

감자 역병의 친환경 방제를 위한 키토산 제형의 살포

장태현* · 김병섭¹

경북대학교 생태환경대학 생태환경시스템학부, ¹강릉원주대학교 식물생명과학과

Application of Chitosan Preparations for Eco-friendly Control of Potato Late Blight

Taehyun Chang* and Byung Sup Kim¹

Division of Ecology and Environmental System, College of Ecology & Environmental Sciences, Kyungpook National University, Sangju 742-711, Korea

¹Department of Applied Plant Science, Kangnung Wonju National University, Gangneung 210-702, Korea

(Received on June 29, 2012; Revised on November 20, 2012; Accepted on November 30, 2012)

Potato late blight caused by *Phytophthora infestans* Cooke is one of the major diseases in the cultivation of potatoes in Korea. Effect of chitosan preparations (SH-1 and SH-2) was evaluated on the inhibition of mycelial growth of *P. infestans*, and protective activity using detached potato leaf assay both *in vivo* and in the field test. SH-1 and SH-2 were showed protective activity of young plant with control values more than 95% potato late blight by inoculation with pathogens under growth chamber conditions. Mycelial growth was inhibited the radial growth over 74% at a concentration of 300 µg/ml of both SH-1 and SH-2. Spraying with SH-1 and SH-2 on the leaves for detached leaf assay reduced disease development. The content of total polyphenol in stem was significantly increased by SH-1 and SH-2 application in the field. In field experiments, foliar application with both SH-1 and SH-2 were significantly reduced the development of late blight on potato plants. Control of late blight disease was obtained with control values of 72% and 53% by application of 1% SH-1 and SH-2, respectively, with 4 times at 7 days interval, and reduced with similar disease control values by application with 3 times at 14 days interval compared with untreated control. SH-1 and SH-2 applications increased the fresh weight of potato, and higher grade potatoes were also increased. The results showed that SH-1 and SH-2 applications can be used as eco-friendly natural fungicide for organic farming for the increase of yields and control of late blight.

Keywords : Chitosan, Disease development, Late blight, Organic farming, Phytophthora

서 론

감자는 전세계에서 재배되고 있는 경제적으로 중요한 식량작물로서 감자 재배에서 가장 문제가 되는 병은 *Phytophthora infestans*에 의해 발생하는 감자역병이다 (Giddings과 Berg, 1919). 대부분의 *Phytophthora* 속은 토양점염성 병원균으로서 뿌리나 지제부에 주로 피해를 주는데 비하여 감자 역병균은 감자 지상부의 전체에 감염

되어 잎과 줄기를 마르게 하여 감자생산에 큰 피해를 주고 있다(Giddings과 Berg, 1919).

감자 역병 방제를 위하여 지속적인 침투성 살균제의 사용으로 감자 역병균에 대한 저항성을 유발시켜 약제의 사용 횟수가 점차 증가한 반면, 약효는 떨어지고, 이로 인한 환경오염 등의 문제를 야기시키고 있다(Goodwin 등, 1996).

이와 같이 화학농약의 사용에 대한 환경오염을 줄이기 위한 OECD국가간의 협정에 의한 정부 시책으로 농약의 사용량을 줄이거나 사용을 하지 않은 친환경 농업의 장려 일환으로 친환경 유기농업 육성법을 2007년 제정 함으로서 친환경 농산물의 생산의 증가와 소비도 크게 증

*Corresponding author

Phone) +82-54-530-1204, Fax) +82-54-530-1209

Email) thchang@knu.ac.kr

가하고 있다(Chang, 2009). 최근 친환경 감자생산을 위한 재배에서 감자역병 방제를 위한 화학농약 대체 물질로 올리고키토산을 이용한 감자역병 방제효과(Choi 등, 2011)와 키토산을 이용한 여러 작물에서 병 방제 효과가 보고되어 있다(Badawy, 2010).

키토산(β -1,4-D-glucosamines)은 자연계에서 흔하게 존재하는 물질인 키틴을 탈아세틸화하여 만든 고분자 다당체 화합물로 단당인 glucosamine이 5,000개 이상 연결되어 있는 비수용성 물질로 분자량이 100만이 넘는다. 키토산은 단당의 함량에 따라 수용성키토산, 저분자키토산 및 고분자키토산으로 구분하는데, 수용성키토산은 glucosamine 당이 50-100개, 저분자키토산은 100-500개, 고분자키토산은 500개 이상인 것을 말한다. 올리고키토산은 저분자 키토산을 산으로 당쇄를 더 잘라 단당이 2-10개 함유한 것으로 평균 분자량이 3천 미만(2-5 kDa)으로 수용성이며, 환경적으로 안전하고 독성이 없는 유기물질이다(Kendra과 Hadwiger, 1984).

키토산은 식품, 의약 및 농업용 등 폭넓게 사용되고 있으나, 분자량이 20만 미만인(107-30 kDa) 저분자키토산과 올리고키토산은 여러 작물에서 병 방제 효과, 작물생육증진 효과 및 과일과 채소의 저장기간을 연장시키는 효과가 있다(Badawy과 Rabea, 2009; Badawy, 2010; Chang, 2009; Meng 등, 2008).

키토산은 딸기의 역병을 비롯한 곰팡이 병원균에 의한 식물 병을 줄이거나 균사생육을 억제하는 등의 직접적인 항균활성이 있다(Bengamou과 Theriault, 1992; Bohland 등, 1997; Eikemo 등, 2003; Kendra과 Hadwiger, 1984). 딸기의 잣빛곰팡이병 및 *Rhizopus* sp.에 의한 무름병의 감염을 방지하는 효과와 병을 예방하는 효과가 있다(Ben-Shalom 등, 2003; Romanazzi 등, 2000). 올리고키토산(oligochitosan)도 감자역병과 토마토역병에 대한 항균 활성과 병 방제 효과가 있다(Choi 등, 2011). Chang(2009)은 키토산과 올리고키토산을 조합한 액상 제형이 토마토 잎곰팡이병 방제에 효과가 있다고 보고하였고, Falcon 등(2008)은 담배 역병에 대한 방제효과와 병 저항성을 유도한다고 하였다. 당근과 오이도 *Botrytis cinerea*에 의한 잣빛곰팡이병에 대한 방제효과가 있다(Ben-Shalom 등, 2003).

키토산이 병 방제에 대한 작용 기작은 식물 병원균에 대한 직접적인 작용 외에도 병 저항성을 유도하는 자연적인 방어반응 시스템을 자극하거나(Cheah 등, 1997; Eikemo 등, 2003; Vasiukova 등, 2001), 다양한 생물적인 반응이나 유전적으로 핵에서 신호를 보내는 결과에 의한 것이다(Vasiukova 등, 2001; Wade과 Lamondia, 1994).

키토산과 올리고키토산은 여러 작물 병에 대하여 저항

성을 증대시킨다(Benhamou 등, 1994; Chen 등, 2006; Jayaraj 등, 2009; Vasiukova 등, 2001). 식물병에 저항성을 나타내는 생화학적 반응이 종자, 과일 및 잎에서 증가 되는데(Benhamou 등, 1994), 구조적으로는 상처부위의 목질화를 유도하거나, 방어물질 생산에 대한 활성을 유도하는 역할도 한다(Barber 등, 1989; Bhaskara Reddy 등, 1999; Hirano과 Nagao, 1989). Hadwiger과 Beckman(1980)은 완두콩 시들음 병원균인 *Fusarium solani*에 대하여 phytoalexin을 유도한다고 처음 보고한 이후, 여러 식물에서 병 저항성을 유도시키는 물질의 활성을 증진시킨다고 한다(Benhamou 등, 1994; Chen 등, 2006; Jayaraj 등, 2009). 올리고키토산은 식물에서 방어반응, 식물의 신호전달 관련된 유전자 등의 번역 기작을 유도한다(Yin 등, 2010). Nitric oxide와 식물저항성에서 관련이 있는 식물필수호르몬인 jasmonic acid, salicylic acid, abscisic acid 물질도 활성화시키고, protein kinase를 유도한다.

키토산의 부가적인 효과로는 토마토를 비롯한 여러 작물의 생육 증진과 뿌리발육도 증진 및 광합성에도 효과가 있다(Chang, 2009; Benhamou 등, 1994; Khan 등, 2002). 그러므로 키토산은 병 방제나 예방을 위해서 게나 새우껍질을 토양처리 하듯이 키토산 분말을 토양에 직접 시비하기도 하지만, 대부분은 많은 종류의 상업용 액상 키토산을 작물생육증진용으로 사용하고 있을 뿐, 작물 병 방제를 위해 개발된 키토산제제나 시험용 제형을 개발하여 이용한 연구는 아직은 기초단계로 토마토 잎곰팡이병 방제 효과가 유일하다(Chang, 2009).

본 연구는 친환경 병 방제용으로 저분자키토산과 올리고키토산을 조합하여 개발한 SH-1과 SH-2 액상 제형을 이용하여 실시한 선행 시험에서 토마토 잎곰팡이병에 대한 효과가 입증된 동일한 제형을 이용하여 감자역병 방제에 대한 병 방제효과 및 감자 생산량에 미치는 효과 등을 검정하여 친환경 감자생산을 위한 상업적인 제품생산 및 영농에 기초자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

키토산 제형. 시험에 사용한 키토산 제형인 SH-1과 SH-2는 선행시험인 토마토 잎곰팡이병 방제 효과 시험에서 사용한 동일 제형으로(Chang, 2009), 저분자 키토산과 올리고키토산의 원료를 조합하여 액상으로 개발되었으며, 상업용 생산이 가능한 제형이다. 저분자 키토산은 단당이 50-100당을 함유한 것으로 분자량의 크기가 20만 미만인 비 수용성으로 탈아세틸화가 98%(Total glucosamine)된 원료를 사용하였고, 올리고키토산은 단당이 2-10당을 함

유한 것으로 평균 분자량이 3천으로 수용성이며, 주성분의 함량은 60%(Total glucosamine)을 사용하였다. 두 제형의 제조는 키토산과 올리고키토산을 목초액과 현미식초에 마늘과 양파를 분쇄하여 넣은 후 실온에서 30일간 추출한 액과 자몽추출액을 사용하여 액상화 하였다. SH-1의 주성분인 총 glucosamine 함량은 130,000 µg/ml이고, SH-2의 총 glucosamine 함량은 70,000 µg/ml 이다(Chang, 2009). 저분자키토산과 키토올리고당은 (주)미래바이오텍에서 공급 받았다. 목초액은 참나무 목초액으로 pH는 3.0 이었고 현미식초는 pH가 3.2인 것을 사용하였으며, 마늘과 양파를 추출한 추출액의 pH는 4.0인 것을 사용하였다.

균사생장 억제 효과. 감자 역병균의 균사 생장에 대한 키토산의 효과를 평가하기 위하여 V-8 juice agar(V-8 juice 200 ml, CaCO₃ 4.5 g, agar 18 g, D.W. 180 ml)에 SH-1과 SH-2의 농도를 총 glucosamine 함량 기준으로 6농도(SH-1: 75 µg/ml, 150 µg/ml, 300 µg/ml, 600 µg/ml, 1,000 µg/ml, 1,500 µg/ml; SH-2: 35 µg/ml, 75 µg/ml, 150 µg/ml, 300 µg/ml, 500 µg/ml, 750 µg/ml)로 조절하여 키토산 함유 배지를 만들었다. SH-1과 SH-2가 첨가된 농도 별 V-8 juice agar 배지는 SH-1과 SH-2를 각 농도 별 해당되는 키토산 량을 V-8 juice에 agar와 함께 넣은 후 pH는 모두 6.0이 되도록 조절한 후 120°C에서 30분 살균하였다. 무처리하는 키토산을 첨가하지 않았다. 감자 역병균은 20°C에서 보관하고, V-8 juice agar 배지에서 계대배양을 하면서 사용하였다. 접종원은 생장이 왕성한 가장자리균사를 5 mm 프러그로 배지에 접종하여 20°C에서 7일간 배양 후 균총의 성장량을 버어니어 캘리퍼로 큰 부분과 작은 부분 2곳을 측정하여 평균값을 사용하였다. SH-1과 SH-2에 대한 감수성 정도를 비교하기 위하여 병원균의 균사생장을 50% 억제하는 농도(IC₅₀, Inhibition concentration of effective mycelial growth by 50%)와 균사생장을 완전히 억제하는 농도(MIC, minimum inhibitory concentration)를 구하였다. 시험은 6반복으로 두 번하여 평균값을 사용하였다. 감자 역병균은 강릉원주대 김병섭교수의 균주로 사용하였다. 균사생장 억제율(%) = (1 - SH-1과 SH-2 처리구 배지의 균총의 직경(mm) / 무처리 배지의 균총의 직경

(mm) × 100으로 환산하였다.

식물병원균에 대한 예방효과. SH-1과 SH-2를 이용하여 7종의 식물병원균(벼 도열병, 벼 잎집무늬마름병, 토마토 잿빛곰팡이병, 토마토역병, 밀붉은녹병, 보리흰가루병 및 고추 탄저병)에 대하여 실내에서 유묘를 이용한 병 예방효과는 한국화학연구원 김진철박사팀에 의뢰하여 수행되었다(Choi 등, 2011). SH-1과 SH-2의 사용 농도는 각각 250배액(SH-1: total glucosamine, 520 µg/ml; SH-2: 280 µg/ml)으로 물에 희석하여 전착제(Tween-20, 250 µg/ml)를 첨가하여 살포하였다(Table 1). 무처리 대조구는 250 µg/ml의 Tween 20이 함유된 증류수를 사용하여 온실에서 30일 키운 유식물체에 분무 살포한 후 상온에서 24시간 동안 건조시켰다. 병원균의 접종은 SH-1과 SH-2를 처리하고 1일 후에 각각의 유식물에 병원균을 접종한 후 발병을 유도한 다음 발병도를 조사하였다. 시험 반복은 각각의 병원균에 대하여 3반복으로 처리하였고, 발병율은 무처리구의 병반 면적율과 비교하여 방제가를 구하였다.

감자 잎을 이용한 생물 검정. SH-1과 SH-2가 역병균의 발달에 미치는 효과를 조사하기 위하여 감자 시험 포장에서 수확기 직전의 성체 잎을 채취하여 생물검정에 사용하였다. 채취한 잎은 아이스박스로 운송하여 실내에서 SH-1과 SH-2를 잎 전면에 충분히 살포하고 1시간 동안 자연건조를 시킨 후 V-8 juice agar에서 자란 역병균의 가장자리 균총을 5 mm 크기로 잘라서 잎의 표면 위에 올려 놓았다. SH-1과 SH-2의 살포농도는 포장에서 병 방제효과 시험 농도와 동일하게 하기 위하여 100배액(SH-1: 1,300 µg/ml; SH-2: 700 µg/ml)을 희석하여 살포하였다. 접종된 잎은 발병 유도를 위해 습도가 유지된 25.1 플라스틱 박스에 넣었다. 습도 유지를 위하여 플라스틱 바닥에 살균된 종이 키친타월을 깔고 150 ml의 살균수를 부은 후, 살균된 나무 젓가락을 놓고 그 위에 병원균을 접종한 잎이 바닥의 물과 닿지 않게 올려 놓고 수분유지를 위하여 뚜껑을 닫은 후 20°C 배양기에서 병이 발달할 때까지 7일간 배양하였다. 발달된 병반의 크기는 디지털 버어니어 캘리퍼스로 측정을 하였다. 발병 억제율(%) = (1 - SH-1과 SH-2처리구 잎에 발달한 병반의 직경(mm) / 무처

Table 1. Protective activity of chitosan preparations developed in this study

Treatment (concentration) ^a	Control value (%)						
	RCB ^b	RSB	TGM	TLB	WLR	BPM	RPA
SH-1 (260 mg a.i. /L)	50	5	7	98	33	0	0
SH-2 (140 mg a.i. /L)	44	5	50	95	20	0	17

^aThe chitosan solution was sprayed on plant seedlings 1 day before inoculation with each phytopathogens.

^bRCB: rice blast, RSB: rice sheath blight, TGM: tomato gray mold, TLB: tomato late blight, WLR: wheat leaf rust, RPA: red pepper anthracnose, BPM: barley powdery mildew.

리 잎에 발달한 병반의 직경(mm)×100으로 환산하였다.

식물체에 총 폴리페놀 함량. 식물 병에 대한 저항성을 유도하는 폴리페놀 함량 조사(Benhamou 등, 1994; Walters 등, 2005)는 SH-1과 SH-2를 감자 포장에서 역병이 발생하기 시작하는 7월 1일부터 감자 지상부 전체에 수동식 분무기를 이용하여 7일 간격으로 4회 살포한 후 8월 10일에 감자의 잎과 잎이 붙은 줄기를 구분하여 채취하여 잎과 줄기에 페놀함량의 차이에 의한 역병과의 상관 관계를 조사하였다. SH-1과 SH-2의 살포농도는 포장에서 병 방제효과 시험농도와 동일한 농도인 100배액(SH-1: 1,300 µg/ml; SH-2: 700 µg/ml)을 살포하였다. 채취한 잎과 줄기는 아이스박스로 운반한 후 흐르는 물에 세척 후 65°C의 건조기에서 충분한 건조를 위해 14일간 건조한 후 분쇄기로 잘게 분쇄하여 폴리페놀 분석용 시료로 사용하였다. 폴리페놀 분석을 위하여 분쇄한 잎과 줄기는 각각 1g을 취하여 80% 메타놀 10ml에 넣고 잘 마쇄하여 70°C에서 15분간 진탕하였다. 메타놀 추출액의 1ml을 취하고 여기에 5ml의 증류수와 250 µg/ml의 Folin-Ciocalteu reagent (1 N)을 넣은 후 암 조건에 3분간 정치한다. 포화된 Na₂CO₃ 용액 1ml와 1ml의 증류수를 넣고 25°C에서 1시간 동안 정치 후 spectrophotometer의 파장 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전체 페놀 함량은 페놀 표준용액을 근거로 계산하였다(Jayaraj 등, 2009).

포장에서 감자역병 방제 효과. 감자역병 방제를 위한 포장시험은 대관령에 있는 강릉원주대학교 농장에서 실시되었다. 시험토양은 사양토이며, 감자 품종은 수미로 5월 20일에 씨 감자를 심은 후 관행방법으로 재배하였다. 시험구는 임의배치법에 의해 배치하였으며, 각 처리구 당 면적은 농촌진흥청 농약 시험구와 동일하게 20 m²로 설계하였다. 공시제형은 키토산제형인 SH-1과 SH-2를 사용하였으며, 대조약제는 감자역병 농약인 포름디수화제를 사용하였다. 사용농도는 SH-1과 SH-2을 100배액(SH-1: 1,300 µg/ml; SH-2: 700 µg/ml)으로 물에 희석하여 사용하였다. 공시제형과 대조약제 살포시기는 역병이 발생하기 시작한 7월 1일부터 감자 지상부 전체에 골고루 흠벼 젖게 수동식 분무기를 이용하여 7일 간격으로 4회 살포와, 14일 간격으로 3회 살포 하였으며, 대조농약은 사용 권장 기준에 따라 10일 간격으로 3회 살포하였다. 발병 조사는 8월 10일과 8월 20일에 2번 조사하였다. 역병의 발병도는 0-4로 지수화하여 조사를 하였으며, 무 발병은 0, 발병 면적율이 40.1% 이상은 4로 세분하여 각 처리당 30포기 이상 조사하였다. 발병도는 산출공식(발병도= 발병수 X 계수/4 N(조사엽수)×100)에 의해 산출하였다.

SH-1과 SH-2의 부과적인 효과인 감자 수확량에 미치는

효과를 조사하기 위하여 SH-1과 SH-2을 지상부 전면에 엽면 살포를 하였다. 살포시기는 감자 괴경 비대가 시작하는 7월 1일부터 7일 간격 4회 살포하였으며, 살포농도는 두 제형 모두 병 방제 효과 시험농도와 동일한 농도인 100배액으로 물에 희석하여 살포하였다. 시험구의 크기와 배치는 역병 방제효과 시험과 동일한 시험구로 역병조사와 수확량조사를 병행하여 수행하였다. 감자 수확량 조사는 2차 조사 일인 8월 20일에 역병 발병조사 후 처리구별 역병이 가장 적게 발생한 감자포기를 선정하여 처리구 당 15포기를 조사하였다. 수확량은 감자포기당 개수와 개당 생체중량으로 조사하였고, 개당 생체중을 근거로 등급을 3단계로 구분하였다. 감자 200 g 이상인 것은 상품, 200-100 g은 중품과 100 g 미만은 하품으로 분류하였다.

통계분석. 모든 결과는 SAS(Statistical Analysis System, JUMP 6.0, 2006) 프로그램을 이용하여 근사생장억제율, 총페놀함량, 잎에 발달한 병반의 크기, 역병발병도 및 감자 생체중량에 대하여 처리구와 무처리구에 대한 Fit Y by X 모델에서 통계적인 유의성 검정은 one way 분산분석(ANOVA: analysis of variance)으로 F 값을 구하고 T-test과 표준편차(SD), all pair 및 Tukey HSD와 Duncan's multiple range test(P=0.05)을 이용하여 유의성의 차이를 검정하였다.

결과 및 고찰

7종의 식물 병에 대한 예방효과. 실내에서 SH-1과 SH-2를 유묘에 살포 후 7종의 주요 식물병원균을 접종 후 예방효과를 조사한 결과는 Table 1과 같다. 토마토 역병은 SH-1과 SH-2의 모두에서 95% 이상의 예방효과를 보였다. 반면, 벼 도열병은 두 제형 모두 44%의 낮은 예방효과를 보였고, 토마토 잿빛곰팡이병은 SH-2제형 만이 50% 예방효과를 보였다.

키토산과 키토올리고당으로 만든 SH-1과 SH-2제형은 유묘를 이용한 병 예방효과 시험에서 7종의 주요 식물병 중 3종의 식물병에서 예방효과가 없었다. Choi 등(2011) 등은 키토산 올리고당을 이용한 동일한 방법의 시험에서 고추 탄저병, 벼 도열병, 토마토 역병 및 밀 붉은녹병의 예방효과에 높은 활성을 보였다고 보고하였으나, 본 시험 결과와는 큰 차이를 보였다. 서로 조합이 다른 두 제형은 7종의 주요 식물병 중에 난균류인 토마토역병에서만 두 제형 모두 95% 이상의 예방효과를 보였다. 이는 SH-1과 SH-2제형 간에 올리고키토산의 함량 뿐만 아니라 저분자 키토산과 올리고키토산의 서로 다른 조합비에 의한 제

형 간의 차이로 볼 수 있다(Mauch 등, 1988). Choi 등(2011)은 올리고키토산은 감자와 토마토에 대한 *in vitro* 시험에서 94% 이상의 예방 효과는 있었으나, 토마토 역병에 대한 치료효과는 전혀 없었다고 한다.

본 시험에 사용한 SH-1과 SH-2는 상업용으로 생산이 가능하게 개발된 제형으로 토마토 잎곰팡이병에 대한 직접적인 병 방제효과, 병 저항성증진 효과 및 생육증진 효과가 있었다(Chang, 2009). SH-1은 올리고키토산의 함량이 높은 반면, SH-2는 비수용성 저분자키토산의 함량이 높으며 목초액과 현미식초의 함량에도 차이가 있다. 목초액과 키토산은 비수용성 키토산의 당쇄인 글라이코시드 결합을 분해하는 물질로 사용하였다(Chang, 2009). 목초액은 추출 원자재에 따라 주성분들의 함량에 차이는 있지만 alkaloid, terpenoid, phenol 및 정유성분과 그들의 유도체는 사용 농도에 따라서 항산화 효과, 식물생장 및 뿌리생육촉진에 효과가 있고(Lee 등, 2004), 현미식초와 목초액은 작물 생육증진에 효과가 있지만, 직접적인 병 방제 효과는 없다(Nam과 Kim, 2002).

딸기 근부썩음병을 유발하는 딸기역병균을 딸기에 접종하기 2, 4, 10 및 20일 전에 키토산(100 µg a.i./ml)을 살포한 결과, 병원균 접종 20일 전에 키토산을 살포한 처리구에서 발병율이 가장 낮았으며, 처리 농도가 높은 1000 µg a.i./ml에서 발병율이 낮았다(Eikemo 등, 2003).

균사생장 억제 효과. 감자 역병균의 균사생장에 대한 반응은 SH-1과 SH-2가 함유된 V-8 juice agar 배지에서 자라는 균총의 크기로 조사한 결과는 Fig. 1과 같다. SH-1과 SH-2를 함유한 배지에서 균사생장억제 효과가 있었다. SH-1제형은 75 µg/ml 농도부터, SH-2제형은 35 µg/ml 농도부터 농도가 높아질수록 균사생장 억제효과가 높았으나 두 제형 간에는 통계적인 유의성의 차이는 없었다(Fig. 1A). SH-1의 IC₅₀ 농도는 104.9 µg/ml이었고, SH-2의 IC₅₀ 농도는 93.6 µg/ml이었다(Fig. 1B). SH-1의 MIC는 93.0-118.4 µg/ml이고, SH-2의 MIC는 90.4-113.9 µg/ml이었다.

감자 역병균에 대한 균사생장억제 효과는 SH-1과 SH-2제형을 포장시험에서 사용하는 농도보다 10배 정도 희석된 75 µg/ml와 130 µg/ml에서 균사생장이 47와 74% 이상 억제효과가 있어 포장에서 병 방제 효과를 예측할 수 있었다. 키토산의 항균활성은 키토산의 농도와 상관관계가 있다(Cheah 등, 1997; El Ghaouth 등, 1992; Wade과 Lamondia, 1994). 키토산의 농도가 증가할수록(0.75-6.0 mg/ml) *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum gloeosporioides* 및 *Rhizopus stolonifer*의 균총의 생장이 감소하고 포자발아를 억제하였으며(El Ghaouth 등, 1992),

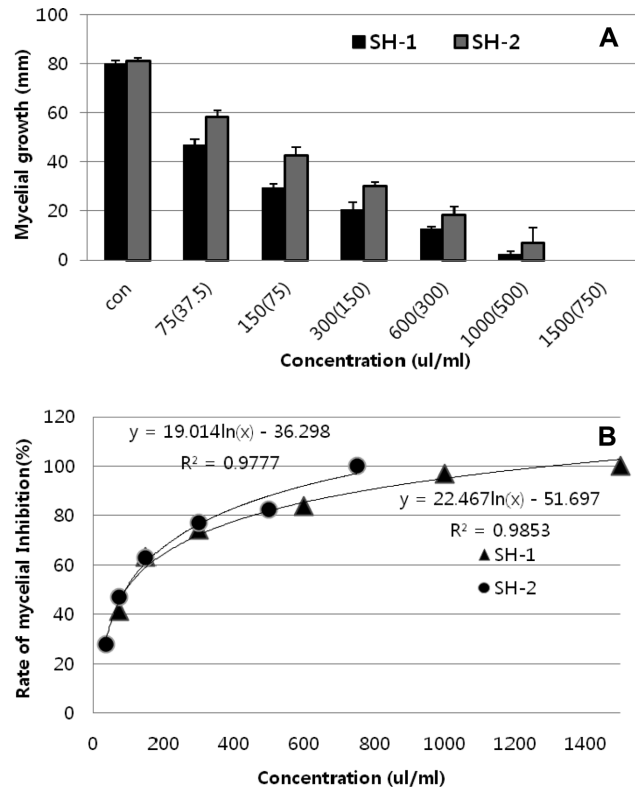


Fig. 1. Effect of mycelial radial growth in V-8 juice agar medium amended with SH-1 and SH-2 after 10 days of inoculation (A) and Control value of mycelial radical growth (B). SH-1 was amended with 75 µg a.i./ml (Total glucosamine) to 1,500 µg a.i./ml in V-8 juice agar and SH-2 was amended with 37.5 µg a.i./ml to 750 µg a.i./ml in V-8 juice agar. The IC₅₀ value of SH-1 was at 102.3 µg a.i./ml and SH-2 was at 105.3 µg a.i./ml. Error bars indicate standard deviation and different letter indicates significant difference at $P = 0.05$ level according to Duncan's multiple range test.

농도가 1-4%로 증가할수록 *Sclerotinia sclerotiorum*의 균총의 생장이 억제되었다(Cheah 등, 1997). 다른 연구에서도 키토산의 농도가 0.5-6.0 mg/ml로 증가할수록 *Rhizoctonia solani*의 생장을 감소시켰다(Wade과 Lamondia, 1994). 담배 역병균의 균사생장은 키토산의 250 mg/ml 농도에서 완전히 저해되었으나, 탈아세틸화가 덜 된 키토산은 1,000 ml/ml 농도에서 균사생육이 완전히 억제되었다(Arlorio 등, 1992).

키토산에 의한 항균효과는 균의 종류에 따라서 사용량이 중요하다. 키토산의 특성은 다당체 양이온을 많이 함유하고 있어 항균활성의 특성이 다당체의 연결 길이가 항균 활성의 증가와 큰 연관성이 있다(Hirano과 Nagao, 1989). 최근 연구에서도 키토산은 병원균의 성장을 저해하는 효과뿐만 아니라, 병원균의 형태의 변화를 현저하게 유도시키거나, 구조적으로 형태를 변경시켜 곰팡이 세포의 분

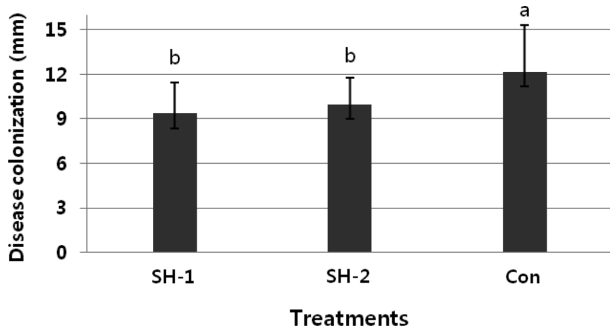


Fig. 2. Disease development and colonization for potato leaves treated with SH-1 (1,300 $\mu\text{g a.i./ml}$), or SH-2 (700 $\mu\text{g a.i./ml}$), an hour before inoculation with *Phytophthora infestans*, compared with a nontreated. Sampling leaves was 90 days old (Aug. 20, 2010) collected from field after planting. Numbers are means of three blocks (five leaves in each) in each of two trials. Error bars indicate standard deviation and different letter indicates significant difference at $P = 0.05$ level according to Duncan's multiple range test.

자배열을 방해하기도 한다(El Ghaouth 등, 1999). 키토산은 균사의 모양에도 영향을 미친다. 키토산을 처리한 균사를 현미경으로 관찰한 결과 *Trichoderma longibrachiatum*의 균사 끝 세포가 두껍게 되었으며((Ben-Shalom 등, 2003), *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, *R. stolonifer* and *S. sclerotiorum*은 균사의 가지가 과다하게 많아지고 모양이 기형이 되거나 균사의 크기가 작아지기도 하였다(Benhamou and Theriault, 1992; Cheah 등, 1997; El Ghaouth 등, 1992).

생 잎을 이용한 생물검정. 포장에서 채취한 잎에 SH-1 (1,300 $\mu\text{g/ml}$)과 SH-2(750 $\mu\text{g/ml}$)을 살포 후 병원균 접종에 의한 병반의 크기를 조사한 결과 Fig. 2와 같다. SH-1과 SH-2 살포로 병 발달이 억제되는 효과가 통계적으로 유의성의 차이를 보였다. SH-1과 SH-2 살포로 병 발달의 크기가 9.37 mm과 9.98 mm로 무처리구의 12.19 mm에 비해 상대적으로 억제되는 효과가 있었다.

키토산이 식물에서 병원균의 발달에 미치는 영향에 대한 반응을 조사하기 위해 수확기에 달한 감자 잎을 이용하여 실내에서 생물검정을 실시한 결과, 1%의 키토산제형을 처리한 잎에서 병의 발달이 느린 것으로 조사되었다. 포도 잎을 수확하여 키토산을 처리 후 병원균을 접종하여 병의 발달이 확대되는 것을 조사한 결과, 키토산을 20 g/L(0.2%)으로 처리한 잎에서 병반의 확대가 80% 이상 줄어들었고(Chen 등, 2006), 피망에 키토산 0.1% 살포 후 *B. cinerea*를 접종한 과일에서 병반의 크기가 줄어들 정도로 병 발달을 느리게 하고, 곰팡이의 초기감염 능력을 줄였다(El Ghaouth 등, 1992).

잎과 줄기에 폴리페놀 함량. 포장에서 SH-1과 SH-2제형을 4회 살포한 감자 잎과 잎이 붙은 줄기에 총 폴리페놀

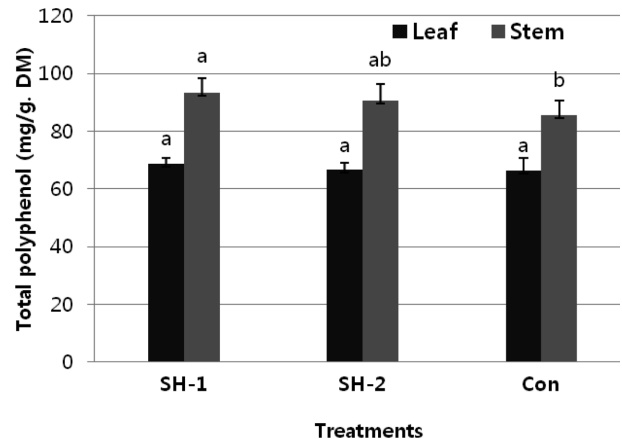


Fig. 3. Polyphenol contents for potato plants treated with SH-1 (1,300 $\mu\text{g a.i./ml}$), or SH-1 (700 $\mu\text{g a.i./ml}$) in the field, Sampling leaves and stem were collected from on Aug. 20, 2010. Application was applied with 4 times at every 7 days from July 1 to July 21, 2010. Error bars indicate standard deviation and different letter indicates significant difference at $P = 0.05$ level according to Duncan's multiple range test.

함량을 건물 중으로 조사한 결과 Fig. 3과 같다. 줄기에 총 폴리페놀 함량은 SH-1과 SH-2의 살포구와 무처리구간에 통계적인 유의성의 차이가 있었다. 그러나 잎에 총 폴리페놀 함량은 유의성의 차이가 없었다. 줄기에 총 폴리페놀 함량은 SH-1과 SH-2의 살포구가 각각 93.2 mg/g (DM)와 90.7 mg/g (DM)로 무처리구 85.7 mg/g (DM) 보다 높았다.

키토산과 올리고키토산은 식물병에 대한 저항성물질을 생산한다(Benhamou 등, 1994). 키토산 100배액을 7일 간격으로 4회 살포한 잎과 줄기에서 총 폴리페놀 함량이 증가하였으나 줄기가 잎보다 많은 양의 폴리페놀을 함유하고 있었다. 줄기에 폴리페놀 함량이 많은 것은 감자역병이 감염되는 줄기에서 병 저항성을 나타낼 경우 역병에 대한 피해를 줄일 수 있을 것으로 본다. 그러나 본 시험에서 잎에 폴리페놀 함량에서 유의성이 없었던 것은 키토산 살포 14일 후에 채취하였기 때문으로, 샘플을 채취하는 시간과의 상관성이 있을 것으로 생각한다(Benhamou 등, 1994). Benhamou 등(1994)은 키토산 살포 후 병 방제 효과를 높이고 병 저항성을 유도하는 물질의 생산량을 조사하기 위해서는 처리 후 3일 이내 샘플을 채취하여야 한다고 한다. 당근에 0.02% 키토산을 처리 후 12-72시간 조사한 결과 chitinase, ltp, chs-2 and PR-5 유전자의 수준이 증가하다가 94시간 이후에는 감소한다(Benhamou 등, 1994). 즉 병 저항성을 유도하는 단백질 유전자인 NPR-1과 PR-1 유전자와 peroxidases, polyphenol oxidase, phenylalanine ammonia-lyase, chitinase, β -1,3-glucanase 및

lipoxygenase의 효소 활성이 살포 후 12시간부터 대조구에 비하여 크게 증가하였다가 72시간부터 점차 감소한다고 하였다. 키토산에 의해 유인되는 병 방어 물질로서는 곰팡이 생장을 저해하는 첫번째 방어물질은 de-novo 페놀물질이 합성이 되고, 두번째 기작으로 식물독소물질에 대한 식물조직을 보호하고 곰팡이 세포에 의한 침입력을 방어하기 위한 방어물질로 β -1,3-glucans가 작용한다 (Benhamou과 Theriault, 1992). 그러므로 키토산을 처리한 식물은 병원균의 감염 후 병원균보다 훨씬 더 빠르게 크게 방어 반응을 나타낸다고 한다. *Fusarium sulphureum*에 의한 감자썩음병 방제를 위해 수확한 감자에 0.25% 키토산을 살포하니 감자 조직에서 병 저항성 유도 물질인 폴리페놀산화제, flavonoid 함량과 조직에 리그닌의 활성이 증가하였다(Xiao-juan 등, 2008). 토마토 조직에도 키토산을 살포하니 병 저항성 물질이 증가하였고(Vasiukova 등, 2001), chitinases와 glucanases의 조합은 많은 곰팡이에 대하여 더 효과적으로 파괴하며(Mauch 등, 1988), 강력한 항균작용을 하는 올리고키토산이나 glucans은 이들 효소 활성을 크게 증가시킨다(Jayaraj 등, 2009).

토마토에 키토산과 올리고키토산을 살포하면 곰팡이 균의 감염에 저항성을 유도하는 페놀이 축적되고, phytoalexin과 과산화수소 발생 함량은 병 저항성 유도 물질인 salicylic acid를 처리하거나 phytoalexin을 처리하는 것보다 높는데(Vasiukova 등, 2001; Yin 등, 2010), 총 페놀 함량 등 병을 방어하는 유전자와 효소의 활성과 전이되는 수준이 함께 증가하는 것은 키토산을 처리한 식물에서 훨씬 높게 나타난다(Vasiukova 등, 2001). 이와 같이 키토산이 식물에서 방어 반응을 유도하는 것은 주로 효소적인 반응과 관련성이 있다. 여러 연구에서 키토산은 병원균이 감염된 기주 조직이나 기주 조직에 약해진 효소의 저해에 의한 chitinases, β -1,3-glucanases 및 phenol 화합물의 축적이나, 목질화유도 및 phytoalexins의 합성을 포함하여 기주 방어반응의 외적 유도제로서 보고되어 있다(Arlorio 등, 1992; Bhaskara Reddy 등, 1997).

감자 역병 방제 효과. 여름철 대관령 고령지 포장에서 SH-1과 SH-2제형을 발병초기에 10일 간격 3회 살포와 14일 간격 살포 후 감자역병을 10일 간격으로 2번 조사한 결과는 Fig. 4와 같다. SH-1과 SH-2을 7일과 14일 간격 살포로 역병 방제 효과에서 통계적으로 유의성의 차이가 있었다(Fig. 4A, B).

SH-1과 SH-2제형을 7일 간격 살포 후 1차 조사한 결과(Fig. 4A), SH-1이 SH-2제형보다 발병 억제율이 2.3%로 크게 낮아 무처리구 대비 72% 병 방제 효과를 보여 대조약제인 포름 수화제의 78%와 유사한 방제 효과를 보

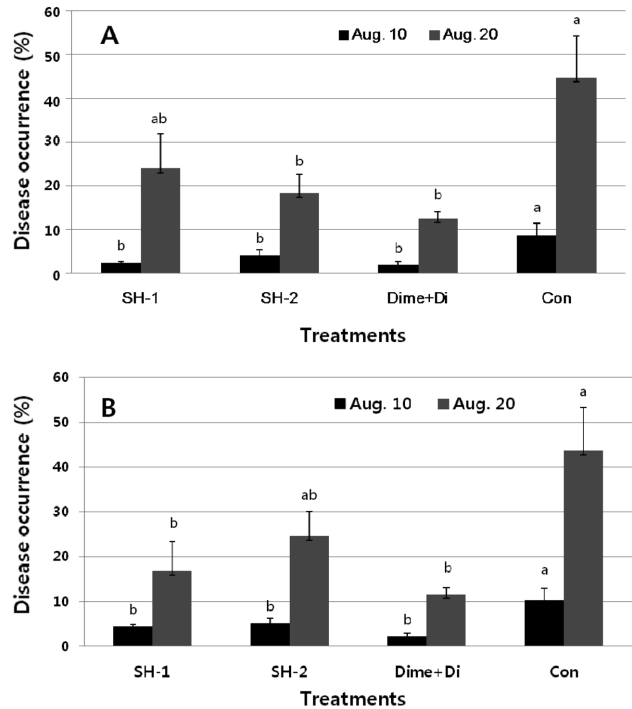


Fig. 4. Disease severity for potato plants treated with SH-1 (1,300 μ g a.i./ml), or SH-1 (700 μ g a.i./ml) in the field, (A) SH-1 and SH-2 was sprayed 4 times at every 7 days from July 1 to July 21, 2010; (B) SH-1 and SH-2 were sprayed 3 times at every 14 days from July 1 to July 28, 2010. Disease severity was rated on Aug. 10, 2010 and Aug. 20 2010. Error bars indicate standard deviation and different letter indicates significant difference at $P = 0.05$ level according to Duncan's multiple range test.

였으나, SH-2제형의 병 방제율은 4.1%로 무처리구 대비 53%의 병 방제 효과를 보였다. 그러나 대조약제를 포함한 SH-1과 SH-2 간에는 통계적인 유의성이 없었다. 지속적인 병 방제 효과를 조사하기 위하여 1차 조사 후 10일 후 2차 조사한 결과, 모든 처리구에서 병 발생율이 높았다. SH-1제형의 SH-2제형과는 다르게 병 방제 효과가 47%로 1차 조사에서 72%보다 크게 낮아진 것을 볼 수 있었다. SH-2와 대조약제간에는 유의성의 차이가 없었다.

14일 간격 살포에 의한 역병 방제 효과도 통계적인 유의성의 차이를 보였다(Fig. 4B). 8월 10일 1차 발병율은 7일 간격 살포 때 보다 발병율은 높았으나 병 방제 효과가 높았다. 그러나 SH-1과 SH-2제형 간에는 역시 유의성의 차이가 없었다. 지속적인 병 방제 효과는(1차 조사 후 10일 후 2차 조사) 1차 조사 때 보다 발병율은 높아졌지만 무처리구 대비 병 방제효과에서는 10일전 1차 조사와 유사한 병 방제율을 보였고, 처리간에 유의성의 차이도 있었다.

포장에서 병 방제를 위해서는 키토산은 사용 농도에 따라서 효과의 차이가 있다(Eikemo 등, 2003; Chang, 2009).

토마토 잎곰팡이병 방제에서 키토산의 사용농도가 200배 (5 ml/L) 보다 100배(10 ml/L)가 효과가 우수한 것으로 나타났으며, 또한 발병의 심각성에 따라서 병 방제에 차이를 보이기는 하였다(Chang, 2009). 본 시험에서 사용한 농도는 사전 토마토에 시험한 결과를 근거로 100배로 모든 시험을 진행하였다. 감자역병 방제를 위한 포장시험에서 SH-1과 SH-2의 살포는 역병이 발생하는 7월1일부터 살포하였다. 대관령 지역의 역병 발생은 보통 6월 중순부터 시작 되지만, 시험이 실시된 2010년에 가뭄으로 인하여 병 발생이 늦었다. 발병을 유도하기 위하여 SH-1과 SH-2을 살포하는 기간에 매일 스프링 쿨러를 이용하여 물을 살수하였다. 그러나 제형의 살포가 끝날 때까지도 비가 오지 않아 예년에 비하여 병 발생이 적었다.

키토산 제형에 대한 병 방제 효과는 화학농약과 유사한 수준으로 무처리대비 통계적인 유의성을 보였다. 그러나 7일 간격 살포와 14일 간격 살포에서 SH-1과 SH-2 및 화학농약 살포간에는 병 방제 효과에서 유의성의 차이를 보이지 않았지만 SH-1과 SH-2 간에는 발병율에서는 차이는 있었으나 발병율이 낮아 통계적인 유의성의 차이는 없었다. 그 원인으로서는 SH-1과 SH-2의 살포기간에 비가 오지 않아 상대적인 습도가 낮아 발병이 낮은 것이 주 요인으로 작용한 것으로 생각한다. 또한 키토산이 병 방제의 지속 효과의 조사에서도 1차 조사 후 10일 후 발병조사에서도 발병율이 증가하여 병 방제 효과가 떨어진 것을 볼 수 있었지만, 경시적인 발병율이 높지 않아서 방제 효과가 10일전 조사와 큰 차이를 보이지 않은 것을 볼 수 있었다. SH-1과 SH-2 간에 병 방제 효과 면에서는 SH-1은 방제 효과가 높아 화학농약과 비슷한 수준의 방제 효과를 보인 반면, SH-2의 경우 병 방제 효과가 낮은 것을 볼 수 있었지만, 통계적인 유의성이 차이가 없었다. 이 또한 역병 발병율이 낮은 것이 주원인 것으로 생각한다.

키토산은 여러 토양병원균과 채소류와 과수류의 수확 전, 후 식물병원균 등 다양한 식물병원균에 대한 항균활성을 갖고 있다(Chang, 2009; El Ghaouth 등, 1999; Kumar, 2000). 올리고키토산을 감자와 토마토에 살포하니 감자 역병과 토마토 역병을 각각 72%와 48%의 방제하는 효과가 있었다(Choi 등, 2011). 키토산과 키토오리고당의 혼용한 제형을 이용한 잎곰팡이병의 방제 효과는 병이 발생하기 전에 7일 간격 3회 살포할 경우 발병율이 무처리에 비하여 현저하게 낮추었지만, 병 발생이 심한 곳에서는 직접적인 병 방제 효과가 거의 없는 것으로 보아 이 병에 대하여 키토산은 직접적인 항균 효과보다는 병 저항성을 증가시키는 효과가 높다는 것을 볼 수 있다(Chang,

2009). 키토산은 *B. cinerea*에 의한 오이잿빛곰팡이병을 줄이고(Ben-Shalom 등, 2003), 토마토의 잿빛곰팡이병(Liu 등, 2007)을 비롯하여 여러 작물에서 병을 줄인다. 토양 병원균에도 직접적인 방제 효과가 있다. 정식 전 Brassicas 유묘를 2% 키토산 용액에 침지한 후 정식을 하면 뿌리에 *Plasmodiophora brassicae*에 의한 무사마귀병을 방제하거나 무사마귀의 크기를 줄이고(Cheah과 Page, 1997), 그 외 활물기생균인 포도나무 노균병 방제를 위하여 키토산을 0.1-0.01%액을 발병 전에 살포하면 노균병의 감염을 줄이고(Giannakis 등, 1998), *B. cinerea*에 의한 포도송이썩음병원균에 대하여서도 포자발아를 억제하고 균사생장을 저해하여 포장에서 직접적으로 병 방제에 효과가 있다(Reglinski 등, 2010).

감자 생산과 품질. SH-1과 SH-2을 4회 살포 후 수확한 감자의 생산량과 품질은 Fig. 5와 같다. 수확한 감자의 개당 생체중량에서 처리구간에 통계적인 유의성의 차이가 있었다(Fig. 5A). SH-1과 SH-2의 처리구에서 수확

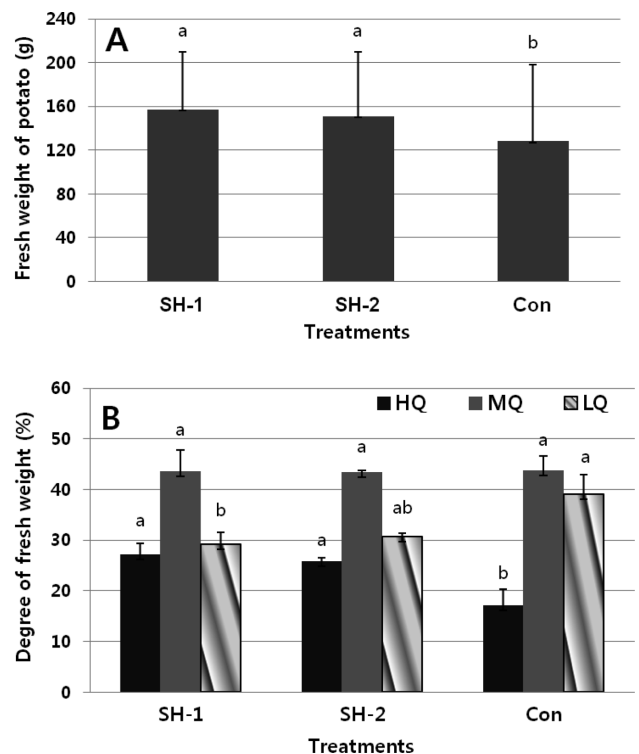


Fig. 5. Yield and weight degree of potato plants treated with SH-1 (1,300 µg a.i./ml) or SH-1 (700 µg a.i./ml) in the field. (A) Average yield of potato with fresh weight; (B) degree of fresh weight (HQ: over 200 g per potato; MQ: 100 to 200 g; LQ: below 100 g). SH-1 and SH-2 were sprayed 4 times at every 7 days from July 1 to July 21, 2010. Potato was harvested on Aug. 20, 2010. Error bars indicate standard deviation and different letter indicates significant difference at $P = 0.05$ level according to Duncan's multiple range test.

한 감자의 평균 개당 생체중이 각각 157 g과 151 g으로서 무처리구 128 g 보다 22.6%의 생체 중량이 증가하는 효과가 있었다. 그러나 SH-1과 SH-2 간에는 유의성이 없었다. 감자의 생체중량을 상, 중, 하 3등급 구분에서도 통계적으로 유의성의 차이를 보였다(Fig. 5B). 상품에 해당하는 200 g 이상인 감자의 비율이 SH-1과 SH-2 처리구가 높았고, 100 g 이하의 하품의 비율은 무처리보다 크게 낮았다.

키토산은 감자의 수확량을 증가시킨다. 감자의 평균 개당 생체중을 증가시키고, 품질을 높이는데도 기여한다. 감자의 개당 평균 생체중량에서 유의성의 차이를 보일 정도로 무처리보다 크게 증가 되었을 뿐만 아니라, 생체중량에 따른 등급에서도 200 g이 넘는 상품의 비율이 높은 반면, 하품에 해당하는 100 g 미만인 감자의 비율은 현저하게 낮았다. 그러나 SH-1과 SH-2 간에도 감자 생체중과 품질 면에서 통계적인 차이를 보이지 않았다. 이와 같은 결과는 키토산이 광합성율의 증가와 관련이 있을 것으로 생각한다. 키토산 1,000배액(1 g/L)을 감자에 엽면 살포하니, 감자의 초장과 생체중량이 증가하고, 품질이 향상되었다(Kowalski 등, 2006). 감자 이외 여러 종류의 작물과 과수에서도 초장과 잎 수 등의 생장을 증진시키고, 뿌리 생육 증진 및 수확량을 증대시키고(Vander 등, 1998), Khan 등(2002)은 콩과 옥수수에 키토산을 살포하니 살포 3일-6일 후에 광합성율이 10-18%가 증가하였다고 한다.

본 시험에서 SH-1과 SH-2제형은 감자 역병 방제를 위해서는 예방 위주 살포나, 발병초기에 살포하는 것이 효과적이고 감자수확량과 품질의 증가에도 효과적이었다. 그러므로 친환경 유기농업을 위한 감자역병방제와 품질 좋은 감자 생산을 위하여 사용하는 것이 좋을 것으로 생각한다.

요 약

감자역병은 감자재배에서 가장 중요한 병 중의 하나이다. 감자역병의 친환경방제를 위하여 SH-1과 SH-2을 이용하여 감자역병균의 균사생장, 예방효과, 잎을 이용한 생물검정 및 포장시험을 통해 평가하였다. 실내에서 유묘를 이용한 시험에서 SH-1과 SH-2 제형을 살포 후 역병균을 접종 후 예방효과를 조사한 결과 95% 이상 발병을 억제하는 효과가 있었다. SH-1과 SH-2의 균사생장 억제 효과는 300 µg/ml의 농도에서 균총의 크기를 74% 이상을 억제하였다. 잎을 이용한 생물검정에서 1% SH-1과 SH-2을 살포 후 1시간 뒤에 병원균을 접종한 결과 병의 발달을 줄였다. 감자 줄기에 총 폴리페놀 함량도 SH-1과 SH-2을

살포한 구에서 증가하였다. 포장에서 역병방제효과 시험에서 1% SH-1과 SH-2을 7일 간격 4회 살포한 처리구에서 각각 72%와 53%의 역병 방제 효과가 있었으며, 14일간 3회 살포한 구에도 유사한 병 방제효과를 보였다. 감자비대기에 1% SH-1과 SH-2 살포는 감자 생체 중을 증가시켰으며, 상품의 비율도 높았다. 이 결과에 의하면 SH-1과 SH-2의 살포는 친환경 유기농업에서 천연살균제로서 역병 방제에 사용 할 수 있으며, 감자 수확량도 증가시킬 수 있다.

Acknowledgement

This research was supported by KNU(Kyungpook National University) Research Fund, 2011.

References

- Arlorio, M., Ludwig, A., Boller, T. and Bofante, P. 1992. Inhibition of fungal growth by plant chitinase and β -1, 3-glucanases. *Protoplasma* 171: 34-43.
- Badawy, M. E. I. 2010. Structure and antimicrobial activity relationship of quaternary N-Alkyl chitosan derivatives against some plant pathogens. *J. Appl. Polym. Sci.* 117: 960-969.
- Badawy, M. E. I. and Rabea, E. I. 2009. Potential of the biopolymer chitosan with different molecular weights to control postharvest gray mold of tomato fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 51: 110-117.
- Barber, M. S., Bertram, R. E. and Ride, J. P. 1989. Chitin oligosaccharides elicit lignification in wounded wheat leaves. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 34: 3-12.
- Ben-Shalom, N., Ardi, R., Pinto, R., Aki, C. and Fallik, E. 2003. Controlling gray mould caused by *Botrytis cinerea* in cucumber plants by means of chitosan. *Crop Prot.* 22: 285-290
- Benhamou, N., Klopper, J. W. and Tuzun, S. 1994. Induction of systemic resistance to Fusarium wilt of tomato plants by seed treatment with chitosan. *Phytopathology* 84: 1432-1444.
- Bengamou, N. and Theriault, G. 1992. Treatment with chitosan enhances resistance of tomato plants to the crown and root rot pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radici lycopersici*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 41: 33-52.
- Bhaskara Reddy, M. V., Arul, J., Angers, P. and Couture, L. 1999. Chitosan treatment of wheat seeds induces resistance to *Fusarium Graminearum* and improves seed quality. *J. Agric. Food Chem.* 47: 1208-1216.
- Bohland, C., Balkenhohl, T., Loers, G., Feussner, I. and Grambow, H. J. 1997. Differential induction of lipoxygenase isoforms in wheat upon treatment with rust fungus elicitor, chitin

- oligosaccharides, chitosan, and methyl jasmonate. *Plant Physiol.* 114: 679–685.
- Chang, T. H. 2009. Disease control efficacy of chitosan preparations against tomato leaf mold. *Res. Plant Dis.* 15: 248–253. (In Korean)
- Cheah, L. H., Page, B. B. C. and Sheperd, R. 1997. Chitosan coating for inhibition of *Sclerotinia* spp. carrots. *Nz. J. Crop Horticultural Sci.* 25: 89–92.
- Chen, J. Y., Wen, P. F., Kong, W. F., Pan, Q. H., Zhan, J. C., Li, J. M., Wan, S. B. and Haung, W. D. 2006. Effect of salicylic acid on phenylpropanoids and phenylalanine ammonia-lyase in harvested grape berries. *Postharvest Biol. Technol.* 40: 64–72.
- Choi, Y. H., Choi, G. J., Kim, B. S., Jang, K. S., Yoon, M. Y., Park, M. S. and Kim, J. C. 2011. Control of late blight of tomato and potato by oligochitosan. *Res. Plant Dis.* 17: 129–135. (In Korean)
- Eikemo, H., Stensvand, A. and Tronsom, A. M. 2003. Induced resistance as a possible means to control diseases of strawberry caused by *Phytophthora* spp. *Plant Dis.* 87: 345–350.
- El Ghaouth, A., Arul, J., Asselin, A. and Benhamou, N. 1992. Antifungal activity of chitosan on postharvest pathogens: Induction of morphological and cytological alterations in *Rhizopus stolonifer*. *Mycol. Res.* 96: 769–779.
- El Ghaouth, A., Smilanick, J. L., Brown, G. E., Wisniewski, M. and Wilson, C. L. 1999. Application of *Candida saitoana* and glycolchitosan for the control of postharvest diseases of apple and citrus fruit under semi-commercial conditions. *Plant Dis.* 84: 243–248.
- Falcon, A. B., Cabrera, J. C., Costales, D., Ramirez, M. A., Cabrera, G. and Toledo, V. 2008. The effect of size and acetylation degree of chitosan derivatives on tobacco plant protection against *Phytophthora parasitica* nicotianae. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 24: 103–112.
- Giannakis, C., Bucheli, C. S., Skene, K. G. M., Robinson, S. P. and Scott, N. S. 1998. Chitinase and β -1,3-glucanase in grapevine leaves: a possible defence against powdery mildew infection. *Aus. J. Grape Wine Res.* 4: 14–22.
- Giddings, N. J. and Berg, A. 1919. A comparison of the late blights of tomato and potato. *Phytopathology* 9: 209–210.
- Goodwin, S. B., Sujkowski, L. S. and Fry, W. E. 1996. Widespread distribution and probable origin of resistance to metalaxyl in clonal genotypes of *Phytophthora infestans* in the United States and Western Canada. *Phytopathology* 86: 793–800.
- Hadwiger, L. A. and Beckman, J. M. 1980. Chitosan as a component of pea *Fusarium solani* interactions. *Plant Physiol.* 66: 205–211.
- Hirano, S. and Nagao, N. 1989. Effect of chitosan, pectic acid, lysozyme and chitinase on the growth of several phytopathogens. *Agric. Biol. Chem.* 53: 3065–3066.
- Jayaraj, J., Rahman, M., Wan, A. and Punja, Z. K. 2009. Enhanced resistance to foliar fungal pathogens in carrot by application of elicitors. *Ann. Appl. Biol.* 155: 71–80.
- Kendra, F. D. and Hadwiger, L. A. 1984. Characterization of the smallest chitosan oligomer that is maximally antifungal to *Fusarium solani* and elicits pisatin formation in *Pisum sativum*. *Exp. Mycol.* 8: 276–281.
- Khan, W. M., Prithiviraj, B. and Smith, D. L. 2002. Effect of foliar application of chitin and chitosan oligosaccharides on photosynthesis of maize and soybean. *Photosynthetica* 40: 621–624.
- Kowalski, B., Terry, F. J., Herrera, L. and Penalver, D. A. 2006. Application of soluble chitosan in vitro and in the greenhouse to increase yield and seed quality of potato minitubers. *Potato Res.* 49: 167–176.
- Kumar, M. N. V. R. 2000. A review of chitin and chitosan applications. *React. Funct. Polym.* 46: 1–27.
- Lee, K. M., Jeong, G. T. and Park, D. H. 2004. Study of antimicrobial and DPPH radical scavenger activity of wood vinegar. *Korean J. Biotechnol.* 19: 381–384. (In Korean)
- Liu, J., Tian, S., Meng, X. and Xu, Y. 2007. Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 44: 300–306.
- Mauch, F., Mauch-Mani, B. and Boller, T. 1988. Antifungal hydrolases in pea tissue: II. Inhibition of fungal growth by combinations of chitinase and β -1,3-glucanase. *Plant Physiol.* 88: 936–942.
- Meng, X. H., Li, B. Q., Liu, J. and Tian, S. P. 2008. Physiological responses and quality attributes of table grape fruit to chitosan preharvest spray and postharvest coating during storage. *Food Chem.* 106: 501–508.
- Nam, K. W. and Kim, S. H. 2002. Effect on fruit quality and tree's main disease control by agrochemical alternatives. *Korean J. Organic Agri.* 10: 70–80. (In Korean)
- Reglinski, T., Elmer, P. A. G., Taylor, J. T., Wood, P. N. and Hoyte, S. M. 2010. Inhibition of *Botrytis cinerea* growth and suppression of botrytis bunch rot in grapes using chitosan. *Plant Pathol.* 59: 882–890.
- Romanazzi, G., Nigro, F. and Ippolito, A. 2000. Effectiveness of pre and postharvest chitosan treatments on storage decay of strawberries. *Riv. fruttic. Vitic.ortic.* 62: 71–75.
- Vander, P., Varum, K. M., Domard, A., El Gueddari, N. E. and Moerschbache, B. M. 1998. Comparison of the ability of partially *N*-acetylated chitosans and chitoooligosaccharides to elicit resistance reactions in wheat leaves. *Plant Physiol.* 118: 1353–1359.
- Vasiukova, N. I., Zinoveva, S. V., Ilinskaia, L. I., Perekhod, E. A., Chalenko, N. G., Gerasimova, G. I., Ilina, A. V., Varlamov, P. and Zeretskovskaia, K. 2001. Modulation of plant disease by water soluble chitosan. *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.* 37: 115–122.
- Wade, H. E. and Lamondia, J. A. 1994. Chitosan inhibits *Rhizoctonia fragariae* but not strawberry black root rot. *Adv. Strawberry Res.* 13: 26–31.

- Walters, D., Walsh, D., Newton, A. and Lyon, G. 2005. Induced resistance for plant disease control: maximizing the efficacy of resistance elicitors. *Phytopathology* 95: 1368–1373.
- Xiao-juan1, S., Yang, B., Yong-cai, L., Rui-feng, H. and Yong-hong, G. 2008. Postharvest chitosan treatment induces resistance in potato against *Fusarium sulphureum*. *Agri. Sci. China* 7: 615–621.
- Yin, H., Bai, X., Zhao, X. and Du, Y. 2010. Oligochitosan: A plant diseases vaccine-A review. *Carbohydr. Pol.* 82: 1–8.