

## 감귤 녹색곰팡이병 방제를 위한 천산용 추출물의 실용적 적용

이지현 · 강성우 · 송정영 · 김흥기\*

충남대학교 농업생명과학대학 응용생물학과

Practical Application of *Dioscorea quinqueloba* Extract for the Control of Citrus Green Mold

Ji Hyun Lee, Sung Woo Kang, Jeong Young Song and Hong Gi Kim\*

Department of Applied Biology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

(Received on May 14, 2012; Revised on November 14, 2012; Accepted on November 15, 2012)

This study tested the antifungal compound obtained from a medicinal plant, *Dioscorea quinqueloba* Thunb., in order to search the possibility of practical application of this product in agriculture through evaluating its activity using the citrus fruits. The extract of *D. quinqueloba* Thunb., which has the strongest antifungal activity, was selected as a candidate among 101 plant extracts. Based on this examination concerning antifungal activity of the product on *Penicillium digitatum* *in vitro*, it was confirmed its effect of mycelial growth inhibition showed over 87% at 0.5 mg/ml concentration. This natural product showed the stability of the substance, as it was not significantly influenced by pH, temperature, or ultraviolet radiation. While citrus fruits were stored at room temperature, *P. digitatum* was inoculated into them in order to prepare a similar environmental conditions with epidemic occurrence of the mold. As the result of our investigation, the disease preventive effects of the active antifungal substance evidenced a 100% at 0.5 mg/ml. When the phytotoxicity of the selected natural product on citrus at 2 mg/ml was assessed, we noted no toxic effects. Based on the superior preventive effects from this natural product extracted from the plant, it is presumed to be very useful in agricultural applications for the control of green mold, *P. digitatum*, which has been occurred often the biggest problem in the storage of citrus fruits.

**Keywords :** Biological control, *Dioscorea quinqueloba* Thunb., *Penicillium digitatum*, Plant extract, Storage disease

## 서 론

*Penicillium*속 균들에 의한 병들은 작물의 생육기간보다는 수확 후 포장, 저장 및 운송되는 과정 중에 상처를 통해 주로 발생된다(Paster와 Bullerman, 1988). 감귤류에서도 녹색곰팡이병을 일으키는 *P. digitatum*과 푸른곰팡이병을 일으키는 *P. italicum*에 의한 피해는 심각하여 저장기간 동안 발생하는 손실의 90% 이상을 차지하고 있다(Brown과 Eckert, 2000). 특히 *P. digitatum*은 *Penicillium*속 병원균들 중에서 가장 강력한 병원성을 지니고 있고, 전염력 또한 매우 강해 이 병원균에 의해 경제적인 손실이 가장

크게 발생한다.

과거에는 주요 감귤 저장병인 녹색곰팡이병 방제를 위해 유기합성농약인 imazalil, thiabendazole, pyrimethanil, fludioxonil과 sodium *o*-phenylphenate의 단제 및 혼합제가 효과적인 방제제로 널리 사용되어졌다(Larrigaudière 등, 2002; Palou 등, 2001; Smilanick 등, 2006). 그러나 imazalil, thiabendazole과 sodium *o*-phenylphenate에 대한 약제 저항성을 나타내는 *P. digitatum* 균이 발생함에 따라 효과적인 방제에 문제점이 제기되었다(Fogliata 등, 2001; Kinay 등, 2007). 최근 들어 전세계적으로 소비자의 환경문제에 대한 인식이 증가하고, 건강에 대한 관심 또한 매우 높아지게 되자 소비자의 요구를 만족시키며 환경에 대한 위험성을 감소시킬 수 있는 유기합성농약을 대체할만한 방제제 개발이 절실히 요구되었다(Holmes와 Eckert, 1999; Hao 등, 2011).

\*Corresponding author

Phone) +82-42-821-5768, Fax) +82-42-823-8679

Email) hgkim@cnu.ac.kr

식물추출물과 미생물을 이용한 생물학적 방제는 저독성이면서 친환경적인 방제법으로 가장 각광받으며 다양한 연구가 시도되었으며(Costa 등, 2001; Janisiewicz와 Korsten, 2002), 식물 추출물로서는 essential oil이 비교적 많이 분리되어 광범위한 항균활성 효과가 밝혀졌지만, 그 대부분이 식품첨가물로서는 이용될 뿐 작물의 병 방제를 위해서는 최근 methyl eugenol과 fennel, thyme 등이 식물병원균에 광범위한 항균활성을 보유한 것으로 보고되고 있다(Kim 등, 2009; Tzortzakis, 2007; Yahyazadeh, 2008). 또한 과일의 병에 대한 저항성을 향상시키기 위해 식물생장을 조절하는 jasmonic acid(JA; Droby 등, 1999),  $\beta$ -aminobutyric acid(BABA; Porat 등, 1999b)와 같은 천연 화합물을 이용하거나 ultraviolet(UV) (Droby 등, 1993; Porat 등, 1999a)나 뜨거운 물 세척(Porat 등, 2000) 등의 물리적인 방제법에 관한 연구가 수행된 바 있다.

최근에는 그 유용한 특성들이 밝혀지면서 국내·외적으로 식물유래 천연물을 이용한 식물병 방제가 시도되고 있으며 그 중요성과 가능성 또한 점차 부각되고 있다. 그러나 다양한 식물체의 종류에 비해 천연물의 이용가치에 관한 연구는 극히 미미한 실정임에도 불구하고 이 또한 식물병이나 가축질병에 대한 방제제로서의 연구보다는 사람에 대한 약리작용의 연구가 중시되었던 점을 고려하면 식물유래 천연물질을 이용한 식물병 방제방법의 개발 가능성은 더욱 높으며 그 의미가 크다(Mekbib 등, 2007). 특히 세계적인 추세에 따라 병해 종합관리 방법이 인체에 무해하고 환경친화적인 생물적 방제법과 함께 이용되기 때문에 인체에 무해한 식물유래 친환경 천연물농약의 개발은 필수적인 상황이다.

단풍마(*Dioscorea quinqueloba* Thunb.)의 뿌리인 천산용은 다수의 steroid saponin을 함유하고 있으며(Sautour 등, 2007), 그동안 한약제나 건강식품으로 널리 사용되어져 왔다(Kum 등, 2006). 그러나 아직까지 그로부터 항균물질이 추출되어 식물병해 방제제 등 농업용으로 사용된 적은 없다.

이 연구는 국내 감귤 저장에서 가장 큰 피해를 주고 있는 *P. digitatum*에 의한 감귤 녹색곰팡이병 방제를 위하여 *P. digitatum*에 항균활성을 보이는 약용식물 천산용(*Dioscorea quinqueloba* Thunb.) 추출물의 현장 적용가능성을 확인하고자 실시하였다.

## 재료 및 방법

**최적 식물체 추출물 선발.** 충남대학교 식물병리학 연구실에 추출, 보관 중이거나 국립원예특작과학원 인삼특

작부 인삼약초가공팀으로부터 분양받은 총 101가지의 methanol 식물추출물을 본 실험에 시료로 사용하였다(Table 1). 식물추출물의 항균활성을 검정하기 위해 공시균주 *P. digitatum* KACC 41898을 potato dextrose agar(PDA, Difco Co.) 배지에 접종하여 25°C에서 7일간 배양한 다음 멸균수에 포자를 수거하여 포자 현탁액을 준비하였다. 이를 이용하여 PDA 100 ml당  $6 \times 10^5$ 개의 포자를 함유하는 혼합배지를 만든 후 식물추출물을 점적하여 건조시킨 paper disc(8 mm, ADVANTEC®)를 치상하고 25°C에서 7일간 배양하여 병원균에 대한 저지원의 지름을 측정, 가장 강한 활성을 보인 천산용(*Dioscorea quinqueloba* Thunb.) 추출물을 선발하였다.

**천산용 추출물의 In vitro 상 *P. digitatum* 억제효과.** 감귤 저장병원 *P. digitatum*에 대한 천산용 추출물의 농도별 방제효과를 확인하기 위해 각각 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mg/ml 농도의 천산용 추출물 원액을 함유한 PDA 배지를 만들고 대조구는 다른 성분이 함유되지 않은 PDA 배지를 사용하였다. 배지 중앙에 *P. digitatum*을 접종한 다음 25°C에서 2주간 배양시킨 균사의 균사생장 정도를 측정하고 생장억제율을 조사하였다.

**천산용 추출물의 안정성 및 특성 조사.** 항균물질의 pH에 대한 안정성을 알아보기 위하여 pH 3.0~7.0로 조절된 PDA 배지에 0.2 mg/ml의 천산용 추출물을 혼합하여 분주한 후 *P. digitatum* KACC 41898을 접종하여 균사생육 억제정도를 검정하였으며, 대조구는 pH를 조절하지 않은 PDA 배지를 사용하였다.

항균활성 물질의 온도에 대한 안정성을 밝히고자 천산용 추출물 0.2 mg/ml을 함유한 PDA 배지를 121°C, 20분간 고압멸균한 후 *P. digitatum*을 접종하여 균사생육 억제활성을 분석하였는데 배지 온도가 50°C일 때 동일한 농도의 활성물질을 혼합한 대조구와 비교하여 항균특성의 변화여부를 분석하였다.

UV에 대한 안정성을 확인하기 위해 UV와 햇빛에서 24시간 노출시킨 활성물질 0.2 mg/ml을 PDA 배지에 혼합하여 *P. digitatum*을 접종한 다음, 균사생육 억제활성을 검정하였다. UV 및 햇빛에 노출되지 않은 활성물질을 같은 농도로 혼합한 PDA배지를 대조구로 이용하였다.

천산용 추출물을 점적하여 건조시킨 paper disc를 petri dish 뚜껑 안쪽에 부착시켜 *P. digitatum*에 대한 균사생육 억제율을 조사하여 휘발성 유무를 확인하였다.

**저장병 자연발생 시 물질농도별 방제효과.** 저장병의 자연발생 상태 하에서 천산용 추출물의 농도별 방제효과를 확인하고자 활성물질을 각각 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mg/ml 농도로 EtOH 10%에 희석하여 준비하였다. 상처가 없

**Table 1.** Antifungal activity of plant extracts against *Penicillium digitatum*

Scientific name	Inhibition zone <sup>a</sup>	Scientific name	Inhibition zone <sup>a</sup>
<i>Datura stramonium</i> var. <i>chalybea</i> Koch	-	<i>Senna occidentalis</i> L.	-
<i>Lysimachia barystachys</i> Bunge	-	<i>Angelica acutiloba</i> Kitagawa	-
<i>Amorpha fruticosa</i> L.	-	<i>Lespedeza cuneata</i> G Don	-
<i>Acer tataricum</i> subsp. <i>ginnala</i> (Maxim.) Wesm.	-	<i>Albizia julibrissin</i> Durazz.	+
<i>Brassica campestris</i> subsp. <i>napus</i> var. <i>nippo-oleifera</i> Makino	-	<i>Asparagus officinalis</i> L.	-
<i>Artemisia dracunculus</i>	-	<i>Potentilla chinensis</i> Ser.	-
<i>Artemisia capillaris</i> Thunb.	-	<i>Patrinia rupestris</i> (Pall.) Juss.	-
<i>Lespedeza bicolor</i> Turcz.	-	<i>Hibiscus manihot</i> L.	-
<i>Artemisia japonica</i> var. <i>manshurica</i> Kitam.	-	<i>Aruncus dioicus</i> var. <i>kamtschaticus</i> Hara	-
<i>Artemisia sieversiana</i> Ehrh. ex Willd.	-	<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	-
<i>Lonicera maaackii</i> (Rupr.) Maxim.	-	<i>Dianthus japonicus</i> Thunb.	-
<i>Vicia unijuga</i> A. Braun	-	<i>Boehmeria tricuspis</i> (Hance) Makino	-
<i>Thalictrum aquilegifolium</i> var. <i>sibiricum</i>	-	<i>Solanum nigrum</i> L. var. <i>nigrum</i>	++
<i>Hieracium umbellatum</i> L.	-	<i>Rubia cordifolia</i> var. <i>pratensis</i> Maxim.	-
<i>Acer triflorum</i> Kom.	-	<i>Rubus coreanus</i> Miq.	-
<i>Rubia akane</i> Nakai	-	<i>Persicaria thunbergii</i> (Siebold & Zucc.)	-
<i>Potentilla supina</i> L.	-	<i>Psoralea corylifolia</i> L.	-
<i>Sorbaria sorbifolia</i> var. <i>stellipila</i> Maxim.	-	<i>Euphorbia pekinensis</i> Rupr.	-
<i>Alnus sibirica</i> Fisch. ex Turcz.	-	<i>Scabiosa tschiliensis</i>	-
<i>Cornus controversa</i> Hemsl. ex Prain	-	<i>Penthorum chinense</i> Pursh	+
<i>Eleutherococcus divaricatus</i> var. <i>chiisanensis</i> (Nakai)	-	<i>Draba nemorosa</i> L.	-
<i>Cleyera japonica</i> Thunb.	-	<i>Verbesina alternifolia</i> Britton	-
<i>Quercus myrsinaefolia</i> Blume	-	<i>Serratula coronata</i> var. <i>Insularis</i> Kitamura	-
<i>Suaeda maritima</i> (L.) Dumort.	-	<i>Rudbeckia laciniata</i> L.	-
<i>Betula platyphylla</i> var. <i>japonica</i> (Miq.) Hara	-	<i>Aster tartaricus</i> L.	-
<i>Ambrosia trifida</i> L. var. <i>trifida</i>	-	<i>Achillea alpina</i> var. <i>discoidea</i> (Regel) Kitam.	-
<i>Limum usitatissimum</i> L.	-	<i>Ipomea aquatica</i> Forsk	-
<i>Senecio vulgaris</i> L.	-	<i>Campsis grandiflora</i> (Thunb.) K. Loisel	-
<i>Cudrania tricuspidata</i> (Carr.)	-	<i>Zelkova serrata</i> (Thunb.) Makino	-
<i>Saururus chinensis</i> (Lour.) Baill.	-	<i>Asparagus oligoclonos</i> Maxim.	-
<i>Silene armeria</i> L.	-	<i>Viola patrinii</i> DC.	-
<i>Abelmoschus esculentus</i>	-	<i>Valeriana officinalis</i> var. <i>latifolia</i> MIQ.	-
<i>Chrysanthemum burbankii</i> Makino	-	<i>Patrinia saniculaefolia</i> Hemsl.	++
<i>Tanacetum bungeia</i>	-	<i>Angelica gigas</i> Nakai	-
<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni	-	<i>Coriandrum astivum</i> L.	-
<i>Platycodon grandiflorum</i> A.D.C.	-	<i>Angelica dahurica</i>	-
<i>Momordica charantia</i> L.	-	<i>Oenanthe javanica</i> (Blume) DC.	-
<i>Althaea rosea</i> Cav.	-	<i>Bupleurum falcatum</i> L.	-
<i>Symurus deltooides</i> (Aiton) Nakai	-	<i>Physalis alkekengi</i> L. var. <i>franchetii</i> Mort	-
<i>Achyranthes japonica</i> (Miq.) Nakai	-	<i>Rehmannia glutinosa</i> (Gaertner) Liboschitz	-
<i>Gomphrena globosa</i> L.	-	<i>Astilbe chinensis</i> var. <i>coreana</i>	-
<i>Rosa multiflora</i> Thunb. var. <i>multiflora</i>	-	<i>Phellodendron amurense</i> Rupr.	-
<i>Polygonatum odoratum</i> var. <i>pluriflorum</i>	-	<i>Ruta graveolens</i> L.	-
<i>Taraxacum officinale</i> Weber	-	<i>Geum japonicum</i> Thunb.	-
<i>Campamula takesimana</i> Nakai	-	<i>Clematis apiifolia</i> DC.	-
<i>Equisetum arvense</i> Linne	-	<i>Lysimachia clethroides</i> Duby	-
<i>Prunus mume</i> Sieb. et Zucc	-	<i>Lysimachia vulgaris</i> var. <i>davurica</i> (Led.) R. Knuth.	-
<i>Sedum sarmentosum</i> Bunge	-	<i>Hibiscus trionum</i> L.	-
<i>Vitex rotundifolia</i> L. fil.	-	<i>Geranium krameri</i> Fr. et Sav.	-
<i>Cornus officinalis</i> Sieb et Zucc	-	<b><i>Dioscorea quinqueloba</i> Thunb.</b>	+++
<i>Caryopteris incana</i> (Thunb.) Miq.	-		

<sup>a</sup>Growth inhibition was determined on 7 days after incubation at 25°C. Inhibition zone; -: 0 mm, +: <10 mm, ++: <20 mm, +++: ≥20 mm.

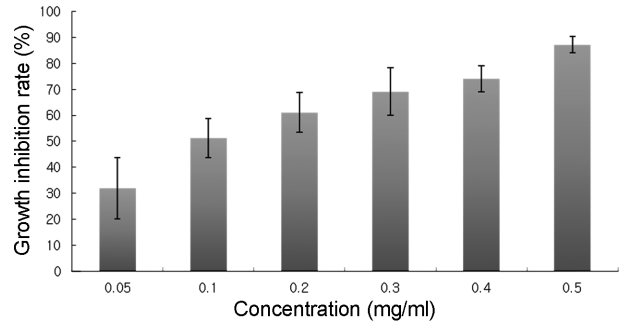
는 감귤(품종: 온주밀감)에 농도별 물질 제제 stock을 감귤 1개당 1 ml씩 분무처리하였고, 처리구 당 15반복씩 수행하였다. 대조약제는 현재 시판되고 있는 iminoctadine tris와 prochloraz manganese complex를 각각 1,000배 농도로 희석하여 사용하였다. 감귤은 밀봉한 상태로 온도와 습도가 유지되는 발병 최적 조건의 실온(22°C)에서 10일간 자연발생시 감귤의 녹색곰팡이병에 대한 방제효과를 조사하였으며 2차례에 걸쳐 3반복 수행하였다.

**병원균 접종 후 감귤 저장병 방제효과.** 병원균이 접종된 상태에서의 방제효과를 확인하고자 *P. digitatum*을 PDA 배지에 접종하여 25°C에서 2주간 키운 후 멸균수로 포자를 수거하여  $1 \times 10^3$ ,  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$  spores/ml로 조정하였으며 접종원을 감귤에 분무접종한 다음 22°C와 포화습도를 유지시켜 발생 최적의 환경을 만들어 주었다. 균 접종 7시간 경과 후, 0.3, 0.4, 0.5 mg/ml 농도의 활성물질 제제 stock을 감귤에 분무 살포하였다. 표면의 물기를 자연건조 시킨 다음 시판중인 감귤 상자에 넣어 실험이 진행되는 동안 습도를 충분히 유지시킨 상태에서 22°C로 보관하였다. 활성물질 제제는 1회 살포하였으며, 실험은 3반복으로 수행하였다.

**약해검정.** 과실에 대한 약해발생 유무를 검정하기 위하여 0.5% 차아염소산나트륨(NaOCl)에 3분간 표면소독한 감귤에 1 mg/ml과 배량인 2 mg/ml 농도의 활성물질을 감귤 과실에 분무 처리하였다. 3, 5, 7일 후에 달관 조사 방법으로 약해 유무를 조사하였고, 각 처리는 3반복으로 수행되었다.

## 결과 및 고찰

**항균성 식물추출물 선발.** 총 101가지 식물체로부터 얻은 methanol 추출물의 감귤 녹색곰팡이병원균 *P. digitatum* KACC 41898에 대한 항균활성을 검정한 결과, 천산용 추출물이 20 mm 이상의 큰 저지원을 형성하여 아주 강력한 항균활성을 보였으며, 자귀나무, 낙지다리 추출물은 10-20 mm 억제하였고, 까마중, 금마타리는 10 mm 미만의 약한 항균활성이 확인되었다(Table 1). 따라서 *P. digitatum*에 가장 강력한 항균활성을 나타낸 천산용을 본 실험의 재료로 선발하였다. 천산용은 마속에 속하는 단풍마(*D. quinqueloba* Thunb.)의 뿌리로서 마속의 식물은 50종류 이상의 steroid saponin을 함유하고 있으며(Sautour 등, 2007), 오랜동안 민간요법 치료제나 건강식품으로는 널리 사용되어져 왔으나(Kum 등, 2006), 아직까지 감귤 녹색곰팡이병을 비롯하여 각종 식물병해 방제를 위해 농업용으로 사용된 적은 없었다.



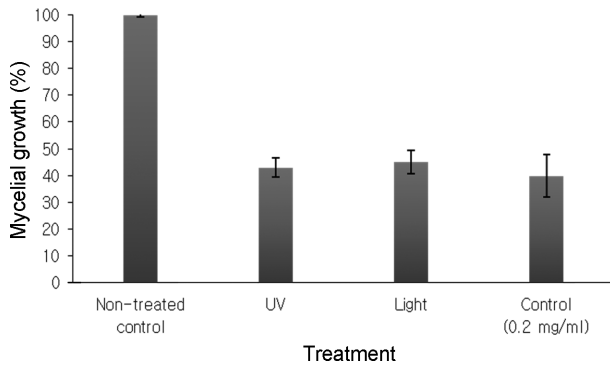
**Fig. 1.** Inhibition rates of mycelial growth of *Penicillium digitatum* on PDA media containing different concentration of an antifungal compound extracted from *Dioscorea quinqueloba*.

**천산용 추출물의 In vitro 상 *P. digitatum* 억제효과.** 항균활성 물질이 각각 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mg/ml의 낮은 농도로 첨가된 배지를 만들어 *P. digitatum*의 균사생장 억제율을 측정할 경우, 0.1 mg/ml에서 50% 이상, 0.3 mg/ml에서 70% 정도의 균사생장 억제율이 확인되었고, 0.5 mg/ml에서는 85% 이상 강한 균사생장이 억제되었다(Fig. 1).

식물추출물을 이용한 감귤 저장병 방제에 대한 연구보고로는 Tzortzakis와 Economakis(2007)에 의해 lemongrass essential oil 0.5 mg/ml 이상의 농도에서 *P. digitatum*의 포자 발아를 완벽하게 억제하였다. 이로써 *P. digitatum* 방제 물질로서 뛰어난 효과를 보인 천산용 추출물은 감귤 녹색곰팡이병원균에 대해 효과적인 방제제로서 충분한 가능성을 가지고 있음을 확인할 수 있었다.

**항균활성물질의 안정성 및 휘발성 조사.** 선발된 천산용 추출물의 pH에 대한 안정성을 조사한 결과 pH 3-7의 넓은 범위에서 *P. digitatum*에 항균활성을 유지하였기 때문에 pH에 안정함이 확인되었다. 또한 항균활성 물질을 121°C에서 20분간 처리하여 열에 의한 항균활성의 변화를 조사했을 때에도 활성이 유지되었으므로 이 물질은 열에 매우 안정적임을 알 수 있었으며, UV와 햇빛 처리에도 항균활성의 변화가 전혀 일어나지 않았다(Fig. 2). 그리고 휘발성 확인 실험에서는 항균활성을 보이지 않았으므로 비휘발성 물질로 판단되었다. 이 물질은 pH, 열 처리 시에도 활성의 변화가 없었으므로(자료 미제시) 매우 안정한 구조의 화합물임을 알 수 있었으나 추후 보다 정확한 물질규명이 요망된다.

pH, 온도, 광의 영향에도 안정적으로 활성이 유지되는 본 항균활성 물질의 특성은 추후 천연물 농약으로서의 개발 및 제품생산에 매우 유용하게 작용하여 제형화 과정에서 변함없이 강한 항균활성 유지가 가능할 것이며, 제품화 된 이후 보관 과정에서도 활성을 잃지 않고 그대로 유지할 수 있어 상당히 긴 유효기간을 가질 것으로 판단된다.



**Fig. 2.** Stability concerning antifungal activity on *Penicillium digitatum* of methanol extract of *Dioscorea quinqueloba* against UV or light treatment.

**Table 2.** Control effects against *Penicillium digitatum* by using different concentration of antifungal compound extracted from *Dioscorea quinqueloba* on citrus fruits

Treatment	Concentration (mg/ml)	Diseased rate (%)	Control value (%)	
Antifungal compound	0.05	33.3b <sup>a</sup>	20.1	
	0.1	33.3b	20.1	
	0.2	8.3a	80.1	
	0.3	0a	100	
Control	Iminoctadine tris	1	0a	100
	Prochloraz manganese complex	1	6.7a	83.9
	None treated		41.7b	-

<sup>a</sup>Means followed by the same letter within the column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

**자연발생 시 감귤 저장병의 농도별 방제효과.** 시판중인 감귤(품종: 온주밀감)에 자연적으로 발생하는 녹색곰팡이병에 대한 활성 물질의 방제효과를 검정하였을 때, 0.2 mg/ml 처리구에서 80.1%의 높은 방제가를 보였고, 0.3 mg/ml에서는 100% 완벽하게 방제되었다(Table 2). 자연발생을 유도한 후 물질을 처리하였을 때 0.2 mg/ml의 저농도에서 80% 이상의 높은 방제가를 얻은 것으로 보아 항균물질은 추후 방제약제로 활용 시 저농도 처리만으로도 충분한 방제효과를 볼 수 있으며, 제품화할 경우에도 소량의 원자재만으로 사용이 가능함에 따라 큰 어려움 없이 추후 농업적인 활용이 가능할 것으로 판단된다. 본 연구의 활성물질은 현재 시판 중인 농약 iminocadine tris 수화제(벨쿠트, 경농), prochloraz manganese complex 수화제(스포르곤, 한국삼공)와 유사한 강한 방제효과를 보였으므로 추후 친환경적인 천연물 농약으로서의 활용가

**Table 3.** Disease control efficacy of antifungal compound extracted from *Dioscorea quinqueloba* against *Penicillium digitatum* treated with different concentration of the pathogen on citrus stored at 22°C for 10 days

Number of <i>P. digitatum</i> treated (spores/ml)	Extract concentration (mg/ml)	Diseased rate (%)	Control value (%)
$1 \times 10^3$	0.3	4.4	75.3
	0.4	0	100
	0.5	0	100
$1 \times 10^4$	0.3	17.8	52.9
	0.4	11.1	70.6
	0.5	0	100
$1 \times 10^5$	0.3	24.4	47.8
	0.4	13.3	71.5
	0.5	2.2	95.3
$1 \times 10^3$	-	17.8	-
Control $1 \times 10^4$	-	37.8	-
$1 \times 10^5$	-	46.7	-

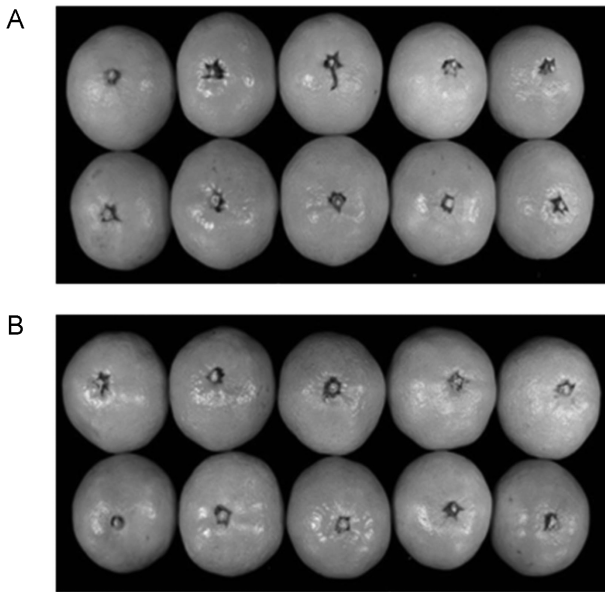
능성이 다시 한번 확인되었다.

**병원균 접종 후 감귤 저장병 방제효과.** 병원균을 인공 접종하고 병 발생에 호조건을 만들어준 환경에서 활성물질의 병 방제효과 검정을 수행한 결과 5일째에는 모든 처리구에서 병의 발생이 미미하였고 0.5 mg/ml 농도 처리구는 전혀 병이 발생하지 못하였다. 10일 경과 후 방제 효과는 병원균  $1 \times 10^4$  spores/ml 농도로 접종한 처리구는 0.4 mg/ml에서 70% 정도의 방제효과를 보였으며, 0.5 mg/ml에서는 방제가 100%로 완벽하게 방제되었다.  $1 \times 10^5$  spores/ml의 고농도로 접종 시에는 무처리구에서 46.7% 발병한 것에 비해, 0.5 mg/ml에서는 단지 2.2%만이 발병함으로써 방제가가 95.3%나 되었다(Table 3).

이처럼 자연상태에 비해 고농도로 *P. digitatum* 균을 접종하여 병 발생에 매우 유리하도록 환경을 조성하였음에도 불구하고, 0.5 mg/ml 처리에 의해 아주 효과적으로 방제가 가능하였다.

*P. expansum*에 의한 사과 푸른곰팡이병을 억제하는 생강추출물, *P. italicum*의 방제가 가능한 대극추출물 및 essential oil을 이용한 *P. digitatum*의 방제 등 다양한 항균성 식물추출물을 이용하여 *Penicillium* 속에 의한 저장병 방제가 보고된 바 있으나 *in vitro* 상에서의 효과만 검정되거나 실제적인 작물의 저장 시 *Penicillium*속 병원균에 대한 억제효과는 미미하였다(AI-Mughrabi, 2003; Paik 등, 1997; Yahyazadeh, 2008).

본 연구에서 사용된 천연물 추출물은 현실적으로 감귤



**Fig. 3.** Phytotoxicity test of the antifungal compound extracted from *Dioscorea quinqueloba* against citrus fruits. (A) 1 mg/ml treatment. (B) 2 mg/ml treatment.

의 유통과정 중 최적의 녹색곰팡이병 발생조건이 형성된다 할지라도 활성물질 0.5 mg/ml 농도에서 매우 효과적인 병 방제가 가능하여 그 경제적 손실을 크게 줄일 수 있을 것으로 보이는 바 추후 친환경적 방제제로서의 활용 가능성이 충분하다고 판단된다.

**약해 조사.** 활성물질의 과실에 대한 약해 유무 검정 시 1 mg/ml과 2 mg/ml의 고농도로 처리했음에도 7일이 지난 후에도 과실에 무름, 반점, 탈색 및 당질과 같은 성분의 용탈 등이 일어나지 않아 외관상 약해가 전혀 없음을 확인하였다(Fig. 3). 따라서 생물농약으로 사용할 때 실수로 인해 고농도로 살포될지라도 물질처리에 의해 과실에 피해가 전혀 일어나지 않을 것으로 생각된다.

## 요 약

총 101종의 식물추출물 가운데 약용식물인 천산용(*Dioscorea quinqueloba* Thunb.) 추출물이 가장 강한 항균 활성을 보유한 것으로 나타나 감귤 녹색곰팡이병(*Penicillium digitatum*) 방제를 위한 실질적인 농업적 현장적용 가능성을 탐색하였다. 선발된 천산용 추출물은 PDA 배지에 0.5 mg/ml을 처리하였을 때, *P. digitatum*의 균사생장을 87% 억제하였다. 그리고 추출된 항균활성 물질은 pH, 온도, UV에 영향을 받지 않는 매우 안정한 물질임이 확인되었다. 감귤 저장상태 하에서 녹색곰팡이병 방제를 검정한 결과, 자연적인 병발생을 유도한 후 항균활성 물질을

처리하였을 때 0.3 mg/ml에서 완벽하게 병이 방제되었으며 인위적으로 고농도의 *P. digitatum*을 접종한 경우에도 0.5 mg/ml 농도에서 100%의 방제효과를 보였다. 이 천연항균물질을 2 mg/ml 농도로 감귤 과실에 처리하여도 약해가 나타나지 않았으므로, 약해가 없고 방제효과가 우수한 이 식물유래 천연물질은 감귤 저장 중에 발생하는 녹색곰팡이병 방제를 위해 추후 매우 효과적인 농업적 활용이 가능할 것으로 판단된다.

## Acknowledgments

This study received a number of plant extracts from Ginseng Research Division, National Institute of Horticultural Herbal Science and was conducted as a part of R&D projects of Korea Institute of Planning and Evaluation for Technology of Food, Agriculture, Forestry and Fisheries (IPET) (Project No. 109065-3).

## References

- Al-Mughrabi, K. 2003. Antimicrobial activity of extracts from leaves, stems and flowers of *Euphorbia macroclada* against plant pathogenic fungi. *Phytopathol. Mediterr.* 42: 245–250.
- Brown, G. E. and Eckert, J. W. 2000. *Penicillium* Decays. In compendium of Citrus Diseases 2nd. Timmer, L. W., Garnsey, S. M. and Graham, J. H., eds. The American Phytopathological Society, St. Paul, Mn. 41–42.
- Costa, E., Teixidó, N., Usall, J., Atarés, E. and Viñas, I. 2001. Production of the biocontrol agent *Pantoea agglomerans* strain CPA-2 using commercial products and by-products. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 56: 367–371.
- Droby, S., Chalutz, E., Horev, B., Cohen, L., Gaba, V., Wilson, C. and Wisniewski, M. 1993. Factors affecting UV-induced resistance in grapefruit against the green mould decay caused by *Penicillium digitatum*. *Plant Pathol.* 42: 418–424.
- Droby, S., Porat, R., Cohen, L., Weiss, B., Shapira, B., Philosoph-Hadas, S. and Meir, S. 1999. Suppressing green mold decay in grape fruit with postharvest jasmonates application. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 124: 184–188.
- Fogliata, G. M., Torres, L. G. J. and Ploper, L. D. 2001. Detection of imazalil-resistant strains of *Penicillium digitatum* Sacc. In citrus packing houses of Tucuman Province (Argentina) and their behaviour against current employed and alternative fungicides. *Rev. Ind. Agric. Tucuman.* 77: 71–75.
- Hao, W., Li, H., Hu, M., Yang, L. and Rizwan-ul-Haq, M. 2011. Integrated control of citrus green and blue mold and sour rot by *Bacillus amyloliquefaciens* in combination with tea saponin. *Postharvest Biol. Technol.* 59: 316–323.

- Holmes, G. J. and Eckert, J. W. 1999. Sensitivity of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* to postharvest citrus fungicides in California. *J. Phytopathol.* 89: 716–721.
- Janisiewicz, W. J. and Korsten, L. 2002. Biological control of postharvest diseases of fruits. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40: 411–441.
- Kim, J. B., Kim, N. K., Lim, J. H., Kim, S. I., Kim, H. H., Song, J. Y. and Kim, H. G. 2009. Environment friendly control of gray mold, a ginseng storage disease using essential oils. *Res. Plant Dis.* 15: 236–241.
- Kinay, P., Mansour, M. F., Gabler, F. M., Margosan, D. A. and Smilanick, J. L. 2007. Characterization of fungicide-resistant isolates of *Penicillium digitatum* collected in California. *Crop Prot.* 26: 647–656.
- Kum, E. J., Park, S. J., Lee, B. H., Kim, J. S., Son, K. H. and Sohn, H. Y. 2006. Antifungal activity of phenanthrene derivatives from aerial bulbils of *Dioscorea batatas* Decne. *J. Life Sci.* 16: 647–652.
- Larrigaudière, C., Pons, J., Torres, R. and Usall, J. 2002. Storage performance of clementines treated with hot water, sodium carbonate and sodium bicarbonate dips. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 77: 314–319.
- Mekbib, S. B., Regnier, T. J. and Korsten, L. 2007. Control of *Penicillium digitatum* on citrus fruit using two plant extracts and study of their mode of action. *Phytoparasitica* 35: 264–276.
- Paik, S. B. and Chung, I. M. 1997. Effect of medicinal plant extracts on apple storage diseases. *Korean J. Plant Pathol.* 13: 57–62.
- Palou, L., Smilanick, J. L., Usall, J. and Viñas, I. 2001. Control of postharvest blue and green molds of oranges by hot water, sodium carbonate, and sodium bicarbonate. *Plant Dis.* 85: 371–376.
- Paster, N. and Bullerman, L. B. 1988. Mould spoilage and mycotoxin formation in grains as controlled by physical means. *Int. J. Food Microbiol.* 7: 257–265.
- Porat, R., Lers, A. S., Dori, L., Cohen, B., Weiss, A., Daus, C. S., Wilson, S. and Droby, S. 1999a. Induction of chitinase and  $\beta$ -1,3-endoglucanase proteins by UV irradiation and wounding in grapefruit peel tissue. *Phytoparasitica* 27: 233–238.
- Porat, R., Vinocur, V., Weiss, B., Cohen, L. and Droby, S. 1999b. Effects of various elicitors on the resistance of citrus fruit against pathogens. *Phytoparasitica* 27: 157–158.
- Porat, R., Pavoncello, D., Peretz, J., Weiss, B., Daus, A., Cohen, L., Ben-Yehoshua, S., Droby, S. and Lurie, S. 2000. Induction of resistance to *Penicillium digitatum* and chilling injury in Star Ruby grapefruit by a short hot water rinse and brushing treatment. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 75: 428–432.
- Sautour, M., Mitaine-Offèr, A. C. and Lacaille-Dubois, M. A. 2007. The *Dioscorea* genus: a review of bioactive steroid saponins. *J. Nat. Med.* 61: 91–101.
- Smilanick, J. L., Mansour, M. F., Mlikota Gabler, F. and Goodwine, W. R. 2006. The effectiveness of pyrimethanil to inhibit germination of *Penicillium digitatum* and to control citrus green mold after harvest. *Postharvest Biol. Technol.* 42: 75–85.
- Tzortzakis, N. G. and Economakis, C. D. 2007. Antifungal activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus* L.) essential oil against key postharvest pathogens. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 8: 253–258.
- Yahyazadeh, M., Omidbaigi, R., Zare, R. and Taheri, H. 2008. Effect of some essential oils on mycelial growth of *Penicillium digitatum* Sacc. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 24: 1445–1450.