식물병연구
Res. Plant Dis. 12(2) : 81-84 (2006)

Research in Plant Disease
©The Korean Society of Plant Pathology

Bacillus subtilis 122와 *Trichoderma harzianum* 23에 의한 마늘 흑색썩음균핵병의 생물적 방제

이상엽* · 이상범[1] · 김용기 · 황순진[2]
농촌진흥청 농업과학기술원 식물병리과, [1]농촌진흥청 연구개발국 연구정책과, [2](주)그린바이오텍

Biological Control of Garlic White Rot Accused by *Sclereotium cepivorum* and *Sclereotium* sp. Using *Bacillus subtilis* 122 and *Trichoderma harzianum* 23

Sang-Yeob Lee*, Sang-Bum Lee[1], Yong-ki Kim and Soon Jin Hwang[2]
Division of Plant Pathology, National Institute of Agricultural Science and Technology, Rural Development Administration, Suwon 441-707, Korea
[1]Research Policy Planning Division, Research Management Bureau, Rural Development Administration, Suwon 441-707, Korea
[2]Green Biotech. 687-2 Sangijiseogri Gyohamyeoen Paju Kyungkido 413-830, Korea
(Received on July 18, 2006)

***Trichoderma harzianum* 23 WP and *Bacillus subtilis* 122 WP were formulated as antagonists of *Sclerotium cepivorum* and *Sclerotium* sp. of garlic white rot. In the field test, applications of *Trichoderma harzianum* WP and *Bacillus subtilis* WP reduced garlic white rot by *Sclerotium cepivrum* from 10.9% in the control to 4.1% and 6.2%, respectively at Taean. Also at Seosan, applications of *Trichoderma harzianum* 23 WP and *Bacillus subtilis* 122 WP reduced garlic white rot by *Sclerotium* sp. from 17.8% in the control to 1.2% and 2.6%, respectively. Treatment of *Trichoderma harzianum* 23 WP and *Bacillus subtilis* 122 WP increased garlic yield in two area. Therefore, *Trichoderma harzianum* 23 WP and *Bacillus subtilis* 122 WP have shown potential as biofungicides of garlic white rot in the two different pathogens.**

Keywords* : *Bacillus subtilis*, Biological control, Garlic white rot, *Sclerotium cepivorum*, *Trichoderma harziaum

마늘흑색썩음균핵병(Garlic white rot)은 마늘, 양파를 비롯한 *Allium*속 작물의 토양전염성병해중에서 가장 피해가 큰 병으로 우리나라 뿐만 아니라 전 세계적으로 매년 피해가 증가하고 있다. 우리나라에서 흑색썩음균핵병은 1988년 전남 고흥지방의 난지형 마늘에서 처음 발생하였고, 양파는 1995년 무안지방에서 양파, 파, 쪽파에서도 발생되었으며, 최근에는 달래의 주산지에서도 피해가 급속히 확산되고 있다. 마늘의 경우는 한지형 보다는 난지형에서 그리고 논재배 보다는 밭재배에서 피해가 더 큰 것으로 알려져 있다. 영국에서는 이병으로 양파 생산량이 10% 감소되고 그 피해금액은 약 450만 파운드에 이른다고 한다(Clarkson 등, 2002).

*Corresponding author
Phone) +82-31-290-0425, Fax) +82-31-290-0406
E-mail) lsy1111@rda.go.kr

흑색썩음균핵병의 원인균은 *Sclerotium cepivorum*으로 토양전염성 진균이며, 생육적온은 15~20°C이며, 1°C에서도 균사생장이 가능하다고 알려져 왔으며, 전염경로는 토양에서 균핵상태로 생존하며, 파종과 함께 씨마늘에 감염되어 겨울철(12~1월)에는 병진전이 정지되고, 봄에 기온이 상승함에 따라서 병징이 발현된다(McLean 등, 2000, 2001). 우리나라에서는 발생하는 흑색썩음균핵병균이 두 가지 병원균으로 소균핵을 형성하는 *S. cepivorum*와 대균핵을 형성하는 *Sclerotium* sp로 보고되어 있다(Kim 등, 2004). 흑색썩음균핵병은 주산지 마늘, 양파 연작재배로 인한 병원균 밀도의 점진적 증가와 병원균이 토양내에 균핵상태로 생존하여 전염하는 토양병해로 약제 방제가 매우 곤란하다.

이 병의 방제를 위하여 영국에서 20년전에 디카르복사마이드계통의 iprodione이 사용하였으나, 토양에서 미생물

에 의한 분해 등으로 인한 방제효과가 저조하였으며, 그 이후 tebuconazole이 이병에 대하여 좋은 방제효과를 나타냈음에도 불구하고 여러 다른 살균제의 방제효과가 저조하였으며, 토양훈증제인 메칠브로마이드의 사용은 방제비용이 높고, 병원균의 밀도 감소에 따라서 발병억제력을 높일 수 있으나 토양내의 유익 미생물까지 죽이며, 작물 및 토양내에 잔류농약에 대한 위해 우려가 사회에서 큰 이슈가 되고 있다. 그리고 최근에 생활수준의 급격한 향상으로 저농약 또는 무농약 농법으로 재배한 고상품가치의 안전 채소류가 높은 가격으로 시중에서 거래되고 있는 실정으로 유용미생물을 이용한 생물학적 방제법은 작물의 친환경재배 및 생산에 필수적이다. 그러나 미생물농약은 현지의 기상조건과 토양환경에 지배를 받을 수밖에 없는 생물체로 생태계 환경에 크게 영향을 받는 것으로 해당지역의 환경에 따른 활성의 차이가 매우 크다고 할 수 있다. 따라서 우리나라 기후나 토양환경에 맞는 생물농약 개발의 필요성이 요구되고 있다.

외국에서 흑색썩음균핵병에 대한 생물적 방제는 1969년 Ghaffar에 의하여 균핵에 기생하는 *Coniothyrium minitans*가 처음으로 시도된 이래 길항균으로 *Cheatonium globosum*, *Trichoderma harzianum T. viride*, *T. koninggii*의 미생물을 이용하는 방법 등이 시도되었으며(Mclean 등, 2000; Clarkon 등, 2002), 길항세균으로는 *Bacillus subtilis* QST 만이 균핵병(*Sclerotium minor*)에 적용병해로 되어 있을 뿐 흑색썩음균핵병에 대하여 외국에서 등록되어 사용하는 생물농약은 없다(Copping, 2004). 곰팡이는 *Coniothyrium minitans*는 균핵에 기생하는 균으로 토양에서 *Sclerotinia* spp., *Botrytis* spp., *S. cepivorum*의 균핵을 부패시켜서 균핵병 발생을 억제하는 생물농약을 개발하여 1998년 독일의 Prophyta사에서 'contans' 상품명으로 유럽과 북미에서 시판되고 있다(Sandys 등, 1993; Copping, 2004).

본 시험은 2003년에 선발한 *Bacillus subtilis* 122와 *Trichoderma harzianum* 23균주를 마늘 흑색썩음균핵병의 생물적 방제에 활용하기 위하여 서산과 태안의 마늘재배 포장에서 흑색썩음균핵병에 대한 발병 억제 효과 실험을 실시하였다.

재료 및 방법

시험균주 및 처리방법. 마늘의 흑색썩음균핵병에 생물적 방제를 하기 위하여 마늘 주 재배지역에서 분리한 미생물에서 저지원검정법과 마늘절편법을 이용한 검정방법으로 길항력이 우수한 균주를 선발하여 (주)그린바이오텍에서 수화제 형태로 제제화한 *Bacillus subtilis* 122 WP(1×10^9 cfu/g)와 *Trichoderma harzianum* 23 WP(1×10^9 spores/g)에 대하여 마늘 흑색썩음균핵병의 발생억제 효과를 조사하고자 실험을 실시하였다. 태안실험포장은 난지형 남도마늘에 2종류의 미생물 제제(10 g/마늘 kg)에 습분의 처리한 후 구당 220주씩 난괴법 3반복으로 2003년 10월 7일에 파종하였다. 서산실험포장은 한지형 서산마늘을 선정하여 구당 140주씩 태안실험포장과 같이 처리하여 2003년 11월 20일에 파종하여 관행방법으로 재배하였다.

발병주율 및 수량 조사. 마늘 흑색썩음균핵병 발병조사는 태안실험포장의 난지형 남도마늘은 2004년에 2월 28일, 3월 30일, 4월 10일과 5월 30일에 전처리구의 발병주율을 조사하였으며, 서산실험포장에 파종한 한지형 서산마늘은 2004년에 3월 30일, 4월 30일, 5월 30일과 6월 30일에 같은 방법으로 발병주율을 조사하였다. 수량조사는 태안의 난지형 남도마늘은 5월 30일, 서산의 한지형 서산마늘은 6월 30일에 전처리구의 수량을 조사하여 10a당 수량으로 환산하였다.

결과 및 고찰

태안실험포장에서 발생한 마늘 흑색썩음균핵병균은 소균핵을 형성하는 *Sclerotium cepivorum*으로 균핵의 크기가 340~570 μm로서 *Sclerotium* sp.(420~750 μm) 보다 균핵이 작고 표면이 매끈매끈한 구형의 형태를 나타내었다. 이 병의 발생은 2004년 2월 28일부터 4월 30일까지 병발생이 급진적으로 증가하였으며 무처리구의 이병주율은 10.9%로 다소 미약한 병발생을 나타내었다(Fig. 1). 서산실험포장에서 발생한 흑색썩음균핵병균은 대균핵을 형성하는 *Sclerotium* sp.이었으며, 병발생이 태안포장에서 난지형 남도마늘과 달리 한지형 서산종에서 파종시기도 늦어서 발병도 늦었으며, 5월 30일까지 병발생이 급진적으로 증가하였고 무처리구는 17.8%의 이병주율을 나타냈다(Fig. 2). 두 지역의 흑색썩음균핵병균과 품종차이에 따라

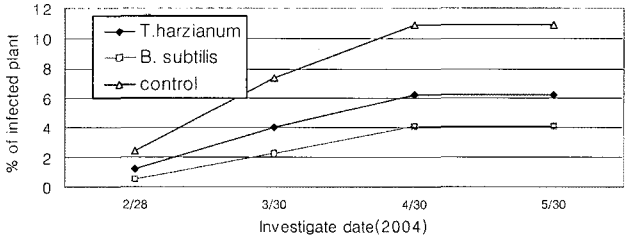

Fig. 1. Incidence of white rot on namdo garlic in the field infested with *Sclerotium cepivorum* by treating *Trichoderma harzianum* 23 WP and *Bacillus subtilis* 122 WP at Taean in 2004.

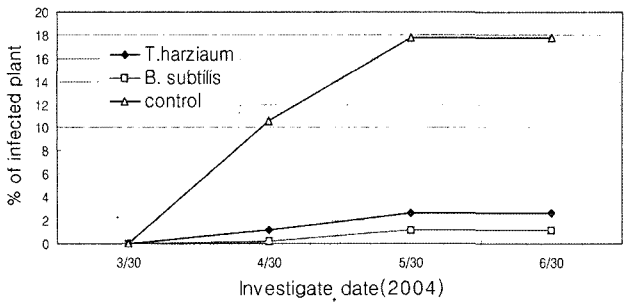

Fig. 2. Incidence of white rot on seosan garlic in the field infested with *Sclerotium* sp. by treating *Trichoderma harzianum* 23 WP and *Bacillus subtilis* 122 WP at Seosan in 2004.

서 발병정도가 다른 결과를 나타낸 것은 Kim 등(2004)이 보고한 포장에서의 마늘 품종별 병저항성에 있어서 *S. sepivorum*에서는 난지형 마늘에 비하여 한지형 마늘이 발병이 적었으며, 남도마늘과 서산종 마늘 등이 이병주율 50% 이상으로 모두 감수성품종으로 판명되었다. 그리고 *Sclerotium* sp.에서는 난지형 마늘 모두가 고도의 감수성이었고 한지형 마늘인 서산종은 중도 저항성이라고 하였다. 또한 파종시기, 적정 재배온도 및 습도에 있어서 마늘품종별로 차이가 있고, 그 결과 병원균을 유도하는 dially disulfide(Michael Davis, 2002; Hovious 등, 2002; Esler 등, 1983)와 같이 마늘이 분비하는 휘발성 물질의 종류 또는 양에서의 차이, 그리고 재배지역별로 마늘재배 토양내의 이화학성과 생물적 다양성이 크게 달라서 병 발생 양상에 영향을 주는 것으로 사료된다(Haper 등, 2002; Crowe 등, 1980). McLean 등(2001)과 Pinto 등(1998)은 흑색썩음균핵병균의 균핵 활성에 미치는 토양온도와 기온이 흑색썩음균핵병의 발병에 영향이 크다고 하였다.

두 지역에서 흑색썩음균핵병에 대한 생물적 방제 효과 실험을 한 결과, 태안실험포장에서 난지형 남도마늘에 대하여 *Trichoderma harzianum* 23 WP 처리구는 62.4% 방제효과를 보였으며, 수량은 135% 증수효과를 나타났다. *Bacillus subtilis* 122 WP 처리구는 43.1%의 방제효과를 나타났으며, 124%의 수량증수효과를 보였다(Table 1). 태안실험포장에서는 무처리와 *Trichoderma harzianum* 23 WP 간의 유의차는 인정되었으나, 두 균주간에 유의차가 인정되지 않았다. 그리고 서산실험포장에서 한지형 서산종 마늘에 대해서는 *Trichoderma harzianum* 23 WP 처리구는 93.3%방제효과를 보였으며, 수량은 무처리에 비하여 180% 증수효과를 나타났다. *Bacillus subtilis* 122 WP 처리구는 85.4%의 방제효과를 나타났으며, 178%의 수량증수효과를 보였으나 통계적 유의차는 없었다(Table 1).

외국에서 양파의 흑색썩음균핵병에 대한 생물적 방제는 길항곰팡이균으로 *Cheatonium globosum*, *Trichoderma harzianum*, *T. viride*, *T. koningii*, *Coniothyrium minitans* 등 을 이용하여 종자코팅, 펫렡 과 모래와 밀기울을 혼합하는 방법으로 처리한 경우, 모래와 밀기울의 혼합처리가 가장 효과적이었으며, *C. globosum*은 67%, *Trichoderma harzianum*은 51%, *Coniothyrium minitans* 51.8%, *T. viride*는 41%, *T. koningii*는 73%의 방제효과를 나타냈다(Kay와 Stewart, 1994; Mclean 등, 2000, 2001). 이상의 마늘 흑색썩음균핵병에 대한 포장실험결과에서 보는 바와 같이 유용미생물을 이용한 생물적 방제는 동일한 미생물의 방제효과의 차이는 마늘의 품종과 두지역에 분포한 흑색썩음균핵병의 병원균 종류를 생각할 수 있을 뿐만 아니라 생물적 방제의 단점으로 병원균의 전염원 밀도, 포장조건 및 재배자의 재배기술등에 의하여 방제효과가 달라질 수 있을 것이라고 생각된다. 그러므로 선발한 길항미생물 *Trichoderma harzianum* 23 WP과 *Bacillus subtilis* 122 WP는 마늘에 발생하는 흑색썩음균핵병에 환경친화적 방제제로 이용할 수 있을 것으로 사료된다.

Table 1. Effect of biological control on garlic white rot by *Trichoderma harzianum* 23 WP and *Bacillus subtilis* 122 WP at Taean and Seosan in 2004

Area (cultivar)	Biocontrol agent	% infected plant [a)]	Control efficacy (%)	Yield [a)] (kg/10a)
Taean (namdo)	*Trichoderma harzianum* 23 WP	4.1 a	62.4	1,076.7 a
	Bacillus subtilis 122 WP	6.2 ab	43.1	988.5 ab
	Control	10.9 b	-	795.9 b
Seosan (seosan)	*Trichoderma harzianum* 23 WP	1.2 a	93.3	821.8 a
	Bacillus subtilis 122 WP	2.6 a	85.4	814.3 a
	Control	17.8 a	-	457.1 a

[a)]Infected plants and yields of garlic were investigated at Taean on May 30th and at Seasan on June 30th, respectively.
[a)]In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

요 약

마늘 흑색썩음균핵병균(*Sclerotium cepivrum*, *Sclerotium* sp.)에 대하여 생물적 방제제 *Trichoderma harzianum* 23 WP와 *Bacillus subtilis* 122 WP를 제제화하였다. 2003년에 포장시험결과에서 태안지역은 남도마늘의 흑색썩음균핵병균(*Sclerotium cepivrum*)에 *Trichoderma harzianum* 23 WP와 *Bacillus subtilis* 122 WP를 습분의 처리한 결과는 무처리 10.9% 비하여 4.1%와 6.2%로 병 발생이 감소하였다. 서산지역은 서산종 마늘의 흑색썩음균핵병균(*Sclerotium* sp.)에 *Trichoderma harzianum* 23 WP와 *Bacillus subtilis* 122 WP를 습분의 처리한 결과는 무처리 17.8% 비하여 1.2%와 2.6%로 병 발생이 감소하였다. 마늘수량은 두 지역에서 무처리에 비하여 증수되었다. 그러므로 *Trichoderma harzianum* 23 WP와 *Bacillus subtilis* 122 WP는 마늘 흑색썩음병에 생물농약으로서 방제가능성을 나타내었다.

참고문헌

Clarkon, J. P., Payne, T., Mead, A. and Whipps, J. M. 2002. Selection of fungal biological control agentsfo for control of white rot by sclerotial degradation in a UK soil. *Plant Pathology.* 51: 735-745.

Copping. L. G. 2004. The manual of biocontrol agents. third edition, BCPC. UK. 702 pp.

Crowe, F., Parks, R. and Bafus, R. 2002. Fungicidal control of white rot on garlic and onion in Oregon. Proc. of the 7th international workshop on *Allium* white rot, June 4-8, 2002. Harris Ranch, California.

Esler, G. and Coley-Smith, J. R. 1983. Flavor and odor characteristics of species of *Allium* in relation to their capacity to stimulate germination of sclerotia of *Sclerotium cepivorum. Plant pathology* 32: 13-22.

Harper, G. E., Frmpton, C. M. and Stewart, A. 2002. Factors influencing survival of sclerotia of *sclerotium cepivorum* in New Zealand soils. *N. Z. J. Crop Hort. Sci.* 30: 29-35.

Hovious, M. H. Y. and McDonald, M. R. 2002. Management of Allium white rot (*Sclerotium cepivorum*) in onions on organic soil with soil-applied dially disulfide and di-*N*-propyl disulfide. *Can. J. Plant Pathol.* 24: 281-286.

Kay, S. J. and Stewart, A. 1994. Evaluation of fungal antagonists for control of onion white rot in soil box trials. *Plant Path.* 43: 371-377.

Kim, Y.-K., Kwon, M.-K., Shim, H.-S., Yeh, W.-H., Kim, T.-S., Cho, W.-D. and Kim, C.-H. 2004. A new method for sclerotial isolation of two species of *sclerotium* from infested soils. *Plant Pathol. J.* 20: 240-243.

McLean, K. L. and Stewart, A. 2000. Application stratgies for control of onion white rot by fungal antagonists. *N.Z.J. Crop Hort. Sci.* 28: 115-122.

McLean, K. L., Hunt, J. and Stewart, A. 2001. Compatibility of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* C52 with selected fungicides. *N.Z. Plant Prot.* 54: 84-88.

Michael Davis, R. 2002. Use of a natural product to stimulate sclerotial germination of *Sclerotium cepivorum* for the control white rot of onions and garlic. *Pest Management Grants Final Report*: 1-9.

Pinto, C. M. F., Maffia, L. A., Berger, R. D., Mizubutti, E. S. G. and Casali, V. W. D. 1998. Progress of white rot on garlic cultivars planted at different times. *Plant Dis.* 82: 1142-1146.

Sandys, W., C., Whipps, J. M., Gerlagh, M. and Kruse, M. 1993. World distribution of the sclerotial mycoparasite *Coniothyrium minitans. Mycol. Res.* 97: 1175-1178.