

Bacillus sp. JJ2-01과 마늘 오일 혼합처리에 의한 고추 흰비단병 억제 효과*

문혜정*** · 주호종**** · 안성호***** · 송재경***** · 상미경**

Combined Application of *Bacillus* sp. JJ2-01 and Garlic Oil for Controlling *Sclerotium rolfsii* in Pepper Plants

Moon, Hye Jeong · Ju, Ho-Jong · Ahn, Seong-Ho ·
Song, Jaekyeong · Sang, Mee Kyung

Southern blight caused by *Sclerotium rolfsii* is a serious soilborne disease in economically important crops including pepper. In this study, we conducted a selection of antagonistic bacterial strains and organic materials to biologically control the disease. Out of 39 strains isolated from soils at Jinju in Korea, strain JJ2-01 showed the highest mycelial growth inhibition; garlic oil among various organic materials significantly reduced disease incidence and severity. When a combination of strain JJ2-01 and garlic oil, or each was drenched into the pepper plants, combined treatment and garlic oil significantly suppressed the disease development, however, acid phosphatase activity in garlic oil-treated plants decreased. In the case of combined treatment, the soil activities did not affect by treatment, while soil urease activity was significantly increased by the combined treatment. Therefore, given soil quality and health for sustainable agriculture, the combination of strain JJ2-01 and garlic acid was an effective application for environmental-friendly control of Southern blight in pepper plants.

Key words : *biocontrol*, *garlic oil*, *organic material*, *Sclerotium rolfsii*, *soil microbial activity*

* 본 연구는 국립농업과학원 연구개발사업(PJ01505102)에 의하여 이루어진 것임.

** Corresponding author, 국립농업과학원 농업미생물과 농업연구사(mksang@korea.kr)

*** 국립농업과학원 농업미생물과, 전북대학교 농생물학과 석사과정

**** 전북대학교 농생물학과 교수

***** 국립농업과학원 농업미생물과 농업미생물과 농업연구사

***** 국립농업과학원 농업미생물과 농업미생물과 농업연구관

I. 서 론

흰비단병은 *Sclerotium rolfsii*에 의해 발생하는 토양전염성 식물병으로, 전 세계에 널리 분포하며 주로 고온 다습한 조건의 지역에서 많이 발생한다(Agrios, 2005). *S. rolfsii*는 고추, 토마토, 콩 등 500종 이상의 광범위한 기주 범위를 가지는데, 우리나라의 주요 경제적 농작물인 고추에서는 병 발생 초기에 지체부의 줄기가 암갈색으로 변하며 수침상으로 물러지고, 병반부에 흰색의 균사체가 솜털처럼 자라며, 병반이 확대됨에 따라 기주식물의 지체부 주위 토양 표면에도 흰색의 균사체와 암갈색의 둥근 균핵이 형성된다(Kwon and Park, 2004). 이 병원균은 균핵으로 월동하기 때문에 감염된 토양에서 완전한 제거는 어려우며(Mullen, 2001), 흰비단병으로 인한 피해가 큰 미국과 유럽 등 여러 국가의 열대 및 아열대 지역에서는 토양 내 병원균의 밀도를 낮추기 위한 방법으로 비감수성 작물인 옥수수나 밀을 이용하여 돌려 짓기를 하거나, 증기열 또는 태양열 처리, 답전윤환 하는 방법 등을 사용한다(Xie and Vallad, 2010). 또한, 흰비단병의 월동체인 균핵은 지면으로부터 8 cm 이상의 깊이에서는 물리적 스트레스로 인해 발아가 불가능하기 때문에, 깊이갈이 등의 재배적 방법을 사용하기도 한다(Punja, 1985; Xie and Vallad, 2010). 한편, 작물에 발생하는 병을 방제하기 위해 일반적으로 방제 효과가 높은 화학 약제가 빈번하게 사용되어 왔으나, 화학 농약에 대한 저항성 병원균의 출현과 오남용으로 인한 환경오염, 농작물 및 토양 잔류, 인축 독성 야기 등에 대한 문제들이 대두되고 있다. 따라서, 이에 대한 대안으로 환경에 안전하고 효과적으로 병을 방제하기 위해, 미생물 및 유기물을 활용한 생물 방제에 대한 관심이 증가하고 있다(Erkol et al., 2011; Keswani et al., 2016; Park et al., 2021).

식물 병원균에 대한 생물 방제 미생물로는 대표적으로 *Bacillus*, *Trichoderma*, *Pseudomonas* 속 등이 알려져 있다(Chet et al., 1990; Khan et al., 2017). Sharf 등(2021)은 *B. megaterium* OSR3와 *B. megaterium* ZMR6 균주가 *S. rolfsii*의 균사 성장을 억제할 뿐만 아니라 병이 발생한 식물체에서도 카로티노이드와 엽록소 함량을 증가시켰다고 보고하였으며, De Curtis 등(2010)은 *Burkholderia cepacia*와 *Pseudomonas* sp.를 사용하여 토마토 유묘에서 흰비단병 발생이 억제되는 것을 확인하였다. 이러한 생물 방제 미생물 외에도 에센셜 오일 등의 식물 추출물을 유기농업자재로 활용하여 토양병을 방제하고자 하는 연구가 수행되어왔다. Radice 등(2022)은 *Zingiber officinale* Roscoe 에센셜 오일이 *Fusarium oxysporum*을 포함한 *Fusarium* spp.에 억제 효과가 있음을 보고하였고, Türkmene 등(2021)은 *Origanum dubium*의 에센셜 오일이 *Sclerotinia sclerotiorum*을 억제하는 것을 확인하였다. 생물 방제제와 더불어 유기농업자재는 친환경 농업에 대한 관심이 높아짐에 따라 농가에서 활용빈도가 높아지고 있다. 하지만, 유기농업자재의 질병 억제 효과에 대해 명확히 밝혀진 정보가 적기 때문에 농민들이 유기농업자재를 적절한 시기에 효과적으로 사용하지 못하고 있다.

본 연구에서는 고추 흰비단병원균에 대해 길항력이 있는 토양 미생물과 유기농업자재를

선발하고, 이를 단독 또는 혼합하여 고추 식물체에 처리하였을 때, 흰비단병의 억제 효과와 토양 환경에 주는 영향을 평가하여 흰비단병을 방제하기 위한 효과적인 생물 방제제를 선발하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 토양 미생물 분리 및 선발

토양 미생물을 분리하기 위해 경상남도 진주(2016)에서 밭, 논 등의 토양(15~20 cm 깊이)을 채취하였다. 채취한 토양 1 g을 멸균수 9 ml에 넣고 25°C에서 160 rpm으로 진탕 처리하여 미생물이 토양으로부터 분리되어 멸균수에 부유되게 하였다. 상층액은 10^{-6} 까지 단계 희석하여 tryptic soy agar (TSA, Difco, franklin lakes,, USA)에 100 μ l씩 도말하고, 28°C에서 2일간 배양한 후 형태가 다른 단일 콜로니를 순수 분리하여 20% glycerol에 넣어 -70°C에 보관하며 실험에 이용하였다. 토양 미생물 선발을 위해 paper disc diffusion method를 이용하여 병원균에 대한 길항 능력을 확인하였다. 90 mm의 TSA plate의 중앙에 5 mm의 병원균 agar plug를 접종하고, 8 mm paper disc (Advanted tec, Japan)에 50 μ l의 cell 현탁액($OD_{600} = 0.2$)을 접종하고 건조시킨 후, plate 가장자리로부터 1 cm 안쪽에 치상하여 28°C에서 배양하였다. 10 mM $MgSO_4$ 를 대조구로 사용하였고, 4일 동안 배양한 후 병원균의 균사 길이를 Digimetic caliper (Mitutoyo Co., Tokyo, Japan)로 측정하였다.

2. 병원균 준비

병원균은 국립농업과학원 유기농업과 포장(35°49'33.43"N; 127°2'35.8"E)에서 흰비단병이 발병한 고추 식물의 지체부에서 균핵을 채취해 표면 살균 후 계대 배양하여 순수 분리하였다. 분리한 병원균은 ITS rDNA 부분을 증폭하여 *S. rolfsii*로 확인한 후 사용하였다(Macrogen, Seoul, Korea). 생물 검정에 사용할 병원균의 접종원은 겉보리를 이용하여 곡물 배지를 만들어 병원균을 배양해 사용하였으며, 곡물 배지는 겉보리 100 g에 멸균수 150 ml을 넣고 2회 고압 멸균한 후, potato dextrose agar (PDA, Difco, franklin lakes, USA)에 배양한 병원균을 접종한 후 30°C에서 5일간 배양하여 접종원으로 사용하였다.

3. 흰비단병 방제를 위한 유기농업자재 선발

고추(‘슈퍼 마니파’, 농우바이오)는 상토(바로커, 서울바이오)가 채워진 지름 9 cm 포트에

과중하여 4주 동안 온실에서 재배한 후 사용하였다. 유기농업자재는 국립농산물품질관리원에 공시된 유기농업자재 중 병해관리용의 자재의 주재료인 고삼 추출물(matrine 1%; sophora extracts), 고삼+넙 추출물, 고삼 추출물+난황유, 과산화 칼슘(calcium peroxide; CaO₂), 탄산칼슘(calcium carbonate; CaCO₃), 보르도액(Bordeaux mixture), 석회유황합제(lime-sulfur mixture), 황토유황합제(loess-sulfur mixture) 및 식물성 오일인 마늘 오일(garlic oil)을 실험에 사용하였다. 각 유기농업자재의 처리 농도는 100배(0.1%) 희석하여 준비하였다. 곡물배지에 배양한 접종원을 고추의 지체부로부터 2 cm 떨어진 지점에 1 cm의 깊이로 4곳에 구멍을 내어 접종하였고(1 grain/hole), 유기농업자재 희석액을 관주 처리하였다(10 ml/pot). 관주 처리 14 일 후 이병률을 조사하였다. 실험은 각 처리구당 15반복씩 2회 수행하였다.

4. JJ2-01 균주와 유기농업자재 혼합 가능성 평가

미생물은 tryptic soy broth (TSB, Difco, USA)에서 28°C, 160 rpm으로 3일간 배양하였다. 배양액은 원심분리(6000 rpm, 10 min)하여 균체를 수집하고, 0.85% NaCl용액으로 2회 세척 후 cell을 현탁하여 OD₆₀₀ = 0.2로 희석해 사용하였다. 유기농업자재인 탄산칼슘은 20% 용액을 만들어 고압 멸균하여 사용하였으며, 마늘 오일은 0.22 µm syringe filter (TPP®, Switzerland)로 여과하여 준비된 cell 현탁액에 0.05~5%의 농도로 첨가하였고, 1시간 후에 TSA (Difco, franklin lakes, USA)에 단계희석 후 100 µl씩 도말하여 colony forming unit (CFU)를 측정하였다. 실험은 각 농도마다 3반복으로 2회 실시하였다.

5. 유기농업자재와 JJ2-01 균주의 혼합처리

온실에서 유기농업자재와 길항 미생물의 혼합 처리 시 흰비단병 방제 효과 검정을 위해 9 cm 포트에 4주 동안 재배한 고추에 병원균을 접종한 후 유기농업자재(500배 희석)와 길항 미생물 JJ2-01 (OD₆₀₀ = 0.2) 혼합 용액을 10 ml씩 관주 처리한 후 14일 동안 발병도를 조사하였다. 실험은 각 처리구당 10개체씩 2회 반복하였다. 비닐하우스 시험포장에서 유기농업자재와 길항 미생물의 혼합 처리 효과 평가를 위해, 고추는 상토로 채워진 50공 육묘 트레이에 과중하여 4주 동안 온실에서 재배한 후, 비닐하우스로 옮겨 와그너포트(256 × 234 × 297 mm; 1/2000 a)에 정식하였다. 이때 병원균은 상토에 혼합하여 이병토양을 만들어 사용하였으며, 상토 50 L당 0.5 kg의 곡물배지 접종원을 섞어 이병토양을 만들었다. 이병토양에 이식한 고추에 1/10 TSB (control), 대조 농약(fluxapyroxad), 유기농업자재(500배 희석), 미생물(OD₆₀₀ = 0.2), 유기농업자재 + 미생물을 400 ml씩 관주 처리한 후 10일 동안 발병도를 조사하였다. 실험은 각 처리구당 9 반복으로 수행하였다. 발병도는 Fery와 Dukes (2002)가 정립한 발병 기준을 변형시켜 0 = 병 발생 없음, 1 = 지체부에 균사가 보이지 않고 시들음, 2 = 지체부에 균사가

보이며 시들음, 3 = 줄기 첫 번째 마디까지 암갈색으로 변하며 수침상의 병반이 생김, 4 = 줄기 두 번째 마디까지 암갈색으로 변하며 수침상의 병반이 생김, 5 = 죽은 식물로 평가하였다.

6. 토양 효소 활성 측정

토양 유리아제 활성은 Kandler와 Gerber (1988)의 방법을 사용하였으며, 1 g의 토양은 0.5 ml의 0.72 M urea solution과 4 ml의 borate buffer (pH 10.0)을 넣고 37°C, 160 rpm에서 2 시간 동안 배양한 후 10 ml의 1 N KCl (0.01 N HCl에 용해)을 혼합하였다. 이후 정성 여과지 No.2로 여과한 용액은 1 ml의 Na salicylate solution과 0.4 ml의 0.1% Na dichlorisocyanurate를 넣어준 뒤 25°C에서 30분 동안 배양한 후 690 nm에서 흡광도를 측정하였다. 유리아제는 NH₄Cl로 정량하였다. 토양 인산 가용화 효소 활성은 Tabatabai와 Bremner (1969)의 방법을 사용하였으며, 1 g의 토양은 4 ml의 modified universal buffer (pH 6.5)와 1 ml의 p-nitrophenyl phosphate solution과 혼합한 후, 37°C, 160rpm에서 60분 동안 배양한 후, 1 ml의 0.5 M calcium chloride와 4 ml의 0.5 M sodium hydroxide를 첨가하였다. 이후 정성 여과지 No.2로 혼합용액을 걸러준 뒤 400 nm에서 흡광도를 측정하였다. 토양 인산 가용화 효소는 p-nitrophenol로 정량하였다. 토양 미생물 활성은 1 g의 토양에 4 ml의 60 mM sodium phosphate buffer (pH 7.6)와 fluorescein diacetate (FDA)를 혼합한 후 24°C, 160rpm에서 60분 동안 배양하였다. FDA의 가수분해는 2 ml의 acetone을 넣어 최종농도 50% (v/v)로 하고, 정성 여과지 No.2로 혼합용액을 걸러낸 후 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 실험은 각 처리구당 3개 식물체씩 3 반복으로 수행하였다.

7. 선발된 길항 미생물의 동정

흰비단병에 대한 길항 미생물을 동정하기 위해서 프라이머 785F와 907R을 이용하여 16S rRNA 유전자를 증폭하고 염기서열을 분석하였다(Macrogen, Korea). 16S rRNA 염기서열은 EzBioCloud 데이터베이스를 사용하여 type strain들과 비교하고, Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA 6, Megasoftware) 프로그램을 이용하여 계통수를 작성하였다.

8. 통계 분석

통계분석은 R-studio 프로그램(version 4.0.5, Rstudio Inc., USA)를 이용하였다. 분석은 각 반복을 종합하여 분산분석(analysis of variance; ANOVA)을 통해 평균간 유의성 검정을 실시하였으며, 사후 검정으로 최소유의차 검정(least significant difference; LSD, $p < 0.05$)검정을 실시하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 대치배양을 통한 항균활성 검정

진주에서 채취한 토양으로부터 형태학적 특성이 다른 39개의 균주를 순수 분리한 후, 흰 비단병원균에 길항력을 가진 미생물을 선발하기 위해 TSA (Difco, USA) 배지에서 병원균과 대치 배양시킨 후 균사 성장 길이를 확인하여 길항력이 가장 우수한 JJ2-01 균주를 선발하였다(Table 1). 균사 성장 길이는 대조구가 31.65 ± 0.67 mm일 때, JJ2-01 균주는 8.23 ± 0.62 mm로 높은 길항 효과가 나타났다. 선발한 JJ2-01 균주는 16S rRNA 염기서열 분석하여 EZBioCloud에서 검색한 결과 *Bacillus siamensis* KCTC 13613(T)와 completeness 100%에서 99.73%의 유사성이 있었고, *Bacillus velezensis* CR-502(T)와는 completeness 95.4%에서 99.86%의 유사성을 보였다. 따라서 JJ2-01 균주는 *Bacillus* 속에 속하는 것으로 동정되었다(data not shown). 이와 유사한 결과로 Chen 등 (2020)에서는 *B. velezensis* LHSB1 균주가 *S. rolfsii*에 대해 93.8%의 높은 균사생장 억제율을 보였으며, *B. subtilis* BMB26 (Darma et al., 2016), *B. pumilus* LX11 (Xu et al., 2020) 등 여러 균주가 *S. rolfsii*의 균사생장을 억제하는 것이 보고되었다.

Table 1. Mycelial growth of *Sclerotium rolfsii* in paper disc diffusion assay

Strain	Mycelial growth ^a (mm)	Strain	Mycelial growth (mm)
Control	31.65 ± 0.67 cd ^b		
JJ1-01	29.21 ± 0.49 e	JJ1-16	16.14 ± 0.09 op
JJ1-02	25.33 ± 0.21 h	JJ1-17	16.13 ± 0.28 op
JJ1-03	17.69 ± 0.2 mn	JJ1-18	26.14 ± 0.11 gh
JJ1-04	16.87 ± 0.19 no	JJ2-01	8.23 ± 0.62 t
JJ1-05	13.11 ± 0.29 pq	JJ2-02	10.54 ± 0.46 s
JJ1-06	15.64 ± 0.28 pq	JJ2-03	23.23 ± 0.27 i
JJ1-07	20.46 ± 0.38 l	JJ2-04	21.4 ± 0.44 kl
JJ1-08	20.53 ± 0.26 l	JJ2-05	31.22 ± 0.62 b-d
JJ1-09	21.86 ± 0.36 jk	JJ2-06	30.68 ± 0.67 d
JJ1-10	31.22 ± 0.62 b-d	JJ2-07	12.84 ± 0.21 r
JJ1-11	17.67 ± 0.19 mn	JJ2-08	32.37 ± 0.49 ab
JJ1-12	9.01 ± 0.47 t	JJ2-09	25.48 ± 0.2 h
JJ1-13	30.99 ± 0.52 cd	JJ2-10	27.98 ± 0.15 f
JJ1-14	31.53 ± 0.2 b-d	JJ2-11	20.7 ± 0.21 kl
JJ1-15	27.01 ± 0.19 fg	JJ2-12	23.01 ± 0.22 ij

Strain	Mycelial growth ^a (mm)	Strain	Mycelial growth (mm)
JJ2-13	31.82 ± 0.43 a-d	JJ4-05	32.09 ± 0.41 a-c
JJ4-01	14.87 ± 0.13 q	JJ4-06	16.08 ± 0.27 op
JJ4-02	28.06 ± 0.16 ef	JJ4-07	9.08 ± 0.38 t
JJ4-03	18.58 ± 0.07 m	JJ4-08	11.22 ± 0.42 s
JJ4-04	32.82 ± 0.47 a		

^a Mycelial growth was measured at four days after treatment.

^b Mean ± standard error. Different letters indicate significant difference based on LSD ($p < 0.05$).

2. 흰비단병 발병 억제 효과가 있는 유기농업자재 선발

유기농업자재에 의한 흰비단병의 발병 억제 효과를 확인하기 위해 유기농업자재를 고추에 관주 처리하여 이병률을 조사하였다(Fig. 1). 마늘 오일 처리구는 이병률이 6.66%로 대조구에 비해 가장 낮은 이병률을 나타냈다. 마늘 오일은 흰가루병 및 *Fusarium* spp.와 *Rhizogus*

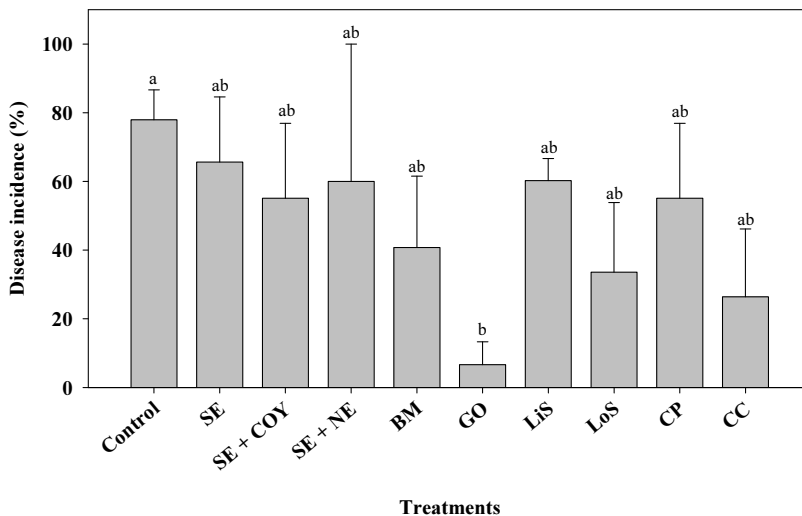


Fig. 1. Selection of organic materials based on disease incidence caused by *Sclerotium rolfsii* in pepper plants. The pepper plants were treated with organic materials and 1/10-diluted tryptic soy broth as a control.

Treatments; SE=sophora extracts, COY=cooking oil and egg yolk mixture, NE = neem extracts, BM=Bordeaux mixture, GO=garlic oil, LiS=lime-sulphur mixture, LoS=loess-sulfur mixture, CP=calcium peroxide and CC=calcium carbonate. Different letters on the bar indicate significant difference based on LSD ($p < 0.05$); error bars indicate standard errors.

spp., *Phytophthora nicotianae* 등에 항진균활성을 나타내는 것이 보고되었으며(Seo et al., 2006; Kutawa et al., 2018; Wang et al., 2019; Yeon et al., 2020), 마늘의 주성분인 알리신 추출물은 벼 도열병(*Magnaporthe oryzae*), 노균병(*Hyaloperonospora parasitica*), 감자 역병(*P. infestans*) 에도 항진균 활성을 나타내었다(Portz et al., 2008). 실험에 사용된 유기농업자재 중 고삼과 님 추출물은 기존에 여러 해충 방제 효과(Saleem et al., 2019; Han et al., 2020; Wu et al., 2021)가 있는 것으로 알려졌지만, 흰비단병에 대해서는 50% 미만의 방제효과를 보였다.

3. 선발 유기농업자재가 JJ2-01 균주의 생장에 주는 영향 평가

선발 미생물 JJ2-01과 유기농업자재를 혼합 처리하였을 때 미생물의 생장에 영향을 주는 지 확인하고자 미생물 배양액에 유기농업자재를 0.01~5%의 농도로 하여 혼합하여 선발 미생물 JJ2-01 균주의 개체군수를 조사하였다(Table 2). 마늘 오일과 탄산칼슘을 처리하지 않은 선발 미생물 현탁액($OD_{600} = 0.2$)을 단계희석한 결과 개체군수는 8.0 CFU/mL이었다. 이것을 대조구로 하여 비교하였을 때, 탄산칼슘의 농도가 0.5% 이상일 때 개체군수는 7.42~7.68 CFU/mL로 감소하였고, 1% 이하의 농도에서 개체군수는 8.47~9.04 CFU/mL로 증가하였다. 그러나, 5%의 마늘 오일을 처리한 처리구에서는 미생물이 성장하지 않았다. 이 실험의 결과와 유사한 결과를 보이는 Dušan 등(2006)에 따르면, 에센셜 오일은 고농도로 사용 시 세포 독성을 나타내고 세포 사멸을 유발하며, 세포 손상을 일으키지 않도록 0.01%로 처리했을 때 부분적으로 항진균활성을 나타낸다고 보고하였다. 이는 실험에 사용된 마늘 오일도 저농도로 사용하여야 혼합한 미생물에 영향을 주지 않고, 흰비단병에 대한 항진균활성을 나타낼 것으로 예상된다.

Table 2. Population of bacterial strain JJ2-01 amended with various concentrations of calcium carbonate or garlic oil

Treatments	Concentration (%)	Population (log CFU/mL)	Treatments	Concentration (%)	Population (log CFU/mL)
Garlic oil	0	8.00 c	Calcium carbonate	0	8.00 c
	0.01	9.04 a		0.01	8.61 a
	0.05	9.06 a		0.05	8.30 b
	0.1	9.04 a		0.1	8.28 b
	0.5	8.96 a		0.5	7.68 d
	1	8.47 b		1	7.51 d
	5	Not detected		5	7.42 d

Note: Different letters indicate significant difference based on LSD ($p < 0.05$).

4. 선발 미생물 JJ2-01과 유기농업자재 혼합처리에 의한 방제 효과

유기농업자재와 선발된 균주 JJ2-01의 혼합처리에 의한 방제 효과를 평가하기 위해 온실에서 식물 포트 검정을 수행한 결과, 마늘 오일을 처리했을 때 대조구에 비해 발병도가 현저히 감소하는 것을 확인하였다(Fig. 2). 또한, 마늘 오일과 미생물을 혼합 처리했을 때에도 대조구에 비해 발병도가 감소하였다. 반면, 탄산칼슘을 처리했을 때는 발병도가 3.6으로 마늘 오일보다 높게 나타났으며, 탄산칼슘과 미생물의 혼합처리했을 시에 발병도는 4.0으로 대조구와 비슷한 양상을 보였다. 온실에서 수행한 생물검정의 결과를 바탕으로 비닐하우스 시험 포장 실험의 처리구는 유기농업자재로 마늘 오일을 선정하여 수행하였다. 마늘 오일과 선발 미생물 JJ2-01 균주를 각각 또는 혼합하여 관주 처리한 후 10일 동안 발병도를 조사한 결과, 농약 처리구를 제외하고 마늘 오일 단독, 또는 마늘 오일과 JJ2-01 균주 혼합 처리할 경우 대조구 대비 발병도가 유의하게 낮게 나타났다(Fig. 3). 이전의 여러 연구에서도 미생물과 식물 추출물 또는 화학 농약 등을 혼합하여 병을 효과적으로 억제하려는 시도가 있었다. Camiletti 등(2016)에서는 마늘 오일과 합성 살균제를 혼합 처리했을 때 균핵병에

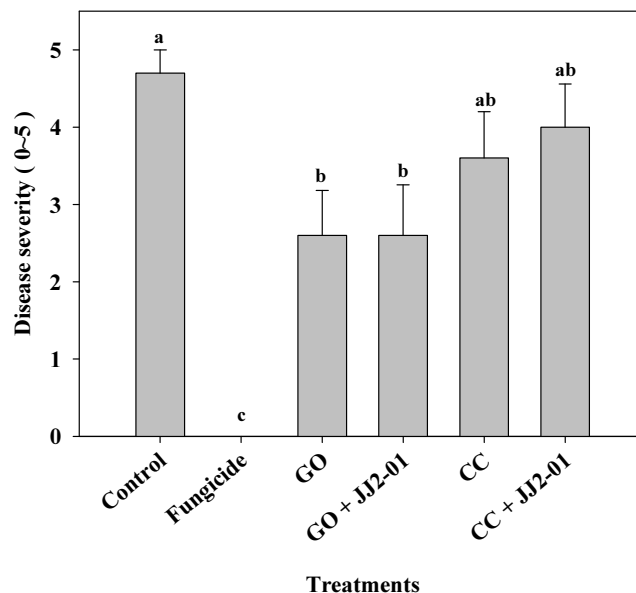


Fig. 2. Combination test of the selected organic materials, garlic oils (GO) and calcium carbonate (CC), and antagonistic bacterial strain JJ2-01 for suppression of Southern blight caused by *Sclerotium rolfsii* in pot assay. The plant were treated with garlic oil, calcium carbonate, culture broth of JJ2-01 ($OD_{600}=0.2$), 1-/10 TSB as a control and fluxapyroxad as a fungicide. Different letters on the bar indicate significant difference based on LSD ($p < 0.05$); error bars indicate standard errors.

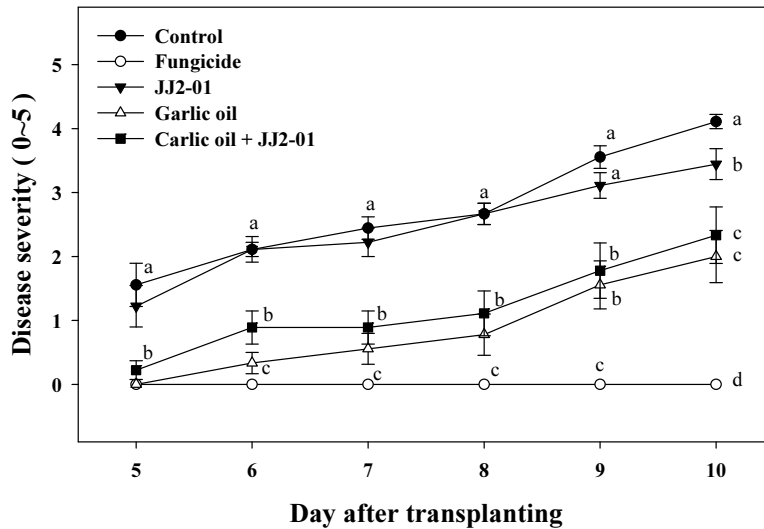


Fig. 3. Disease severity caused by *Sclerotium rolfsii* in pepper plants under a plastic house condition. The plant were treated with garlic oil, culture broth of JJ2-01 ($OD_{600}=0.2$), 1-/10 TSB as a control and fluxapyroxad as a fungicide. The disease severity was evaluated during 10 days after treatment. Different letters on the symbol indicate significant difference at each time based on LSD ($p < 0.05$); error bars indicate standard errors.

대한 억제 효과가 증가했고, Lin 등(2020)의 연구에서는 유산균과 키토산을 혼합하였을 때 *Alternaria brassicicola*에 의한 배추 흑점병, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*에 의한 검은썩음병, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*에 의한 무름병의 방제율이 단독으로 유산균만 처리했을 때보다 증가하였다.

5. 토양 효소 활성

유기농업자재 마늘 오일과 선발 미생물 JJ2-01 균주가 토양 효소활성에 미치는 영향을 분석하기 위하여 토양 질과 건전성을 반영한 지표(Adetunji et al., 2017)로써 urease, acid phosphatase, FDAse의 토양 효소 활성을 측정하였다. FDAse는 대조구와 유의한 차이를 보이지 않았다. Acid phosphatase의 활성은 대조구와 비교했을 때 마늘오일 단독 처리구에서 급격한 감소를 보였으며, urease 활성은 대조구와 비교했을 때 마늘 오일과 JJ2-01 균주 혼합 처리구에서 증가하였다(Fig. 4). 토양에서 acid phosphatase는 식물이 유기 인을 가수분해하기 위해 뿌리에서 근권으로 분비하며, urease는 식물에 대한 질소 공급 조절에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Adetunji et al., 2017; Ma et al., 2021). Kuma 등(2021)에 따르

면 *Bacillus pumilus* strain JPVS11을 처리했을 때, 근권에서 acid phosphatase와 urease의 활성이 증가하였으며 식물의 성장도 촉진되었다. 따라서, 이러한 결과를 종합하면, 흰비단병을 억제하기 위해서는 마늘 오일을 단독으로 사용하거나 JJ2-01 균주와 혼합하여 사용하는 것이 효과가 있지만, 토양의 질과 건전성을 비롯한 재배 토양의 환경을 고려하면, 마늘 오일 단독보다는 JJ2-01 균주와 혼합하여 사용하는 것이 환경친화적인 재배 방법으로 제안될 수 있을 것이다.

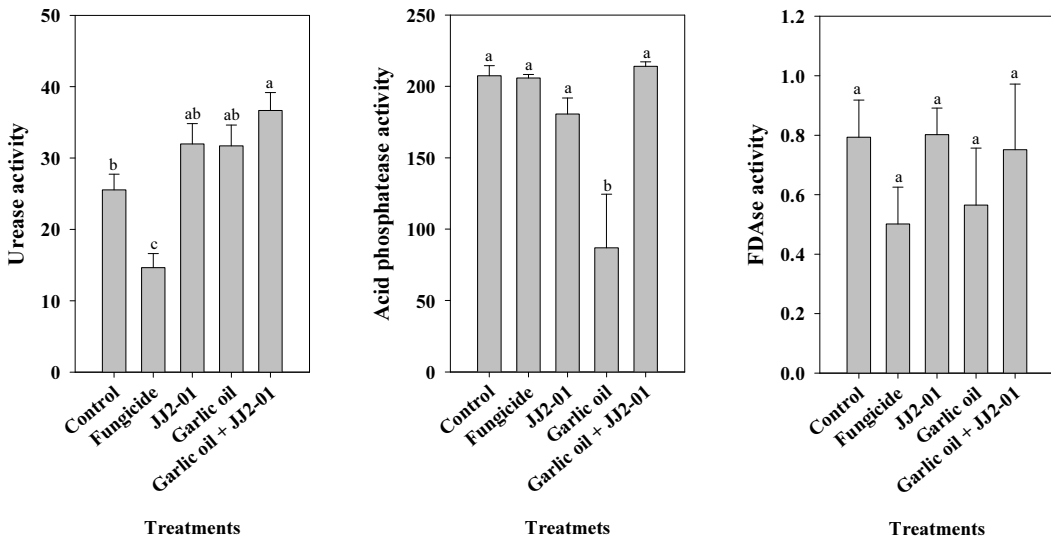


Fig. 4. Soil enzyme activities in pepper plants under a plastic house condition. The pepper plants were treated with garlic oil, culture broth of JJ2-01 ($OD_{600}=0.2$), 1/10-diluted tryptic soy broth as a control and fluxapyroxad as a fungicide. Different letters on the bar indicate significant difference based on LSD ($p < 0.05$); error bars indicate standard errors.

IV. 적 요

본 연구에서는 흰비단병에 대한 길항 미생물과 유기농업자재를 선발하여 혼합 처리 시 방제 효과를 확인하고자 하였다. 토양에서 분리한 39균주 중 균사 성장 억제력이 가장 높은 JJ2-01 균주를 길항 미생물로 선발하였다. 또한, 유기농업자재의 흰비단병 발병도를 확인하여 병 억제 효과가 있는 유기농업자재로 마늘 오일을 선발하였다. 선발 미생물과 마늘 오일을 혼합하거나 마늘 오일을 단독으로 사용할 경우 병 억제 효과는 유사하게 나타났지만, 마늘 오일을 단독으로 사용할 경우 토양의 acid phosphatase의 활성이 감소하였다. 반면,

마늘 오일과 선발 미생물 JJ2-01 균주를 혼합 처리하였을 때 urease 활성이 증가하였다. 본 실험의 결과를 종합하면, 선발 미생물 JJ2-01 균주와 마늘 오일을 혼합하여 사용하면 고추 흰비단병을 효과적으로 억제하고 토양의 질과 건전성을 유지 또는 향상하는데 도움이 될 수 있을 것이라 판단된다.

[Submitted, May, 25, 2022; Revised, July, 7, 2022; Accepted, July, 11, 2022]

References

1. Adetunji, A. T., F. B. Lewu, R. Mulidzi, and B. Ncube. 2017. The biological activities of β -glucosidase, phosphatase and urease as soil quality indicators: a review. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 17: 794-807.
2. Agrios. G. N. 2005. *Plant pathology*. 5th ed. Elsevier Academic press. USA. p. 992
3. Camiletti, B. X., C. M. Asensio, L. C. Gadban, M. D. L. P. G. Pecci, M. Y. Conles, and E. I. Lucini. 2016. Essential oils and their combinations with iprodione fungicide as potential antifungal agents against withe rot (*Sclerotium cepivorum* Berk) in garlic (*Allium sativum* L.) crops. *Ind Crops Prod.* 85: 117-124.
4. Chen, L., Y. D. Wu, X. Y. Chong, Q. H. Xin, D. X. Wang, and K. Bian. 2020. Seed-born endophytic *Bacillus velezensis* LHSB1 mediate the biocontrol of peanut stem rot caused by *Sclerotium rolfsii*. *J. Appl. Microbiol.* 128: 803-813.
5. Chet, I., A. Ordentlich, R. Shapira, and A. Oppenheim. 1990. Mechanisms of biocontrol of soil-borne plant pathogens by rhizobacteria. *Plant and soil.* 129: 85-92.
6. Darma, R., I. M. Purnamasari, D. Agustina, T. E. Pramudito, M. Sugiharti, and A. Suwanto. 2016. A strong antifungal-producing bacteria from bamboo powder for biocontrol of *Sclerotium rolfsii* in melon (*Cucumis melo* var. *amanta*). *J. Plant Pathol. Microbiol.* 7: 334.
7. De Curtis, F., G. Lima, D. Vitullo, and V. De Cicco. 2010. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* on tomato by delivering antagonistic bacteria through a drip irrigation system. *J. Crop Prot.* 29: 663-670.
8. Dušan, F., S. Marián, D. Katarína, and B. Dobroslava. 2006. Essential oils — their antimicrobial activity against *Escherichia coli* and effect on intestinal cell viability. *Toxicol. In Vitro.* 20: 1435-1445.
9. Erkol, D., E. Dane, and C. Eken. 2011. In vitro antagonistic activity of fungi isolated from

- sclerotia on potato tubers against *Rhizoctonia solani*. Turk. J. Biol. 35: 457-462.
10. Fery, R. L. and P. D. Dukes 2002. Southern blight (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) of cowpea: yield-loss estimates and sources of resistance. J. Crop Prot. 21: 403-408.
 11. Han, J. H., H. J. Jeong, M. R. Lee, S. N. Choi, D. Y. Kim, S. H. Ahn, and J. W. Park. 2020. Insecticidal effect of entomopathogenic fungus, *Isaria fumosorosea* FG340 to *Thrips palmi*. Korean J. Pestic. Sci. 24: 374-380
 12. Kandeler, E. and H. Gerber, 1988. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. Biol. Fertil. Soils. 6: 68-72.
 13. Keswani, C., K. Bisen, V. Singh, B. K. Sarma, and H. B. Singh. 2016. Bioformulations: for Sustainable Agriculture, Springer, Berlin, Germany, pp. 35-52.
 14. Khan, N., M. Maymon, and A. M. Hirsch. 2017. Combating *Fusarium* infection using *Bacillus*-based antimicrobials. Microorganisms. 5: 75.
 15. Kumar, A., S. Singh, A. Mukherjee, R. P. Rastogi, and J. P. Verma. 2021. Salt-tolerant plant growth-promoting *Bacillus pumilus* strain JPVS11 to enhance plant growth attributes of rice and improve soil health under salinity stress. Microbiol. Res. 242: 126616.
 16. Kutawa, A. B., M. D. Danladi, and A. Haruna 2018. Regular article antifungal activity of garlic (*Allium sativum*) extract on some selected fungi. J. Med. Herbs Ethnomed. 4: 12-14.
 17. Kwon, J. H. and C. S. Park. 2004. Stem rot of *Capsicum annuum* caused by *Sclerotium rolfsii* in Korea. Res. Plant Dis. 10: 21-24.
 18. Lin, Y. C., K. R. Chung, and J. W. Huang. 2020. A synergistic effect of chitosan and lactic acid bacteria on the control of cruciferous vegetable diseases. Plant Pathol. J. 36: 157.
 19. Ma, X., H. Li, J. Zhang, and J. Shen. 2021. Spatiotemporal pattern of acid phosphatase activity in soils cultivated with maize sensing to phosphorus-rich patches. Front. Plant Sci. 12.
 20. Mullen, J. 2001. Southern blight, southern stem blight, white mold. Plant Health Instr. DOI: 10.1094/PHI-I-2001-0104-01.
 21. Park, D. W., Y. S. Yang, Y. U. Lee, S. J. Han, H. J. Kim, S. H. Kim, and A. G. Kim. 2021. Pesticide residue and risk assessment from monitoring programs in the largest production area of leafy vegetables in South Korea: a 15-year study. Foods. 10: 425.
 22. Portz, D., E. Koch, and A. J. Slusarenko. 2008. In The Downy Mildews-Genetics, Molecular Biology and Control, Springer, Berlin, Germany, pp. 197-206.
 23. Punja, Z. K. 1985. The biology, ecology, and control fo *Sclerotium rolfsii*. Annu. Rev. Phytopathol. 23: 97-127
 24. Radice, M., N. R. Maddela, and L. Scalvenzi. 2022. Biological activities of zingiber

- officinale roscoe essential oil against fusarium spp.: A minireview of a promising tool for biocontrol. *Agronomy*. 12: 1168.
25. Saleem, M. S., T. S. Batool, M. F. Akbaar, S. Raza, and S. Shahzad. 2019. Efficiency of botanical pesticides against some pests infesting hydroponic cucumber, cultivated under greenhouse conditions. *Egypt. J. Biol. Pest Control* 29: 1-7.
 26. Seo, S. T., J. S. Lee, J. H. Park, K. S. Han, and H. I. Jang. 2006. Control of powdery mildew by garlic oil in cucumber and tomato. *Res. Plant Dis.* 12: 51-54.
 27. Sharf, W., A. Javid, A. Shoaib, and I. H. Khan. 2021. Induction of resistance in chili against *Sclerotium rolfsii* by plant-growth-promoting rhizobacteria and *Anagallis arvensis*. *Egypt. J. Biol. Pest Control*. 31: 1-11.
 28. Tabatabai, M. A. and J. M. Bremner. 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem.* 1: 301-307.
 29. Türkmen, M., M. Kara, H. Maral, and S. Soylu. 2021. Determination of chemical component of essential oil of *Origanum dubium* plants grown at different altitudes and antifungal activity against *Sclerotinia sclerotiorum*. *J. Food Process. Preserv.* e15787.
 30. Wang, Y., K. Wei, X. Han, D. Zhao, Y. Zheng, J. Chao, and C. S. Zhang. 2019. The antifungal effect of garlic essential oil on *Phytophthora nicotianae* and the inhibitory component involved. *Biomolecules*. 9: 632.
 31. Wu, J., B. Yang, X. Zhang, A. G. Cuthbertson, and S. Ali. 2021. Synergistic interaction between the entomopathogenic fungus *Akanthomyces attenuatus* (Zare & Gams) and the botanical insecticide matrine against *Megalurothrips usitatus* (Bagrall). *J. Fungi*. 7: 536.
 32. Xie, C. and G. Vallad. 2010. Integrated management of southern blight in vegetable production. *EDIS*. 2010.
 33. Xu, M., X. Zhang, J. Yu, Z. Guo, J. Wu, X. Li, Y. Chi, and S. Wan. 2020. Biological control of peanut southern blight (*Sclerotium rolfsii*) by the strain *Bacillus pumilus* LX11. *Biocontrol Sci. Technol.* 30: 485-489.
 34. Yeon, I. K., C. K. Shim, M. J. Kim, J. M. Park, W. H. Jung, H. W. Do, and S. H. Park. 2020. Research status of environmental friendly management for korean melon powdery mildew. *Korean J. Pestic. Sci.* 24: 136-147.