제되었기 때문에 앞으로 더 효율적인 방제 매뉴얼만 수립되면 일반 농민들이 쉽게 이용할 수 있을 것으로 판단된다.

요 약

비닐하우스에서 고추 흰가루병은 1년 내내 발생하는 가장 문제시되는 병해중의 하나이다. 본 연구에서는 키틴 함유배지에서 자란 *L. enzymogenes* strain C-3와 *Chromobacterium* sp. strain C-61의 혼합배양액에 의한 흰가루병 방제효과를 평가하였다. 모든 실험에서 고추 잎 뒷면에 분포하는 흰가루는 혼합배양액 살포 3일 후 완전 사라졌다. 그러나 동일 부위에서 새로운 흰가루가 나타나기까지의 기간(방제지속기간)은 살포후의 환경조건에 따라 크게 달랐다. 특히, 오전 9시보다 오후 6시에 살포되었을 경우, 그리고 살포 다음날 비가 왔을 경우에는 그 방제지속기간이 훨씬 더 길었다. 이것은 살포 후의 환경조건이 병 방제효과에 크게 영향을 미칠 것이라는 것을 암시한다. 배양 원액은 병 발생이 심한 포장에서 5일 간격, 병 발생이 시작되는 포장에서 7일 간격 살포함으로서 95% 이상의 완전한 방제효과를 보여 주었다. 10배 희석액도 동일 방법으로 살포하였을 경우 81% 이상의 방제효과를 나타냈다. 따라서 본 배양액은 고추 흰가루병 방제에 실제 이용 가능할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 농림부 농림기술개발사업의 지원에 의해 이루어진 것임.

참고문헌

Blazquez, C. H. 1976. A powdery mildew of chilli caused by *Oidiopsis* sp. *Phytopathology* 66: 1155-1157.

차재순, 기운계, 조백효, 김기청. 1980. 고추에 발생하는 흰가루병. 한식보호지 19: 241-243.

Correll, J. C., Gordon, T. R. and Elliott, V. J. 1987. Host range, specificity, and biometrical measurements of *Leveillula taurica* in California. *Plant Dis.* 71: 248-251.

Dunne, C., Crowley, J. J., Monne-Loccoz, Y., Dowling, D. N., de Bruijn, F. J. and O'Gara, F. 1997. Biological control of

Pythium ultimum by *Stenotrophomonas maltophilia* W81 is mediated by an extracellular proteolytic activity. *Microbiology* 143: 3921-3931.

Elad, Y., Malathrakis, N. E. and Dik, A. J. 1996. Biological control of Botrytis-incited diseases and powdery mildews in greenhouse crops(Review). *Crop Prot.* 15: 229-240.

Fallik, E., Ziv, O., Grinberg, S., Alkalai, S. and Klein, J. D. 1997. Bicarbonate solutions control powdery mildew (*Leveillula taurica*) on sweet red pepper and reduce the development of postharvest fruit rotting. *Phytoparasitica* 25: 41-43.

Her, M. E., Kim, E. H., Seo, J. C. and Park, S. K. 2005. Improvement of biocontrol of cucumber powdery mildew by culture solution of chitinolytic bacteria (ABSTRACT). *Plant Pathol. J.* 21: 437.

Jakobi, M. and Winkelmann, G. 1996. Maltophilin: a new antifungal compound produced by *Stenotrophomonas maltophilia* R3089. *J. Antibiot.* 49: 1101-1104.

이옥희, 황화숙, 김주영, 한정혜, 유영신, 김병수. 2001. 고추 흰가루병에 대한 저항성재료 탐색. 원예과학기술지 19: 7-11.

Park, S. K., Lee, M. C. and Harman, G. E. 2005. The biocontrol activity of *Chromobacterium* sp. strain C-61 against *Rhizoctonia solani* depends on the productive ability of chitinase. *Plant Pathol. J.* 21: 275-282.

Reuveni, R., Peri, M. and Rotem, J. 1974. The effect of *Leveillula taurica* on leaf abscission in peppers. *Phytopathol. Z.* 80: 79-84.

Reuveni, R., Dor, G. and Reuveni, M. 1998. Local and systemic control of powdery mildew(*Leveillula taurica*) on pepper plants by foliar spray of mono-potassium phosphate. *Crop Prot.* 17: 703-709.

신현동. 2000. 한국식물병원체 1. 흰가루병균과. 농업과학기술원. 320 pp.

Sullivan, R. F., Holtman, M. A., Zylstra, G. J., White, J. F. and Kobayashi, D. Y. 2003. Taxonomic positioning of two biological control agents for plant diseases as *Lysobacter enzymogenes* based on phylogenetic analysis of 16S rDNA, fatty acid composition and phenotypic characteristics. *J. Appl. Microbiol.* 94: 1079-1086.

Zhang, Z. and Yuen, G. Y. 2000a. Effects of culture fluids and preinduction of chitinase production on biocontrol of bipolaris leaf spot by *Stenotrophomonas maltophilia* C3. *Biol. Control* 18: 277-286.

Zhang, Z. and Yuen, G. Y. 2000b. The role of chitinase production by *Stenotrophomonas maltophilia* strain C3 in biological control of *Bipolaris sorokiniana*. *Phytopathology* 90: 384-389.

Zhang, Z., Yuen, G. Y., Sarath, G. and Penheiter, A. R. 2001. Chitinases from the plant disease biocontrol agent, *Stenotrophomonas maltophilia* C3. *Phytopathology* 91: 204-211.