

Chitosan, PVA, 그리고 Chitosan/PVA 피막의 특성과 사과 겹무늬썩음병균 *Botryosphaeria dothidea*의 포자분산 억제작용

이승지 · 박동찬 · 김이부¹ · 엄재열¹ · 이용현*
경북대학교 자연과학대학 유전공학과, ¹농과대학 농생물학과

Properties of Chitosan, PVA, and Chitosan/PVA Films and Evaluation of Their Anti-dispersal Effect of *Botryosphaeria dothidea* Spores. Seung-Ji Lee, Dong-Chan Park, Eve Kim¹, Jae-Youl Uhm¹ and Yong-Hyun Lee*. Department of Genetic Engineering, College of Natural Sciences, ¹Department of Agricultural Biology, College of Agriculture, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea — The applicability of chitosan, a biodegradable natural polymer, as the coating material to prevent the dispersal of the spores of the apple white rot agent *Botryosphaeria dothidea*, was investigated. The physical properties of mixed chitosan/polyvinyl alcohol(PVA) film showed the increased physical properties for film formation, such as tensile strength, elongation, and viscosity, compared to either chitosan or PVA film. The FT-IR spectra of chitosan/PVA film indicated that the film was formed by simple blending not by any new synthetic bond. The chitosan and chitosan/PVA film showed effective antifungal activity on *B. dothidea*. The formed films were well decomposed by ASTM strains used for biodegradability test, on the other hand, the PVA film could not be decomposed by above standard strains. The field test at apple orchard showed that the dispersal of *B. dothidea* spores could be effectively reduced by coated film, especially by chitosan/PVA film. The spore dispersal was reduced upto 97.0% by 1.0% chitosan/5.0% PVA film during 4 months.

사과 겹무늬썩음병은 자낭균류인 *Botryosphaeria dothidea*에 의해 발병되는 사과 부패병으로서, 사과나무 줄기에 기생하여 자낭포자 및 병포자를 형성한 후 빗물에 의해 사과표면으로 분산이동하여 발아함으로써 과실을 부패시키는 감염경로를 거친다(1, 2). 본 연구자들(3-5)은 병원균의 전염원이 되는 자낭포자 및 병포자가 형성된 줄기부위를 고분자로 코팅함으로써 전염원인 포자의 형성을 억제하고 또한 포자의 분산을 차단함으로써 사과 겹무늬썩음병의 발생을 억제시키는 새로운 방제법에 관한 일련의 연구를 수행해 오고 있다.

Chitosan은 초산, 젖산, 아스코르빈산등과 같은 유기산에 쉽게 용해되며, 우수한 피막 형성능을 가지고 있는 천연고분자물질로서(6), 많은 종류의 곰팡이에 대하여 항진균활성을 가지고 있다(7). 전보(4)에서는 이와 같은 특성을 가진 chitosan을 코팅용소재로 활용하기 위한 기초연구를 수행한 바 있다. 특히 chitosan의 *B. dothidea*에 대한 항진균활성을 중심으로 검토한 결과, 균사의 생장을 억제하고, 균사의 형태적 변형을 유발하며, 또한 포자발아를 지연하는 효과가 있음을 알았다.

따라서 chitosan을 사과 겹무늬썩음병 방제용 코팅용소재로 활용한다면 포자분산 억제효과는 물론 병원균의 생육억제효과도 기대할 수 있을 것이다. 적절한

코팅용 소재는 4월말경 도달하여 피막을 형성한 후 포자분산기인 5월부터 사과수확기까지 피막을 유지할 수 있어야 하며, 또한 나무의 생육에 악영향을 미치지 않도록 자연계에서 적절한 시간이 경과한 후에는 생분해되어야 한다.

본 연구에서는 이와 같은 특성을 가진 chitosan을 사과 겹무늬썩음병 방제용 코팅 소재로 활용코저 연구하였다. 먼저 chitosan 필름의 인장강도와 신장율과 같은 물성을 검토하였고, chitosan 피막의 물성을 향상시키기 위하여 자연계에서 분해되는 수용성 합성고분자 물질인 polyvinylalcohol(PVA)과 혼합하여 chitosan/PVA 혼합필름을 제조하여 그 물성을 검토하였다. 또한 상기 필름들의 겹무늬썩음병균 *B. dothidea*에 대한 항진균활성과 토양유래의 곰팡이류에 의한 생분해성을 검토하였다. 아울러 사과원에서의 포장실험을 통하여 상기 필름들의 내구성과 사과 겹무늬썩음병균의 포자분산 억제 효과를 관찰하였다.

재료 및 방법

사용 균주

필름의 항진균활성측정에 사용한 균주는 경북대학교 농생물학과 식물세균병학연구실에서 분리한 사과 겹무늬썩음병균인 *Botryosphaeria dothidea* 22였으며, 제조된 필름의 생분해성측정에 사용한 균주는 ASTM G21-90(8)에 제시된 공시균주인 *Aspergillus niger*(KCTC 1374),

*Corresponding author.

Key words: *Botryosphaeria dothidea*, apple white rot, chitosan film, chitosan/PVA film, PVA film, anti-dispersal of spore

Penicillium funiculosum(KCTC 2124), 그리고 *Chaetomium globosum*(KCTC 2121)이었다.

고분자필름의 제조

Chitosan 필름 적당한 크기로 분쇄한 chitosan(Sigma Co. practical grade)을 1% acetic acid에 넣고 상온에서 교반하여 완전히 용해시켜 2%(w/v) 용액을 제조하였다. 제조된 용액 30±5 ml을 테이프로 50 μm 두께의 테두리를 해 놓은 유리판(13×16.5 cm)에 붓고 30°C에서 24시간 건조하여 필름을 제조하였다.

PVA 필름 Polyvinylalcohol(검화도 99.0 mol% 이상, 중합도 1,500, Showa Chemical Inc.)을 증류수에 첨가한 후 80~100°C에서 교반시켜서 3%(w/v) PVA 수용액을 제조한 후 위에서와 같은 방법으로 필름을 제조하였다.

Chitosan/PVA 혼합 필름 상기의 방법으로 제조한 chitosan 용액(2%, 4%)과 PVA 용액(6%, 10%)을 여러 비율(1:3, 2:3, 1:5, 2:5)로 혼합하여 교반한 후, 위에서와 같은 방법으로 chitosan/PVA 혼합필름을 형성시켰다.

제조된 필름의 FT-IR spectra 측정

Chitosan/PVA 혼합필름에서의 chitosan과 PVA간의 수소 결합 및 새로운 화학결합의 유무등 혼합양상을 관찰하기 위하여 FT-IR spectrophotometer(Mattson Co. Model Galaxy-series FT-IR 7000)를 이용해 파장 4,000~600 cm⁻¹에서 ATR(Attenuated Total Reflectance) 방법으로 분석하였다.

제조된 필름의 물성 측정

용액의 점도 측정 Chitosan, PVA, 그리고 chitosan/PVA 혼합용액의 점도는 상온(25±2°C)에서 Brookfield (Model DV-II+) 점도계로 rpm을 20에서 100으로 조정하며 측정하였다.

인장강도 및 신장율 측정 Chitosan, PVA, 그리고 chitosan/PVA 필름을 온도 20±2°C, 습도 65±2%에서 24시간 이상 방치한 후 필름 성형가공의 흐름에 수직의 방향(가로방향)으로 시료를 취하여 인장시험을 시행하였다. 인장강도와 신장율은 KS M(Korean Standard M) 3006(9)에 준하여 Instron Universal Testing Machine (Shimadzu Co. AG S-500A)를 이용하여 load cell 500 kg, load cell speed 100 mm/min, chart speed 500 mm/min, grip distance 75 mm의 조건으로 측정하였다. 시험편의 모양은 2호형으로 하였으며, 필름의 인장강도와 신장율의 계산은 다음과 같다.

$$\text{인장강도(kg/cm}^2\text{)} = \frac{\text{절단할 때까지의 최대하중(kg)}}{\text{시험편의 두께(cm)} \times \text{시험편의 폭(cm)}}$$

$$\text{신장율(\%)} =$$

$$\frac{\text{절단할 때의 표점간 거리(mm)} - \text{표점간 거리(mm)}}{\text{표점간 거리(mm)}} \times 100$$

고분자필름의 *B. dothidea*에 대한 항진균성 측정

제조된 필름시료들(3.5×3.5 cm)을 nutrient-salt agar 배지상에 올려 놓고, 전보(4)에 제시된 방법에 따라 제조한 *B. dothidea* 포자현탁액(포자수 2.0×10⁴ /ml) 1 ml과 soft nutrient-salt agar(0.8% agar 포함) 7 ml을 혼합한 용액을 필름시료 위에 부어 접종한 후, 28°C에서 10일간 배양하면서 필름표면에서의 포자 발아와 균사 생육상태를 관찰하였다.

고분자필름의 생분해성 측정

생분해성은 ASTM(American Standard Test Method) G21-90(8)을 변형한 soft agar overlay 방법(10)에 따라 측정하였다. 필름 시료(5×5 cm, 80~90 μm 두께)를 Table 1과 같은 조성의 nutrient-salt agar 배지에 올려 놓고, 생분해성 측정균주로부터 채취한 혼합포자 현탁액(포자수 1.0×10⁶±2.0×10⁵ /ml) 1 ml와 soft nutrient-salt agar(0.8% agar 포함) 7 ml을 섞은 후, 이를 위의 배지위에 부어 접종하였다. 이를 습도가 85% 이상이고 온도가 28°C인 항온항습기에서 4주 내지 5주간 배양하면서 5일 간격으로 필름 표면에서의 곰팡이의 생육정도를 ASTM G21-70에 제시된 바와 같이 5단계로 표시하였다.

고분자피막에 의한 *B. dothidea*의 포자분산 억제 효과 측정

시험포장 및 과수의 선정 경북대학교 부속농장(대구광역시 북구 산격동 소재)내 과수원에 식재된 7년생 왜생 후지종 사과나무중 줄기가 겹무늬썩음병균의 감염에 의해 사마귀 및 조피가 다량 형성된 나무를 선정 시험하였다.

과수의 코팅 처리 상기의 방법에 따라 제조된 5%

Table 1. Nutrient-salt agar medium used for biodegradability test of chitosan, chitosan/PVA and PVA films.

Component	Concentration (g/l)
KH ₂ PO ₄	0.7
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.7
NH ₄ NO ₃	1.0
NaCl	0.005
Fe ₂ SO ₄ ·7H ₂ O	0.002
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.002
MnSO ₄ ·7H ₂ O	0.001
Agar	1.5
Carbon source	—

pH of medium; 6.0~6.5.

(w/v) PVA 용액과 2%(w/v) chitosan 용액, 그리고 chitosan과 PVA를 여러가지 비율로 혼합한 혼합 용액들 (5% PVA+0.5% chitosan, 5% PVA+1% chitosan)을 4월 말경 과목 줄기 중 사마귀와 조피가 다량 형성된 부위에 붓으로 도포하여 피막을 형성시켰다.

수매 포자분산량 조사 피막을 형성시킨 나무줄기 아랫부분에 빗물을 모으는 플라스틱병을 설치하여 빗물을 모았다. 포자발을 억제하기 위하여 빗물이 모이는 플라스틱병에 1g의 CuSO_4 를 첨가하였다. 비가 온 직후 플라스틱병내에 고인 빗물 1ml를 직경 11mm인 membrane filter(Nuclepore, pore size 0.2 μm)로 여과시키고, filter에 부착된 포자를 1% aniline blue로 염색한 후, 광학 현미경($\times 250$)하에서 포자수를 계수하였다.

결과 및 고찰

Chitosan, PVA 및 PVA/chitosan 혼합필름의 물리적 특성

용액의 점도 Fig. 1은 chitosan, PVA 및 chitosan/PVA 혼합용액을 제조하여 각 용액의 점도를 측정된 결과이다. 1.0% 및 2.0% chitosan 용액의 점도는 각각 107.0 ± 10.7 과 611.0 ± 61.1 cps였으며, 5.0% PVA 용액의 점도는 80.8 ± 8 cps였다. Chitosan/PVA 혼합용액의 경우는 PVA 농도를 5.0%로 고정시키고 chitosan을 0.5%, 1.0% 및 2.0%의 농도로 혼합시킬 경우 각 혼합액의 점도는 330.0 ± 33.0 cps, 570 ± 57.0 cps, 그리고 $1,670.0 \pm 167.0$ cps를 나타내어 chitosan의 함량이 높을수록 점도가 급속히 증가됨을 알 수 있었다.

한편 chitosan의 농도를 1.0%로 고정시키고 PVA를 3.0% 및 5.0%의 농도로 혼합시킬 경우 점도는 각각 356.0 ± 35.6 cps와 596.0 ± 59.6 cps를 나타내어 혼합액

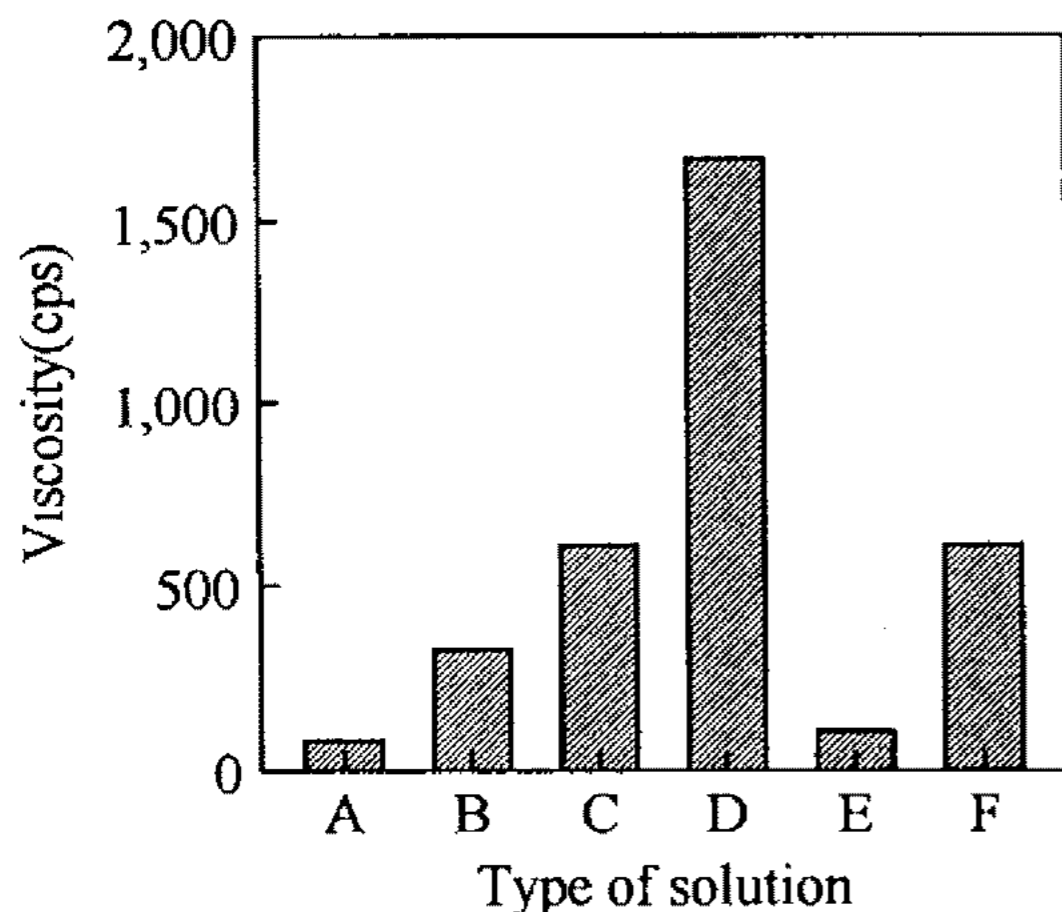


Fig. 1. Viscosity of PVA, chitosan, and chitosan/PVA solution.

A; PVA (5%), B; chitosan/PVA (0.5%/5%), C; chitosan/PVA (1%/5%), D; chitosan/PVA (2%/5%), E; chitosan (1%), F; chitosan (2%)

의 점도에 미치는 PVA의 영향은 chitosan보다 크지 않았다.

필름의 인장강도와 신장율 제조된 chitosan, PVA, 그리고 각종 chitosan/PVA 필름의 인장강도와 신장율을 Table 2에 나타내었다. 필름의 강성을 나타내는 인장강도는 PVA 필름이 885.12 kg/cm^2 , chitosan/PVA 필름이 $739.42 \sim 839.76 \text{ kg/cm}^2$, 그리고 chitosan 필름이 574.49 kg/cm^2 로 PVA 필름의 강도가 가장 높게 나타났으며, chitosan/PVA 혼합필름은 chitosan 필름보다 월등히 향상된 인장강도를 나타내었다. PVA의 농도를 3%로 고정시키고 chitosan의 혼합량을 1%에서 2%로 증가시킬 경우 각 필름의 인장강도는 808.28 kg/cm^2 및 739.42 kg/cm^2 를 나타내어 chitosan의 혼합비가 높아질수록 인장강도가 감소되었다.

필름의 물리적 변형성을 나타내는 신장율은 PVA 필름이 332.7%였고, chitosan/PVA 혼합필름은 89.64~171.85%였으며, chitosan 필름은 15.29%를 나타내어 인장강도의 경우와 유사한 경향을 보였다. 또한 chitosan/PVA 필름의 경우 chitosan의 혼합량이 증가되면 신장율이 감소되는 경향을 나타내었다. 이상의 결과로부터 chitosan에 PVA를 혼합시킴으로써 인장강도와 신장율과 같은 필름의 물성을 향상시킬 수 있음을 알 수 있었다.

Chitosan/PVA 혼합필름의 FT-IR spectra

Fig. 2는 chitosan 용액과 PVA 용액을 여러 비율로 혼합하여 제조한 혼합필름의 결합양상을 FT-IR로 관찰한 결과이다. Chitosan/PVA 혼합필름의 spectra는 PVA와 chitosan 필름의 spectra에 존재하는 band만이 나타났으며, 새롭게 생성된 band는 관찰되지 않았다. 즉 $1,655 \text{ cm}^{-1}$ 의 band는 chitosan 유래의 것인 amide band(6)이고 $1,332 \text{ cm}^{-1}$ 의 band는 PVA의 C-O band

Table 2. Physical properties of chitosan, chitosan/PVA and PVA films.

Film	Mixing concentration (%)		Film thickness (mm)	Tensile strength (kg/cm^2)	Elongation (%)
	PVA	Chitosan			
PVA	5	0	0.127	885.12	332.7
Chitosan	0	3	0.049	574.49	15.29
Chitosan/PVA	3	1	0.072	808.28	128.32
	3	2	0.095	739.42	89.64
	5	1	0.090	810.45	171.85
	5	2	0.088	839.76	133.32

Measured at $20 \pm 5^\circ\text{C}$, $65 \pm 5\%$ RH.

Film direction: width=transverse direction.

Film thickness was measured with Dial Thickness Gauge (Ozaki MFG. Co.; Model G).

Tensile strength and elongation were measured with Instron Testing Machine (Shimadzu Co.).

(11)이며, 수소결합 생성시 나타나는 3,300 cm⁻¹ 파장에서의 band shifting(12)은 관찰되지 않았다. 이와 같은 결과들로 미루어 보아 혼합필름은 chitosan과 PVA 사이의 새로운 화학결합보다는 물리적 혼합에 의하여 필름이 형성된 것을 알 수 있었다.

필름의 *Botryosphaeria dothidea*에 대한 항진균활성

Fig. 3은 제조된 chitosan, PVA, 그리고 chitosan/PVA 혼합필름의 *B. dothidea*에 대한 항진균활성을 검토하기 위하여 nutrient agar 배지에 필름을 얹고 *B. dothidea*의 포자를 접종하여 10일간 배양한 후 균사의 생육상태를 관찰한 결과이다. 필름을 얹지 않은 대조군의 경우는 균사의 성장이 원활히 진행되어 균사가 고루 덮인 것을 관찰할 수 있었고, 또 다른 대조군인 PVA 필름을 얹은

배지위에서도 역시 균사의 성장이 원활히 이루어 졌다. 그러나 chitosan 필름이나 chitosan/PVA 혼합필름을 얹은 배지위에서는 필름이 있는 부위를 제외한 나머지 배지표면에서만 균사가 발아 성장하였고 필름표면과 그 주위에서는 균사가 전혀 자라지 못한 것을 관찰할 수 있었다.

10일간 배양한 후 배지에서 채취한 chitosan 필름과 chitosan/PVA 혼합필름의 표면상태를 광학현미경(×400)하에서 관찰한 결과, 몇몇의 포자는 발아를 하였지만 균사의 성장이 정상적으로 이루어지지 못하고 팽윤되어 있는 것이 관찰되어 항진균활성이 피막상태에서도 유지됨을 알 수 있었다.

토양유래의 각종 곰팡이류에 의한 필름의 생분해성

Table 3은 토양유래의 곰팡이류에 의한 필름의 생분해성을 측정하기 위하여 탄소원이 없는 nutrient-salt agar 배지위에 각각 제조된 필름을 얹고 혼합포자액을

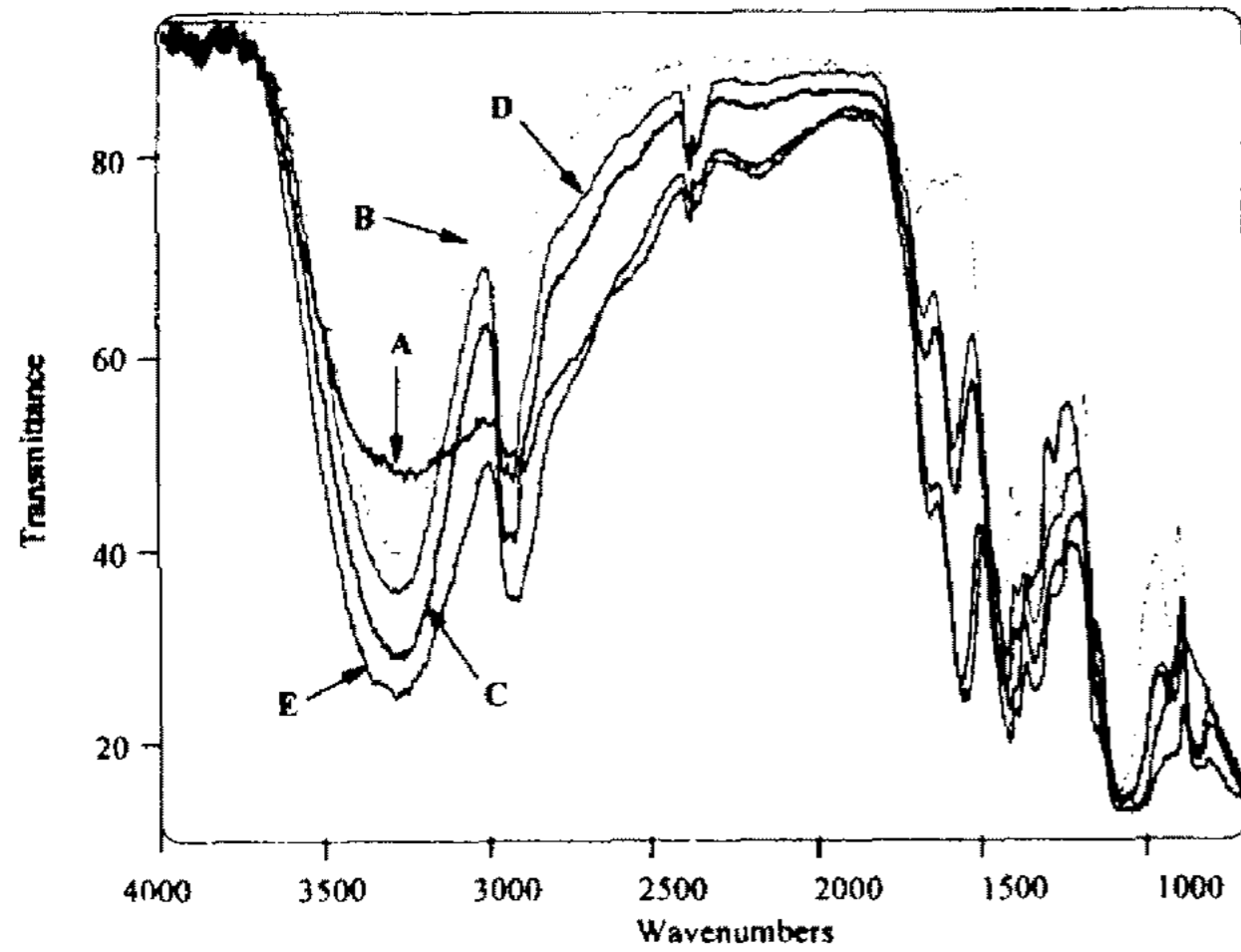


Fig. 2. FT-IR spectra of PVA, chitosan, and chitosan/PVA films.

A; chitosan, B; PVA, C; chitosan/PVA (0.5%/2%), D; chitosan/PVA (1%/2%), E; chitosan/PVA (2%/2%)

Table 3. Fungal degradability of films as measured by soft agar overlay method.

Film	Mixing concentration (%)		Fungal degradability* (days)					
	PVA	Chitosan	5	10	15	20	25	30
PVA	5	0	0	1	1	1	1	1
Chitosan	0	3	1	2	2	3	4	4
Chitosan	3	1	1	1	1	2	2	3
/PVA	3	2	1	1	2	2	3	4
	5	1	1	1	1	1	2	2
	5	2	1	1	1	2	2	2

*Fungal degradability was measured by the degree of fungal coverage on each film in accordance with the guidelines of ASTM G21-90, i.e., 0 (no growth); 1 (less than 10%); 2 (10~30%); 3 (30~60%); 4 (over than 60%).

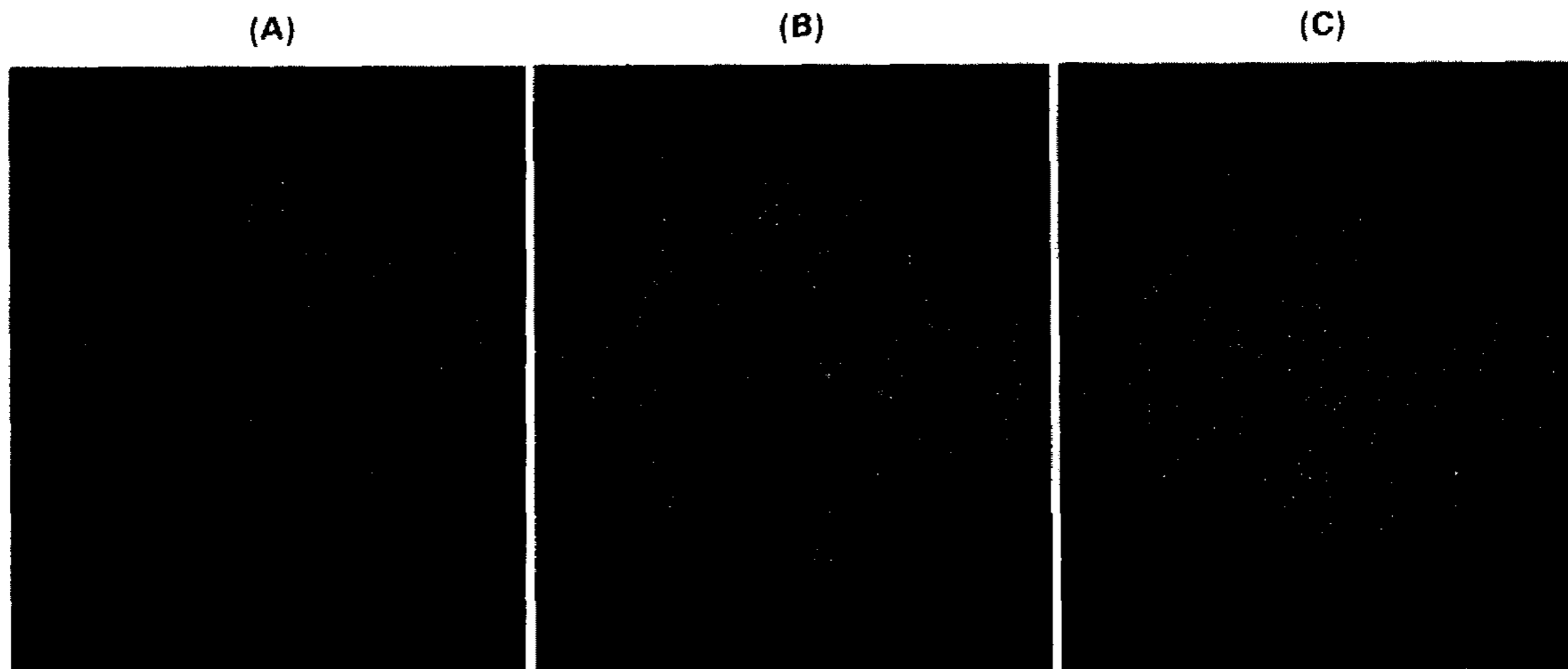


Fig. 3. Hyphal growth of *B. dothidea* on the surface of polymeric films.

Incubated on nutrient agar medium at 28°C for 10 days.

A; chitosan film, B; chitosan/PVA film (1%/5%), C; PVA film.

접종한 후 필름표면에서의 곰팡이들의 생육상태를 관찰한 결과이며, 접종 30일 후의 필름표면에서의 곰팡이들의 생육상태를 Fig. 4에 나타내었다. 곰팡이의 생육은 PVA 필름의 경우 접종 30일후에도 큰 변화가 없었으며, 반면 chitosan 필름의 경우에는 균의 생육이 배양초기부터 점차 진행되어 접종 20일 후에는 균사가 필름 표면의 약 50%를 덮어 왕성한 생육정도를 보였으며, chitosan/PVA 혼합필름의 경우는 접종 초기에는 균사의 생육정도가 낮았으나 접종 15일 후부터는 점차 증대되어 접종 30일후에는 필름 표면의 30~50%를 덮을 만큼 생육하였다.

또한 chitosan/PVA 필름의 경우 chitosan의 혼합량을 증가시킴에 따라 곰팡이의 생육이 왕성하였다. 이와 같은 결과는 chitosan과 PVA의 혼합비율이 chitosan/PVA 필름의 분해 기간과 밀접한 관계가 있음을 의미하며 포장에서의 필름의 내구성을 조절할 수 있는 가능성을 제시한다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때, chitosan과 chitosan/PVA 혼합필름은 사과 겹무늬썩음병균인 *B. dothidea*에 의해서는 분해되지 않고 우수한 항진균활성을 보이지만 자연계에 널리 분포하는 *Aspergillus niger*와 같은 생

분해성 측정에 이용되는 각종 공시균주들에 의해서는 생분해가 진행됨을 확인할 수 있었다. 이와 같은 특성을 가진 chitosan과 chitosan/PVA 혼합필름은 사과 겹무늬썩음병 방제법에 활용할 만한 적합한 소재인 것으로 판단된다.

반면 PVA 필름은 생분해성 측정 공시균주에 의해서는 거의 분해 되지 않았다. 그러나 문헌에 의하면 PVA는 *Pseudomonas* sp.와 같은 토양유래의 세균들에 의하여 분해된다고 알려져 있으며(13, 14), 자연계에서 장기간 방치할 경우 각종 미생물에 의하여 생분해가 진행될 것이 예상된다. 이를 확인하기 위해서 토양 매립에 의한 분해성 실험과 같은 별도의 실험이 요망된다.

과수줄기에 도포된 chitosan, PVA 및 chitosan/PVA 피막의 상태 변화

Fig. 5는 각종 고분자소재의 피막 형성능과 형성된 피막의 지속성을 관찰하기 위하여 사과 나무줄기에 형성된 피막의 초기 상태와 5개월 후의 피막의 상태를 비교한 결과이다. 초기에는 chitosan, PVA, 그리고 chitosan/PVA 혼합용액 모두 단단한 피막을 형성하였으며, 특히 chitosan/PVA 피막의 경우 chitosan이나 PVA 단

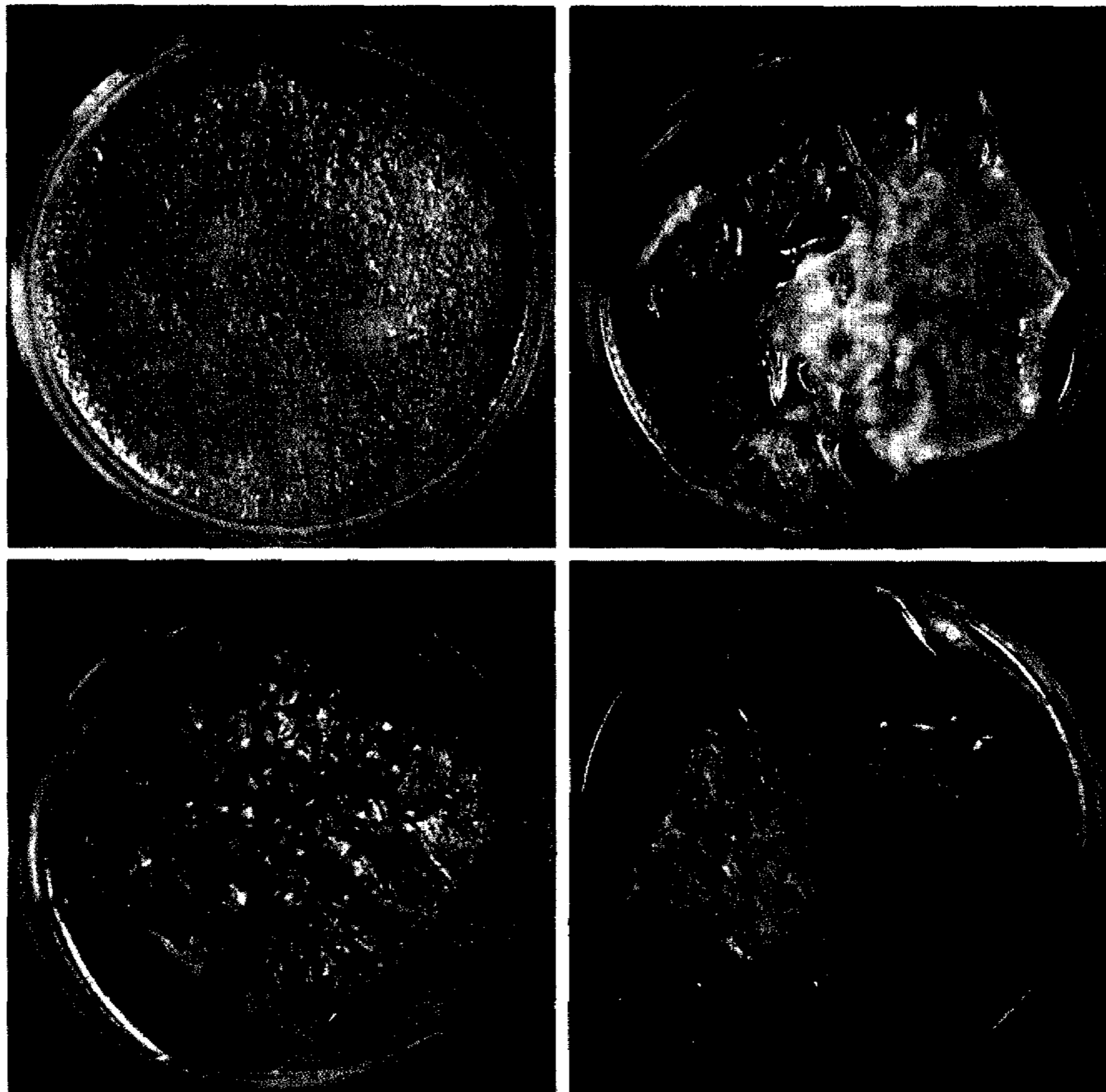


Fig. 4. Hyphal growth of ASTM testing fungi for biodegradability on the surface of polymeric films. Cultivated on nutrient-salt agar without carbon source at 28°C, 85% RH, after 30 days incubation. A; PVA film, B; chitosan film, C; chitosan/PVA film (1%/3%), D; chitosan/PVA film (2%/3%)

독피막에 비해 막이 두껍고 견고하였다. 이는 chitosan/PVA 혼합용액의 점도가 chitosan이나 PVA 용액에 비해 높고 응집력이 강해 피막이 원활하게 형성되었기 때문인 것으로 사료된다.

한편 5개월 후의 피막의 상태를 살펴보면 chitosan 피막은 거의 소실된 반면, PVA 피막의 상태는 비교적 양호하였으며, 특히 chitosan/PVA 혼합피막은 매우 견고한 상태를 유지하여 피막의 지속성이 가장 우수하였다. 이는 필름의 물성 측정결과와 일치되는 결과로 chitosan에 PVA를 혼합함으로써 chitosan 단독피막보다 내구성이 향상된 피막이 형성되었기 때문으로 사료된다. 반면 chitosan 단독피막이 쉽게 소실되는 것은 피막으로서의 물성이 약하여 물리적 자극에 의하여 유실되거나 또한 각종 미생물에 의하여 생분해되기 때문인 것으로 사료된다. 따라서 chitosan을 활용하기 위해서는 도포할 수 있는 chitosan 용액의 농도를 높이거나 chitosan 피막의 물성을 향상시킬 수 있는 방법에 대한 연구가 필요하다.

이상의 결과를 종합하면 chitosan 단독피막을 활용하는 것보다는 항진균활성과 생분해성을 가지고 있으며 인장강도와 신장율과 같은 물성을 향상시킨 chitosan/PVA 혼합피막을 활용하는 것이 바람직할 것으로 판

단된다.

각종 피막의 *Botryosphaeria dothidea* 포자분산 억제효과 비교

피막 도포에 의한 포자분산 억제효과를 측정하기 위하여 4월말경 사과나무 줄기 중 사마귀와 조피가 다량 형성된 부위에 각종 피막을 도포한 후 6월부터 8월까지 약 1개월 간격으로 포자 분산량을 조사한 결과를 Table 4에 나타내었다. 피막을 도포한 나무로부터의 포자 분산량은 피막을 도포하지 않은 나무에 비해 상당량 감소하였는데, 포자분산 억제율은 8월의 경우 chitosan 단독처리군의 72.4%에서부터 최대치인 chitosan/PVA 혼합처리군의 97.0%까지 분포하였다. Chitosan/PVA 혼합피막에 의한 포자분산 억제율은 PVA나 chitosan 단독피막 처리군보다 다소 높았으며, 8월까지의 평균 포자분산 억제율은 약 97%에 달하였다.

Chitosan 단독처리에 의한 포자분산 억제는 피막 처리 1개월 후까지는 매우 효과적이어서 포자분산 억제율이 95%에 이르렀으나, 그 이후로는 억제효과가 감소하여 3개월 후의 억제율은 72.4%였는데, 이는 앞에서 관찰한 바와 같이 피막의 지속력이 떨어지기 때문인 것으로 사료된다. 이와 같이 고분자를 코팅함으

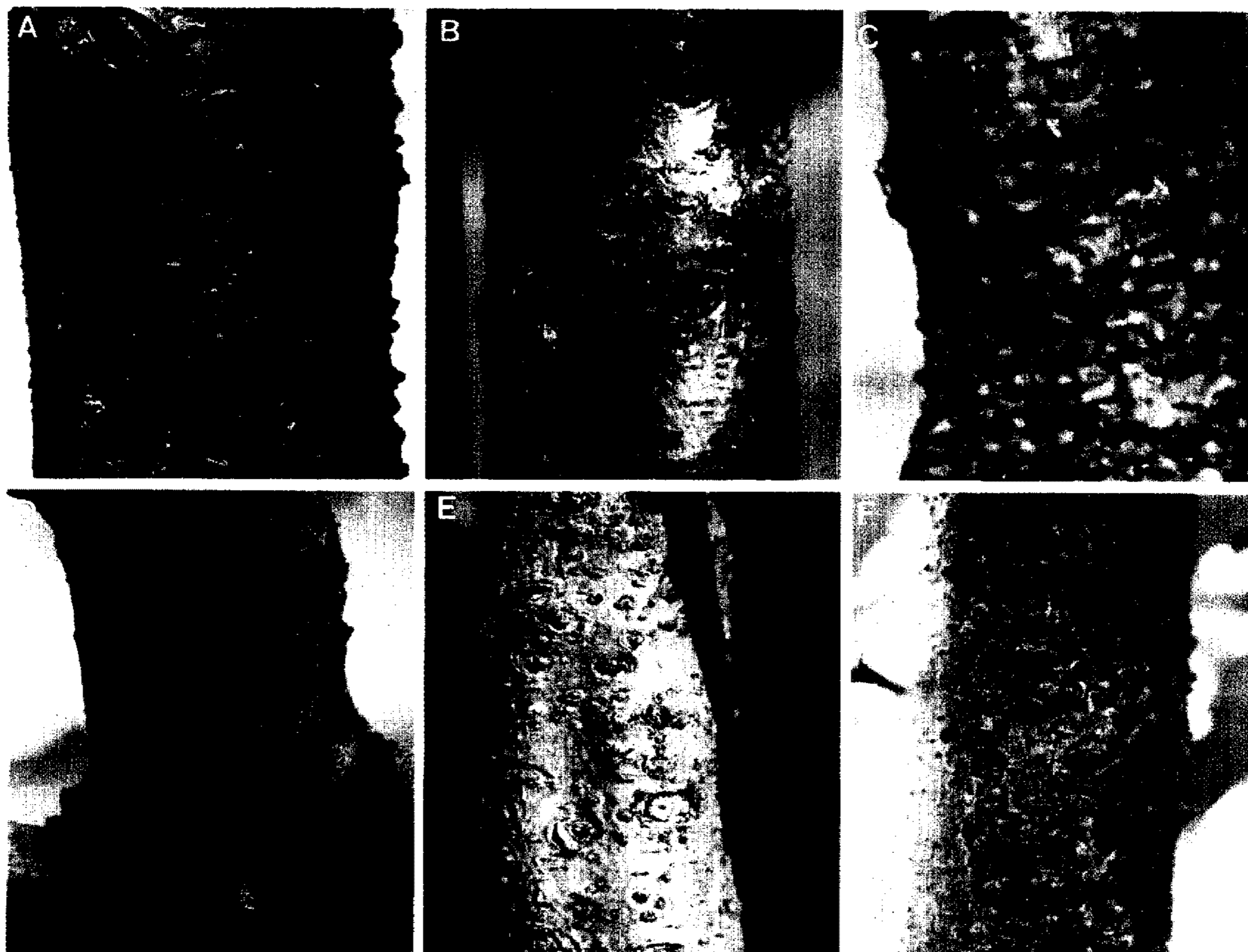


Fig. 5. Comparison of surface states of apple tree infected with *B. dothidea* coated with various films. A, B, and C; in the early stage of coating, D, E, and F; in 5 months later. A and D; coated with PVA (5%), B and E; coated with chitosan(2%), C and F; coated with chitosan/PVA (1%/5%)

Table 4. Anti-dispersal effects of *B. dothidea* spore by chitosan, PVA and chitosan/PVA coating films during field test in an apple orchard.

PVA conc. (%)	Chitosan conc. (%)	The date of spore collection		
		6 June	2 July	9 August
5.0	0.0	21 ^a (95.9) ^b	60(94.2)	2,183(85.2)
5.0	0.5	15 (97.1)	29(98.0)	2,572(82.6)
5.0	1.0	12 (97.7)	117(91.6)	450(97.0)
0.0	2.0	26 (95.0)	818(44.1)	4,075(72.4)
0.0 ^c	0.0	515 (0.0)	1,389(0.0)	14,770(0.0)

The film coating on apple tree was initially treated on 24 April.

^aNo. of spores observed in 1 ml of rainwater runoff

^bInhibition rate (%)

^cControl without films

로써 *B. dothidea*의 포자 분산을 90% 이상 차단할 수 있었으므로 새로운 방제법은 매우 효과적이며 실용가능성이 있을 것으로 생각된다.

이상의 결과들로부터 chitosan/PVA 혼합피막은 고분자 코팅에 의한 사과 겹무늬썩음병 방제법의 코팅소재로써 매우 적합한 특성을 갖고 있음을 확인할 수 있었으며, 이를 실용화하기 위해서는 chitosan/PVA 혼합피막 도포가 사과나무 생육에 미치는 영향, 실제 발병을 억제 효과 및 chitosan이나 PVA가 토양에 집적되었을 경우 토양 환경에 미칠 영향 등에 대한 연구가 앞으로 진행되어야 할 것이다.

요 약

Chitosan을 피막을 형성하여 포자분산을 억제하는 새로운 사과 겹무늬썩음병 방제법의 피막재로 활용코져 연구하였다. Chitosan 필름과 polyvinylalcohol(PVA)을 혼합한 chitosan/PVA 혼합필름을 제조하고 인장강도, 신장율, 점도 등 물성을 검토하였다. Chitosan/PVA 혼합필름이 chitosan 단독 필름보다 우수한 피막형성능을 보였다. FT-IR spectra 분석결과 chitosan과 PVA간에는 새로운 화학결합 형성은 관찰되지 않았다. Chitosan과 chitosan/PVA 필름은 *Botryosphaeria dothidea*에 대한 상당한 항진균활성을 보였다. Chitosan과 chitosan/PVA 필름은 생분해성평가 공시균주들에 의하여 생분해성을 보인 반면 PVA 단독필름은 생분해성을 나타내지 않았다. 위의 각종 피막을 이용하여 과수원에서의 *B. dothidea*의 포자분산 억제효과를 측정된 결과, chitosan/PVA 혼합피막이 우수한 피막형성능과 피막지속성을 보였고, 포자분산 억제효과도 가장 우수하였으며, 1%의 chitosan과 5%의 PVA를 혼합한 피막의 경우 포자분산 억제율은 97.0%에 달하였다.

감사의 말

본 연구는 농림수산부의 1996년도 농수산물개발사업(현장애로사업) 연구비로 수행되었으며, 연구비 지원에 감사드립니다.

참고문헌

- Sutton, T.B. 1981. Production and dispersal of ascospores and conidia by *Physalospora obtusa* and *Botryosphaeria dothidea* in apple orchards. *Phytopathology* 71: 584-589.
- 엄재열, 이준탁. 1993. 미국의 식물검역 기준에 적합한 사과 병해 방제체계 수립. 경상북도, 경북대학교 농업과 학기술연구소. Pp. 3-43.
- 김대회. 1994. 사과 겹무늬썩음병균의 포자형성 및 분산 저지법 개발. 경북대학교 학위논문집.
- 이승지, 엄재열, 이용현. 1996. Chitosan이 사과 겹무늬썩음병균 *Botryosphaeria dothidea* 생육에 미치는 영향. 산업미생물학회지 24: 262-267.
- 김이부. 1995. Polymer coating에 의한 사과 겹무늬썩음병균 포자분산 저지법의 개발. 경북대학교학위논문집.
- 이용현, 정의준. 1994. Chitin/chitosan 유도체의 구조, 분해효소, 이용 및 주류산업에의 활용. 주류공업 14: 73-85.
- Lee, A.H., F. Brian, and C.R. Robert. 1984. Chitosan, a natural regulator in plant-fungal pathogen interactions, increases for crop yields. Pp. 291-302. In P.Z. John (ed.), Chitin, Chitosan, and Related Enzymes, Academic Press, Inc., New York.
- ASTM. 1985. Standard practice for determining resistance of synthetic polymeric materials to fungi. ASTM G21-90. In Annual Book of ASTM Standards. Vol. 06.01. ASTM, Philadelphia. Pp. 1077-1080.
- 한국공업표준협회. 1983. 플라스틱의 인장성 측정 방법. 한국공업규격 KS M 3006. (공업진흥청고시 제83-313호).
- Rhee, Y.H., J.A. Lee, P.J. Maeng, and C.L. Jun. 1990. An improved method for the measurement of fungal degradability of synthetic polymers. *Kor. Jour. Microbiol.* 22: 158-161.
- Oil and Colour Chemists' Association. 1984. Surface coating. Pp. 763-768. In Paints and Their Applications. Vol. 2. Tafe Educational Books, Australia.
- 류영석, 이충우, 홍범식, 윤정원. 1993. Chitin과 cellulose 복합체로부터 새로운 생분해성 chitulose film의 개발. 한국생물공학회지 8: 230-236.
- Masayuki, S., N. Yuji, K. Nobuo, and S. Chikahiro. 1985. Localization of polyvinyl alcohol oxidase produced by a bacterial symbiont, *Pseudomonas* sp. strain VM15C. *Appl. Environ. Microbiol.* 49: 8-10.
- Kiyofumi, S., H. Nobutake, and W. Yasuto. 1985. A new enzyme, β -diketone hydrolase: a component of a poly(vinyl alcohol)-degrading enzyme preparation. *Agric. Biol. Chem.* 49: 1901-1902.

(Received 20 August 1996)