

목초액이 고추의 성장 및 내병성에 미치는 영향

정지현 · 정다은 · 이수진 · 설경조 · 류충민¹ · 박승환¹ · 김사열*
경북대학교 미생물학과, ¹한국생명공학연구원 유전체연구센터

The Effects of Wood Vinegar on Growth and Resistance of Peppers. Jeong, Ji-Hyun, Da-Eun Jeong, Su-Jin Lee, Keyung-Jo Seul, Choong-Min Ryu¹, Seung-Hwan Park¹, and Sa-Youl Ghim*. Department of Microbiology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea*, ¹Laboratory of Microbial Genomics, Systems Microbiology Research Center, KRIBB, Daejeon 305-333, Korea – This study was carried out to investigate the effects of wood vinegar on growth and resistance of peppers. It was observed that heights and dried weights of the peppers treated with diluted wood vinegar were increased, especially 1:500 diluted wood vinegar was the most effective. The Wood vinegar also showed antibacterial activity against *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* directly. The growth of *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* was completely inhibited when incubated for 12 hours at 30°C with non diluted wood vinegar. The peppers applied wood vinegar did not show induced systemic resistance after injecting *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*.

Key words: Wood vinegar, antibacterial activity, induced systemic resistance

산업화와 도시화의 가속으로 인해 각종 공해 및 오염 문제가 날로 심각해지면서 건강과 식품안전에 대한 대중들의 관심이 고조되고 있다. 이러한 관심을 반영하듯 우리 식생활의 많은 부분을 차지하는 농산물의 소비패턴이 과거의 양과 가격중심에서 안전성과 품질중심으로 변화되고 있다. 이와 같은 소비패턴의 변화에 부응하여 안전성과 품질이 보장되는 농산물을 공급하고 농업과 환경을 조화시켜 지속가능한 농업생산을 유도하여 농가소득을 증대하고 대외적으로는 농산물 개방 확대와 같은 농업여건의 변화에 능동적으로 대응하기 위해 친환경농업이라는 새로운 패러다임이 대두되었다('97 환경농업육성법). 그러나 국내의 농업은 아직도 화학비료와 농약에 크게 의존적이며 그 사용량은 세계 최고 수준이다. 2005년 환경지속성지수(ESI)의 농약비료사용량 순위에서 우리나라는 146개 국가 중 농약 사용량 4위, 화학비료 사용량은 9위였으며 OECD 국가 중 농약사용량 1위, 화학비료 사용량은 5위인 것으로 나타났다('06 친환경농업 육성정책, 농림부). 현재 농약이나 화학비료의 사용량이 꾸준히 감소하고는 있으나 사용량의 감소추세가 아직 완만한 수준이어서 농약이나 화학비료를 대신할 효과적인 친환경농자재의 필요성이 부각되고 실정이다.

친환경농자재에 대한 관심이 높아진 상황에서 1990년대 후반부터 목초액의 효능이 알려지기 시작했다. 목초액은 참나무류(*Quercus* spp.), 소나무(*Pinus densiflora*) 등의 천연목재를 400~700°C로 가열하여 탄화시키는 과정에서 발생하는

연기와 수증기를 포집하여 냉각, 응축한 후 이를 정제한 담갈색의 산성 액상 천연물질이다[4]. 목초액은 일반적으로 농업 및 환경정화분야에서 있어 잡초방제, 토양살균 및 개량, 유효 미생물의 증식효과, 종자소독 및 발아촉진, 작물의 병충해방지, 식물생장촉진, 낙과방지, 결실증가, 당도향상, 축산분뇨의 악취제거, 퇴비발효 촉진 등 여러 가지 효능이 있는 것으로 밝혀졌다[1, 4, 6, 7, 9, 10, 14-17]. 실제로 농작물 재배 시 목초액은 주로 병충해를 방지하기 위한 목적으로 사용되었으며, 특히 고추 재배에 가장 많이 사용되는 것으로 나타났다[2].

본 연구에서는 목초액이 고추의 성장 및 내병성에 미치는 영향을 알아보고자 하였다. 목초액이 고추의 내병성에 미치는 영향을 보기위해 직접적으로는 고추에 세균성 점무늬병을 일으키는 *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*에 대한 항균활성을 테스트하였고, 간접적으로는 목초액이 식물체의 면역반응을 유도하여 식물체가 병원균에 저항성을 나타내는지에 대해 전신유도저항(induced systemic resistance, ISR) 활성[12] 여부를 조사하였다.

고추 종자(부강고추, 흥농종묘)를 1.2% NaClO 용액에 10분간 살균한 다음 1차 증류수로 3회 정도 헹구고 하루 동안 1차 증류수에 불렸다. 불린 고추 종자를 1% 한천 배지에서 발아시킨 후, 이를 50구 플러그 묘판으로 옮겨 심었다. 고추 생육에 사용된 상토는 121°C에서 15분간 멸균한 것을 사용하였으며 고추는 30°C에서 일조시간 14시간으로 재배하였다.

목초액은 참나무를 가열하여 탄화시키는 과정에서 얻어진 것으로, 고추의 본엽이 3~4장이 되었을 때 고추 뿌리에 목초 원액과 50배, 100배, 500배, 1000배, 5000배로 희석된

*Corresponding author

Tel: 82-53-950-5374, Fax: 82-53-955-5522

E-mail: ghimsa@mail.knu.ac.kr

목초액을 분주하였다. 목초액의 고추 성장에의 영향을 보기 위한 대조군으로 2차 증류수 10 ml을 고추 뿌리에 처리하였으며 각 처리구는 5개체씩 3회 반복 실험하였다. 고추 뿌리에 목초 원액을 분주한 경우 하루가 지나서 고추가 모두 고사하였으나 희석된 목초액을 적용한 경우 고추의 생장이 촉진되는 것으로 나타났다(Fig. 1). 고추의 생장이 촉진되었음을 보다 명확히 확인하기 위해 목초액을 처리한 고추와 처리하지 않은 고추의 건조중량을 측정하여 비교하였다. 고추의 뿌리를 깨끗이 씻어 토양을 제거한 다음 70°C에서 3일간 건조하며 무게 변화를 관찰하였다. 건조중량을 측정한 결과 대조군에 비해 목초액 처리군이 더 큰 수치를 보여 목초액이 고추의 성장을 촉진시켰음을 확인할 수 있었다(Fig. 2).

한편, 목초액이 직간접적으로 고추의 내병성에 어떤 영향을 미치는지를 보기 위해 항균활성테스트와 ISR 테스트가 수행되었다. 목초액이 직접적으로 *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*에 대한 항균활성을 나타내는지 조사하기 위해 다음과 같은 실험을 수행하였다. 5 ml LB 배지에 *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*를 접종하여 16시간 전배양 하고 전배양액의 1.5 ml를 덜어 30 ml LB 배지에 접종한 후 30°C에서 7시간동안 본 배양하였다. 목초원액, 10배, 50배, 100배, 500배로 희석된 목초액을 96 well plate에 각각 120 µl씩 분주하고 여기에 세균 배양액 120 µl를 넣어 잘 섞어준 다음 ELISA 를 이용하여 매시간 620 nm에서 흡광도를 측정하였다. 동시에 시간별로 균 배양액을 도말하여 생균수를 확인하였다. 대조군으로는 균 배양액 240 µl를 비롯하여 목초원액과 10배, 50배, 100배, 500배로 희석된 목초액 120 µl에 LB 배지가 각각 120 µl씩 첨가된 용액이 사용되었다. 100배와 500배로 희석된 목초액의 경우 *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*에 대한 항균활성이 나타나지 않았으며(data not shown), 목초원액과 10배 희석, 50배 희석된

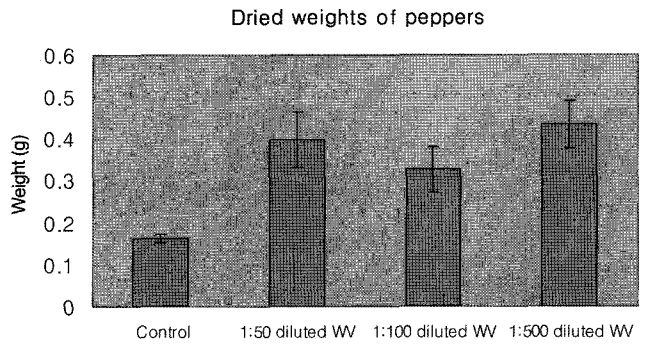


Fig. 2. The effects of wood vinegar (WV) on dried weights of peppers. 1:500 diluted WV were the most effective in growth of peppers.

목초액은 항균활성을 나타내었다(Fig. 3). 특히 목초원액의 경우 흡광도값이 매시간 거의 일정하게 나타났을 뿐만 아니라 생균수 또한 0 CFU/ml을 보여 *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*에 대한 탁월한 항균효과가 있음을 확인하였다. 10배와 50배로 희석된 목초액은 대조군과 비교하여 초기에는 항균활성을 나타내는 것으로 보였으나 시간이 지나면서 활성이 약해지는 양상을 보였다. 목초원액의 경우 pH가 낮아 항균활성에 다소 영향을 줄 수 있으나 증류수로 10배, 50배, 100배, 500배로 희석한 목초액의 경우 pH의 변화는 거의 없음에도 불구하고 항균활성이 약해지거나 사라지는 것으로 보아 단순히 낮은 pH로 인해 항균활성이 나타나는 것은 아닌 것으로 생각된다.

목초액이 *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*에 대하여 직접적인 항균활성을 나타냄과 동시에 간접적으로 식물의 면역체에 영향을 주어 *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*에 저항성을 갖도록 하는지 여부를 살펴보기 위해 ISR 활성 테스트를 수

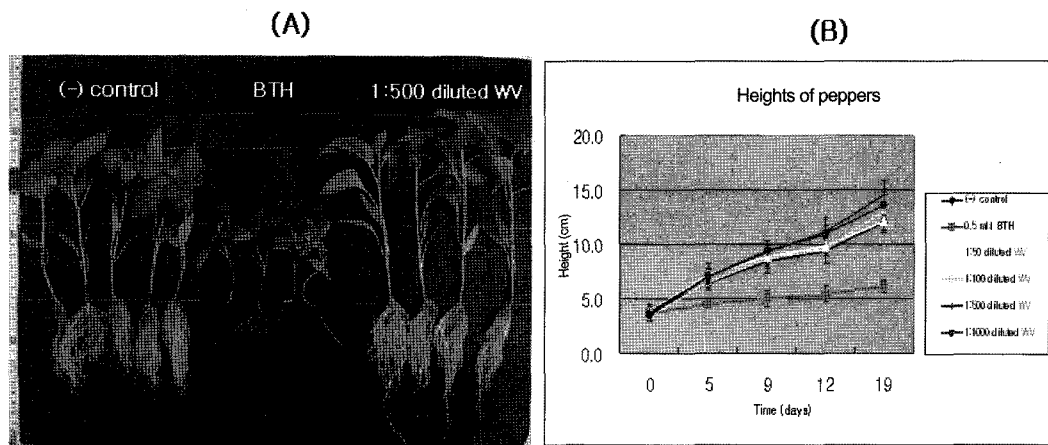


Fig. 1. The effects of wood vinegar (WV) on heights of peppers. Panel (A) and (B) show that 1:500 diluted WV were the most effective in growth of peppers.

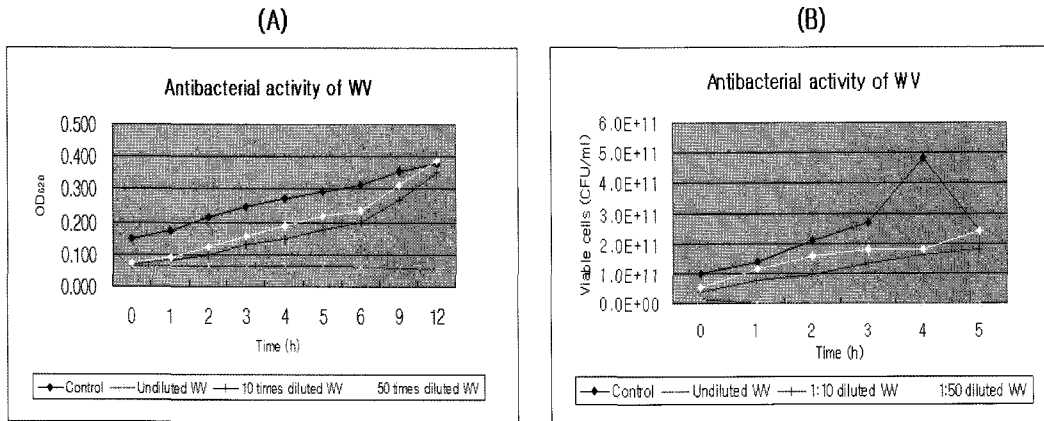


Fig. 3. Antibacterial activity of Wood vinegar (WV) against *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*. Panel (A) and Panel (B) shows that 1:500 diluted WV inhibited growth of *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* effectively. 1:10 and 1:50 diluted WV showed low antibacterial activities.

행하였다. 앞서 설명한 바와 같이 고추의 본엽이 3~4장이 되었을 때 목초액을 적용하고, 적용 1주일 후 고추의 본엽이 약 5~6장이 되었을 때 *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*를 고추에 주입하여 식물체에서 일어나는 면역반응을 관찰하고자 하였다. 이 병원성 균주는 15% glycerol stock 후 -70°C에 보관된 것을 1.5% 한천이 첨가된 LB 배지(bactotryptone 1%, yeast extract 0.5%, sodium chloride 0.5%, D-glucose 0.1%)로 옮겨 30°C에서 2회 이상 평판 배양하여 사용하였다. 먼저 고체 배지에서 단일 콜로니를 취하여 5 ml LB 배지에 접종하여 병원균이 10⁵ CFU/ml이 되도록 배양하였다. 배양액을 4°C에서 8,000 rpm으로 10분 동안 원심분리를 하여 상등액을 버리고 0.85% saline 용액을 이용하여 cell pellet을 washing 하였다. 고추 한 개체당 크기가 비슷한 2장의 잎을 선별하여 고추의 잎 뒷면에 비늘을 제거한 1 ml 주사기로 잎 전체에 세포 부유액이 퍼지도록 주사한 후 병징을 관찰하였다[8]. 대조군으로 식물체내에서 질병 저항성 유전자의 발현을 유도하여 병원균의 감염에도 저항성을 나타내는 물질인 0.5 mM BTH 용액[11] 10 ml를 고추 뿌리에 부어주고 일주일 뒤 병원균을 접종하여 목초액 처리군과 병징을 비교하여 보았다. BTH를 처리한 경우에는 병원균을 접종한 후 일주일 이 지나도 뚜렷한 병징이 나타나지 않았지만 희석한 목초액을 처리한 경우 병원균을 접종한 후 일주일 이 지나면서 병징이 나타나기 시작했으며 BTH 처리군과 비교하여 보았을 때 희석배율에 상관없이 모두 ISR 활성을 나타내지 않는 것으로 확인되었다(Fig. 4).

본 연구에서는 목초액이 고추의 생장에 미치는 영향을 알아보았다. 이[3]와 정[10] 등이 보고한 바와 마찬가지로 목초액을 고추에 적용하였을 때, 고추의 신장 및 건조중량이 대조군에 비해 증가함을 확인할 수 있었다. 아울러 목초액이 고추의 내병성에 어떠한 영향을 미치는지 알아보려고 수행한 항균활성 실험에서 목초원액이 *X. axonopodis* pv.

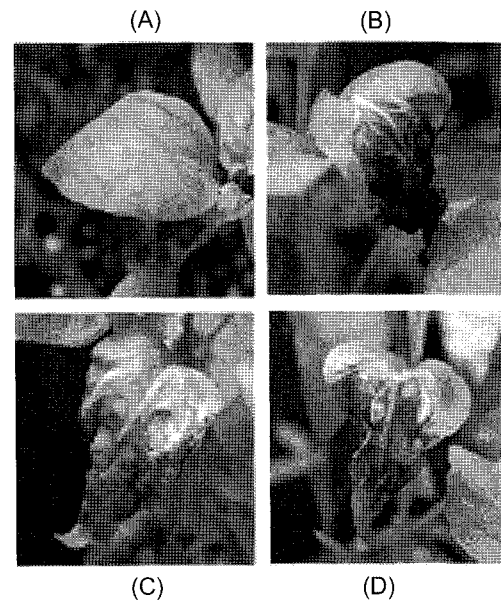


Fig. 4. ISR activity of wood vinegar (WV) against *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*. Panel (A) The leaf of pepper treated with 0.5 mM BTH. Panel (B) The leaf of pepper treated with 1:100 diluted WV. Panel (C) The leaf of pepper treated with 1:500 diluted WV. Panel (D) The leaf of pepper treated with 1:1000 diluted WV. The leaves treated with BTH were symptomless (positive control). But the other leaves treated with diluted WV showed severe symptoms. ISR activity was not observed.

*vesicatoria*에 대해 높은 항균활성을 나타냄을 알 수 있었다. 이는 목초액이 고추에 발생하는 세균성 점무늬병의 방제에 사용될 수 있음을 보여준다. 또한 ISR이라는 새로운 관점에서 목초액을 고추에 적용해 보는 실험을 수행하였으나 목초액이 ISR 활성을 보이지 않음을 확인하였다. 목초액은 고추의 생장을 촉진하고 *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*에 대한 직접적인 항균활성을 보이는 등 비료와 농약을 대체 할 천연농자재로서의 활용 가능성이 있으므로 앞으로 더 많은 연

구가 지속적으로 이루어져야 할 것이다.

감사의 글

본 연구는 농림부 농림기술개발사업(과제번호: 3060060 41HD120)의 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사 드립니다.

REFERENCES

- Huh, K. S., E. D. Jeong, and U. H. Paek. 1999. A study on odor removal of landfill site leachate by pyroligneous liquor. *J. Kor. Environ. Sci. Soc.* **8**: 607-610.
- Jang C. S. and H. D. Seok. 2001. Policy directions for the general use of charcoal and wood tar in agriculture and livestock. *山林經濟研究* **9**: 28-37.
- Jeong, C. S., I. J. Yun, J. N. Park, H. K. Jang, J. P. Kang, S. J. Lee, T. S. Jo, and B. J. Ahn. 2006. Effect of wood vinegar and charcoal on growth and quality of sweet pepper. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* **24**: 177-180.
- Jun, S. J., G. H. Lee, and G. S. Sel. 1998. Pathogen, insect control in plants and apple, pear freshness maintenance by pyroligneous liquor. *Res. Natural. Resour.* **1**: 91-97.
- Kim, J. S., S. W. Park, J. H. Choi, E. Y. Lee, S. H. Lee, and S. K. Chung. 2005. Volatile substances and physicochemical characteristics of pyroligneous liquor. *Kor. J. Food Preserv.* **12**: 656-661.
- Kim, Y. C. and J. W. Lee. 1993. Pyroligneous liquor in low pesticide which it contributes in quality production. *Kor. Material Horticult. Res. Assoc.* **6**: 105-119.
- Lee, J. C. 1998. Soil preservation by pyroligneous liquor and charcoal. *Res. Natural Resour.* **1**: 85-89.
- Lee, S. C and B. K. Hwang. 2005. Induced of some defense-related genes and oxidative burst is required for the establishment of systemic acquired resistance in *Capsicum annuum*. *Planta* **221**: 790-800.
- Lee, S. Y., J. K. Lee, S. K. Lee, S. G. Ye, J. H. Jung, and B. H. Hwang. 2004. Effects of wood vinegar from *Quercus mongolica* on the growth of plant pathogens and radish seedlings. *J. Kor. For. Soc.* **93**: 380-386.
- Lee, Y. S., K. S. Kim, H. J. Kim, J. W. Kim, S. H. Chung, and S. J. Lee. 1999. Effects of charcoal and charcoal wood extracts on the population change of bacteria and hot pepper plant growth and root and fruit development. *J. Agr. Sci. Inst. of Agr. Sci. Kangwon Nat. Univ.* **10**: 78-81.
- Padidam M. 2003. Chemically regulated gene expression in plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* **6**: 169-177.
- Ryu, C. M., J. F. Murphy, K. S. Mysore, and J. W. Kloepper. 2004. Plant growth-promoting rhizobacteria systemically protect *Arabidopsis thaliana* against Cucumber mosaic virus by a salicylic acid and NPR1-independent and jasmonic acid-dependent signaling pathway. *Plant J.* **39**: 381-392.
- Takahara, Y., K. Katoh, R. Inaba, and H. Iwata. 1993. Study on odor control using wood vinegars. *Jpn. J. Public Health* **40**: 29-38.
- Yu, S. H. 1998. Development general control of disease and insect by unpolluted biological resources in organic agriculture. Control of tomato leaf mold using disease gray blight, cucumber powdery mildew and *Trialeurodes vaporariorum*, tomato root-knot nematodes of chitosan, vinegar, pyroligneous liquor. *Kor. J. Plant Pathol.* **14**: 24-28.
- Yun, B. K., I. J. Park, Y. K. Yoo, W. N. Hou, B. W. Kim, and Y. W. Kim. 2004. Effect of application levels of wood charcoal powder on onion (*Allium cepa* L.) growth and soil physicochemical properties. *Kor. J. Intl. Agri.* **16**: 162-167.
- Yun, B. K., I. J. Park, Y. K. Yoo, W. N. Hou, B. W. Kim, and Y. W. Kim. 2004. Effect of particle size of wood charcoal powder for onion (*Allium cepa* L.) growth and soil physicochemical properties. *Kor. J. Intl. Agri.* **16**: 222-228.
- Yun, B. K., I. J. Park, Y. K. Yoo, W. N. Hou, B. W. Kim, and Y. W. Kim. 2004. Onion (*Allium cepa* L.) growth and soil physicochemical properties by application of wood charcoal powder made from five tree species. *Kor. J. Intl. Agri.* **16**: 229-235.

(Received Feb. 20, 2007/Accepted Mar. 20, 2007)