

길항효모를 이용한 사과 *Penicillium* 부패병의 생물학적 방제

김종진* · 오연선**

(*건국대학교 농업자원개발연구소 · **건국대학교 식량자원학과)

Biological control of *Penicillium* rot of apple fruit with antagonistic yeasts

Kim, Jong-Jin* · Oh, Yeon-Sun**

* The Research institute of agricultural resources development, Kon-Kuk Univ., Seoul 143-701, Korea.

**Dept. of Crop science, Coll. of Agric., Kon-Kuk Univ., Seoul 143-701, Korea.

적 요

사과 저장중 발생하는 푸른곰팡이병의 생물학적 방제를 위하여 사과 과실 표면으로부터 길항효모를 선발하여 사과푸른곰팡이병에 대한 방제효과를 검정하고, 길항효모의 생리생태와 길항기작 구명을 위한 시험을 수행하였던 바 그 결과는 다음과 같다.

1. 선발된 길항효모는 *Cryptococcus macerans* 와 *Trichosporon pullulans*로 동정되었다.
2. 길항효모의 처리농도와 병원균의 접종농도에 따른 방제효과에서 *C. macerans* 와 *T. pullulans* 의 처리농도가 높을수록 그리고 *P. expansum*의 접종농도가 낮을수록 방제 효과가 크게 나타났다. 또한 *C. macerans* 보다는 *T. pullulans* 가 다소 우수한 것으로 나타났다.
3. 온도변화에 따른 방제효과 검정에서 저온에서 보다는 고온에서 방제효과가 우수했으며, 상대습도가 65% 보다 95%인 경우에 우수한 방제효과를 나타냈다.
4. *C. macerans*를 10^8 cells/ml 로 분무처리하고 *P. expansum*을 10^4 conidia/ml 로 분무접종하였을때 28일 까지 발병율이 10%에 머물렀다.
5. *C. macerans* 와 *T. pullulans* 는 과실의 무상처 부위보다는 상처부위에서 빠른 증식을 보였다. NYDA 및 NYDB 배지에서의 온도조건에 따른 생장은 20-30℃가 가장 적절한 온도였다. 그리고 *C. macerans* 는 pH 6 에서, *T. pullulans* 는 pH 5에서 생장이 좋았다.
6. *C. macerans* 와 *T. pullulans*의 배양액이나 죽은 세포를 처리시 발병억제 효과가 없었고, 단지 살아있는 것만이 발병억제 효과를 나타냈다. 최소양분이 함유된 합성배지에서 *C. macerans* 와 *T. pullulans*는 *P. expansum*의 균사생장을 억제하였으며, 양분이 첨가된 배지에서는 균사생장을 억제시키지 못했다.

I. 서론

지금까지의 식물병 방제 특히 생물학적 방제에 대한 연구는 주로 포장에서 발생하는 병에 대한 것이 주류를 이루어 왔다. 그에 비해 수확 후의 농작물에 발생하는 병에 대한 생물학적 방제는 상대적으로 연구가 미미한 실정이었고 이에 대해 관심을 갖게 된 것도 최근에 이르러서 이다^{21, 33, 34}). 그러나 경제적인 면에 있어서 수확된 농작물은 이미 비료나 농약 등의 처리로 인해 많은 투자가 이루어진 상태이므로 실제 그 피해는 포장에서의 발병에 의한 피해보다 손실이 크다고 하겠다³²).

개발도상국에서의 농작물의 수확 후의 손실은 5-50% 또는 그 이상으로 추정되며, 선진국에서조차 심각한 상황이다. 특히 저개발국에서는 저온 저장 시설의 부족이나 관리의 부실 등으로 인해 큰 손실을 나타내고 있다⁶).

최근에 이르러 농산물에서의 잔류 농약의 존재나 그 독성에 대한 위험이 일반인의 관심이 되고 있고^{2, 4, 11}), 수출입시의 검역에서도 문제시되고 있어 보건 당국에서도 그에 대한 규제를 강화하고 있다. 특히 과실은 그것을 생식하기 때문에 더욱 문제가 되며, 농약을 사용하지 않거나 최소한으로 사용한 무공해 또는 저공해 과실에 대한 요구가 점차로 커지고 있다. 게다가 농약 사용 또한 약제 저항성 병원균의 발생으로 약효를 잃고 그 사용에 제한이 따르게 되었다. 이에 대한 대안으로 저장 병해에 대한 생물학적 방제가 관심을 끌게 되었다.

생물학적 방제의 성공 가능성이 Wilson 등^{32, 33})에 의해 언급되어 졌으며, 그 기술의 발달이나 최근의 연구 경향^{13, 33, 34}) 등이 종합 고찰되었다.

이러한 생물학적 방제에 대한 연구에서는 *Pseudomonas*, *Bacillus* 등의 세균^{8, 17, 18, 24, 26, 27, 28, 31}), *Trichoderma* 등의 곰팡이^{8, 9}), 그리고 *Debaryomyces*, *Cryptococcus*, *Candida* 등의 효모^{3, 7, 22, 23, 31})가 주로 이용되고 있고, 이러한 생물학적 방제의 효율 향상과 다른 방제법과의 혼용이 검토되고 있다²⁵).

사과는 우리 나라에서 가장 많이 생산되는 과일 중의 하나이며 그중 저장성이 강한 만생종인 Fuji 품종이 가장 많이 생산되고 있다. 또한 이 Fuji 품종은 상품성도 우수하여 수출 유망 품종이기도 하다.

본 연구에서는 사과 Fuji 품종의 저장시 발생하는 푸른곰

팡이병을 생물학적으로 방제하기 위하여 길항균을 분리하여 방제 효과를 검정하고 그 발병 억제 기작에 대한 일련의 실험을 수행하였기에 그 결과를 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 병원균 분리 및 길항효모 선발

가. 병원균 분리 동정 및 병원성 검정

사과 과실 저장 중 푸른곰팡이병 증상을 나타내는 과실을 수집하여 병환부로부터 병원균 포자를 분리하여 공시하였다.

나. 과실 표면에서의 효모 분리

과수원에서 생장 중인 사과 과실을 수집하여 그 표면을 살균수로 세척하고 그 세척한 액을 희석평판법에 의해 NYDA배지(nutrient yeast dextros agar; nutrient broth 8g, yeast extract 5g, dextros 10g, agar 20g, water 1ℓ)에 도말하고, 25°C에서 48시간 배양한 후 나타난 colony를 현미경하에서 검경하여 효모를 분리하였다.

다. 길항효모 선발 및 동정

분리된 효모를 NYDB 배지에 48시간 진탕 배양한 후 살균수로 3회 세척하고, hemacytometer 를 이용하여 세포 농도를 10^8 cells/ml 로 조제하여 pin 으로 상처낸 사과에 20μl 씩 처리하였다. 2시간 후 PDA(Potato dextros agar) 배지에 10일간 배양시킨 *Penicillium expansum*의 포자를 106 conidia/ml의 농도로 조제하여 10μl씩 접종하고 plastic 상자에 넣어 습한 상태를 유지한 후 25°C의 항온기에 7일간 보관한 후 발병 억제 효과가 우수한 길항효모를 선발하였다.

선발된 길항효모를 Vitek사의 효모 동정용 biochemical card를 이용하여 생화학적 특성을 조사하고 Bennett 등¹)의 분류 방법에 따라 확인 동정하였다.

2. 길항효모의 발병 억제 효과

가. 길항효모의 처리 농도에 따른 발병 억제 효과

NYDB 배지에 48시간 배양한 길항효모를 10^5 - 10^8 cells/

ml의 농도로 조제하고, *P. expansum*의 농도는 10^3 - 10^5 conidia/ml로 조제하여 사과 과실에서 길항균 농도와 병원균 농도의 변화에 따른 발병 억제 효과를 검정하였다.

나. 온도 및 습도 조건에 따른 발병 억제 효과

길항효모와 병원균을 처리한 사과 과실을 5, 10, 15, 20, 25, 및 30℃로 조절된 항온기에 보관하여 5 및 10℃는 15일 후, 그리고 15-30℃는 7일 후 발병 억제 효과를 검정하였다. 또한 상대습도를 65 및 95%로 조절한 상태에서 7일간 보관한 후 발병 억제 효과를 검정하였다.

다. 길항효모 분무 처리시의 발병 억제 효과

사과 과실에 상처를 내고 길항효모를 10^8 cell/ml 로 조제하여 분무처리한 다음 *P. expansum*을 10^4 conidia/ml 의 농도로 조제하여 분무 접종한 후 발병 억제 기간을 검토하였다.

3. 길항효모의 생리상태

가. 길항효모의 과실표면 정착 능력

과실 표면의 상처부위 및 무상처부위에서의 길항균 정착 능력을 조사하기 위해 Janisiewicz¹⁴⁾ 와 Droby 등⁵⁾의 방법을 응용하였다. 사과 과실 표면을 95% ethanol로 닦은 후 pin 7개를 묶어 상처를 내었다. 상처부위와 무상처 부위에 106 cells/ml 농도의 길항균을 20μl씩 처리하고, 3, 24, 48시간 그리고 7일 후 각각의 처리 부위를 칼로 도려내어 살균수에 넣고 심하게 진탕한 후 희석평판법으로 NYDA 배지에 도말하고 48시간 후 CFU(colony forming unit)를 측정하여 상처조건에 따른 과실표면 정착 능력을 검정하였다.

나. 길항효모의 온도 및 pH 변화에 따른 생장

길항효모를 5, 10, 15, 20, 25, 30 및 35℃의 온도 조건에서 NYDA 및 NYDB 배지에 배양하여 생장정도를 조사하였다. 또한 pH 를 4-10으로 조절한 NYDB배지에 길항효모를 배양한 후 생장정도를 조사하였다.

4. 길항효모의 발병 억제 기작

가. 항생물질 생산 여부

길항효모가 생산하는 항생물질에 의한 발병 억제 효과 여부를 검정하기 위해 배양된 살아있는 세포와 그 배양여액, 그리고 길항효모를 고압 증기 멸균기로 죽인 것 등을 처리하고 *P. expansum*을 접종하여 발병 억제 효과를 검정하였다.

나. 최소양분이 함유된 합성배지에서의 군사생장 억제 양분경합에 의한 군사생장 억제 여부를 검정하기 위해 최소 합성 배지(D- glucose 10g, L-asparagine 2g, KH₂PO₄ 1g, MgSO₄ · 7H₂O 0.5g, FeSO₄ · 7H₂O 0.01mg, ZnSO₄ · 7H₂O 8.7mg, MnSO₄ · H₂O 3mg, biotin 100μg, thimine 100μg, distilled water 1 l)를 15ml씩 petri-dish에 넣고 길항효모를 첨가한 후 직경 1mm의 병원균 균총을 넣고 25℃에서 7일간 배양 후 Whatman no. 1 여과지에 수거하여 80℃에서 1주야 건조시켜 군사의 무게를 측정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 길항효모 선발 및 동정

가. 길항효모 선발 및 동정

분리된 Y-1, Y-11, Y-13, Y-14, Y-17, Y-18, 및 Y-23 등의 효모 균주와 대조 길항균으로 호주 뉴사우스 웨일즈 농수산부 농업연구소에서 분양받은 *Debaryomyces hansenii* 1569, 1570, 및 2577 등의 균주를 사용하여 길항효모를 선발한 결과 표 1과 같이 1차적으로 Y-1, Y-11, Y-13, Y-14, 및 *D. hansenii* 1569 등이 길항력이 있는 것으로 나타났다.

다시 *P. expansum* 의 농도를 10^3 - 10^6 conidia/ml 로 하여 길항력을 검정한 결과 10^5 conidia/ml 이하의 접종 농도에서 길항력이 우수한 것으로 나타난 Y-1, Y-11 및 *D. hansenii* 1569 등이 선발되었다(표 2).

Y-1은 NYDA 배지에서 베이지색 균총을 나타냈으며, NYDB 배지에 배양 후 멸균수에 세척한 균체는 핑크빛을 나타내었다. 군사는 형성되지 않고 발효도 일어나지 않았다. 두 균주를 Vitek사의 효모 동정용 biochemical card를 이용하여 생화학적 특성을 조사하고 Bennett 등¹¹⁾이 기술한 특성과 비교한 결과 표 3에서 보는 바와 같이 Y-1은 *Cryptococcus macerans*로, Y-11은 *Trichosporon pu-*

*Illulans*로 동정되었다.

Table 1. Screening of antagonistic yeasts

| Yeasts ^{a)} | % infection | | |
|----------------------|-------------|-----|-----------------|
| | 3 | 5 | 7 ^{b)} |
| Y- 1 | 6 | 20 | 80 |
| Y-11 | 0 | 20 | 67 |
| Y-13 | 0 | 53 | 80 |
| Y-14 | 0 | 20 | 80 |
| Y-17 | 0 | 87 | 100 |
| Y-18 | 0 | 100 | 100 |
| Y-23 | 0 | 73 | 100 |
| Dh1569 | 0 | 47 | 87 |
| Dh1570 | 0 | 100 | 100 |
| Dh2577 | 0 | 67 | 100 |
| Control | 0 | 100 | 100 |

Note: Concentration of yeast is 10^8 cells/ml and *P. expansum* is 10^6 pores/ml.

a) Yeasts were cultured in NYDB medium for 48h.

b) Days after inoculation

Cryptococcus spp. 는 Roberts^{29, 30)} 등에 의해서도 길항력이있는 것으로 보고되어 졌으며, *Trichosporon sp.* 는 Gullino 등¹⁰⁾ 에 의해서 사과와 잣빛곰팡이 병을 방제하는데 이용되었다.

2. 길항효모의 발병 억제 효과

가. 길항효모의 처리농도에 따른 발병 억제 효과

길항효모의 처리농도를 10^6 - 10^8 cells/ml로 하고 *P. expansum*의 농도를 10^3 - 10^5 conidia/ml 로 하여 발병율을 조사한 결과 *C. macerans*, *T. pullulans* 및 *D. hansenii* 1569균주 모두 처리 농도가 높고 병원균 포자 농도가 낮을 수록 발병억제 효과가 컸으며, 또한 세 균주 모두 농도를 10^5 cells/ml로 하고 병원균 포자농도를 10^5 conidia/ml로 하였을 경우 90% 이상의 발병율을 나타내어 거의 발병 억제 효과를 나타내지 않았다(그림 1).

Johnson¹⁹⁾은 길항균 처리농도와 병원균 접종농도와의 관계에 대한 model을 제시하였고, Janisiewicz¹²⁾에 의한 연구에서도 같은 경향을 보고한 바 있다.

Table 2. Effect of antagonistic yeasts on concentration of *Penicillium expansum*

| Yeasts ^{b)} | % infection ^{a)} | | | |
|----------------------|---------------------------|--------|--------|--------|
| | 10^3 c) | 10^4 | 10^5 | 10^6 |
| Y- 1 | 0 | 0 | 4 | 63 |
| Y-11 | 0 | 0 | 0 | 29 |
| Y-13 | 0 | 17 | 25 | 67 |
| Y-14 | 25 | 42 | 46 | 71 |
| Dh1569 | 0 | 4 | 8 | 96 |
| Control | 75 | 96 | 96 | 100 |

Note: Concentration of yeasts was 10^8 cells/ml.

a) Percent infection was estimated 7 days after inoculation.

b) Yeasts were cultured in NYDB medium for 48h.

c) Concentration of *P. expansum*(No. of conidia/ml)

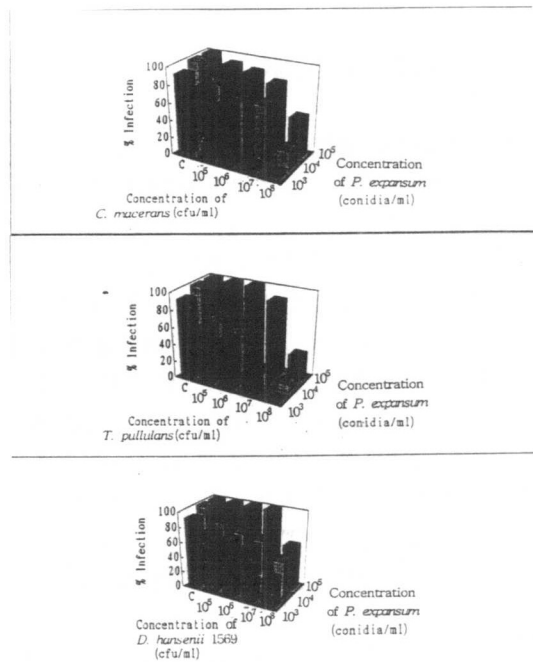


Fig. 1. Relationship between *Penicillium expansum* conidia concentrations and the development of blue mold on apple fruit treated with *Cryptococcus macerans*, *Trichosporon pullulans* and *Debaryomyces hansenii* 1569.

Table 3. Identification of the antagonistic yeasts isolated from apple fruit

| Test | Y-1 | C.m. ^{a)} | Y-11 | T.p. ^{b)} |
|------------------------------|-----|--------------------|------|--------------------|
| Galactose | + | D | + | + |
| Lactose | - | +/- | + | +/- |
| Sucrose | + | + | + | + |
| Maltose | + | + | + | + |
| Cellobiose | + | + | - | + |
| α -methyl-D-glucoside | - | - | - | +/- |
| Xylose | + | D | + | + |
| Arabinose | + | + | + | + |
| Trehalose | + | + | + | + |
| Melezitose | + | + | + | + |
| Raffinose | + | + | + | + |
| N-acetyl-D-glucosamine | + | N | + | N |
| Xylitol | - | +/- | - | - |
| Dulcitol | + | N | - | N |
| Adonitol | - | N | - | N |
| Palatinose | + | N | - | N |
| Glycerol | + | + | + | - |
| Sorbitol | + | N | + | N |
| Erythritol | + | + | - | + |
| Melibiose | - | - | + | + |
| Cycloheximide | - | - | - | N |
| Glucose | + | - | + | N |
| Inositol | + | + | + | + |
| Nitrate | + | + | + | + |
| 2-keto-D-gluconate | + | + | - | + |
| Urea | + | + | + | + |
| 48 hour incubation mark | + | | + | |

^{a)} Characteristics of *Cryptococcus macerans* and *Trichosporon pullulans* by Barnett et al¹⁾

나. 온도 및 습도 조건에 따른 발병 억제 효과

5℃ 및 10℃에서 저장하였을 경우는 *D. hansenii* 1569 가 사과의 푸른곰팡이병에 대해서 각각 100% 및 85.7%의 방제가를 나타내어 *C. macerans* 나 *T. pullulans* 보다 우수한 발병억제능력을 보였다. 그러나 15-30℃에 저장했을 경우에는 *T. pullulans* 가 85.3-97.6%에 이르는 방제가를 나

타내어 가장 발병억제 효과가 좋았다. 같은 균주내에서의 온도에 따른 방제가를 보면 *C. macerans* 나 *T. pullulans* 의 경우 5-10℃인 저온보다는 20℃ 이상의 온도에서 높은 방제가를 나타냈으며 *D. hansenii* 1569 의 경우 30℃의 고온과 5℃의 저온에서 높은 방제가를 나타냈고 20℃에서 방제가가 가장 낮은 것으로 나타났다(표 4).

Table 4. Control effect of antagonistic yeasts for the blue mold rot of apple fruits under different temperature conditions

| Temperature (°C) | <i>Cryptococcus macerans</i> | | <i>Trichosporon pullulans</i> | | <i>Debaryomyces hansenii</i> 156 | | Control |
|------------------|------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|------------------|----------------------------------|------------------|-------------|
| | % infection | Control ^{a)} value(%) | % infection | Control value(%) | % infection | Control value(%) | % infection |
| 5 | 9.5 | 82.7 | 9.5 | 82.7 | 0.0 | 100.0 | 54.8 |
| 10 | 16.7 | 83.3 | 28.6 | 71.4 | 14.3 | 85.7 | 100.0 |
| 15 | 19.0 | 80.5 | 14.3 | 85.3 | 16.7 | 82.9 | 97.6 |
| 20 | 16.7 | 83.3 | 14.3 | 85.7 | 47.6 | 52.4 | 100.0 |
| 25 | 11.9 | 88.1 | 11.6 | 88.4 | 19.0 | 81.0 | 100.0 |
| 30 | 4.8 | 95.2 | 2.4 | 97.6 | 9.5 | 90.5 | 100.0 |

Note: Percent infection was estimated 7 days after treatment at 5 and 10°C incubation and 15 days at 15, 20, 25 and 30 °C after treatment, respectively.

Percent infection of treatment

$$a) \text{ Control value}(\%) = (1 - \frac{\text{Percent infection of treatment}}{\text{Percent infection of control}}) \times 100$$

Table 5. Control effect of antagonistic yeasts under different humidity conditions

| Treatment | 65% relative humidity | | | 95% relative humidity | | |
|-------------------------|-----------------------|----------------------|---------------------------------|-----------------------|----------------------|-------------------|
| | % infection | Lesion diameter (mm) | Control ^{a)} value (%) | % infection | Lesion diameter (mm) | Control value (%) |
| <i>C. macerans</i> | 44.4 | 4.2 | 61.1 | 38.9 | 3.7 | 77.2 |
| <i>T. pullulans</i> | 27.8 | 2.3 | 83.3 | 16.7 | 1.2 | 92.6 |
| <i>D. hansenii</i> 1569 | 38.9 | 4.7 | 77.8 | 22.2 | 1.9 | 88.3 |
| Control | 100.0 | 14.2 | - | 100.0 | 16.2 | - |

Lesion diameter in the treatment

$$a) \text{ Control value}(\%) = (1 - \frac{\text{Lesion diameter in the treatment}}{\text{Lesion diameter in the control}}) \times 100$$

온도 변화에 따라 길항효모의 방제능력에 차이가 생기는 것은 온도에 대한 길항효모의 적응반응에 차이가 있는 것으로 생각되며, 온도가 높을수록 병원균의 생육조건도 양호해 지지만, 마찬가지로 길항효모의 성장에도 적절한 조건이 되므로 저장 온도가 높아지더라도 방제가는 낮아지지 않은 것으로 생각된다. 또한 저온에서는 *C. macerans* 나 *T. pullulans* 균주의 경우 방제가가 조금 낮아졌는데 이것은 *P. expansum* 이 저온에서 생육가능한²⁰⁾ 병원균이고 반대로 길항효모의 성장에는 불리한 조건이기 때문인 것으로 생

각된다.

저장고의 습도를 조절하지 않은 조건인 65%의 상대습도와 사과 저장에 알맞는 95%의 습도상태에서 발병억제 정도를 검정한 결과 *C. macerans*, *T. pullulans* 및 *D. hansenii* 1569 등 세 균주 모두 95%의 상대습도하에서 77.2% 부터 92.6%에 이르는 높은 방제가를 나타냈다. 그러나 65%의 상대습도 조건에서는 그 보다는 조금 낮은 61.1% 부터 83.3%의 방제가를 나타냈다(표 5).

저장고에서 저장시 과실의 수분손실을 방지하기 위해

95% 정도의 높은 상대습도에서 저장하게 되는데 이 조건은 병원균의 생육에도 적당한 조건이 된다. 그러나 온도에 따른 발병억제에 대한 시험에서와 같이 이러한 습도조건은 길항효모의 성장에도 유리한 조건이 되므로 건조한 조건에서보다도 습한 조건에서 방제가가 높게 나타난 것으로 사료된다.

다. 길항효모 분무처리시의 발병 억제 지속 기간

사과 과실에 상처를 내고 길항효모를 10^8 cells/ml 로 조제하여 분무처리한 다음 *P. expansum* 을 10^4 conidia/ml 의 농도로 조제하여 분무접종한 후 발병억제 기간을 검토한 결과 28일 후 까지 발병율이 10% 이하인 것으로 보아 장기 간 발병억제 능력이 있는 것으로 나타났다(그림 2).

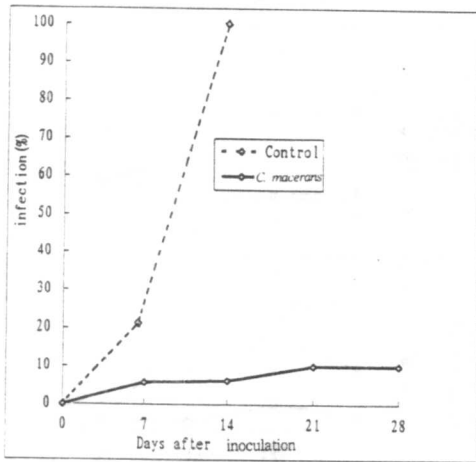


Fig. 2. Control effect of *Cryptococcus macerans* for *Penicillium expansum* using spray application.

이러한 발병억제 기간은 사과의 저장기간이 길기 때문에 중요한 조건이라고 생각된다. Janisiewicz & Marchi¹⁵⁾ 는 침지처리에 의해 길항균 5.4×10^8 cfu/ml, 병원균 10^4 conidia/ml 의 농도에서 30일 저장 후까지 방제 효과를 거두었고, Janisiewicz¹⁶⁾ 도 분무처리를 통해 *P. expansum* 과 *B. cinerea* 에 대한 방제 효과를 거두었다고 보고한 바 있다.

3. 길항효모의 생리생태

가. 길항효모의 과실표면 정착 능력

생물학적 방제에 있어서 가장 중요한 점은 길항균의 서식처에의 정착능력에 있다고 생각된다. 따라서 본 시험은 과실표면의 상처 부위와 무상처 부위에서의 길항균의 정착능력을 검증하기 위해 실시하였다.

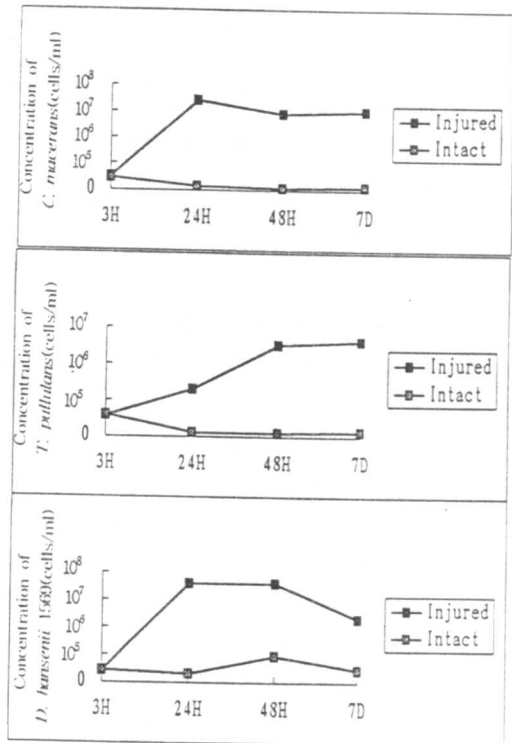


Fig. 3. Growth of the antagonistic yeasts on wounded and non-wounded apple peel tissue.

그림 3에서 보면 세 균주 모두 사과 과실의 상처 부위에서 급격한 균수의 증가를 보였다. 그러나 무상처 부위에서는 균수의 급격한 증가를 나타내지 않았다.

Droby 등⁵⁾에 의해서도 같은 경향이 보고된 바 있는데, 이것은 길항효모가 과실표면 상처부위의 영양분을 이용할 수 있기 때문이며 무상처 부위에서는 이용할 양분이 많지 않기 때문에 균수의 급격한 증가를 나타내지 않은 것으로 생각된다. 또한 상처부위는 *P. expansum*이 침입하기에 좋은 조건

Table 6. Effect of temperature on the growth of antagonistic yeasts

| Temperature (°C) | <i>C. macerans</i> | | <i>T. pullulans</i> | | <i>D. hansenii</i> 1569 | |
|------------------|--------------------|-----------------------|---------------------|---------------------|-------------------------|---------------------|
| | Plate | Broth | Plate | Broth | Plate | Broth |
| 5 | - ^{a)} | 1.1x10 ^{7b)} | - | 2.5x10 ⁶ | - | 1.3x10 ⁷ |
| 10 | + | 2.6x10 ⁷ | - | 8.9x10 ⁶ | + | 2.8x10 ⁷ |
| 15 | ++ | 2.4x10 ⁷ | ± | 6.5x10 ⁶ | ++ | 4.0x10 ⁷ |
| 20 | ++ | 4.4x10 ⁷ | ++ | 1.4x10 ⁷ | ++ | 8.8x10 ⁷ |
| 25 | ++ | 7.6x10 ⁷ | ++ | 5.4x10 ⁷ | ++ | 1.2x10 ⁸ |
| 30 | ++ | 9.2x10 ⁷ | ++ | 5.7x10 ⁷ | ++ | 1.5x10 ⁸ |
| 35 | ± | 1.1x10 ⁷ | ± | 5.2x10 ⁶ | - | 2.9x10 ⁶ |

^{a)} -, No growth; ±, weak; +, moderate; ++, vigorous

^{b)} No. of cells/ml after culturing in NYDB media for 48 hours

이 되므로 상처 부위에서의 길항균의 증식은 발병억제의 중요한 요인이 될 것으로 사료된다.

나. 길항효모의 온도 및 pH별 생장

길항효모의 온도에 따른 생장정도를 검정한 결과는 다음 표 6와 같다.

5°C 및 10°C에서는 *C. macerans* 나 *D. hansenii* 1569 에 비해 *T. pullulans* 의 생장이 불량하였고 20-30°C 사이에서는 세 균주 모두 생장이 양호하였다. 고온인 35°C 에서는 세 균주 모두 성장력이 떨어졌고, 그 이외의 온도에서 전체적으로 검토할 때 *D. hansenii* 1569 균주의 증식이 가장 양호했으며 다음으로 *C. macerans*, *T. pullulans* 의 순서였다.

길항효모의 pH 변화에 따른 생장정도를 검정한 결과 그림 4에서와 같이 *C. macerans*, *T. pullulans* 및 *D. hansenii* 1569 모두 산성 조건에서 생장이 좋았으며, pH가 높아질수록 생장이 저조하였다. *C. macerans*은 pH 6에서, *T. pullulans* pH 5에서 그리고 *D. hansenii* 1569 는 pH 6 에서 최고의 생장을 나타냈다.

4. 길항효모의 발병억제 기작

가. 항생물질 생산 여부

길항효모의 발병억제 기작이 항생물질의 생산에 의한 것 인지를 확인하기 위하여 실시한 시험 결과는 다음 표 7과 같다.

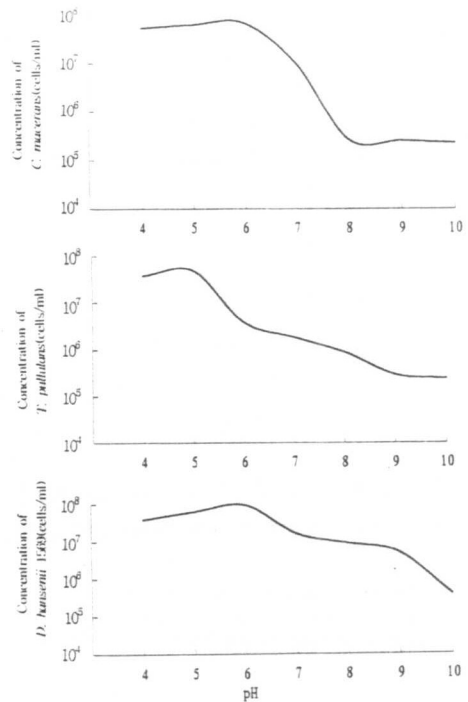


Fig. 4. Effect of pH on the growth of antagonistic yeasts. The number of cells was estimated after culturing in NYDB media.

Table 7. Inhibition of *Penicillium expansum* decay of apple fruit by the antagonistic yeasts as affected by various treatment of the antagonist cells

| Treatment | <i>Cryptococcus macerans</i> | | <i>Trichosporon pullulans</i> | | <i>Debaryomyces hansenii</i> 15 | |
|-------------------------|------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|------------------|---------------------------------|------------------|
| | % infection | Control ^{a)} value(%) | % infection | Control value(%) | % infection | Control value(%) |
| Yeast, living cell | 5.2 b ^{b)} | 94.8 | 0.0 b | 100.0 | 16.7 b | 83.3 |
| Yeast, autoclaved | 100.0 a | 0.0 | 100.0 a | 0.0 | 100.0 a | 0.0 |
| Yeast, culture filtrate | 100.0 a | 0.0 | 100.0 a | 0.0 | 100.0 a | 0.0 |
| Water control | 100.0 a | - | 100.0 a | - | 100.0 a | - |

Lesion diameter in the treatment

$$a) \text{ Control value(\%)} = \left(1 - \frac{\text{Lesion diameter in the treatment}}{\text{Lesion diameter in the control}} \right) \times 100$$

b) Data in each column with different letters are significantly different ($P \leq 0.05$) according to Duncan's multiple range test.

Table 8. Mycelial growth of *Penicillium expansum* in a synthetic medium

| Treatment | Dry weight of mycelium (mg) |
|---|-----------------------------|
| Control ^{a)} | 40.0 c ^{e)} |
| Cultured with <i>Cryptococcus macerans</i> | 23.3 ef |
| Cultured with <i>Trichosporon pullulans</i> | 22.3 f |
| Cultured with <i>Debaryomyces hansenii</i> 1569 | 26.3 e |
| Enriched + Y-1 ^{b)} | 69.3 a |
| Enriched + Y-11 | 54.7 b |
| Enriched + Dh1569 | 56.0 b |
| Cell-free filtrate from Y-1 ^{c)} | 7.0 g |
| Cell-free filtrate from Y-11 | 6.0 g |
| Cell-free filtrate from Dh1569 | 5.7 g |
| Replenished cell-free filtrate from Y-1 ^{d)} | 37.7 c |
| Replenished cell-free filtrate from Y-11 | 32.7 d |
| Replenished cell-free filtrate from Dh1569 | 36.3 cd |

a) Only *Penicillium* cultured

b) The synthetic medium was enriched with yeast extract and nutrient broth at their original concentrations.

c) Yeast was cultured on a synthetic medium for 48h prior to use of the cell-free filtrate.

d) The used medium was replenished with the original ingredients.

e) Data in each column with different letters are significantly different ($P \leq 0.05$) according to Duncan's multiple range test.

그 결과 세 균주 모두 살아있는 세포만이 방제효과를 나타냈고 죽은 세포나 배양액에서는 방제효과를 나타내지 않았다.

이는 Droby 등⁵⁾이 길항효모의 경우 살아있는 세포만이 방제효과가 있는 것으로 보고한 것과 유사한 경향을 나타냈다.

나. 최소양분이 함유된 합성배지에서 균사생장 억제

길항효모의 병원균에 대한 양분경합력을 검증하기 위해 최소한의 양분이 함유된 합성배지에 길항효모와 병원균을 배양한 후 병원균 균사 무게를 측정하여 양분경합 관계를 검증하였다.

병원균을 길항효모와 같이 배양했을 경우 병원균만 배양한 것에 비해 병원균 균사의 무게가 훨씬 가벼운 것으로 나타났다. 그러나 최소배지에 양분을 첨가했을 경우 길항효모와 함께 배양하더라도 최소배지에 병원균만 배양한 것에 비해 균사생장이 양호하였다. 또한 최소배지에 길항균을 미리 48시간 배양하고 걸러낸 후 병원균을 배양했을 경우에도 균사생장이 매우 불량하였고, 반면에 미리 48시간 배양하고 걸러낸 곳에 다시 양분을 첨가할 경우 병원균의 생장이 양호해 지는 것으로 나타났다(표 8).

양분경합에 대해서는 Droby 등⁵⁾과 Elad 등⁷⁾에 의해 낮은 양분 수준에서의 경합양상이 인정된다고 보고된 바 있다. 이러한 결과는 부족한 양분조건에서는 길항효모와 병원균과의 양분경합이 인정되고, 충분한 양분상태에서는 경합의 필요성이 없는 것으로 생각된다.

참고문헌

- Barnett, J. A., Payne, R. W., and Yarrow, D. 1983. Yeasts: Characteristics and identification. Cambridge Univ. Press. P.518.
- Chalutz, E., Droby, S., and Wilson, C. L. 1989. Biological control of postharvest disease. Israel Agresearch 3: 107-118.
- Chalutz, E., and Wilson, C. L. 1990. Postharvest biological control green and blue mold and sour rot of citrus fruits by *Debaryomyces hansenii*. Plant Dis. 74: 134-137.
- Droby, S., Chaultz, E., and Wilson, C. L. 1991. Antagonistic microorganisms as biological control agents of postharvest diseases of fruits and vegetables. Postharvest News and Information 2: 169-173.
- Droby, S., Chaultz, E., Wilson, C. L., and Wisniewski, M. 1989. Characterization of the biocontrol activity of *Debaryomyces hansenii* in the control of *Penicillium digitatum* on grapefruit. Can. J. Microbiol. 35: 794-800.
- Eckert, J. W., and Ogawa, J. M. 1985. The chemical control of postharvest disease: Subtropical and tropical fruits. Annu. Rev. Phytopathol. 23: 421-454.
- Elad, Y., Köhl, J., and Fokkema, N. J. 1994. Control of infection and sporulation of *Botrytis cinerea* on Bean and tomato by saprophytic yeasts. Phytopathology 84: 1193-1200.
- Elad, Y., Köhl, J., and Fokkema, N. J. 1994. Control of infection and sporulation of *Botrytis cinerea* on Bean and tomato by saprophytic bacteria and fungi. European Journal of plant pathology 100: 315-336.
- Gullino, M. L., 1992. Control of *Botrytis* rot of grapes and vegetables with *Trichoderma* spp. In Biological control of plant Diseases, Plenum press, NY. pp 125-132.
- Gullino, M. L., Benzi, D., Aloï, C., Testoni, A., and Garibaldi, A. 1992. Biological control of *Botrytis* rot of apple. Proc. 10th Int. Botrytis Sym. pp. 197-200.
- Gullino, M. L., and Kuijpers, L. A. M. 1994. Social and political implications of managing plant disease with restricted fungicides in europe. Annu. Rev. Phytopathol. 32: 559-579.
- Janisiewicz, W. J. 1987. Postharvest biological control of blue mold on apples. Phytopathology 77: 481-485.
- Janisiewicz, W. J. 1987. Biological control of diseases of fruits. In Biocontrol of plant diseases, Vol II. K. J. Mulkerji and K. L. Gary, eds. CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 153-165.
- Janisiewicz, W. J. 1994. Enhancement of biocontrol of

- blue mold with the nutrient analog 2-deoxy-D-glucose on apples and pears. Appl. Environ. Microbiol. 60: 2671-2676.
15. Janisiewicz, W. J. and Marchi, A. 1992. Control of storage rots on various pear cultivars with a saprophytic strain of *Pseudomonas syringae*. Plant Dis. 76: 555-560.
 16. Janisiewicz, W. J., Peterson, D. L., and Bors, R. 1994. Control of storage decay of apples with *Sporobolomyces roseus*. Plant Dis. 78: 466-470.
 17. Janisiewicz, W. J. and Roitman, J. 1987. Postharvest Mucor rot control on apples with *Pseudomonas cepacia*. (Abstr.) Phytopathology 77: 1776.
 18. Janisiewicz, W. J., and Roitman, J. 1988. Biological control of blue mold and gray mold on apple and pear with *Pseudomonas cepacia*. Phytopathology 78: 1697-1700.
 19. Johnson, K. B. 1994. Dose-response relationships and inundative biological control. Phytopathology 84: 780-784.
 20. Kadar, A. A. 1992. Postharvest technology of horticultural crops. Univ. of California. pp. 117-160.
 21. Kelman, A. 1989. The importance of research on the control of postharvest disease of perishable food crops. Phytopathology 79: 1374.
 22. McLaughlin, R. J., Wilson, C. L., Droby, S., Ben-Arie, R., and Chalutz, E. 1992. Biological control of postharvest diseases of grape, peach and apple with the yeast *Kloeckera apiculata* and *Candida guilliermondii*. Plant Dis. 76: 470-473.
 23. McLaughlin, R. J., Wisniewski, M. E., Wilson, C. L., and Chalutz, E. 1989. Biocontrol of postharvest rots of peach and apple with the yeast *Hanseniaspora uvarum* and *Debaryomyces hansenii*. (Abstr.) Phytopathology 79: 1187.
 24. Pusey, P. L. 1989. Use of *Bacillus subtilis* and related organisms as biofungicides. Pestic. Sci. 27: 133-140.
 25. Pusey, P. L. 1994. Enhancement of biocontrol agents for postharvest diseases and their integration with other control strategies. In Biological control of Postharvest diseases-therapy and practice, CRC Press Inc. pp. 77-88.
 26. Pusey, P. L. and Wilson, C. L. 1982. Effect of bacterial antagonists on fungal rots of deciduous fruits. (Abstr.) Phytopathology 72: 710.
 27. Pusey, P. L., and Wilson, C. L. 1984. Postharvest biological control of stone fruit brown rot by *Bacillus subtilis*. Plant Dis. 68: 753-756.
 28. Pusey, P. L., Wilson, C. L., Hotchkiss, M. W., and Franklin, J. D. 1986. Compatibility of *Bacillus subtilis* for postharvest control of peach brown rot with commercial fruit waxes, dicloran, and cold-storage conditions. Plant Dis. 70: 587-590.
 29. Roberts, R. G. 1990. Postharvest biological control of gray mold of apple by *Cryptococcus laurentii*. Phytopathology 80: 526-530.
 30. Roberts, R. G. 1990. Biological control of Mucor rot of pear by *Cryptococcus laurentii*, *C. flavus* and *C. albidus*. (Abstr.) Phytopathology 80: 1051.
 31. Wilson, C. L. and Chalutz, E. 1989. Postharvest biological control of *Penicillium* rots of citrus with antagonistic yeasts and bacteria. Sci. Hort. 40: 105-112.
 32. Wilson, C. L., and Pusey, P. L. 1985. Potential for biological control of postharvest plant diseases. Plant Dis. 69: 375-378.
 33. Wilson, C. L., and Wisniewski, M. E. 1989. Biological control of postharvest disease of fruits and vegetables: an emerging technology. Annu. Rev. Phytopathol. 27: 425-441.
 34. Wisniewski, M. E., and Wilson, C. L. 1992. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: Recent advances. Hortscience 27: 94-98.