

고농도 이산화탄소의 단기 처리가 *Botrytis cinerea* 생장에 미치는 영향

최정희[†] · 정문철 · 임정호
한국식품개발연구원

Effect of Short-term High CO₂ on Growth of *Botrytis cinerea*

Jeong-Hee Choi[†], Moon-Cheol Jeong, Jeong-Ho Lim
Korea Food Research Institute, Songnam 463-420, Korea

Abstract

This study was conducted to evaluate the inhibition efficacy of high CO₂ atmosphere (35, 60, and 100% × 24, 48, and 72 h) on growth of *Botrytis cinerea* in vitro in order to offer sterilizing method of horticultural crops including peach fruits. *Botrytis cinerea* was isolated from a naturally infected peach fruits. Growth of the fungus at 25°C declined with increased CO₂ concentration and treatment duration. Especially, 100% CO₂ provided completely inhibition effect of growth of the fungus for 72 h. After removal of high CO₂ condition, however, the fungus showed normal growth speed. The growth of fungus at low temperature was completely inhibited temporarily by short-term 100% CO₂ treatment, but resumed right after transferring to normal atmosphere at 25°C.

Key words : atmosphere, fungus, low temperature, peach, in vitro

서 론

원예산물은 수분 함량이 많고 당도가 높아 미생물의 번식이 용이하다. 수확 전·후에 감염된 곰팡이 포자가 유통 중 생장하여 부패가 발생되는데 대표적인 곰팡이로는 *Botrytis cinerea*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer* 등을 들 수 있다 (1). 이산화황 가스를 훈증 처리하거나 포장 내에 이산화황 패드를 부착하는 방법(2)을 통해 곰팡이를 효과적으로 억제할 수 있으나 과일류의 과피 탈색을 야기 시키고(3, 4). 잔존 가스에 의해 이취 및 알러지가 발생하는(5) 등의 문제가 있다. 열처리 또한 효과적인 부패 억제 기술이나 열에 의한 장해발생의 위험이 높고, 중량 감소가 증가될 가능성이 높아 처리가 용이함에도 불구하고 현장에 적용되기 어려운 실정이다 (6, 7). Ahumada 등(8)은 45 kPa 이산화탄소를 2주간 처리하여 포도의 해충을 구제하였으며 Crisosto 등(9)은 10 kPa 이상의 이산화탄소를 4주 이내 처리하여 table grape의 부패를 억제시켰다고 보고하고 있어 고농도 이산화탄소 처리가 SO₂나 열처리의 대체 기술로 도입 가능할 것으로 기대된다. 그러나 고농도 이산화탄소 처리는 장기 처리할 경우 이취가 발생하거나 처리 농도 및 기간에 따라 장해가 발생할 수 있으므로 이에 대한 고찰이 필요하다. 이산화탄소 처

리에 의한 장해 발생 유무는 각 작물의 이산화탄소에 대한 저항성 정도에 의해 결정되어 진다. Rachis의 경우 7~12주 동안 고농도 이산화탄소를 처리를 할 경우 갈변이 발생하므로 처리 농도를 낮추거나 처리 기간을 단축할 필요성이 제시되었다(5). 따라서 본 연구는 부패된 '황도' 복숭아로부터 분리한 *Botrytis cinerea*의 저온 및 이산화탄소 처리에 의한 영향을 구명하여 복숭아의 부패 억제를 위한 전처리 기술을 개발하는데 기초자료로 활용코자 수행되었다.

재료 및 방법

Botrytis cinerea 균주

본 실험에 사용한 균주는 부패된 '황도' 복숭아로부터 분리한 *Botrytis cinerea*를 사용하였다. 분리된 균주는 potato dextrose agar (PDA)에서 3차 계대 배양한 후 유리막대로 포자를 수집하여 0.85% NaCl 용액에 접종한 후, 25°C에서 약 3~5일간 배양하여 현탁액을 제작하였고 현탁액은 즉시 본 실험에 사용하거나 50% glycerol에 냉동 보관하였다. 냉동 보관된 현탁액을 실험에 사용할 경우 액체 배지를 이용하여 25°C에서 2~3일 동안 활성화 시켜 사용하였다. 균주의 배양은 25°C에서 실시하였다.

[†] Corresponding author. E-mail : choijh@kfri.re.kr, Phone : 82-31-780-9156, Fax : 81-31-780-9144

이산화탄소 처리 조건

PDA 배지가 들어있는 Petri dish 중심에 직경 6mm의 멸균 필터를 위치시킨 후 50 μL의 포자 현탁액을 필터에 처리하여 이산화탄소 처리 실험에 사용하였다. 현탁액이 처리된 Petri dish를 2개 그룹으로 나누어 상온 (25°C) 및 저온 (0°C)에서 배양하였다. 현탁액이 처리된 Petri dish가 들어있는 용기에 35, 60, 또는 100%의 이산화탄소를 24, 48, 또는 72시간 동안 주입시켰으며, 처리기간 동안 밀폐용기 내 가스를 gas tight syringe로 포집하여 GC (GC-14 Shimadzu APT, Japan)를 이용하여 가스 농도를 확인하였다. GC의 분석조건은 column; CRT-1, column temp.; 35°C, injector & detector temp.; 60°C로 설정하였으며 TCD를 이용하여 분석하였다. 저온 배양 실험의 경우 저온에서 4주간 배양된 Petri dish를 상온으로 옮겨 추가 배양을 실시하였다. 곰팡이의 성장 정도는 배양 동안 생성된 집락의 크기로 측정하였으며 모든 처리구는 10반복 실시하였다.

결과 및 고찰

부패된 복숭아로부터 분리 배양된 *Botrytis cinerea*를 35, 60, 또는 100%의 이산화탄소 조건에서 72시간 동안 상온 배양하였으며 24시간 간격으로 곰팡이의 성장 정도를 측정하였다. 일반적인 대기 조성에서 배양된 균주는 24시간 동안 약 1.3cm 성장하였고 72시간 이후에는 3.5cm에 달하였다. 35%와 60%의 이산화탄소를 처리한 경우에는 경우 24시간 동안 포자 생장이 억제되었으며 48시간 이후에는 각각 1.7cm 와 1.3cm, 72시간 이후에는 각각 3.5cm 와 1.6cm의 성장을 나타내었고, 100% 이산화탄소 처리구의 경우 72시간의 배양기간 동안 생장이 완전히 정지되었다 (Fig. 1). 이상 살펴본 바와 같이 *Botrytis cinerea*는 배양 환경 내 이산화탄소 농도가 높을수록 생장이 효과적으로 억제되었으며, 60% 이상의 이산화탄소 조건에서는 생장이 둔화되고, 100% 이산화탄소 조건에서는 72시간동안 생장이 정지되었다.

이산화탄소 단기처리 (24~72시간) 효과가 이산화탄소 조건이 해제된 이후의 배양 기간동안에도 지속되는지 여부를 살펴보기 위해 이산화처리 후 일반 대기 환경에 두어 곰팡이 성장 정도를 살펴보았다. 고농도 이산화탄소를 24시간 동안 처리한 경우 35%와 60% 이산화탄소 처리구는 무처리구에 비해 약 15% 감소된 성장 정도를 나타내었고 100% 이산화탄소 처리구는 약 22%의 성장 감소를 나타내었다 (Fig. 2A). 48시간 동안 처리한 경우 35, 60, 및 100% 처리구에서 각각 19, 20, 및 44%의 성장 억제를 보였고 (Fig. 2B), 72시간 동안 처리한 경우 23, 36, 및 55%의 억제를 나타내었다 (Fig. 2C). 곰팡이가 100% 이산화탄소가 처리되는 기간 (24~72시간) 동안에 생장이 완전히 정지되거나 대기 환경으로

옮겨지면 처리기간에 상관없이 정상적인 생장이 시작되는 것으로 미루어 보아(Fig. 2A~C) 고농도 이산화탄소가 곰팡이를 사멸하는 것이 아니라 일시적으로 성장을 억제하는 효과가 있는 것으로 판단되었다. 다른 연구자들도 30% 이산화탄소를 처리할 경우 체리의 부패를 일으키는 *Monilinia fructicola*의 생장이 억제되며(10), 지속적인 고농도 이산화탄소 처리에 의해 부패가 효과적으로 경감되거나 이산화탄소 조건이 해제된 이후에는 부패가 급격히 진행된다(11)고 보고하고 있다.

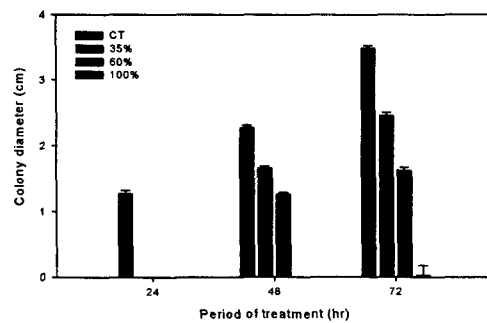


Fig. 1. Effect of CO₂ treatments on growth of *Botrytis cinerea* on PDA at 25°C for 72 hours. Vertical bars indicate ±S.E. of the mean of ten replicates.

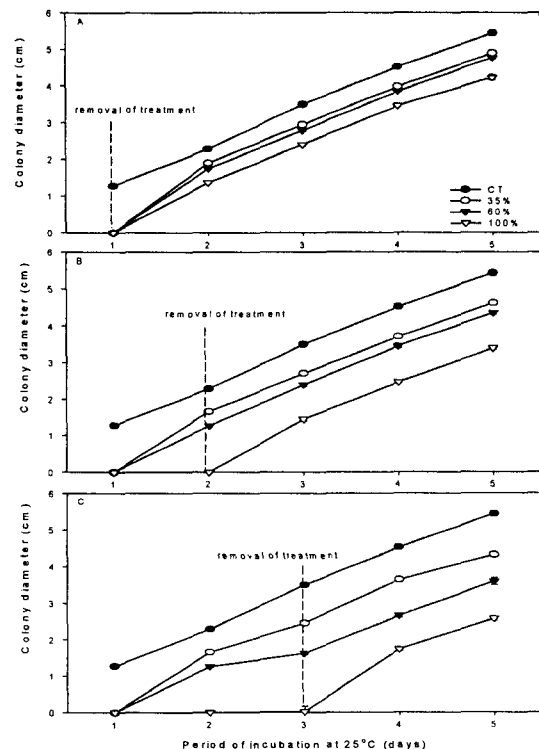


Fig. 2. Effect of CO₂ treatments for 24 (A), 48 (B), and 72 hours (C) on growth of *Botrytis cinerea* on PDA at 25°C. Vertical bars indicate ±S.E. of the mean of ten replicates.

수확 후 원예작물의 부패를 일으키는 *Botrytis allii*(12), *Penicillium hirsutum*(13)등의 곰팡이류는 -4℃의 저온에서도 성장할 수 있으며 그 이하의 온도에서 사멸된다고 알려져 있다. 따라서 저온 및 이산화탄소 혼합 처리가 곰팡이 생장에 미치는 영향을 구명하고자 *Botrytis cinerea*를 저온 (0℃)에서 4주간 저장한 후 상온 (25℃)으로 옮겨 곰팡이 성장 정도를 측정하였다. 일반 대기 환경에서 배양한 경우 저온저장 4일 동안 약 1.5cm 성장한 후 그 이후에는 생장이 정지 되었으므로 저온이 곰팡이 성장을 매우 효과적으로 억제하는 것을 알 수 있었다 (Fig. 3). 저온 저장 중 24시간 동안 이산화탄소를 처리한 경우 곰팡이의 성장 억제 효과가 매우 미미하여 무처리구와 비슷한 정도의 성장을 보였는데, 35% 농도는 곰팡이 생장에 영향을 주지 않았으며 60% 이상의 농도를 처리한 경우에도 억제 정도가 매우 미미하였다 (Fig. 3). 처리기간을 더 연장하여 48시간 동안 처리한 경우, 35% 농도는 24시간 처리한 경우와 같이 억제 효과가 없었으며 60% 및 100% 농도에서는 효과가 비교적 증가하였다 (Fig. 4). 100% 이산화탄소를 72시간 동안 처리한 경우 저온 18일 동안 곰팡이 생장이 전혀 이루어지지 않았으며 28일 이후에도 약 0.6cm 성장하는데 그쳐 무처리구의 1.7cm에 비해 55%의 억제효과가 있었다. 이에 비해 35% 농도는 72시간 동안 처리한 경우에도 곰팡이 성장 억제 효과가 없었으며 60% 농도의 경우도 미미한 수준에 머물렀다 (Fig. 5). 이상에서 살펴본 바와 같이 저온 배양시에는 곰팡이 생장이 매우 저조하게 이루어지며 100% 이산화탄소를 72시간 처리함으로써 저온 기간 동안 곰팡이 발생을 원천적으로 차단할 수 있을 것으로 기대된다. 그러나 저온 저장 후 상온으로 옮기면 곰팡이 생장이 정상적인 속도로 이루어지는 결과를 보였으므로 (Fig. 3~5), 저온 및 이산화탄소의 혼합 처리가 *Botrytis cinerea*를 사멸시키는 것이 아니라 일정기간 동안 성장을 억제시키는 효과가 있는 것으로 판단되었다.

이와 같이 이산화탄소의 농도가 증가하고 처리 기간이 길수록 곰팡이의 생장이 효과적으로 억제되었으므로, 저장 중 발생하는 곰팡이에 의한 부패를 억제하기 위해서는 고농도의 이산화탄소를 지속적으로 처리하는 것이 이상적이라 할 수 있겠다. 그러나 본 연구의 결과가 원예작물의 부패 경감을 위한 처리 기술로 응용되기 위해서는 고농도 이산화탄소가 과실 품질 요소에 미치는 영향도 고려되어야 하므로 대상 작물의 이산화탄소에 대한 저항성 정도에 따라 처리 농도 및 처리 기간을 설정하는 노력이 이루어져야 할 것이다. 본 연구에서 살펴본 바와 같이 100% 농도의 경우 처리 후에도 일정기간 동안 *Botrytis cinerea*에 대한 성장 억제 효과가 지속되므로 이산화탄소에 저항성이 낮은 작물에서는 처리 후 효과가 지속되는 기간을 고려해 단축 처리하는 것이 바람직할 것으로 판단된다.

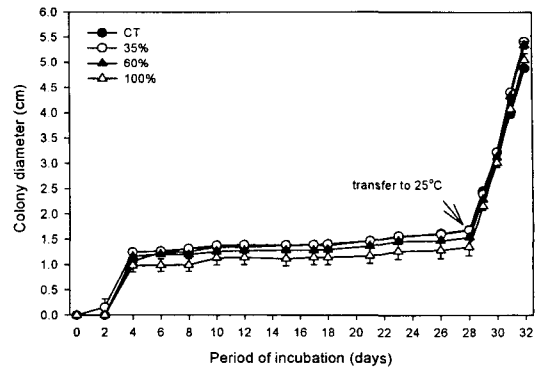


Fig. 3. Effect of CO₂ treatment at 0℃ for 24 hours on growth of *Botrytis cinerea* on PDA at the 0℃ for 4 weeks and the following 25℃ for 4 days. Vertical bars indicate ±S.E. of the mean of ten replicates.

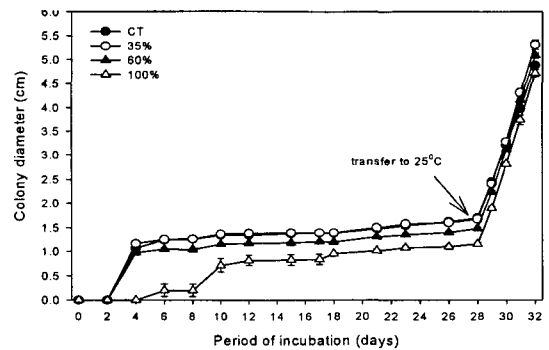


Fig. 4. Effect of CO₂ treatment at 0℃ for 48 hours on growth of *Botrytis cinerea* on PDA at the 0℃ for 4 weeks and the following 25℃ for 4 days. Vertical bars indicate ±S.E. of the mean of ten replicates.

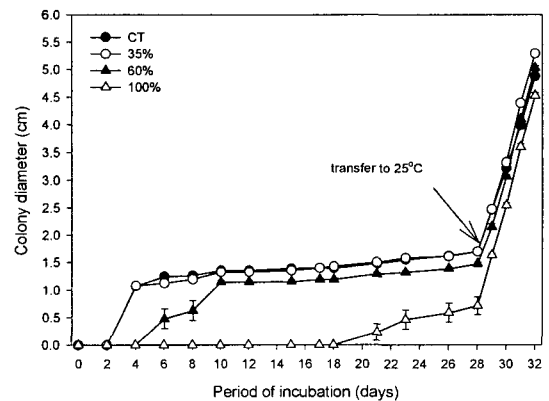


Fig. 5. Effect of CO₂ treatment at 0℃ for 72 hours on growth of *Botrytis cinerea* on PDA at the 0℃ for 4 weeks and the following 25℃ for 4 days. Vertical bars indicate ±S.E. of the mean of ten replicates.

요 약

이산화탄소 처리에 따른 곰팡이의 생장억제 정도를 구명하기 위해 부패된 '황도' 복숭아로부터 분리된 *Botrytis cinerea*를 대상으로 본 연구를 수행하였다. 35, 60 또는 100%의 이산화탄소를 각각 24, 48 또는 72시간 동안 처리하여 곰팡이의 생장정도를 측정하였다. 상온조건에서 배양할 경우 고농도 이산화탄소 처리를 통해 생장속도를 억제할 수 있었으며 농도 및 처리기간이 증가할수록 효과가 증가하였다. 특히 100% 농도의 경우 처리기간 동안 완전한 생장 억제효과를 나타내었다. 그러나 고농도 이산화탄소 처리가 해제된 이후에는 정상적인 생장이 일어났다. 저온에 의해 곰팡이 생장이 효과적으로 억제되었으며 저온에서는 35%와 60%의 이산화탄소를 처리할 경우 추가적인 억제효과는 없었으며, 100% 이산화탄소를 72시간 동안 처리함으로써 곰팡이 생장을 효과적으로 억제할 수 있었다. 저온 및 이산화탄소 처리에 의해 생장이 억제된 *Botrytis cinerea*를 상온으로 옮겨 배양할 경우 급격한 생장을 보인 바 저온 및 이산화탄소 처리에 의해 *Botrytis cinerea*가 사멸되는 것이 아니라 일정 기간 생장이 억제되는 것으로 판단되었다.

감사의 글

본 연구는 농림부의 농림기술개발사업의 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다

참고문헌

- Nelson, K.E., (1979) Harvesting and handling California table grapes for market. University of California Bulletin, no. 1913
- Winkler, A.J., Cook, J.A., Kliewer, W.M. and Lider, L.A. (1974) General Viticulture, second ed. University of California Press, p.710
- Lisker, N., Keren-Shacham, Z., Sarig, P., Zutkhi, Y. and Ben-Arie, R. (1996) The biology and pathology of the fungus *Rhizopus stolonifer*, cause of black mould disease of table grapes in Israel. *Plant Pathol.*, 45, 1099-1109
- Taylor, S. (1993) Why sulfite alternatives? *Food Technol.*, 47, 14
- Berry, G. and Aked, J. (1997) Controlled atmosphere alternatives to the post-harvest use of sulphur dioxide to inhibit the development of *Botrytis cinerea* in table grapes. *Proceedings of the Seven International Controlled Atmosphere Research Conference*, vol. 3, UC Davis Postharv. Hortic. Series, 17, 160-164
- Phillips, D.J. and Austin, R.K. (1982) Changes in peaches after hot-water treatment. *Plant Dis.*, 66, 487-488
- Sommer, N.F., Mitchell, F.G., Fortlage, R.J., Mayer, G. and Guillou, R. (1967) Heat treatment for brown rot control in peaches and nectarines. *Blue Anchor*, 45, 9-14
- Ahumada, M.H., Mitcham, E.J. and Moore, D.G. (1996) Postharvest quality of Thompson Seedless grapes after insecticidal controlled-atmosphere treatments. *HortScience*, 31, 833-836
- Crisosto, C.H., Garner, D. and Crisosto, G. (2002) Carbon dioxide-enriched atmospheres during cold storage limit losses from *Botrytis* but accelerate rachis browning of 'Redglobe' table grapes. *Postharvet Biol. Technol.*, 26, 181-189
- Tian, S., Fan, Q., Xu, Y., Wang, Y. and Jiang, A. (2001) Evaluation of the use of high CO₂ concentrations and cold storage to control *Monilinia fructicola* on sweet cherries. *Postharvest Biol. Technol.*, 22, 53-60
- De Vries-Paterson, R.M., Jones, A.L. and Camerson, A.C. (1991) Fungistatic effects of carbon dioxide in a package environment on the decay of Michigan sweet cherries by *Monilinia fructicola*. *Plant Dis.*, 75, 943-946
- Tian, S. and Bertolini, P. (1995) Effects of low temperature on mycelial growth and spore germination of *Botrytis allii* in culture and on its pathogenecity to stored garlic bulbs. *Plant Pathol.*, 44, 1008-1015
- Bertolini, P. and Tian, S.P. (1996) Low temperature biology and pathogenicity of *Penicillium hirsutum* on garlic in storage. *Postharvest Biol. Technol.*, 7, 83-89