

감마선 및 화학 대체제 융복합 처리가 백합 잎마름병원균 및 잎 절편 감염에 미치는 영향

Effect of Gamma Irradiation and Its Convergent Treatments on Lily Leaf Blight Pathogen, *Botrytis elliptica*, and the Disease Development

김지훈 · 윤성철*

선문대학교 의생명과학과

*Corresponding author

Tel : +82-41-530-2282

Fax: +82-41-530-2939

E-mail: scyun@sunmoon.ac.kr

Ji-Hoon Kim and Sung-Chul Yun*

Department of Biomedical Sciences, Sun Moon University, Asan 336-708, Korea

Gamma irradiation and its convergence with nano-silver particles and sodium dichloroisocyanurate (NaDCC) were investigated to inhibit germination and mycelial growth of *Botrytis elliptica*, the pathogen of lily leaf blight. In addition, the same treatments were studied on the process of disease development with detached leaf of lily cv. Siberia. Spray inoculation, which is closer to natural infection than wound inoculation, can be a way to investigate infection ability of the treated pathogen. The irradiating dose required to reduce the population by 90%, D_{10} , was 526 Gy irradiating with 0–2000 Gy gamma ray on the conidial suspension as well as the growing mycelia. Even at 2000 Gy, the mycelium was not killed but just delayed its growth at 1–2 days behind. Convergent treatment with 40 $\mu\text{g/l}$ of NaDCC just before 200 Gy gamma irradiation was the best way to decrease the conidial germination about 1/1000 times. The control values of gamma irradiation were 23% and 19.5% at wound inoculation and spray inoculation, respectively. On wound-inoculation, the control value of NaDCC only was 89%, and that of NaDCC convergent with 200 Gy gamma irradiation was 32%. On spray-inoculation, the highest control value was NaDCC at 50%, and that of NaDCC convergent with gamma irradiation was 24%.

Keywords: Control value, Germination, Mycelial growth, NaDCC, Nanosilver

Received March 3, 2014

Revised April 30, 2014

Accepted May 16, 2014

서 론

백합 잎마름병의 증상은 잎에 병반 형성 후 갈변을 일으키며, *Botrytis elliptica*와 *Botrytis cinerea* 두 종에 의해 발생하나, *B. elliptica*가 주요 병원균이다(KSP, 2009). 잎마름병은 저온 다습 환경에서 발병이 심하므로, 노지재배에서는 여름 장마 기간 중 심각하게 발병하고, 온도가 조절되는 시설재배에서는 겨울철에 잎뿐만 아니라 줄기와 꽃잎에도 발병한다. 백합 잎마름병 방제는 윤작, 비가림 시설 재배 등의 경종적 방법 외에도, 길

항 미생물을 이용한 생물학적 방제 등이 있지만 여전히 살균제를 이용한 화학적 방제에 주로 의존한다(Hahm 등, 2007). 그 결과 대부분의 백합 농가에서 약제 저항성 균이 출현하여 방제 효과가 떨어지는 문제점이 심각하다. 예컨대, 강원도 고령지 백합 재배 농가에서 분리된 백합 잎마름병원균의 benomyl, procymidone, diethofencarb 살균제 저항성 빈도가 각각 90.1, 32.3, 49.9% 라고 보고하였다(Kim 등, 2001).

장미, 국화와 함께 우리나라 화훼 수출 3대 품목인 백합의 수출입 검역에서 병해충 방제용으로 methyl bromide(MeBr) 훈증이 아직 시행 중이다. 그러나 MeBr은 오존층 파괴뿐만 아니라 절화 화훼류를 포함한 식물의 약해 문제점이 제기되어 선진국에서는 2005년부터 이미 사용이 완전 금지 되었으며, 2015년에

는 개발도상국에서도 사용이 금지될 예정이다(Kume 등, 2009). 우리나라도 검역을 제외한 신선과채류, 농산물 생산 과정에서는 MeBr은 사용할 수 없다. 따라서 검역 현장에서 친환경적이고, 안정적이며, 기술적 타당성이 인정될 만한 MeBr 대체 검역 기술 개발이 시급하다(Kwon 등, 1999).

방사선 조사는 검역 현장에서 부패 및 병원성 미생물 사멸과 해충을 불임시킴으로써 유해생물 제어를 통한 수출입 제품 품질과 안정성을 확보할 수 있는 대체 검역기술 중 하나이다. 방사선은 방사성 동위원소로부터 방출되는 알파(α), 베타(β), 감마(γ)선과 전자가속기를 이용한 전자선(electron beam) 및 이를 자기파로 바꾼 엑스(χ)선 등이 있다. 이 중 감마선은 10 nm 이하의 단파장이며 투과율이 높은 고에너지 전자기파이다. 방사선 조사는 DNA 및 다른 생체내 분자들의 화학 결합을 끊어버림으로써 멸균 또는 생물체의 발달 및 번식을 억제시킬 수 있다(Hallman, 2011). 현재 수입 농산물, 식품 등의 교역에서 화학 훈증제의 대체 기술 방안으로 감마선 이용이 증가하고 있으며(Yoon 등, 2009), 미국, 캐나다, EU 등을 포함한 세계 40여개 국가에서 화훼류 및 일부 조리 식품에 방사선 조사가 허가되어 실용화가 추진되고 있다(Byun 등, 2000; Kwon과 Chung, 1998).

진균성 식물 병원균을 방제할 수 있는 감마선 최소 선량은 1–2 kGy 이상이 요구되나(Kader, 1986), 이 수준의 감마선 선량은 절화 장미와 국화는 조직이 파괴되거나 품질이 떨어지는 피해(Park 등, 1999)가 발생하므로, 백합 잎마름병 방제는 감마선과 더불어 화학약제를 융복합 처리하는 것이 타당하다. 감마선과 융복합 처리 가능한 대체물질로는 항균력이 있는 은나노 입자(nanosized silica-silver, NSS)(Park 등, 2006)와 염소계 소독제인 이염화이소시아나트륨(sodium dichloroisocyanurate, NaDCC)이 주목받고 있다(Kwak 등, 2012). 은나노 물질은 낮은 농도에서 수은, 동, 납, 크롬, 주석과 같은 광물보다 높은 항진균력을 가진다(Berger 등, 1976). 은나노는 저농도에서 진균 세포를 통과하여 세포벽에 손상을 주고 DNA에 부착, 결합하여 DNA의 복제를 저해한다(Dorau 등, 2004). 한편, NaDCC는 고추 역병의 균사 성장을 억제하며(Park 등, 2008), 조직배양 시 식물 표면 살균에 이용될 수 있을 정도로 식물조직에는 위해하지 않는 것으로 알려져 있다(Parkinson 등, 1996; Pink 등, 1984).

따라서 본 연구의 목적은 백합 잎마름병 방제를 위해 감마선 및 다양한 화학제를 최적의 조합으로 융복합 처리하는 방안을 모색하는 것이다. 먼저 2 kGy까지 고선량의 감마선의 백합 잎마름병 병원균인 *B. elliptica*의 항균활성을 평가하기 위해 포자 발아 억제 및 균사생장 억제 능력을 알아보려고 한다. 이를 통해 병원균 포자의 90%를 사멸시킬 수 있는 선량인 D_{10} 값을 구함으로써 다른 진균성 병원균과 백합 잎마름병원균의 감마선 민감도를 비교할 수 있다. 더불어서 백합절화에 피해가 없는 200 Gy의 저선량 감마선과 함께 다양한 화학대체제의 융복합 처리로 포자발아 억제와 백합 잎 절편에 병원균 감염시킨 후 발

병 억제능력을 알아보려고 한다. 발병을 위한 접종은 상처접종과 분무접종 두 가지를 수행하였는데, 상처접종 방법은 병원균이 기주 조직 내에 발병 능력을 알 수 있으며, 분무접종은 병원균 스스로의 침입 능력을 알 수 있는 실제 발병에 더 가까운 방법이다.

재료 및 방법

기주, 식물병원균, 감마선. 감마선 조사 및 대체제 융복합 처리를 위한 백합은 오리엔탈 백합 중 시베리아(*Lilium oriental hybrids 'Siberia'*) 품종을 사용하였다. 백합 잎마름 병원균은 한국농업미생물자원센터(Korean Agricultural Culture Collection; KACC)에서 분양받은 *B. elliptica*(KACC 43461)를 이용하였다. *B. elliptica*는 감자한천배지(PDA; Difco, USA)에 접종하여 22°C에서 7일간 매일 12시간 간격으로 명암이 교대되는 항온기에 근자외선광을 조사하여 포자 발생을 유도하였다. *B. elliptica*의 포자 현탁액은 배양된 균사체 배지에 멸균수를 5 ml 첨가하여 멸균된 굵개로 회수한 다음 포자와 균사체 조각이 들어있는 현탁액을 4겹 거즈에 걸러 수확하였다. 수확한 포자는 광학현미경(H600L; Nikon, Japan) 상에서 혈구계수기를 사용하여 5×10^5 spores/ml로 맞추어 접종에 사용하였다.

감마선은 전라북도 정읍 소재의 한국 원자력연구원 첨단 방사선 연구소에서 조사(irradiate)하였다. ^{60}Co 으로부터 방출된 시간당 600 Gy 선량의 감마선은 각 실험에 맞게 수준 별로 처리하였는데, 병원균 균사조각, 포자현탁액 및 백합 잎 절편에 감마선을 조사하였다.

백합 잎마름 병원균 포자 발아 및 균사 생장 억제에 미치는 감마선 효과. 감마선의 *B. elliptica* 포자발아 억제를 알아보기 위해 10^5 spores/ml 농도로 맞춘 포자 현탁액을 50 ml 규격의 Falcon tube에 넣어 감마선을 0, 400, 800, 1200, 1500, 2000 Gy로 조사하였다. 감마선 조사 직후에 $10^1, 10^2, 10^3, 10^4$ 의 농도로 계단식 희석법으로 희석한 후, PDA 배지에 포자 현탁액을 100 μl 접종하여 도말하였다. 23°C 배양기에서 이틀간 배양 후 발아한 포자 농도를 측정하여, 감마선 처리에 따른 포자 발아억제 능력을 평가하였다. D_{10} 은 최초 포자현탁액 농도로부터 1/10로 줄어드는데 필요한 방사선 선량인데, 선량증가(x축)에 따른 포자발아 개수(y축)의 회귀분석을 통해 얻은 직선 기울기로 계산하였다. 실험은 3회 반복하였으며, 각 실험에는 처리당 3개 페트리 접시를 사용하였다. 감마선이 병원균의 균사생장을 억제하는지를 알아보기 위하여 *B. elliptica*가 배양된 PDA 배지에 감마선을 0, 400, 800, 1200, 1500, 2000 Gy로 조사하였다. 각 수준별로 감마선 조사된 균사체는 코르크보어를 이용하여 직경 8 mm 크기로 잘라낸 후, PDA 배지 위에 치상하여 16, 19, 22, 25, 28°C에서 7일 동안 배양하며 균사 직경을 날짜 별로 측정하였다.

화학 대체제 농도별 단독 처리 및 감마선과 융복합 처리에 따른 병원균 포자발아 억제. 3가지 살균제 대체제인 NaDCC, NSS, NA를 *B. elliptica* 포자현탁액에 혼합하여 포자 발아 억제능력을 평가하였다. 포자 현탁액을 10⁵ spores/ml로 조정하여 준비한 후, 세 가지 화학 대체제와 포자현탁액을 1:1(v:v)로 혼합하여 혼합물에서 대체제의 최종 농도가 0, 10, 20, 30, 40, 50 µg/l 이 되도록 맞춘 후 PDA 배지 위에 100 µl 도말하였다. 23°C 배양기로 옮긴 배지를 이틀간 배양 후 발아한 포자의 수를 세어 대체제의 각 농도별 포자 발아억제 능력을 평가하였다. 또한 화학 대체제와 감마선의 융복합 처리에 따른 병원균 포자 발아억제를 알아보기 위해 위에서 준비한 0-50 µg/l 농도의 대체제와 포자 현탁액 혼합물을 200과 400 Gy 감마선에 조사하였다. 감마선 조사 후 각 처리구의 포자 현탁액을 위와 같은 방법으로 도말, 배양하여 포자 발아를 조사하였다. 실험은 각각 독립된 시기에 대체제가 처리된 포자 현탁액에 감마선을 4회 조사하였다. 처리간 효과는 각 조사를 반복으로 4반복 실험 결과로 비교하였다. 각 실험의 포자 발아수는 처리, 농도 별로 3개 페트리접시 대한 평균이었다.

기내실험. 30×50 cm의 실험용 용기에 3 l의 한천을 부어 만든 약 2 cm 두께의 한천 판에 백합 잎 절편 10개씩을 꽂아 수분을 유지시켰다. 각 용기에는 시베리아 품종 잎 절편 10개를 꽂은 후 채혈기로 상처를 낸 후 *B. elliptica* 포자 현탁액을 분무하는 상처접종과 상처없이 병원균만을 분무한 분무접종 두 가지 접종을 실시하였다. 접종 후 24시간 동안 뚜껑을 덮어 19°C에 상대습도가 100% 유지되는 습실 챔버에 보관하여 발병을 유도하였다. 접종 24시간 후 대체제 EtOH(15%), NaOCl(2%), NSS(40 µg/l), NaDCC(40 µg/l)를 분무처리하고 200 Gy 감마선을 조사(irradiate)하였다. 감마선 조사 후 14일까지 발병율과 발병도를 측정하였다. 실험 반복은 3회로서, 각각 다른 시기에 수행하였으며 각 반복에는 10개 잎 절편을 꽂은 하나의 한천 판을 사용하였다.

발병율, 발병도 및 방제가. 채혈기 바늘로 상처 낸 후 병원균을 인위적으로 감염시킨 상처접종의 발병율(incidence)은 각 처리 당 10개 잎 중 병이 발생한 잎을 백분율로 환산하여 정리하였다. 분무접종 실험은 병징이 잎 면적을 차지하는 정도에 따라 각 잎의 발병 수준을 0-4까지 나누어 기록하였다. 0은 무발병, 1은 잎에서 발병 면적이 1-10%, 2는 11-25%, 3은 26-50%, 4는 50% 이상의 병반 면적으로 정하였다. 발병도(severity)는 처리된 10개의 잎 각각의 rate의 합을 아래와 같이 계산함으로써 10개 잎 절편에서의 발병 면적의 평균이었다. 방제가(control value)는 매 번의 접종실험마다 무처리의 발병이 다르므로, 각 처리구의 발병율과 발병도의 상대값을 아래와 같이 계산하였다.

$$\text{발병율(\%)} = \frac{\text{각 처리구 이병 잎 수}}{\text{각 처리구 총 잎 수}} \times 100$$

$$\text{발병도(\%)} = \frac{\text{처리한 잎의 rate 0-4의 총합}}{\text{각 처리구의 잎 수} \times 4}$$

$$\text{방제가(\%)} = \frac{\text{처리구 발병율} - \text{각 처리구 발병율}}{\text{무처리구 발병율}} \times 100$$

결 과

감마선의 병원균 포자발아 및 균사생장 억제. *B. elliptica*의 포자 현탁액에 감마선을 조사하여 포자 발아를 확인한 결과, 선량이 증가할수록 포자 발아가 억제되었다(Fig. 1). 특히, 2000 Gy에서 병원균 포자 발아는 완벽하게 저해되었다. 회귀분석 결과 0 Gy 대조구의 *B. elliptica*의 포자 발아가 1/10으로 줄어드는데 필요한 감마선 선량인 D₁₀ 값은 526 Gy였다(Fig. 1). *B. elliptica*의 균사 생장은 모든 온도 구간에서 2000 Gy까지 감마선 선량이 증가할수록 생장이 줄어들었으나(Fig. 2A), 2000 Gy 처리에서도 완전한 생장저해가 아닌 생장 지연이었다. 특히 19°C와 16°C 배양에서는 감마선 선량 증가에 따른 균사 생장 지연 정도는 생장 적온인 22°C, 25°C에 비해 더 컸다(Fig. 2A). 생장 적온인 25°C에서 접종 3일부터 7일까지 0-2000 Gy까지 6가지 수준의 감마선 선량에 따른 균사 생장 직경을 측정된 결과 선량이 증가할수록 생장은 점차 지연되나 2000 Gy를 제외하고는 접종 7일에 페트리 접시를 채워 생장이 완료되었다(Fig. 2B). 2000 Gy 처리구에서 병원균 균사생장은 접종 4일까지 성장하지 않다가 이후

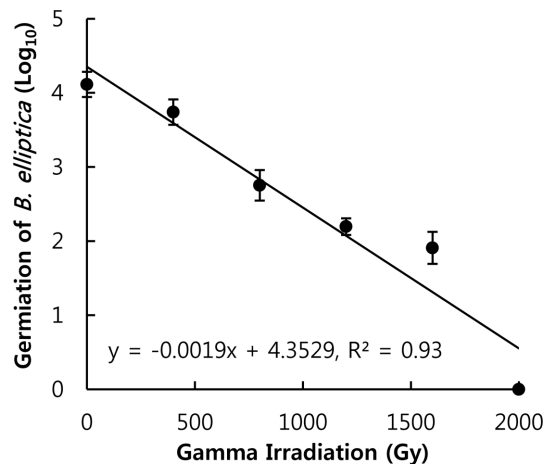


Fig. 1. Decreasing of conidial germination of *Botrytis elliptica* by gamma irradiation up to 2000 Gy. To analyze D₁₀ value, regression was conducted. D₁₀ value is the irradiating dose required to reduce the population by 90%. Error bar is standard errors of three replications.

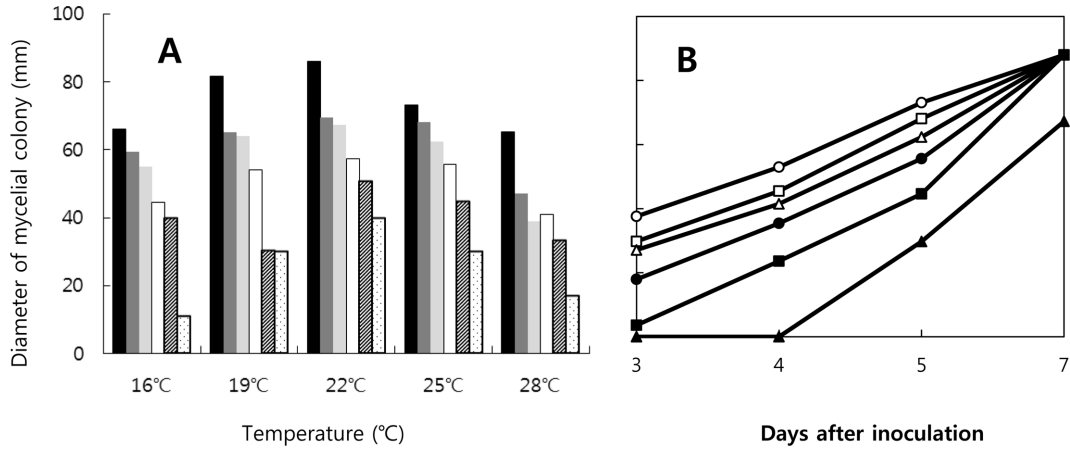


Fig. 2. Mycelial growth of *Botrytis elliptica* depending on doses of gamma irradiations at 0, 400, 800, 1200, 1600, 2000 Gy from left to right and temperature regimes at 5 days after irradiation (A). Daily growth of *B. elliptica* mycelium at 0 Gy (○), 400 Gy (□), 800 Gy (△), 1200 Gy (●), 1600 Gy (■), and 2000 Gy (▲) of gamma irradiations at 25°C (B).

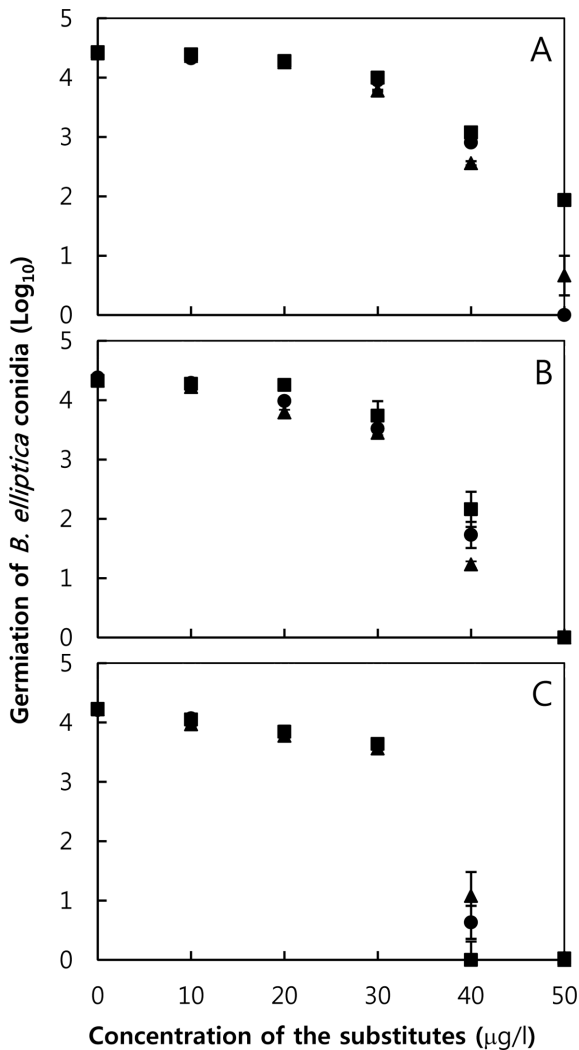


Fig. 3. Inhibition of conidial germination on *Botrytis elliptica* depending from 0 to 50 µg/l of NA (●), NSS (■), and NaDCC (▲) as well as gamma irradiation at 0 Gy (A), 200 Gy (B), and 400 Gy (C). Panel B and C were convergent treatments with gamma irradiations and the chemical substitutes. Error bar is standard error of four replications.

생장이 시작되었는데 접종 8일 후 페트리접시를 채울 정도로 뒤늦게 급격히 성장하였다(Fig. 2B).

대체제 단독처리 및 감마선과 융복합 처리시 병원균 포자발아 억제. 세 가지 대체제인 NaDCC, NSS, NA의 *B. elliptica*의 포자 발아 억제능력을 평가한 결과, NA와 NaDCC 농도 증가에 따른 포자 발아율 억제가 가장 급격하였다(Fig. 3A). 모든 대체제 처리에서 30 µg/l까지는 포자발아 억제 효과가 미미하였으나, 40 µg/l 농도 처리에서는 처리한 포자 현탁액 농도의 1/100 이하로 감소되었으며, 50 µg/l의 NA 처리는 병원균 포자 발아를 완벽하게 저해하였다(Fig. 3A). *B. elliptica* 포자현탁액과 대체제를 섞어 0, 10, 20, 30, 40, 50 µg/l로 맞춘 포자현탁액에 200 Gy와 400 Gy의 감마선을 조사한 융복합 실험(Fig. 3B, C)에서는 30 µg/l까지는 감마선 선량과 상관없이 모든 대체제 처리에서 포자발아는 억제되지 않았다(Fig. 3). 반면, 40 µg/l 대체제 처리와 200 Gy와 400 Gy 감마선 융복합 처리(Fig. 3B, C)는 대체제만 처리한 것(Fig. 3A)에 비해 1/100 이하로 포자발아가 줄었고, 50 µg/l의 3가지 대체제와 200 및 400 Gy 감마선의 융복합 처리는 포자 발아를 완전히 저해하였다.

감마선, 대체제 융복합 처리가 백합 잎마름병에 미치는 영향 상처접종. 대체제만 단독처리한 잎 절편에서 접종 후 14일 까지 잎마름병 발병율 증가는(Fig. 4A), 상처접종 24시간 후 대체제와 200 Gy 감마선을 조사한 융복합 처리의 잎마름병 발병을 증가(Fig. 4B)보다 완만하였다. 발병율 조사 마지막 날짜인 접종 후 14일을 기준으로 대체제만 처리한 잎 절편의 상처접종 발병율은 대조구 > NaOCl > NSS > NaDCC 순으로 높았다(Fig. 4A). 상처접종 24시간 후 대체제를 처리하고 이후 200 Gy 감마선을 처리한 융복합 처리의 발병율은 대조구 > NaOCl > γ-ray 단독처리 > NaDCC > NSS 순으로 높았다(Fig. 4B). 3차례의 실험 모두에서 잎마름병 발병율은 일정하지 않으므로 처리효과

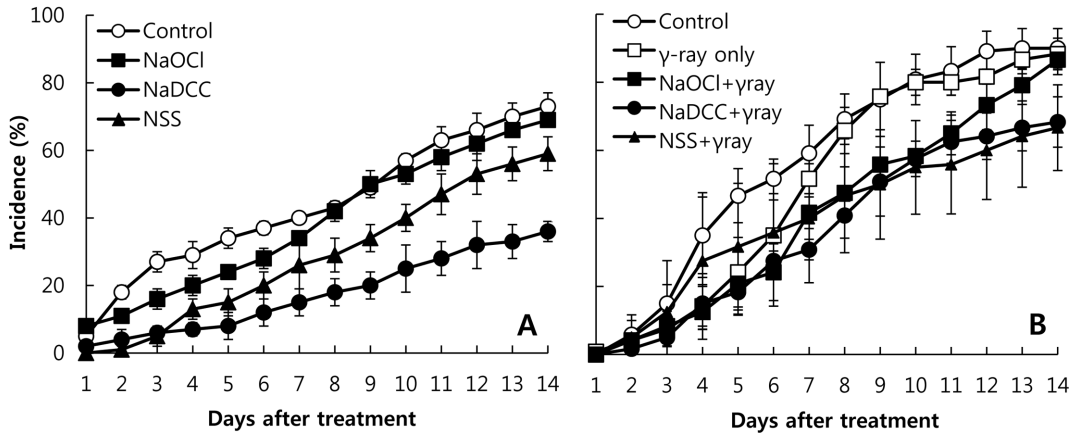


Fig. 4. Disease progress of leaf blight by *B. elliptica* on detached lily leaves which were wound inoculated on agar plate. After 24 hrs, the inoculated leaves were treated with several chemicals such as NaOCl (■), NaDCC (●) and NSS (▲) with 200 Gy of gamma irradiation (B) or without gamma irradiation (A). Leaf blight was assessed as incidence (%) which was percent of diseased leaf among 10 wound inoculated leaves per agar plate. Error bar is standard error of three replications at different times of experiment.

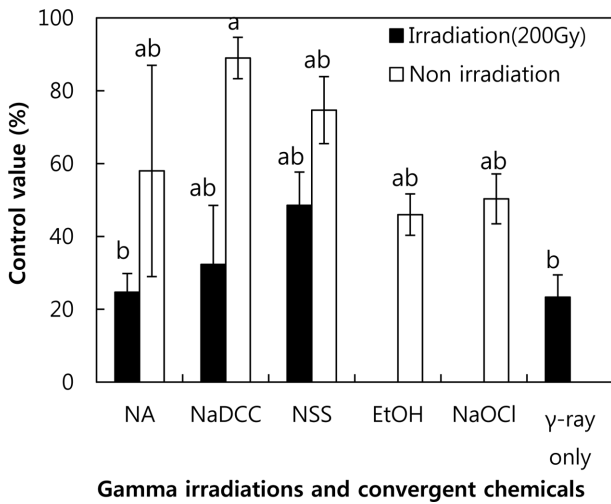


Fig. 5. Control values of the chemical substitute treatments with (■) or without (□) 200 Gy of gamma irradiation. Leaf blight was assessed as incidence (%) which was percent of diseased leaf among 10 wound inoculated leaves per agar plate at 13 day after inoculation. Control value (%) was relative percent of the treated one from the control which was not treated. Multiple comparisons among the 6 treatments were conducted by least significant difference at 95% of confidence.

는 매 실험에서 대조구와의 상대적 비교를 통해 얼마나 병이 덜 발생하는지를 알 수 있는 방제가로 비교하였다. 상처접종한 모든 처리에서의 방제가는 감마선 처리않고 화학 대체제만 단독처리한 방제가가 용복합 처리의 방제가보다 높았다. 감마선 단독 처리의 방제가는 23%로서 발병 억제 효과가 미미하였다 (Fig. 5). 대체제 단독처리의 방제가는 NaDCC가 89%로 가장 높았고, NSS의 단독처리 또한 74.6%의 높은 방제가를 보였다. 반면 EtOH와 NaOCl의 단독처리는 46%, 50%의 방제가를 보였다 (Fig. 5). 감마선과 대체제의 용복합 처리시 병 방제 효과는 단독

처리보다 방제가가 더 낮게 나타났는데, NSS > NaDCC > NA > γ -ray 단독처리 순으로 방제가가 높았다(Fig. 5).

분무접종. 백합 잎 절편에 포자현탁액을 분무접종한 경우, 포자 스스로 기주 잎을 감염시키는 발병능력까지 알 수 있다. 분무접종한 잎에서의 발병은 감염에 성공한 병반 개수가 중요하므로, 잎 전체 면적 중에서 발병된 이병조직의 비율을 0-4 단계로 구분하여, 발병도(severity)로 측정하였다. 상처접종과 달리 분무접종 한 잎에서의 시간에 따른 발병 심각도는 처리 후 9-10일까지는 지속적으로 증가되다가 이후 발병은 진전하지 않았다(Fig. 6A, B). 감마선을 처리하지 않은 대체제 단독처리의 심각도(Fig. 6A)가 대체로 200 Gy 감마선을 용복합 처리한 것(Fig. 6B)보다 대체로 낮은 발병도를 보였다. 3차례 실시한 화학 대체제 단독처리에서 병 심각도는 대조구 > EtOH > NaOCl > NA > NSS > NaDCC 순으로 높았다(Fig. 6A). 감마선 용복합 처리에서 발병도는 대조구 > γ -ray 단독처리 > NA > NaDCC > NSS 순이었다. 분무접종의 방제가는 상처접종과 마찬가지로 NaDCC의 단독 처리가 50%로 가장 높은 방제가를 보였다(Fig. 7). 다른 대체제의 단독처리 및 용복합 처리에서의 방제가는 30% 이하였다.

고 찰

백합 잎마름병원균인 *B. elliptica*는 D_{10} 값이 526 Gy였는데, 이는 Saleh 등(1988)이 보고했던 *Aspergillus flavus*의 600 Gy, *A. niger*의 420 Gy의 중간 정도였다. 한편 본 연구 과제와 함께 하는 연구자들의 결과보고서에 따르면 *B. cinerea*는 950 Gy, *Rhizopus sp.*는 540 Gy로 백합 잎마름병원균보다 감마선에 더 강하였으며, *Monilinia fructigena*, *Penicillium italicum*은 각각 400 Gy와 294 Gy로서 본 병원균보다 감마선에 더 민감하였다.

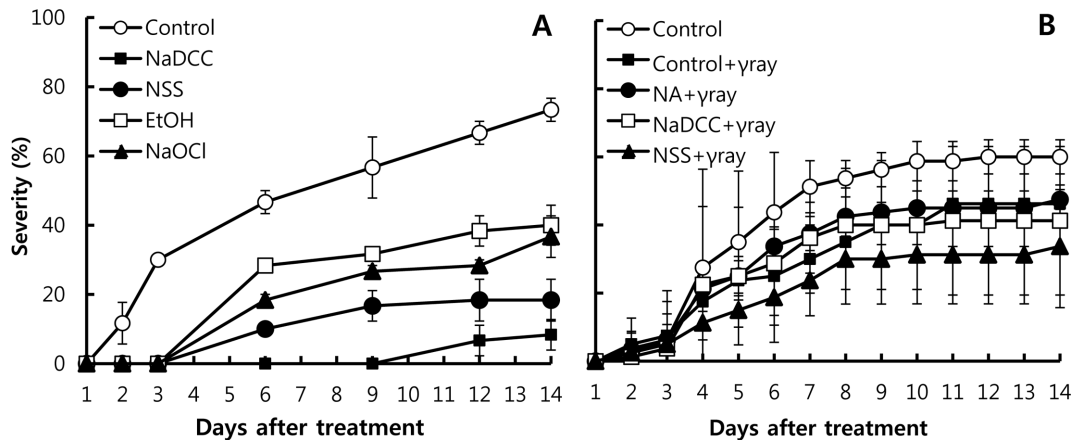


Fig. 6. Disease progress of leaf blight by *B. elliptica* on detached lily leaves which were sprayed inoculation on agar plate. After 24 hrs, the inoculated leaves were treated with several chemicals such as NaDCC (■), NSS (●), EtOH (□) and NaOCl (▲) with 200 Gy of gamma irradiation (B) or without gamma irradiation (A). Leaf blight was assessed as severity (%). Every diseased leaf was rated at 4 levels on a scale of 0–4. Severity (%) was calculated diseased area based on the levels of 10 spray-inoculated leaves on an agar plate in each treatment. Error bar is standard error of three replications at different times of experiment.

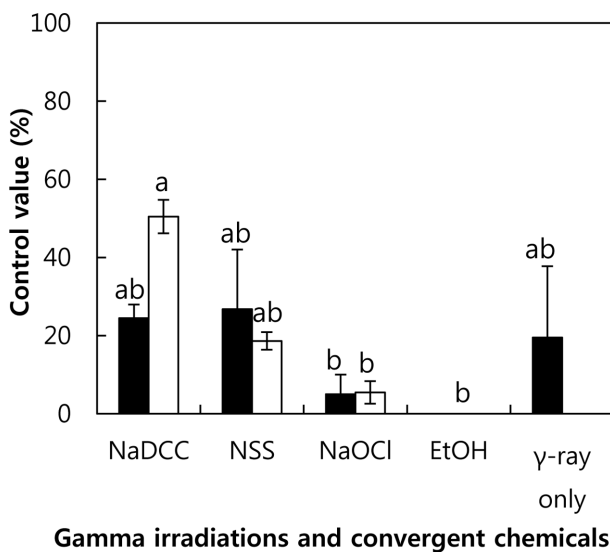


Fig. 7. Control values of the chemical substitute treatments with (■) or without (□) gamma irradiation. Leaf blight was assessed as severity (%) at 13 days after spray-inoculation. Control value (%) was relative percent of the treated one from the control which was not treated. Multiple comparisons among the 6 treatments were conducted by least significant difference at 95% of confidence. Error bar is standard error of three replications.

Hong 등(2013)의 실험에서는 사과와 배에 저선량의 감마선 조사 시 과피에 잔존하는 곰팡이를 모두 사멸시켰다고 보고하였다. 한편, 본 실험에서 백합 잎마름병 주요 원인균인 *B. elliptica* 균주는 2000 Gy의 고선량 감마선에서 포자 발아를 완벽하게 억제하였으나 같은 선량에서 균사생장은 2–3일 정도 속도가 늦춰졌을 뿐 균사는 사멸되지 않았다.

감마선에 의한 발병 억제를 보여주는 감마선만을 처리했을 때의 방제가는 상처접종에서 23%(Fig. 5)였고, 분무접종에서는

19.5%로(Fig. 7) 200 Gy 감마선에 의한 백합 잎마름병 방제 효과는 뚜렷하지 않았다. 예비실험 결과 백합에 감마선 피해를 주지 않으려면 200 Gy 이하의 감마선을 조사하여야 하는데 이 수준의 감마선 처리만으로는 백합 잎마름병을 방제할 수는 없다. 50–150 Gy 수준의 감마선 조사는 근채류의 발아억제, 경채류와 버섯류의 생장억제, 과실류의 성숙 지연 등 유용한 효과를 기대할 수 있으므로(Kader 등, 1986) 백합 수출현장에서 잎마름병 방제뿐만 아니라 응애와 같은 해충 방제나 저장기간 연장 등 부수적인 감마선 효과를 기대할 수 있을 것이다. 하지만 잎마름병 방제를 염두한다면 화학 대체제와의 융복합 처리가 반드시 고려되어야 한다.

감마선과 대체제 융복합 처리의 병원균 포자 발아 억제력을 알아본 결과, 대체제 농도를 50 µg/l로 처리하면 200 Gy와 400 Gy의 선량에서 *B. elliptica*의 포자 발아를 완전히 저해시키거나 감마선 없이 대체제만의 단독 처리에서 NSS나 NaDCC 처리에서 일부 병원균의 발아가 발생하였으므로 시너지 효과가 인정된다. 감마선과 화학대체제 두 가지 모두에서 항균력을 평가하기 위해 대체제 농도를 40 µg/l로 처리하여 감마선의 역할이 발휘되도록 실험을 설계하였다. 대체제로 선정된 세 가지 물질 중, NaDCC는 *B. elliptica*에 가장 우수한 포자발아 저해 효과를 보였는데 본 연구에서 감마선과 융복합 처리한 NaDCC 처리에서 상처 및 분무접종의 방제가는 각각 32%와 23%였으나, NaDCC만의 단독처리 방제가는 89%와 50%여서 감마선과 화학대체제 융복합 처리는 시너지 효과 혹은 부가효과는 없었다. NaDCC는 *B. cinerea*와 *Penicillium expansum*의 포자발아 및 균사생장을 저해하였는데 특히 *B. cinerea*의 포자발아율을 31%까지 낮추었다(Lim 등, 2003). 한편 Han(2011)은 NaDCC를 이용하여 곰팡이 병원 붉은별무늬병, 검은별무늬병 방제 실험에서도 살균제와 동등한 89%의 우수한 살균효과를 보고하였다.

소독제로 널리 사용되는 차아염소산나트륨(sodium hypochlorite)과 NaDCC는 같은 농도에서 동량의 염소이온을 가지므로 비슷한 수준의 항균력이 기대된다(Kim 등, 2007). 차아염소산나트륨은 농도에 따른 독성 문제가 크다(Siqueira 등, 1997; Yesilsoy 등, 1995). 본 연구진의 예비실험 결과 시판되는 차아염소산나트륨 4%를 희석없이 분무하거나 0.4%까지 희석하여도 절화백합 잎에서 약해가 보였다. 분무접종과 상처접종 실험에서 차아염소산나트륨의 방제가는 50.3%와 5%로 매우 낮았고 에탄올도 차아염소산나트륨과 비슷한 수준의 방제가 었다(Fig. 5, 7). 따라서 소독제로 광범위하게 쓰이는 두 화합물을 감마선 융복합 처리를 위한 대체제로 쓰는 것보다는 NaDCC가 상대적으로 더 좋은 결과를 보였다.

한편, NSS는 포자발아 및 균사생장을 효과적으로 억제할 뿐만 아니라 오이 흰가루병을 방제하는 등 항진균성 대체 물질로서의 가능성을 보였고, 동시에 높은 농도에서도 약해를 보이지 않았다(Park 등, 2006). Kang 등(2012)은 은나노 용액과 마요네즈의 혼합액을 오이 잎에 분무하여 70.3%의 흰가루병 방제 효과를 보고하였다. 본 실험에서도 NSS의 *B. elliptica* 포자발아 억제도 확인되었다. 하지만 은나노 입자에 대한 안전성과 약제로서의 법적 승인 문제가 현재까지도 논란이 되고 있는 반면 NaDCC는 1980년대부터 FDA와 유럽 및 65개국 이상에서 치과 치료의 충치균 살균제로서 쓰일 정도로 안정성과 살균력이 입증되었다(FDA, 1998; Kim 등, 2007). 따라서 감마선 융복합 대체제로써 NaDCC가 보다 현실적인 대안이다.

상처접종에서의 발병은 병원균 스스로 직접 침입하는 분무접종보다 발병이 더 심하였다. 따라서 무방제 대비 발병억제력인 방제가는 상처접종에서 높았는데, 특히 3가지 화학대체제만을 단독으로 처리한 방제가가 60–80% 이상으로 높게 나타난 반면 감마선을 처리한 융복합에서는 20–40%로 권장할 만한 수준은 아니었다(Fig. 5). 한편, 분무접종에서 발병도는 60–70% 수준이었고, 화학 대체제와 200 Gy 감마선 융복합 처리의 방제가는 대략 20% 수준으로서 감마선만을 단독처리했던 수준과 비슷했다(Fig. 7). 결국 감마선에 의한 백합 품질을 유지하려면 200 Gy 저선량으로 조사해야 하므로 대체제 항균력에 주로 의존할 수밖에 없으므로 수출 현장에서 50 µg/l의 NaDCC도 권장할 만하다.

감마선을 비롯한 이온화 에너지를 농업현장에서 상업화하고자 하는 시도는 농산물에 대한 화학적 처리를 지양하고 물리적이고 친환경적인 처리를 선호하는 최근의 경향 때문이며, 특히 이온화 에너지는 멸균, 멸충 뿐만 아니라 식물조직의 생리적 과정 변화를 통한 숙성과 생육 억제를 통한 성장 제어를 기대하는 것이다. Woo와 Kwon(2008)의 연구에 따르면 농산물 방사선 조사 중 화훼류의 멸충 및 생육억제 분야는 한약재의 저장 연장과 멸균, 사료의 멸균, 수출입 목재의 멸충 및 곰팡이 제거, 돼지고기의 멸균 및 멸충과 같은 농업 분야보다도 상대적으로 시장이 점차 확대되므로 상업화 가능성이 높고 처리 비용도 저렴하여

비교적 실현 가능성이 높다고 분석하였다.

본 연구는 감마선 및 감마선과 화학대체제의 융복합 처리에 따른 병원균 생장 저해 및 잎 절편에서의 감염 과정을 살펴보았으나 실제 수출용 백합 절화를 대상으로 현장 적용이 가능하도록 대량 처리 시설에서 실증 연구가 필요하다. 또한 수출용 백합 품종은 본 연구에서 사용된 시베리아가 주요 품종 중 하나이지만 이외의 다양한 품종에 대한 민감도도 확인할 필요가 있다. 따라서 본 실험에서 권장한 200 Gy 감마선 선량과 제시한 NaDCC 화학대체제의 농도 40 µg/l로 융복합 처리하는 실증 실험이 향후 과제가 될 것이다.

요 약

감마선과 융복합 처리를 위한 은나노 입자(NA, NSS), 이염화 이소시아나트륨(NaDCC) 등의 화학대체제를 이용하여 백합 잎마름병의 원인균인 *Botrytis elliptica*의 포자발아 및 균사생장 억제와 동시에 백합 잎 절편에서 발병 과정 중 방제를 연구하였다. 발병과정에서 감마선 융복합 처리효과를 알아보기 위한 실험은 곰팡이 침입을 인위적으로 도와주는 상처접종과 병원균 스스로 침입을 하는 분무접종 두 가지를 실시하였다. 병원균 곰팡이 포자 발아를 90%까지 억제시킬 수 있는 감마선 선량인 D_{10} 은 526 Gy였다. 2000 Gy까지 감마선 선량을 병원균 균사에 조사한 후, 16, 19, 22, 25, 28°C에서 배양한 결과 곰팡이 균사는 가장 높았던 2000 Gy에서도 죽지 않고 생장이 약 1–2일 지연되었을 뿐이었다. 백합 잎마름병을 억제하기 위해 필요한 1–2 kGy의 감마선 처리는 절화백합에서 부작용이 보일만큼 너무 높기 때문에 감마선은 200 Gy로 조사하고 다른 화학대체제들과의 융복합 처리하는 방안을 강구하였다. 다양한 화학대체제들의 융복합 처리 농도를 40 µg/l로 맞춘 이유는 화학제만으로 병원균을 완전히 죽이지 않으면서 감마선의 살균 효과를 거둘 수 있기 때문이었다. 병원균 포자 발아 융복합 실험에서 40 µg/l의 NaDCC 처리는 무처리에 비해 포자발아를 1000배 이하로 줄일 수 있었다. 감마선만 처리한 실험에서 방제가는 상처접종에서 23%, 분무접종에서 19.5%로 기대만큼 높지 않았다. 상처접종에서 감마선 처리하지 않은 NaDCC 단독처리의 방제가는 89%였던 반면, NaDCC와 200 Gy 융복합 처리는 32%에 불과하였다. 자연상태에 더 가까운 분무접종 실험에서 NaDCC 단독처리의 방제가는 50%, NaDCC와 200 Gy의 감마선 융복합 처리 방제가는 24%였다.

Acknowledgement

This work was supported by Export Promotion Technology Development Program, Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs. In addition, we thank to Korea Atomic Energy Research Institute for the gamma irradiation.

References

- Berger, T. J., Spadaro, J. A., Bierman, R. Chapin, S. E. and Becker, R. O. 1976. Antifungal properties of electrically generated metallic ions. *Antimicrob. Agents Ch.* 10: 856–860.
- Byun, M. W. and Yook, H. S. 2000. Domestic and foreign status of irradiation applications to food and public health industries. *Korean J. Postharvest Sci. Technol.* 13: 5–42.
- Dorau, B., Arango, R. and Green, F. 2004. An investigation into the potential of ionic silver as a wood preservative. Proceedings from the Woodframe Housing Durability and Disaster Issues. pp. 133–145.
- FDA. 1998. The food and drug administration. *Fed. Register.* 63: 71144.
- Hallman, G. J. 2011. Phytosanitary applications of irradiation. *Comp. Rev. Food Sci. Food Safety* 10: 143–151.
- Hahm, S. S., Lee, K. H., Lee, J. W., Lee, H. D. and Yu, S. H. 2007. Control and incidence of leaf blight on lily with different cultural systems. *Res. Plant Dis.* 13: 152–156. (In Korean)
- Han, M. K. 2011. Control efficiency of NaDCC (sodium dichloroisocyanurate) for major disease in 'Niitaka' pear. Master thesis. Han-kyong National University, Ansong, Korea.
- Hong, Y., Lee, J., Cho, M., Choi, J. Lee, J. Park, M. Lee, K. and Lee, J. 2013. Effect of gamma-ray on apple and pear after harvest. *Korean J. Hort. Sci. Technol.* p. 130. (Abstract)
- Kader, A. A. 1986. Potential applications of ionizing radiation in postharvest handling of fresh fruits and vegetables. *J. Food Technol.* 40: 117–121.
- Kang, S.-Y. and Song, C.-K. 2012. Control effect of powdery mildew of cucumber and pumpkin plants by using nano-silver liquid and mayonnaise. *Korean J. Org. Agr.* 20: 487–488.
- Kim, B.-S., Chun, H. H. and Hwang, Y. A. 2001. Occurrence and changes of *Botrytis elliptica* resistant to fungicides. *Korean J. Pesticide Sci.* 5: 61–67. (In Korean)
- Kim, H.-J., Park, S.-H., Cho, K.-M. and Kim, J.-W. 2007. Evaluation of time-dependent antimicrobial effect of sodium dichloroisocyanurate (NaDCC) on *Enterococcus faecalis* in the root canal. *J. Korean Acad. Conserv. Dent.* 32: 121–129.
- KSPP (The Korean Society of Plant Pathology). 2009. List of Plant Diseases in Korea. 5th. 853 pp.
- Kume, T., Furuta, M., Todoriki, S., Uenoyama, N. and Kobayashi, Y. 2009. Status of food irradiation in the world. *Radiat. Phys. Chem.* 78: 222–226.
- Kwak, Y.-K., Kim, S.-I., Lee, J.-M. and Kim, I.-S. 2012. Synthesis of Pytopatch as silver nanoparticle product and antimicrobial activity. *Korean J. Bio-Environ. Con.* 21: 140–146. (In Korean)
- Kwon, J. H. and Chung, H. W. 1998. Scientific background and research issues on food irradiation. *Food Sci. Ind.* 31: 31–49. (In Korean)
- Kwon, J. H., Noh, M. J., Chung, H. W., Lee, J. E., Park, N.Y., Kwon, Y. J., Seo, S. J., Chung, H. J. and Huh, E. Y. 1999. Quarantine treatment of agricultural products for export and import by gamma irradiation. KAERI/CM-289/98, 174 pp.
- Lim, B.-S., Yun, H.-K., Hwang, Y.-S., Choi, S.-T. and Chung, D.-S. 2003. Sterilization of cold storage room using sodium dichloroisocyanurate. *Korean J. Hort. Sci. Technol.* 21: 209–211. (In Korean)
- Park, H.-J., Kim, S. H. Kim, H. J. and Choi, S.-H. 2006. A new composition of nanosized silica-silver for control of various plant diseases. *Plant Pathology J.* 22: 295–302.
- Park, I.-H., Jung, Y.-S., Lee, W.-S., Kwon, J.-H. and Byun, M.-W. 1999. Effect of gamma irradiation and post-irradiation treatment of preservatives on the cut flower longevity of rose and mum. *Korean J. Postharvest Sci. Technol.* 6: 286–291. (In Korean)
- Park, J. H. 2008. Control effect of NaDCC on Phytophthora blight of red pepper. *Horticultural and Herbal Environment Research. Annual Report of NIHHS.* p. 70. (In Korean)
- Parkinson, M., Predergast, M. and Sayegh, A. J. 1996. Sterilization of explants and cultures with sodium dichloroisocyanurate. *Plant Growth Regul.* 20: 61–66.
- Pink, D. A. C. and Walkey, D. G. A. 1984. Rapid propagation of *Cucurbita pepo* L. by culture of meristem tips. *Sci. Hortic-Amsterdam* 24: 107–114.
- Saleh, Y. G., Mayo, M. S. and Ahearn, D. G. 1988. Resistance of some common fungi to gamma irradiation. *Appl. Environ. Microbiol.* 54: 2134–2135.
- Siqueira, J. F., Machado, A. G., Silverira, R. M., Lopes, H. P. and DeUzeda, M. 1997. Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal, in vitro. *Int. Endod. J.* 30: 279–282.
- Woo, J. S. and Kwon, H. J. 2008. A survey on commercialization possibility of electron-beam irradiation in agriculture. *J. Environ.-Friendly Agri. Res.* 10: 95–118. (In Korean)
- Yesilsoy, C., Whitaker, E., Cleveland, D., Phillips, E. and Trope, M. 1995. Antimicrobial and toxic effects of established and potential root canal irrigants. *J. Endodont.* 21: 513.
- Yoon, Y., Byun, M.-W., Kim, W.-J., Kwon, J.-H. and Lee, J.-W. 2009. Current status of food irradiation technology on quarantine of agricultural commodities. *Food Sci. Ind.* 42: 19–26.