



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

碩士學位論文

근권 미생물을 이용한
제주지역 마늘 잎마름병에 대한
친환경적 방제

Biological control against garlic leaf blight in Jeju Island using
rhizobacteria

濟州大學校 大學院

農學科

金 俞 敬

2011年 8月

근권 미생물을 이용한
제주지역 마늘 잎마름병에 대한
친환경적 방제

指導教授 田 溶 哲

金 俞 敬

이 論文을 農學 碩士學位 論文으로 提出함

2011年 8月

金俞敬의 農學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長 _____ ㉠

委 員 _____ ㉠

委 員 _____ ㉠

濟州大學校 大學院

2011年 8月

목 차

List of figures	ii
List of Tables	v
A B S T R A C T	1
I. 서 론	2
II. 재료 및 방법	6
1. 마늘 잎마름병에 대한 포장조사	
2. 마늘 잎마름병원균의 분리	
3. 마늘 잎마름병원균의 온도별 균사생장 실험	
4. 식물 근권 미생물의 분리 및 선발	
5. 마늘 잎마름병원균에 대한 식물 근권 미생물의 항균효과 실험	
6. 마늘에서 식물 근권 미생물에 의한 마늘 잎마름병 억제 실험	
1) 마늘	
2) 마늘 잎마름병원균의 접종	
3) 마늘 잎마름병원균과 근권 미생물의 혼합접종	
4) 마늘 잎마름병원균과 살균제의 혼합접종	
5) 결과분석	
III. 결 과	11
1. 포장조사	
2. 마늘 잎마름병원균 순수 분리 및 온도별 균사생장 실험	
3. 마늘 잎마름병원균에 대한 근권 미생물의 항균효과	
4. 마늘잎에서 근권 미생물에 의한 마늘 잎마름병원균의 억제	
IV. 고 찰	28
V. 적 요	33
VI. 참 고 문 헌	34

List of figures

- Fig. 1. Disease severity of garlic leaf blight in the farm (A: early symptom, B: developed symptom, C: sporulation of conidia on garlic leaves, D: entirely death of garlic leaves in the harvest) 13
- Fig. 2. Development of garlic leaf blight disease on the 1st leaf of garlic (cv. Namdo and Jejuchosaeng) in the farm located in Seogupo Deajung. (0: no symptom, 1: 1-5%, 2: 5-20%, 3: 20-50%, 4: 50-70%, 5: 70-90%, 6: entirely death) 14
- Fig. 3. Development of garlic leaf blight disease on the 2nd leaf of garlic (cv. Namdo and Jejuchosaeng) in the farm located in Seogupo Deajung. (0: no symptom, 1: 1-5%, 2: 5-20%, 3: 20-50%, 4: 50-70%, 5: 70-90%, 6: entirely death) 14
- Fig. 4. Development of garlic leaf blight disease on the 3rd leaf of garlic (cv. Namdo and Jejuchosaeng) in the farm located in Seogupo Deajung. (0: no symptom, 1: 1-5%, 2: 5-20%, 3: 20-50%, 4: 50-70%, 5: 70-90%, 6: entirely death) 15
- Fig. 5. Development of garlic leaf blight disease on the 4th leaf of garlic (cv. Namdo and Jejuchosaeng) in the farm located in Seogupo Deajung. (0: no symptom, 1: 1-5%, 2: 5-20%, 3: 20-50%, 4: 50-70%, 5: 70-90%, 6: entirely death) 15

Fig. 6. Development of garlic leaf blight disease on the 5th leaf of garlic (cv. Namdo and Jejuchosaeng) in the farm located in Seogupo Deajung. (0: no symptom, 1: 1-5%, 2: 5-20%, 3: 20-50%, 4: 50-70%, 5: 70-90%, 6: entirely death) 16

Fig. 7. Development of garlic leaf blight disease (cv. Namdo and Jejuchosaeng) in the farm located in Seogupo Deajung. (0: no symptom, 1: 1-5%, 2: 5-20%, 3: 20-50%, 4: 50-70%, 5: 70-90%, 6: entirely death) 16

Fig. 8. Photograph of *Stemphylium vesicarium* (Wallr.) Simmon isolated from infected leaves (A: hypae grown in PDA medium for 10 days, B: microscopical observation of hyphae grown in PDA medium (×40), C: hypae grown in V8 juice medium for 15 days, D: microscopical observation of hyphae grown in V8 juice medium (×40), E: entirely infected garlic leaves in the farm, F: microscopical observation of conidia isolated the entirely infected leaves (×40) 18

Fig. 9. Mycelium growth of garlic leaf blight pathogen in different temperatures (A: 4°C, B: 15°C, C: 25°C, D: 30°C) 19

Fig. 10. Antifungal activity of rhizobacterial isolates to garlic leaf blight pathogen (A: BRH 433-2, B: KRJ 502-1, C: KRY 505-3, D: MRL 409-2, E: MRL 412, F: THJ 609-3, G: TRH 423-3, H: TRH 427-2, I: TRK 2-2, J: TRL 2-3) 22

Fig. 11. Disease severity on garlic leaf at 7days after inoculated with *S. vesicarium*(2.0×10^4 conidia/ml) A) Treatment only *S. vesicarium*; B, C, D) treatment with mixture of the *S. vesicarium* and rhizobacteria(B: MRL412, C: TRH423-3, D: THJ609-3); E) treatment with mixture of the *S. vesicarium* and fungicide(metconazole) 26

Fig. 12. Development of garlic leaf blight disease after inoculation with the mixture of rhizobacterial isolates and fungal pathogen suspension 27

List of Tables

Table 1. Length of mycelium of garlic leaf blight in the different temperatures.	21
Table 2. Inhibition rate of rhizobacterial isolates to garlic leaf blight pathogne <i>in vitro</i> test.	24

A B S T R A C T

Garlic is the second major crop plants following potato in Jeju island. Garlic leaf blight is severe between in middle of March and end of June which cause a loss of yield of garlic production. The major protection strategy against garlic leaf blight is an using chemicals which cause some problems such as destruction of agricultural ecosystem, pesticide resistance or chemical residues, if usage of the chemicals are indiscreet. Therefore, it needs alternative strategies which may be environment friendly. In this study, pathogen of garlic leaf blight was isolated from farm in Jeju island which was identified as *Stemphylium vesicarium* (Wallr.) Simmom. In order to select useful rhizobacteria, 50 bacterial isolates from Jeju and Chuja island were tested antifungal activity against garlic leaf blight pathogen in vitro test. Among them, inhibition of fungal hyphal growth were found in isolates THJ 609-3, KRY 505-3, MRL 412, BRH 433-2 and TRH 423-3. In the further experiments, the bacterial isolates THJ 609-3, KRY 505-3 and TRH 423-3 showed disease suppress of garlic leaf blight after inoculation with mixture of the isolate and pathogen suspension compare to with only pathogen suspension. The bacterial isolate THJ 609-3, which was most effective among the other bacterial isolates either in antifungal activity or in disease suppression, had a control value similar to those of commercial fungicide metconazole. Based on these results, the bacterial isolate THJ 609-3 may be useful as a biological control agent for protection of garlic leaf blight.

I. 서 론

마늘(*Allium sativum* L.)은 파, 양파 등과 함께 식물분류학적으로 *Allium*속(屬)에 속하는 영양번식 식물로 옛날부터 재배하던 제주종, 서산종 등 지방재래종 외에 원산지인 중앙아시아 지역, 지중해 연안 국가 및 열대지방으로부터 많은 품종이 도입되어 재배되고 있다(서, 2002; 이와 김, 1995). 현재 우리나라에서 가장 많이 재배되고 있는 품종은 ‘남도(南島)마늘’로 원산지는 중국 상해시의 가정구(嘉定區)이며 현지에서는 ‘가정백(嘉定白)’이라고 부르는 마늘을 도입하여 품종화 하였다(Woo et al., 1982)

마늘은 생태형에 따라 크게 한지형 마늘과 난지형 마늘로 구분된다(Hwang & Lee, 1990; Ogawa T et al., 1975) 한지형 마늘은 휴면기간이 길어 월동 후에 맹아하며, 난지형 마늘은 휴면기간이 짧고 인편분화에 필요한 저온요구기간도 짧아 월동 후에 맹아하는 특성을 갖는 등 생태형간 재배적 특성이 다르다. 또한 같은 생태형 내에서도 지역재래종 별로 생육 및 수량 특성이 다르다고 알려져 있다(Shin 등, 2011; Hwang 등, 1990). 한지형 마늘은 주로 경상북도 내륙지역 등 고위도 내륙 지역에서 주로 재배되고 있으며, 난지형 마늘은 주로 전라북도의 남쪽과 제주도 등의 지역에서 주로 재배된다(이 등, 2003). 난지형 마늘의 대부분은 남도마늘이 80%이상을 차지하고 있으며, 제주도에서는 ‘남도 마늘’과 제주종인 ‘제주조생 마늘’이 주로 재배되고 있다(김 등, 2009; 송 등, 2009).

2011년 전국의 마늘재배면적은 24,035ha로 전남(7,546ha), 경남(4,923ha), 경북(3,518ha), 제주(2,806ha) 순으로 이들 4개 도의 면적이 전국의 78%를 차지한다고 보고하고 있다(통계청, 2010). 제주도내에서의 마늘재배는 감귤, 감자 다음으로 재배면적이 많아 농가의 주요 소득 작물로 자리 잡고 있다. 특히 서귀포시 대정읍지역의 재배면적이 2,545ha로 제주도 마늘 재배면적의 80%이상을 점유하고 있다(서부농업기술원, 2011).

이와 같이 마늘은 경제 작물로서 중요한 역할을 하고 있으나 많은 병해로 인한 피해가 가장 큰 비율을 차지하고 있다.

마늘은 잎마름병(Leaf blight), 잎집썩음병(Sheath rot), 세균성점무늬병(Bacterial leaf blight), 녹병(Rust) 등 16종류의 병해가 발생한다고 보고되어 있다(한국식물병리학회, 2009). 그 중 마늘 잎마름병은 4월 하순경 온도가 갑자기 높아지거나 잦은 강우로 습한 조건이거나 마늘의 생육후기에 비료분이 떨어졌을 때 심하게 발생하며 잎마름병이 심하면 광합성의 저하는 물론 수확말기까지 계속 번지게 되어 저장중의 마늘쪽에 까지 감염되어 썩게 되므로 포장에서의 방제가 매우 중요한 병이다. 마늘 잎마름병의 발생은 주로 3월 중순 정도의 시기에 0.1% 발생되었으나 4월 중순정도에는 0.6%로 병이 진전되었고, 4월 말까지 계속적인 증가를 보이며 생육후기인 5월 중순에는 2.3%까지 발생하였다(강, 2006). 이외에 마늘 잎마름병의 발생이 생육의 피해, 수확량의 피해 등에 대한 연구는 거의 전무한 실정이다.

Suheri & Price(2000)에 따르면 스페인에서는 마늘 잎마름병의 방제에 mancozeb을 살포하였으나 방제율이 아주 낮거나 강우로 인하여 살포액이 씻겨 내려 방제를 위해서는 잦은 살포를 필요로 하였다. 그 외에 procymidone(Aveling, 1993), tebuconazole(Basalleote-Ureba et al., 1998)이 *S. vesicarium* 방제에 좀 더 나은 효과가 있었다고 보고되었으나 스페인에서의 사용에 대한 기록은 없다고 보고하고 있다.

제주도에서는 마늘 잎마름병 약제로 metconazole, tebuconazole 등의 공시약제(한국작물보호협회, 2011)를 병발생 초기에 10일 간격으로 3~4회정도 살포한다. 제주도 역시 병 발생이 증가하는 4월 중순 이후에 잦은 비날씨로 적정 살포 횟수보다 잦은 살포를 하며, 마늘 잎마름병 이외에 마늘 성숙기에 발생하는 잎집썩음병 등 여러 병해가 발생하여 여러 화학적 살균제를 혼합하여 잦은 살포가 이루어지고 있으나 약제에 대한 마늘 잎마름병 방제에 대한 연구 보고는 아직 없는 실정이다. 이러한 화학적 농약의 사용은 높은 비용과 화학농약 잔류에 의한 자연생태계의 오염 및 저항성 품종의 육종 등의 문제점을 안고 있다. 이러한 문제점을 극복하기 위한 화학농약의 대안으로 생물학적 방제에 대한 연구가 이루어지고 있다.

생물학적 방제는 해충의 방제를 위한 천적의 개념에서 출발하였으나 최근에는 그 영역이 더욱 확대되어 유전자 조작을 통하여 변형된 미생물, 식물과 근권

미생물에 의한 저항성 유발 등의 생물학적 방법까지 적용되고 있다(Cook & Baker, 1991; Kloepper & Schroth, 1981; Raupach & Kloepper, 1998; Spencer & Benson, 1982). 그 중 식물병원균에 대한 길항미생물을 이용한 생물학적 방제에 의한 연구가 활발하게 진행되고 있다(Jung & Kim, 2004; Scherwinski et al., 2008).

마늘 잎집썩음병의 경우 *B. subtilis* YC240, *B. vallismortis* YC84, *B. amyloiquefaciens* YC240 균주를 토양에서 분리하여 in vivo 포트실험을 통하여 마늘 잎집썩음병원균인 *P. marginalis*에 대한 방제율이 70%이상이고 동시에 생장촉진능도 있다는 것을 검증하였다(정 등, 2010).

토양전염성병해중 하나인 마늘 흑색썩음균핵병은 외국에서 1969년 Ghaffar에 의하여 균핵에 기생하는 *Coniothyrium minitans*가 처음으로 시도되었고, 이 균은 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(Copping, 2004; Sandy et al., 1993). 길항세균으로는 *Bacillus subtilis* QST 만이 균핵병에 적용병해로 되어 있을 뿐 흑색썩음균핵병에 대하여 외국에서 등록되어 사용하는 생물농약은 없다(Copping, 2004). 국내 연구로는 *Bacillus subtilis* 122와 *Trichoderma harzianum* 23균주를 제재화 하여 처리한 결과 무처리에서 17.8%의 병발생에 비하여 각 2.6%, 1.2%로 병발생이 감소하는(이 등, 2006) 등 여러 연구가 진행되고 있다.

양파의 잎마름병을 발생시키는 *Stemphylium vesicarium*이 양파재배 근권에 서 분리한 *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Trichoderma harzianum*, *Gliocladium* sp. 그리고 *Saccharomyces cerevisiae*를 in vitro에서 양파 잎마름병방제효과를 측정한 결과 *P. fluorescens*, *B. subtilis*와 *T. harzianum*에서 *S. vesicarium*의 군사 성장 억제를 보였고, 온실에서의 in vivo 실험에서는 *B. subtilis*, *Sacc. cerevisiae*와 *P. fluorescens*가 높은 병발생 억제 효과를 나타냈다(Hussein et al., 2007).

마늘은 우리나라에서 뿐만 아니라 제주도에서도 감귤, 감자 다음으로 경제작물로 재배되고 있지만, 마늘의 병해에 대한 연구는 미비한 실정이다. 본 연구에

서는 여러 마늘 병해 중에서도 3대 병해 중 하나인 마늘 잎마름병의 제주도 마늘 재배 농장에서의 병발생 정도를 조사하고, 조사지의 마늘잎에 발생하는 병원균을 분리, 동정하였다. 분리된 균을 이용하여 직접적인 항균효과가 있는 근권 미생물을 선발하고, 마늘잎에 처리하여 마늘 잎마름병 억제 효과를 확인하는 연구를 통하여 마늘 잎마름병의 근권 미생물을 이용한 친환경적 방제 수단 개발 방안을 마련하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 마늘 잎마름병발생에 대한 포장조사

마늘 재배지역 내에서 품종에 따른 마늘 잎마름병 발생을 조사하고 병의 진전도를 알아보기 위해 포장조사를 실시하였다. 제주특별자치도 서귀포시 대정읍의 경우 제주도내 재배 작물 중 마늘재배 점유율이 80%이상을 차지하는 대표적인 마늘생산지로 마늘 잎마름병의 발생에 대한 포장조사지역으로 선정하였다. 마늘 잎마름병 조사구역은 제주특별자치도 서귀포시 대정읍에 위치한 2곳의 마늘 재배 농가를 선정하였다. 마늘의 품종은 각각 남도마늘과 제주조생으로 선정하였고, 조사기간은 2011년 3월 말에서부터 4월말까지 6일 간격으로 하였다. 조사 방법은 각 마늘재배 포장에서 18개의 구획을 나누어 각 구획마다 5개체의 마늘을 선발한 후 6일 마다 1~5엽의 마늘잎의 병발생정도를 0~6까지(0: 무발생, 1: 1~5%, 2: 5~20%, 3: 20~50%, 4: 50~70%, 5: 70~90%, 6: 완전고사) 설정하여 조사하였다.

2. 마늘 잎마름병원균의 분리

다른 지역에서 발생하는 병원균과의 레이스 특이적 저항성, 병원균의 최적 생장 온도 등 마늘 잎마름병원균의 특성이 다를 수 있기 때문에 포장 조사를 실시한 농장에서 직접 마늘 잎마름병원균을 분리하였다. 마늘 잎마름병원균을 분리하기 위해 포장조사를 실시하였던 제주특별자치도 서귀포시 대정읍에 위치한 마늘 재배 농가에서 육안으로 마늘 잎마름병징이 보이는 10개 정도의 마늘잎을 채집하였다. 채집한 잎은 살균한 메스를 이용하여 병반주변을 포함하여 3.0mm×3.0mm 정도의 크기로 잘라 1% sodium hypochlorite solution(NaOCl)에 30초간 침지하여 표면살균 하였다. 표면살균 후 멸균수로 잎 조각을 1분씩 3회

세척하였다. 다시 70% ethyl alcohol에서 30초간 침지하여 표면살균 후 멸균수로 1분씩 3회 세척한 후 멸균된 filter paper(직경 90mm)를 이용하여 물기를 제거하였다. 표면 살균된 잎 조각은 1% water agar 배지에 얹어 25°C incubator에서 5일간 배양하였다. 이 후 자란 균사 조각 끝부분을 떼어서 새로운 PDA배지에 옮겨 25°C incubator에서 7일간 배양하였고, 다시 V8 Juice 배지(V8 Juice 100ml, D.W. 900ml, Agar 20g, CaCO₃ 0.1%)에 옮겨 25°C incubator에서 15일간 배양하였다. PDA와 V8 Juice 배지에서 자란 균사와 포자는 균사체의 선단을 loop로 긁어 증류수를 떨어뜨린 슬라이스글라스 표면에 잘 도말한 후 광학 현미경을 이용하여 균사 및 포자의 크기, 모양, 색깔 등을 관찰하였다. 마늘 잎마름병발생후기의 잎들 중에서 검은 분생포자가 발생한 잎을 채집하여 위와 같은 방법으로 슬라이드를 제작하여 광학현미경 관찰을 통해 마늘 잎마름병원균 여부를 동정하였다.

3. 마늘 잎마름병원균의 온도별 균사생장 실험

순수 분리한 마늘 잎마름병원균의 최적의 생장온도를 알아보기 위하여 병원균 분리 후 PDA 배지에 옮겨 25°C incubator에서 7일간 배양한 마늘 잎마름병원균의 균사를 코르크보오러(직경 0.9mm)로 잘라 동일한 배지에 옮긴 후 4°C, 15°C, 25°C, 30°C incubator 에서 10일간 배양하였다. 균사 생장 정도 차이는 10일간 배양된 균사체 모양을 조사하고 성장된 직경을 자로 측정하여 나타내었다.

4. 식물근권세균의 분리 및 선발

제주대학교 식물병리학실험실에서는 2004년~2010년간 제주도 한라산과 추자도 일대에서 일년생 식물체를 채집하고, 그 뿌리에서 근권 미생물을 분리하여 -80°C에 보관하였다. 본 연구에서는 위와 같이 식물의 뿌리에서 분리하여 보관한 균주를 이용하였다.

근권 미생물의 분리는 채집한 식물체의 뿌리는 상하지 않도록 흐르는 물에 세척한 후 물기를 제거 하고 생체중 1g의 뿌리를 얻었다. 1g의 뿌리는 10ml의 멸균수와 함께 막자사발에 넣고 으갠 후 멸균된 2겹의 거즈를 이용하여 걸러냈다. 거른 여과액 1ml을 9ml의 멸균수가 들어 있는 test tube에 넣고 연속희석을 통해 10^{-8} 까지 희석하였다. $10^{-7}, 10^{-8}$ 희석액을 각각 $200\mu\text{l}$ 씩 추출하여 Tryptic Soy Agar(TSA)배지에 도말한 후 28°C incubator에서 48시간 동안 배양하였다. 배양 후 plate에 나타난 모양과 색 등이 서로 다른 colony를 선발하고 획선평판법(Streak plate)을 이용하여 TSA 배지에 도말한 후 28°C incubator에서 48시간 동안 배양하였다. 잘 분리된 colony를 선발하여 멸균된 loop를 이용하여 TSA배지에 도말한 후 28°C incubator에서 48시간동안 배양하고, 이를 충분히 긁어 낸 후 Tryptic Soy Broth(TSB)와 20%의 glycerin이 담긴 1.5ml micro tube에 균일하게 섞어 -80°C 에서 보관하며 실험에 이용하였다.

이와 같은 방법으로 분리한 300개 이상의 근권 미생물들 중에서 본 연구에 사용한 근권 미생물은 감자역병억제에 효과를 나타낸 MRL 412, TRL 2-3, TRK 2-2, 토마토역병억제에 효과를 나타낸 KRY 505-3, TRH 423-3, KRJ 502-1, TRH 427-2, 고추역병에 효과를 나타낸 MRL 409-2, BRH 423-2, 감귤 더듬이병억제를 나타낸 THJ 609-3 등을 포함하여 50개의 균주를 선발하였다(Kim & Jeun, 2006; Jeun et al., 2004)

5. 마늘 잎마름병원균에 대한 식물근권미생물의 항균 효과 실험

근권 미생물을 이용한 마늘 잎마름병원균의 생장억제의 직접적 효과를 알아보기 위하여 분리된 마늘 잎마름병원균은 코르크보오러(직경 0.9mm)를 이용하여 자른 후 PDA 배지위에 접종하고 25°C incubator에서 7일간 배양하였다. 선발한 50개의 근권 미생물은 TSA 배지에 $100\mu\text{l}$ 씩 도말하고 28°C incubator에서 24시간 배양하였다. 마늘 잎마름병원균과 근권 미생물을 코르크보오러로 자른 후

PDA 배지 중앙 일직선 상 동일한 간격으로 접종하여 25℃ incubator에서 10일간 대치배양 하였다. 항균효과가 있는 근권 미생물의 선발은 접종한 근권 미생물 근처의 마늘 잎마름병원균의 억제된 균사 성장 길이를 측정함으로써 선발하였다.

6. 마늘에서 식물 근권 미생물에 의한 마늘 잎마름병 억제

1) 마늘

실험에 사용한 마늘은 지역농협마트에서 시판중인 마늘을 구입하여 사용하였다. 마늘은 1% NaOCl에 1분간 침지한 후 멸균수로 1분씩 3회를 세척 후 자연건조 하였다. 그 후 원예범용 상토(농우바이오, 피트모스 25~35%, 코코피트 40~50%, 펠라이트 10~14%, 버미큘라이트 8~10%, 제올라이트 8~13%)와 펠라이트를 3:1의 비율로 섞은 상토를 80℃에서 1시간 소독 후 plastic pot(68×100mm)에 담고 소독한 마늘을 파종하였다. 파종한 마늘은 13시간 광조건, 11시간 암조건인 28℃의 배양실에서 배양하였다. 파종후 2~3일 후 발아하면 7일 정도 후에는 잎이 나왔고, 본 실험에서는 파종 후 15일 정도에 5~8cm 정도 자란 마늘을 사용하였다.

2) 마늘 잎마름병원균의 접종

마늘 잎마름병원균의 포자 형성을 유도하기 위해 PDA 배지에서 7일간 배양한 마늘 잎마름병원균 균사를 코르크보오리로 잘라 V8 juice배지에 옮겨 25℃ incubator에서 15일간 배양하였다. 포자가 발생한 plate에 10ml의 멸균수를 넣고 loop로 잘 긁어 낸 후 1점의 miracloth에 걸렸다. 걸러낸 여과액에 멸균수를 넣고 hemocytometer를 이용하여 2×10^4 conidia/ml의 농도를 맞춘 후 총 부피의 0.01%의 tween20을 넣고 10ml의 혼합액을 마늘 식물체에 분무하여 접종하였다. 접종한 식물체는 95%의 습도를 유지하는 dew chamber에서 25±3℃에서 24시간 배양한 후 28℃를 유지하는 식물배양실에서 배양하면서 병발생 정도를 매일 관찰하였다.

3) 근권 미생물의 혼합접종

마늘 잎마름병원균에 대한 근권 미생물의 직접적인 병억제 효과를 알아보기 위하여 근권 미생물과 병원균을 혼합접종을 하였다. -80°C 에서 보관된 근권 미생물 보관균주 MRL 412, THJ 609-3, TRH 423-3을 TSA배지에 $100\mu\text{l}$ 씩 도말 후 28°C incubator에서 1일간 배양하였고, 이를 다시 $10\mu\text{l}$ 의 loop로 긁어 내어 TSA 배지에 도말 후 28°C incubator에서 1일간 배양을 3회 반복 배양하였다. 이렇게 배양한 균에 20ml의 멸균수를 넣고 현탁액을 만들었다. 마늘 잎마름병은 2×10^4 conidia/ml, 근권미생물은 1×10^7 cfu/ml 농도로 혼합하였다. 이 혼합액 10ml을 마늘 식물체에 분무하여 접종하였고, 접종 후 95%의 습도를 유지하는 dew chamber에서 $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 배양 한 후 28°C 를 유지하는 식물배양실에서 배양하면서 병발생 정도를 매일 관찰하였다.

4) 마늘잎마름병원균과 살균제의 혼합 접종

식물에 접종할 마늘 잎마름병원균의 준비과정은 마늘 잎마름병원균의 접종과 동일하게 수행되었다. 근권 미생물과의 효과를 비교하기 위해 사용된 살균제는 살림꾼(동방아그로, metconazole, 20%)을 사용하였다. 마늘 잎마름병원균은 2×10^4 conidia/ml의 농도로 살균제는 표준사용약량인 10ml/20L를 기준으로 혼합하였다. 이 혼합액 10ml을 마늘 식물체에 분무하여 접종하였고, 접종 후 90%의 습도를 유지하는 Dew Chamber에서 $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$, 24시간 배양 한 후 28°C 식물배양실에서 배양 및 관찰하였다.

5) 결과 분석

마늘 식물체에 마늘 잎마름병원균, 마늘 잎마름병원균과 근권 미생물과 혼합, 마늘 잎마름병과 살균제의 혼합 접종 후 관찰은 접종 1일이 지난 후 7일간 관찰하였으며 마늘 잎마름병의 발생정도는 0~6까지(0: 무발생, 1: 1~5%, 2: 5~20%, 3: 20~50%, 4: 50~70%, 5: 70~90%, 6: 완전고사) 설정하여 조사하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 포장조사

마늘 재배지역내 품종에 따른 마늘 잎마름병 발생 정도를 알아보기 위하여 제주특별자치도내에서 마늘 재배 면적을 가장 많이 차지하는 서귀포시 대정읍의 2곳의 농장을 정하고 남도, 제주조생 두 품종으로 나누어 2011년 03월 말~4월 말까지 포장조사를 실시하였다. 마늘 재배 농장에서 발생한 마늘 잎마름병의 병징은 초기에는 적자색의 반점 모양의 병반이 잎의 중앙에 형성되고 그 주위는 담갈색을 띠었다(Fig. 1A). 병징이 진전되면 반점모양의 병반은 엽맥을 따라 방추형 모양으로 길게 확대되었다(Fig. 1B). 그 후 병반 가운데에 무성생식을 통한 다수의 검은 분생포자가 밀생하였다(Fig. 1C). 병의 후반기에는 병이 다른 잎으로 전반되고 잎의 대부분 또는 전체가 고사하였다(Fig. 1D).

조사 초기 병발생정도는 마늘 식물체의 가장 아래에 위치한 제 1엽에서 60~90% 정도로 남도, 제주조생 품종 간의 차이가 크게 나타나지 않았다. 조사 첫 재날 대부분의 잎이 이미 70~90% 감염되었고 조사 기간 동안 큰 변화는 없었다 (Fig. 2). 제 2엽에서부터 5엽까지는 조사 기간 동안 두 품종간의 병 발생정도의 차이가 있었다. 제 2엽에서는 20~50%의 병 발생정도가 나타났으며, 조사 기간 동안 병 발생정도에 큰 변화는 없었다(Fig. 3). 제 3엽에서는 10~30%의 병 발생정도가 나타났으며 조사기간 동안 약 10% 정도의 병 발생정도가 증가하였다(Fig. 4). 제 4엽에서의 병 발생정도는 5~20%로 나타났으며, 조사 기간 동안의 병 발생정도는 약 20% 정도로 증가하였다(Fig. 5). 제 5엽에서의 조사 초기 병 발생정도가 5%내외로 가장 낮았으나, 조사 기간 동안 약 40~50% 정도 증가하여 조사기간 동안 병 발생정도의 증가가 가장 컸다(Fig. 6). 제 1엽에서부터 5엽까지의 남도, 제주조생 두 품종의 병 발생정도를 종합한 결과 두 품종 사이의 마늘 잎마름병 발생정도는 남도마늘이 제주조생마늘보다 낮은 병 발생율을 보였

으나, 두 품종 모두 조사 기간 동안마늘 잎마름병발생도 꾸준히 증가 하였다 (Fig. 7).





Fig. 1. Disease severity of garlic leaf blight in the farm (A: early symptom, B: developed symptom, C: sporulation of conidia on garlic leaves, D: entirely death of garlic leaves in the harvest).

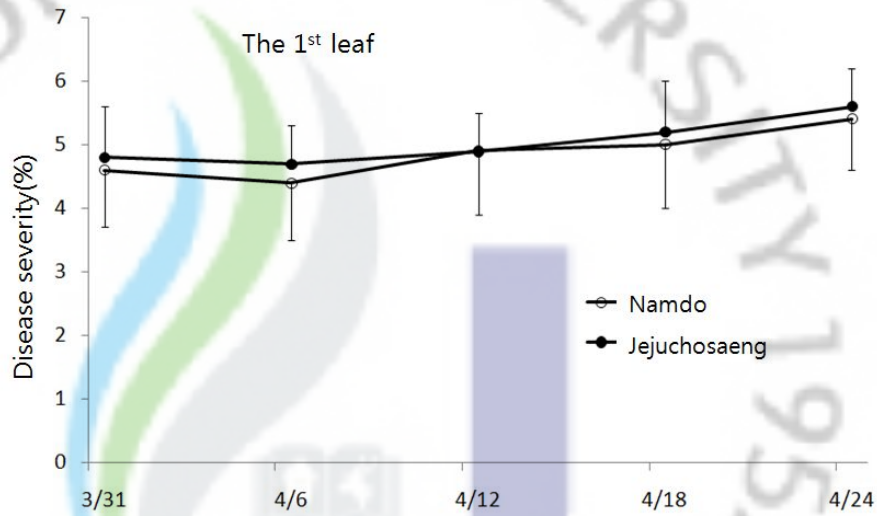


Fig. 2. Development of garlic leaf blight disease on the 1st leaf of garlic (cv. Namdo and Jejuchoesaeng) in the farm located in Seogupo Daejung(0: no symptom, 1: 1~5%, 2: 5~20%, 3: 20~50%, 4: 50~70%, 5: 70~90%, 6: entirely death).

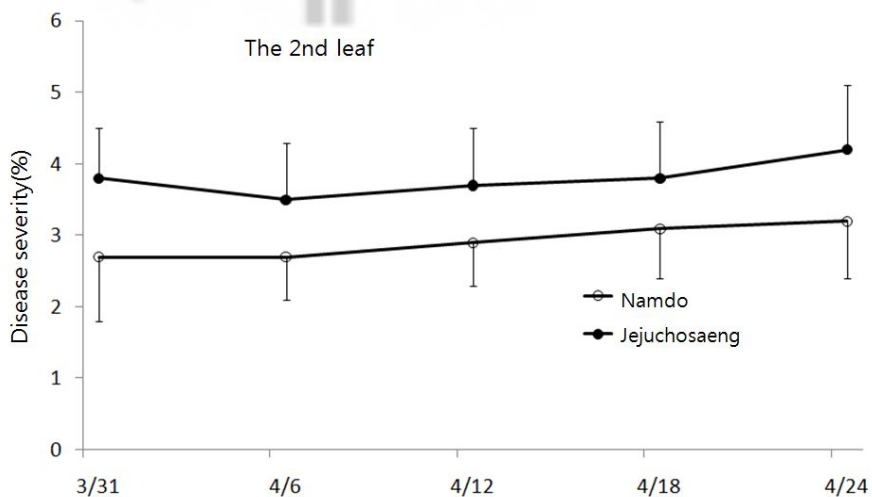


Fig. 3. Development of garlic leaf blight disease on the 2nd leaf of garlic (cv. Namdo and Jejuchoesaeng) in the farm located in Seogupo Daejung(0: no symptom, 1: 1~5%, 2: 5~20%, 3: 20~50%, 4: 50~70%, 5: 70~90%, 6: entirely death).

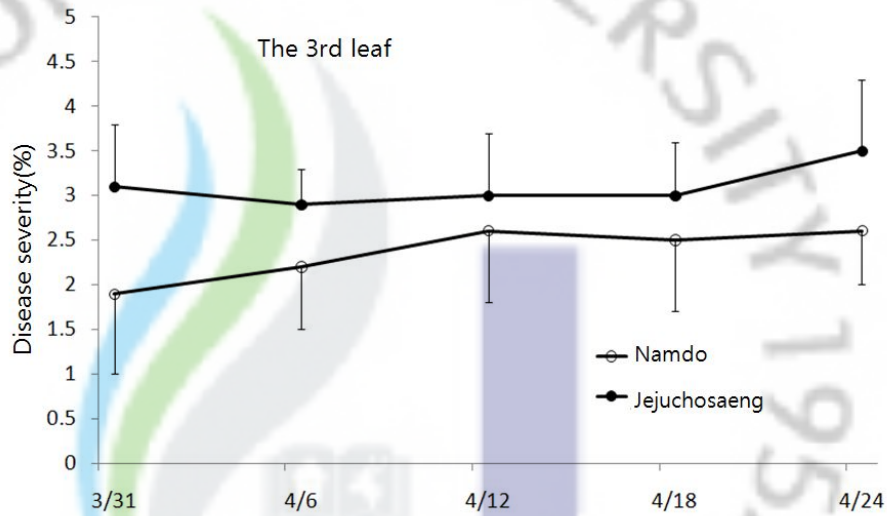


Fig. 4. Development of garlic leaf blight disease on the 3rd leaf of garlic (cv. Namdo and Jejuchoesaeng) in the farm located in Seogupo Daejung(0: no symptom, 1: 1~5%, 2: 5~20%, 3: 20~50%, 4: 50~70%, 5: 70~90%, 6: entirely death).

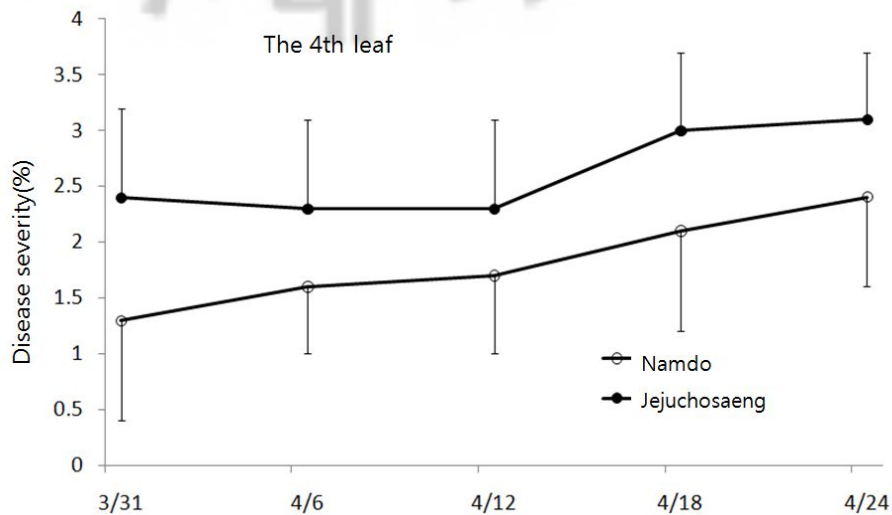


Fig. 5. Development of garlic leaf blight disease on the 4th leaf of garlic (cv. Namdo and Jejuchoesaeng) in the farm located in Seogupo Daejung(0: no symptom, 1: 1~5%, 2: 5~20%, 3: 20~50%, 4: 50~70%, 5: 70~90%, 6: entirely death).

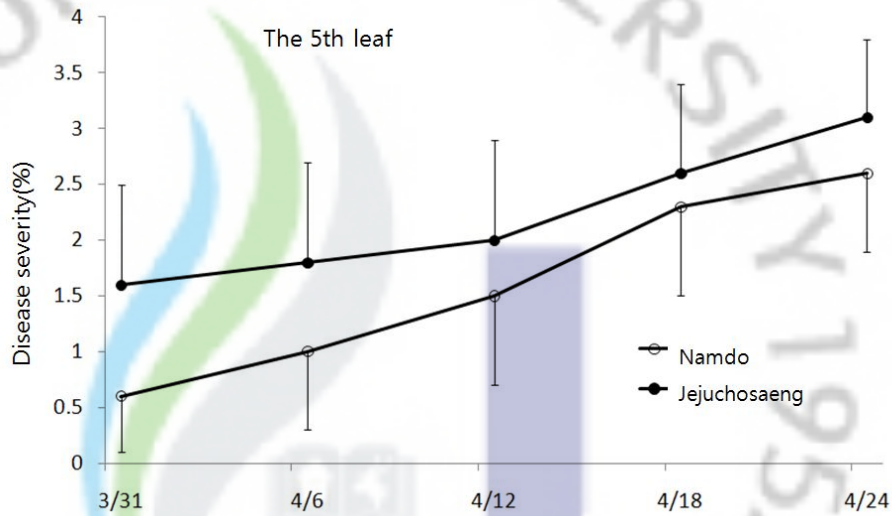


Fig. 6. Development of garlic leaf blight disease on the 5th leaf of garlic (cv. Namdo and Jejuchosaeng) in the farm located in Seogupo Daejung(0: no symptom, 1: 1~5%, 2: 5~20%, 3: 20~50%, 4: 50~70%, 5: 70~90%, 6: entirely death).

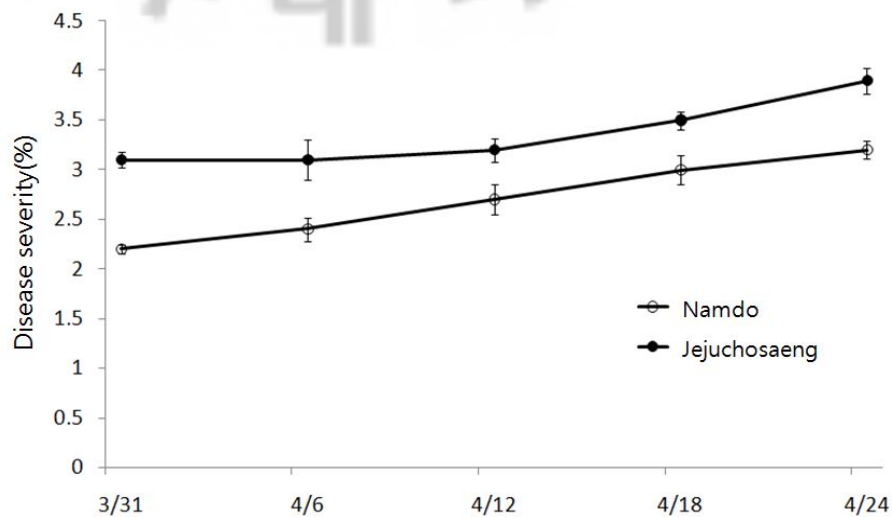


Fig. 7. Development of garlic leaf blight disease (cv. Namdo and Jejuchosaeng) in the farm located in Seogupo Daejung(0: no symptom, 1: 1~5%, 2: 5~20%, 3: 20~50%, 4: 50~70%, 5: 70~90%, 6: entirely death).

2. 마늘 잎마름병원균 순수 분리 및 온도별 균사 생장

식물병원균의 레이스 특이적 저항성, 최적 생장 온도 등 마늘 잎마름병원균의 특성이 지역마다 다를 수 있기 때문에 포장 조사를 실시한 마늘 농장에서 마늘 잎마름병징이 나타난 잎을 채집하여 병원균을 분리하였다. 마늘 잎마름병 발생후기의 잎에 발생한 검은 분생포자를 광학현미경으로 관찰하고, 인공배지에서 생성된 포자와 형태를 비교하였다. 먼저 마늘 잎마름병반이 나타난 잎에서 병원균 분리 후 PDA 배지에서 자란 균사는 균사체의 선단이 노란색의 띠를 나타내는 연한 회색의 균사체로 자랐다(Fig. 7A). 균사체의 선단을 plastic loop로 긁어 광학현미경으로 관찰한 결과 격막이 있는 실모양의 균사를 확인 할 수 있었다(Fig. 7B). V8 Juice 배지에서 배양한 균사도 PDA배지에서와 같은 모양의 균사가 자라고 있었으며, 15일 정도의 기간이 지나면 균사체 말단 부분에 짙은 갈색의 분생포자가 발생하였다(Fig. 7C). V8 Juice 배지에서 배양한 균사에서는 광학현미경으로 관찰한 결과 균사의 끝이 부풀어 오른 1개 또는 여러 개의 분생포자경(conidiophore)과 분생포자경에서 발생한 성숙한 분생포자도 관찰되었다(Fig. 7D). 분생포자는 연한 갈색이며 끝이 둥근 긴타원형 모양이고, 횡격막과 종격막도 관찰되었다. 병발생후기의 잎에 발생한 검은 분생포자의 광학현미경으로 관찰한 결과 역시 배지에서 발생한 분생포자와 동일한 포자가 관찰되었다 (Fig 7. F, G).

마늘 잎마름병원균 생장의 최적온도를 찾기 위해 PDA 배지에 접종 후 4℃, 15℃, 25℃, 30℃에서 10일 간 배양한 결과 25℃에서가 직경이 75~80mm 정도로 가장 균사 생장이 좋았다. 15℃에서는 직경 6.2mm 정도로 자라 25℃에서 보다는 조금 느린 균사 생장을 관찰할 수 있었다. 4℃에서는 직경 18mm 정도로 균사 생장이 아주 느렸고, 30℃에서는 직경 45mm 정도의 균사의 생장이 있었으나 고온에 의한 성장억제 현상을 육안으로 확인할 수 있었다(Fig 8 과 Table 1).

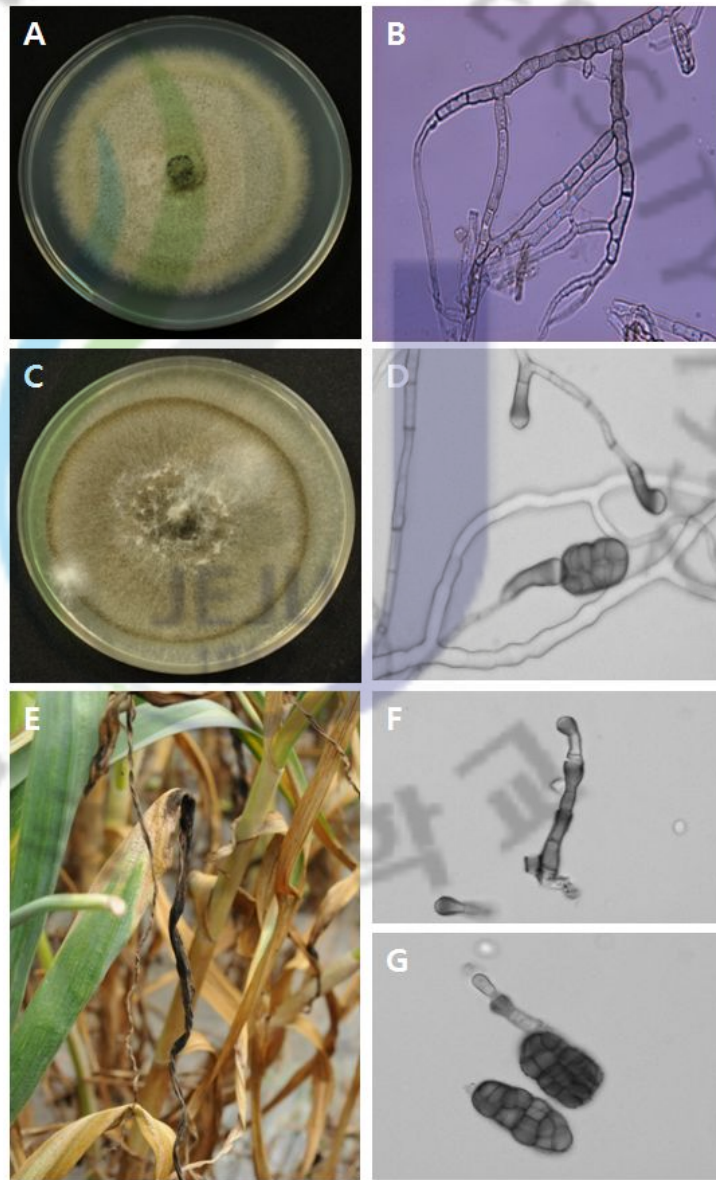


Fig. 8. Photograph of *Stemphylium vesicarium* (Wallr.) Simmon isolated from infected leaves (A: hypae grown in PDA medium for 10 days, B: microscopical observation of hyphae grown in PDA medium ($\times 40$), C: hypae grown in V8 juice medium for 15 days, D: microscopical observation of hyphae grown in V8 juice medium ($\times 40$), E: entirely infected garlic leaves in the farm, F: microscopical observation of conidia isolated the entirely infected leaves ($\times 40$)).

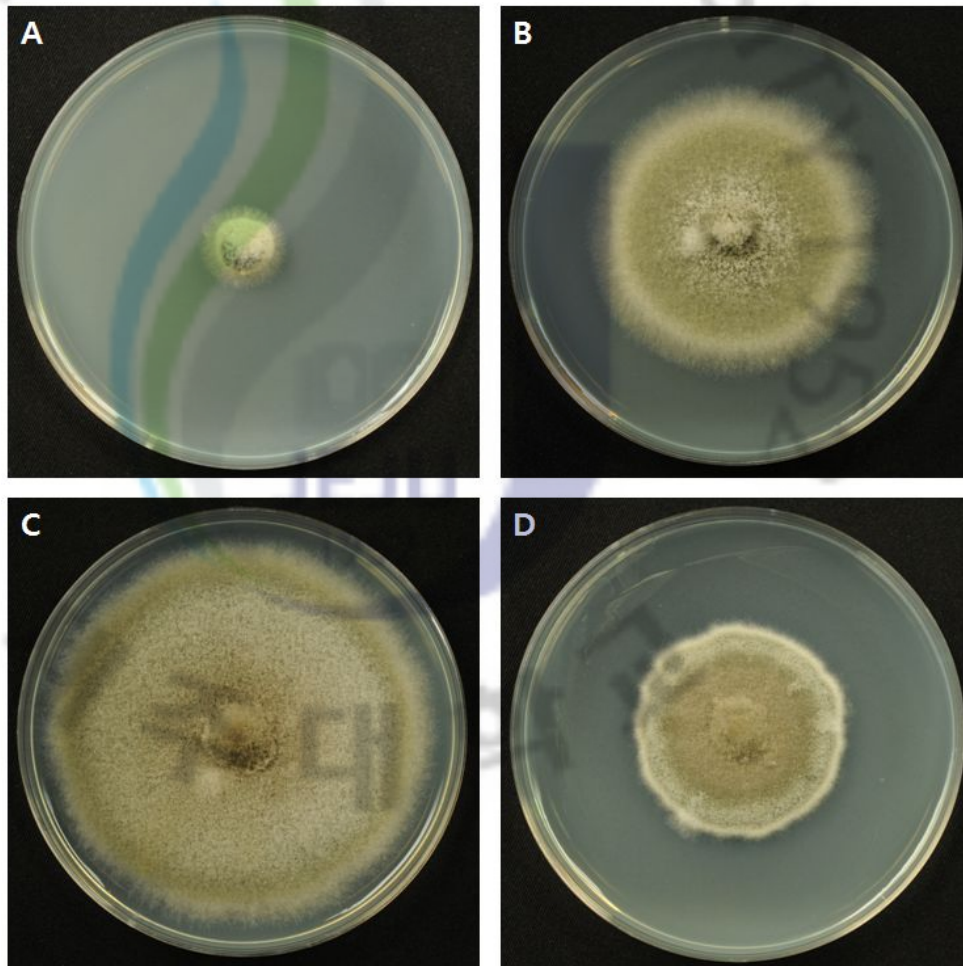


Fig. 9. Mycelium growth of garlic leaf blight pathogen(*Stemphylium vesicarium*) in different temperatures(A: 4°C, B: 15°C, C: 25°C, D: 30°C).

Table 1. Length of mycelium of garlic leaf blight in the different temperatures.

	Temperature			
	4°C	15°C	25°C	30°C
Growth length of pathogen ^a (Φ cm)	18.0±1.0	62.0±2.0	78.0±3.0	45.0±1.0

^aValues represent means±standard deviation of three separated experiments

4. 마늘 잎마름병원균에 대한 근권미생물의 항균 효과

근권 미생물을 이용한 마늘 잎마름병원균의 생장억제에 대한 직접적 효과를 알아보기 위하여 PDA 배지에 마늘 잎마름병원균과 근권 미생물을 근접 접종한 대치배양을 이용하여 항균실험을 실시하였다. 먼저 제주대학교 식물병리학실험실에서 분리한 근권 미생물들 중에서 선발한 50개의 근권 미생물을 마늘 잎마름병과 대치배양한 결과 BRH 433-2, KRY 505-3, MRL 412, THJ 609-3, TRH 423-3, TRH 427-2, TRL 2-3 등 7개의 근권 미생물이 마늘 잎마름병원균의 생장억제 효과를 보였다. 그 중에서 근권 미생물 THJ 609-3과 근접한 균사의 생장이 $1.3 \pm 1.0\text{cm}$ 이고, 균사 생장 억제율은 68.9%로 균사 생장 억제 효과가 가장 높았다(Fig 9 와 table 2). KRY 505-3은 55.7%, MRL 412는 51.6%의 균사 생장 억제율을 보였으며 KRY 505-3에서와는 달리 MRL 412 근처의 균사체 선단은 짙은 갈색으로 변한 것을 확인할 수 있었다(Fig 9. C, E 와 Table 2). BRH 433-2, TRH 423-3 두 근권 미생물의 균사 생장 억제율은 각각 41.0%, 41.8%로 유사한 억제율을 나타냈고, 근권 미생물과 근접한 부분의 마늘 잎마름병원균의 균사의 선단부분이 짙은 갈색으로 변하였으며 균사체의 전체적인 색도 옅은 갈색으로 변하였다. 또한 병원균과 근권 미생물을 접종한 주변의 배지의 색도 짙은 노란색을 띄었다(Fig 9. A, G 와 Table 2).

KRJ 502-1과 MRL 409-2는 10% 이하의 낮은 균사 생장 억제율을 보였고, KRY 502-1에서는 병원균이 근권 미생물을 위를 덮어 자랐으나, MRL 409-2에서는 근권 미생물 주위를 감싸고 병원균이 자랐다. 마늘 잎마름병원균이 근권 미생물 주위로 계속 자라는 것으로 보아 근권 미생물의 직접적인 항균효과는 거의 없는 것으로 확인되었다(Fig 9. B, D 와 Table 2).

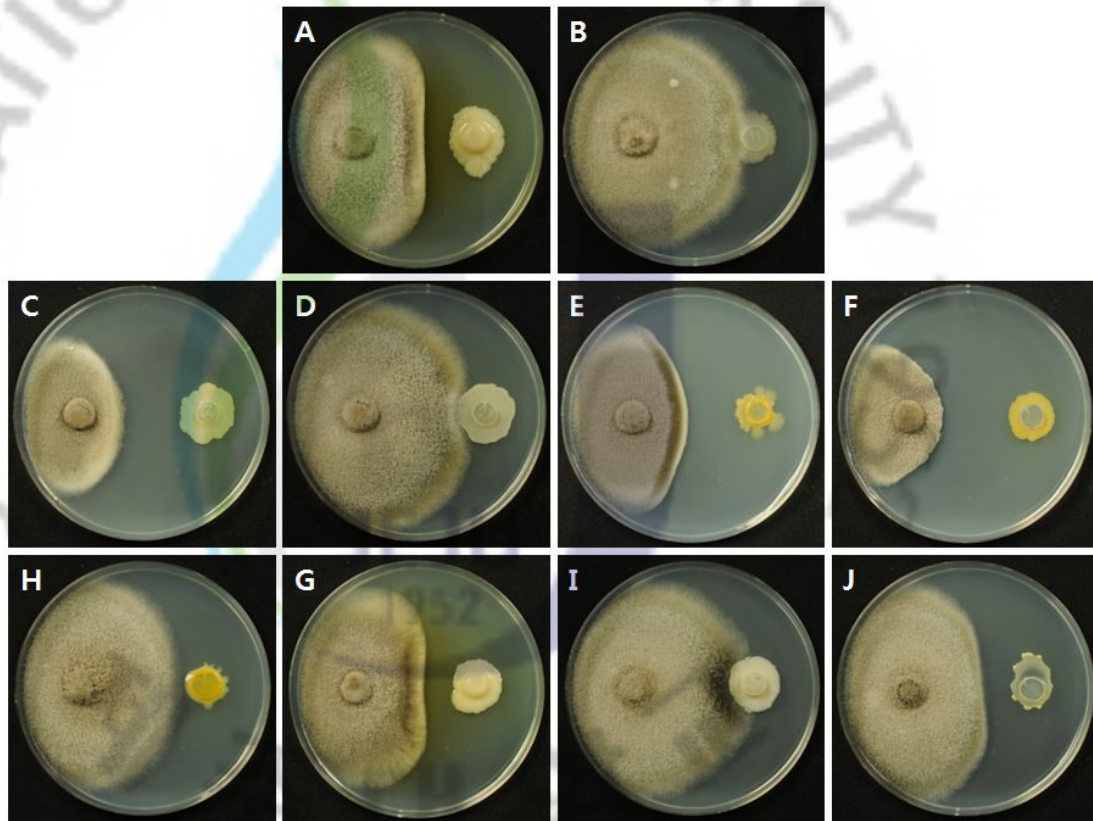


Fig. 10. Antifungal activity of rhizobacterial isolates to garlic leaf blight pathogen (A: BRH 433-2, B: KRJ 502-1, C: KRY 505-3, D: MRL 409-2, E: MRL 412, F: THJ 609-3, G: TRH 423-3, H: TRH 427-2, I: TRK 2-2, J: TRL 2-3).

Table 2. Inhibition rate of rhizobacterial isolates to garlic leaf blight pathogne *in vitro* test.

Bacterial strains	Growth of pathogen ^a	Inhibition rate ^b
BRH 433-2	24.0±0.0	41.0
KRJ 502-1	28.0±3.0	5.7
KRY 505-3	18.0±3.0	55.7
MRL 409-2	37.0±1.0	9.0
MRL 412	20.0±1.0	51.6
THJ 609-3	13.0±1.0	68.9
TRH 423-3	24.0±1.0	41.8
TRH 427-2	32.0±4.0	21.3
TRK 2-2	33.0±1.0	18.0
TRL 2-3	29.0±1.0	29.5

^aLength of fungal colony near the strain(mm)±standard deviation, each containing three plates per treatment

^bInhibition rate(%)=[1-(length of fungal colony near the strain/length of fungal colony without the stain)]×100

5. 마늘에서 근권미생물에 의한 마늘 잎마름병 억제

마늘 종자를 파종한 후 2-3일 정도에 발아되고, 15일 정도 후에는 7~8cm 정도의 마늘잎을 얻을 수 있었다. 마늘 잎마름병원균 억제에 직접적인 항균효과를 나타낸 근권 미생물인 MRL 412, TRH 423-3, THJ 609-3이 마늘 식물체에서도 마늘 잎마름병의 방제에 효과가 있는지를 알아보기 위하여 접종하였다. 또한 살균제를 처리한 시험구를 통하여 근권 미생물이 살균제와 비교하여 어느 정도의 마늘 잎마름병의 방제효과가 있는지 확인하였다. 처리조건은 무처리구, MRL 412, TRH 423-3, THJ 609-3, 살균제(metconazole, 살림꾼(동방아그로)) 등 5가지 접종 처리를 하였다.

무처리구 마늘잎에서는 접종 후 2일째부터 마늘잎의 끝이 마르는 병징이 나타났으나 잎이 노랗게 변하지는 않았다. 접종 3일째에는 마늘잎의 마르는 병징이 좀 더 진전되었고, 접종 4일째에는 병징의 진전과 함께 잎이 노랗게 변하기 시작하였다. 접종 7일째에는 약 60~70% 정도의 병발생율을 보였다.

근권 미생물인 MRL 412, TRH 423-3, THJ 609-3을 병원균과 혼합하여 처리한 마늘잎에서는 MRL 412, TRH 423-3을 처리한 잎에서 접종 2일 후 무처리구와 함께 마늘잎의 끝이 마르는 병징이 발생하였다. 근권 미생물 MRL 412를 처리한 마늘잎에서는 무처리구보다 20% 정도 높은 병 발생율을 보였으며, 접종 2일째와 7일째사이에는 10% 내외의 병 발생정도가 나타났다. 근권 미생물 TRH 423-3을 혼합 처리한 마늘잎에서는 무처리구와 유사한 병 발생정도를 볼 수 있었다. 근권 미생물 TRH 609-3을 처리한 마늘잎에서는 접종 후 초기 병 발생정도가 5%내외로 3가지 근권 미생물 처리구중 가장 낮은 병 발생정도를 나타냈고, 접종 후 5일이 지나면서는 병 발생정도가 거의 진행되지 않은 것으로 나타났다.

근권 미생물의 마늘 잎마름병 억제효과와 비교하기 위하여 처리한 살균제를 혼합하여 접종한 마늘잎에서는 초기 병 발생정도가 5%내외로 나타났으며, 접종 후 7일째까지 병 발생정도는 10%를 넘지 않았다. 근권 미생물을 혼합하여 접종한 마늘잎과 살균제를 혼합하여 접종한 마늘잎의 병 발생을 비교하여 보면, 근권 미생물 MRL 412, TRH 423-3을 처리한 마늘잎의 병발생보다 살균제를 처리한 마늘잎의 병 발생이 현저하게 낮고, THJ 609-3을 혼합하여 처리한 마늘잎에

서의 병 발생정도는 살균제와 유사하게 나타났다.



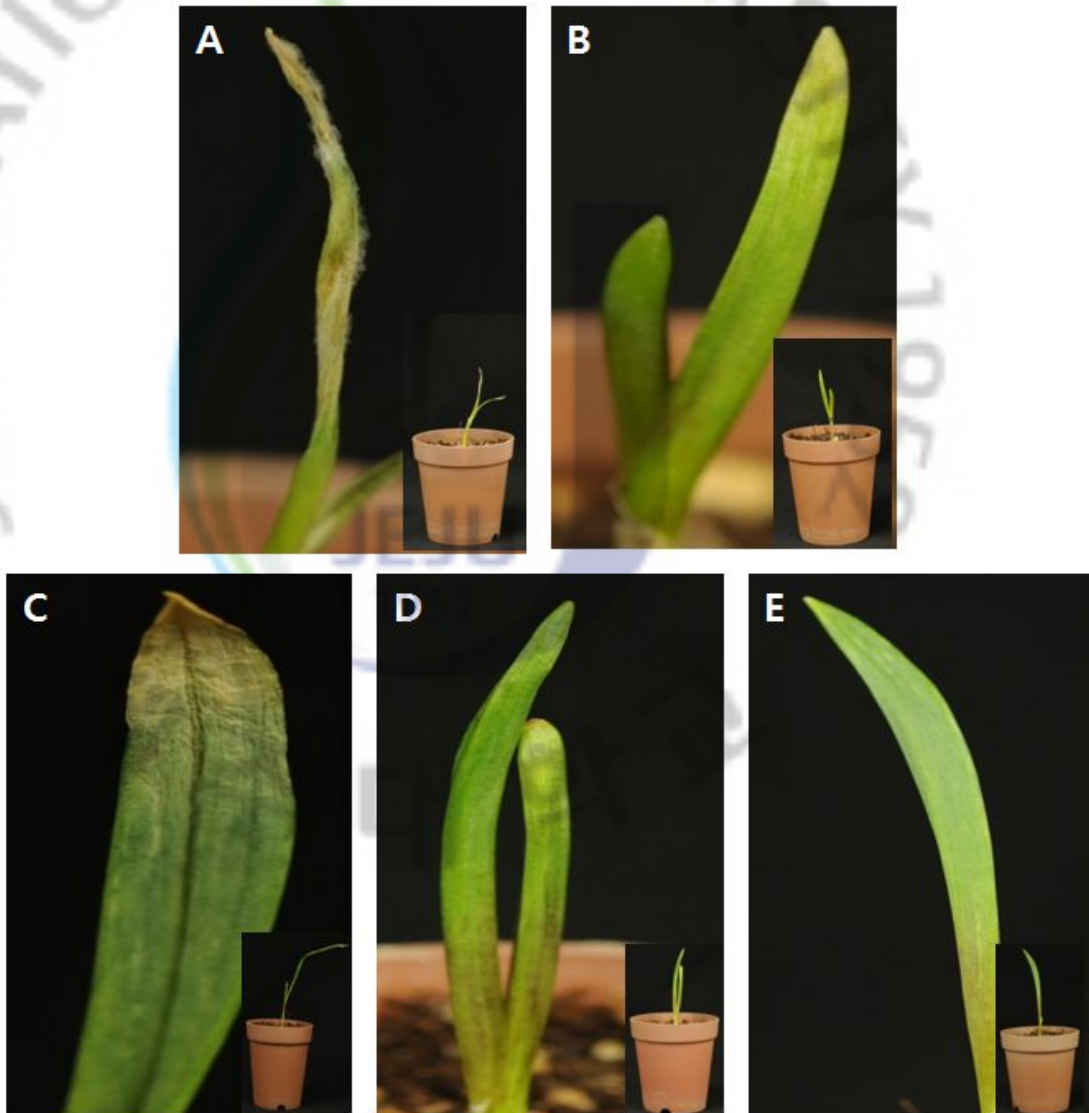


Fig. 11. Disease severity on garlic leaf at 7days after inoculated with *S. vesicarium*(2.0×10^4 conidia/ml) (A: Treatment only *S. vesicarium*; B, C, D: treatment with mixture of the *S. vesicarium* and rhizobacteria(B: MRL412, C: TRH423-3, D:THJ609-3); E: treatment with mixture of the *S. vesicarium* and fungicide(metconazole)).

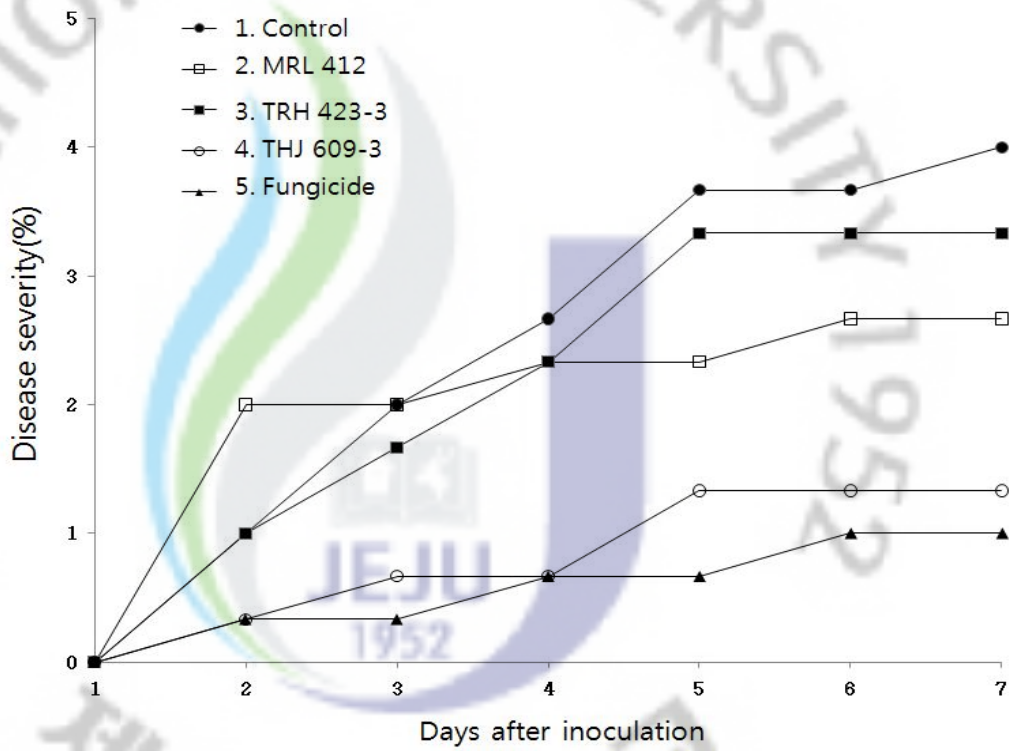


Fig. 12. Development of garlic leaf blight disease after inoculation with the mixture of rhizobacterial isolates and fungal pathogen suspension.

IV. 고 찰

제주도에서 재배되고 있는 마늘에 발생하는 마늘 잎마름병은 해마다 발생하며, '남도마늘'에서의 마늘 잎마름병은 보통 3월 중순 정도에 발병하여 4월말까지 지속적인 증가를 보이고 생육후기인 5월 중순까지 병의 진전이 있었다고 보고 하였다(강, 2006). 본 연구에서는 제주도에서 많이 재배되고 있는 남도마늘과 제주조생마늘의 품종별 마늘 잎마름병 발생에 대하여 조사하였다. 남도마늘이 제주조생마늘보다 병 발생 정도가 약 20%정도 낮게 조사되었으며, 두 품종모두 조사 기간 동안 병 발생정도가 증가한 것으로 보아(Fig. 6) 5월 중순부터 6월초인 수확기까지 병 발생이 계속 진행되는 것으로 생각된다. 이것은 두 품종의 유전적 요인에 발생하는 것으로 생각된다. 제주조생마늘은 마늘 잎마름병에 대해 감수성인 반면에 남도마늘은 제주조생마늘에 비해 저항성을 지닌 품종으로 판단되고, 마늘 잎마름병에 대한 저항성 품종의 재배를 통한 병 방제가 유리할 것으로 생각된다.

*Stemphylium*속 균은 광범위한 식물에 병을 유발하는 중요한 식물병원균이다(Farr et al., 1989). *Stemphylium*속에 의한 주요 병원균은 아스파라거스 자주빛점무늬병(Johnson & Lunedn, 1984; Lacy, 1982; Menzies et al., 1982), 마늘, 양파 잎마름병(Aveling & Rong, 1994; Boiteux et al., 1994)등 이 보고 되어 있다. 마늘 잎마름병을 일으키는 균인 *Stemphylium vesicarium* (Wallr.) Simmon은 인공배지인 PDA배지에서 회색 또는 회갈색의 균사로 자라며, 균사의 끝이 소포와 같이 부풀어 올라 하나의 분생포자를 만들어 낸다. 분생포자는 길쭉한 타원형의 모양이며, 세포벽은 사마귀와 같은 돌기가 있다. 그리고 1~6개의 횡격막이 있고, 여러개의 불규칙한 종격막을 가지고 있다(Simmons, 1985). 성숙한 분생포자인 경우 일반적으로 2~3개의 횡격막이 있다. 마늘에 발생하는 *Stemphylium vesicarium*은 South Africa(Aveling & Naude, 1992), Spain(Basallote et al., 1993) 그리고 Brazil(Boiteux et al., 1994)등에서 조사되었다. 우리나라에서는 Cho와 Yu(1998)가 최초의 보고이다. 제주도에서 발생하는 마늘 잎마름병원균에

대한 race는 알려져 있지 않다.

제주도에서 발생하는 마늘 잎마름병의 친환경적인 방제 연구도 병원균의 race에 따라 달라질수 있다. 그러므로 제주에서 발생하는 마늘 잎마름병의 친환경적 방제를 위한 병원균의 race 실험이 필요하다고 생각된다. 본 연구에서 포장 조사와 동일한 장소에서 마늘 잎마름 병징이 있는 잎에서 병원균을 분리하여 PDA배지에서 배양한 결과 회색 또는 회갈색의 균사체를 관찰할 수 있었다(Fig. 8A). V8 Juice배지에서 발생한 균사에서는 균사의 선단이 부풀어 오른 분생포자 경과 여기서 발생하는 하나의 분생포자를 관찰하였다. 포자의 모양은 타원형이며, 1개의 횡격막과 여러 개의 종격막을 관찰하였다 (Fig. 8D). 포장에서 직접 분리하여 관찰한 분생포자 역시 동일한 결과를 얻을 수 있었다. 본 연구에서 분리한 마늘 잎마름병원균은 *Stemphylium vesicarium*과 동일하고, 마늘잎에 접종한 결과 병원성도 검증되었다(결과 미제시). 제주지역 농장에서 직접 분리한 균을 공식균주로 한 연구는 제주지역에 활용가치가 있을 것으로 생각된다.

최근 합성농약을 사용하는 화학적 방제를 줄일 수 있는 대안으로 미생물을 이용한 생물학적 방제에 대한 연구가 많이 이루어지고 있다. 식물의 생물학적 방제는 주로 길항미생물을 이용한 연구를 중심으로 발전되어 왔으며, 현재 밝혀진 생물학적 방제 기작은 길항미생물이 생성하는 항생물질에 의한 항생작용(antibiosis)(Dowling & O'Gara, 1994; Labudova & Gogorova, 1998; Yedidia et al., 2000), 세포벽 분해효소에 의한 기생(parasitism)(Elad et al., 1983) 그리고 영양분과 공간 경쟁(nutrient and space competition)(Elad & Baker, 1985) 등 대부분의 생물학적 방제는 항생기작에 기초한 방법이었다.

길항 근권 미생물에 의한 식물병 방제에 대한 연구에 대해서는 많은 보고가 되어 있다. *Pseudomonas*속 근권 미생물을 분리하여 토마토 풋마름병균등 여러 식물병원균의 실내 항균효과를 통해 가장 큰 저지원을 형성한 P84 균주를 선발하여, 이를 이용한 토마토 풋마름병 포트실험에서는 상품화된 생물적 방제제인 엑스텐보다 60%의 방제 효과를 나타내었다(서 등, 2008). 또한 길항미생물인 *Bacillus stearothermophilus* YC4194를 이용한 *Pythium* 모잘록병 방제에서는 in vitro 실험에서 모잘록병의 유주포자낭 형성과 피낭포자발아를 억제 하였을 뿐만 아니라 식물체에 직접 길항균 제제 처리시 다른 화학 살균제의 비슷한 방제효과

를 보여 미생물 제제로서의 개발가능성을 보여주었다(양 등, 2002). 뿐만 아니라 시설재배 카네이션에 발생하는 위조병원균인 *Fusarium oxysporum*에 대해 길항 미생물을 선발하여 처리한 결과 58.1%의 높은 생장억제력을 보였다(조 등, 2004).

마늘의 경우 마늘 저장병에 대한 연구도 보고되어 있는데, 마늘의 저장병인 푸른곰팡이병을 방제하기 위해 *Pantoea agglomerans* S59-4를 $10^7 \sim 10^8$ cfu/ml의 농도로 처리하였더니 푸른곰팡이병원균의 접종농도가 1.0×10^4 conidia/ml일 때 높은 발병억제 효과를 보였으며, 수확 후 마늘표면에 처리하였을 때 저장 중 마늘의 부패를 현저히 억제함은 물론 파종 후 토양 속에서 발생하는 푸른곰팡이병균에 의한 부패억제효과도 우수한 것으로 나타났다(김 등, 2010).

본 실험에서도 직접적인 항균효과를 알아보기 위한 in vitro 실험에서 선발한 50개의 근권 미생물중에서 THJ 609-3이 68.9%로 마늘 잎마름병원균 생장에 대해 가장 큰 억제율을 보였으며(Table 2). KRY 505-3과 MRL 412는 각각 55.7%, 51.6%의 근사 생장 억제율을 보였고, BRH 433-2는 41.0%, TRH 423-3은 41.8%로 비슷한 근사 생장 억제율을 보였다(Table 2). 이와 같은 직접적인 항균효과를 나타내는 근권 미생물을 식물에 관주하거나 마늘 종자에 직접 근권 미생물 처리를 통하여 근권 미생물을 이용한 마늘 잎마름병원균 방제연구가 가능할 것으로 생각한다.

미생물을 이용한 또다른 식물병 억제 기작으로 기주식물의 저항성 유도(induced resistance)(Liu et al., 1995; Ton et al., 1999)등이 알려져 있다. 식물뿌리의 주변에 살아가면서 식물에 유익한 기능을 갖는 미생물집단인 근권 미생물(Kloepper, 1980)은 주로 식물의 뿌리 주위에서 서식 하지만 그들이 존재하지 않는 잎에 발생하는 병의 감소까지 가져오는 전신적 병 저항성을 유도하는 능력이 있다(O'Sullivan & O'Gara, 1992). 식물체는 각종 병원균(bacteria, fungi, virus 등)의 공격을 받았을 때 스스로를 보호하기 위한 hypersensitive response(Koga, J. et al., 1998), antimicrobial secondary metabolite(Kuchitsu, 1993; Yamada et al., 1993)를 생성하는 등 다양한 방어기작을 가진다. 또한 defense related genes이 발현되고, pathogenesis related(PR) proteins이 생성될 수도 있다(Kim 등, 1998). 식물체가 저항성을 유도하는 방법 중 대표적인 것이 SAR(systemic

acquired resistance)과 ISR(induced systemic resistance)이다. SAR은 식물체 내에 elicitors(avirulent pathogen, chemical 등)를 처리함으로써 식물체 전신에 저항성이 유도되는 것이다(Coridier et al., 1998; Ryals et al., 1996). 이런 pathogen-induced resistance는 pathogen의 공격에 의해 식물체내에서 salicylic acid(SA)가 signal intermediate로 축적되고, 이어서 pathogen-related(PR) protein이 발현된다. ISR은 non-pathogenic rhizosphere-colonizing bacteria를 식물체 종자에 직접 처리한 후 토양으로 옮겨 심거나, 토양 속에 근권 미생물을 처리한 후 종자를 심었을 때 식물체가 자라서 전신적으로 저항성을 가지게 되는 것을 말한다(Kloepper & Lima, 1981; Liu et al., 1995). ISR이 유도될 때는 jamic acid(JA), ethylene등이 중요한 signal로 작용한다(Knoester et al., 1999; Penninckx et al., 1998). 이 중 특히 유도저항성 능력이 우수한 근권 미생물을 선별하여 식물병의 생물학적 방제에 이용하기 위한 많은 연구가 수행되고 있다.

식물병 저항성을 유도하는 대표적인 식물생장촉진 균주(PGPR)로는 *Pseudomonas putida*, *P. fluorescens*, *P. serratia* sp., 그리고 *Bacillus* sp.등이 있다. Wei et al.(1991)은 *Pseudomonas spp.*를 오이의 종자에 처리하여 오이잎에 발생하는 탄저병의 발병을 유도 저항성에 의해 억제 할 수 있었고, Anith et al.(2003)은 *P. putida* 89B61균주의 종자와 육묘처리를 병행한 것에서 토마토에 발생하는 Bacterial wilt의 발병을 억제하였다. *P. fluorescens* 89B-27을 오이 종자에 처리하였을 때 오이에 발생하는 탄저병, 세균성점무늬병, CMV 바이러스 병 뿐만 아니라 해충 피해 방제에 효과적이었다(Liu et al., 1995). Kim & Jeun(2007)의 연구에서는 근권 미생물인 *Pseudomonas putida*(TRL2-3), *Micrococcus luteus*(TRK2-2), *Flexibacteraceae bacterium*(MRL412)을 1.0×10^7 cfu의 농도로 관주한 후 감자잎에 발생하는 감자역병의 병발생을 관찰한 결과 70%이상의 병 발생을 억제하였다.

본 연구에서는 in vitro 실험에서 직접적인 항균효과를 나타냈던 5개의 근권 미생물 중 MRL 412, TRH 423-3, THJ 609-3을 마늘잎에 처리하여 마늘 잎마름 병발병에 대한 온실실험을 수행하였다. 그 결과 병 접종 7일후 무처리구에서는 70%정도의 병 발생률을 보였으며, 근권 미생물 처리구에서는 in vitro 항균효과 실험에서도 가장 큰 균사 성장 억제를 보였던 THJ 609-3의 처리구에서 5%~

10%정도의 병 억제율을 나타내 살균제를 처리한 마늘잎의 병발생 억제와 유사하게 나타났다(Fig 10.). 이러한 결과로 보아 근권 미생물 THJ 609-3를 이용하여 마늘 잎마름병의 친환경적 병 방제에 활용할 가치가 높은 것으로 생각된다.

그러나 이렇게 우수한 식물병 방제 능력을 가진 미생물이라도 실제 포장에서는 근권 미생물이 환경적인 요인의 영향을 크게 받아 근권 정착능력이 떨어져 그들이 가진 유용형질을 제대로 발휘할 수 없거나 정착하였다더라도 유용형질 발현이 변화에 의해 실용화가 어렵다(Glick et al., 1997). Bull 등(1991)의 경우 *Pseudomonas fluorescens*의 항균 물질인 pyoluteorin 생합성 유전자 발현이 접종한 식물 종에 따라 달라졌다고 보고 하였다. 그러나 여러 가지 근권 미생물이 상품화되어 가고 있고, 그 효능도 실제 포장에서 확인되었다(Van Loon 등, 1996). 본 연구에서 마늘 잎마름병 억제 효과가 가장 높게 나타난 THJ 609-3을 실질적인 친환경적인 병 방제를 수단으로서 사용하기 위해서는 실제 마늘 포장에서의 실험이 필요하다고 생각된다.

V. 적 요

마늘은 제주도에서 감귤과 감자 다음으로 가장 많이 재배되고 있는 경제 작물이다. 마늘 잎마름병은 마늘의 성숙기인 3월 중순부터 6월 수확기 까지 병발생이 활발하게 진행되어 마늘의 수확량에도 큰 영향을 미친다. 이러한 마늘 잎마름병 방제를 위하여 과도하게 사용되는 화학적 살균제를 대체 할 수 있는 대안이 필요하다. 본 연구에서는 실제 포장에서 마늘 잎마름병의 발생을 조사하고, 직접 병원균의 순수 분리를 하였다. 순수 분리한 마늘 잎마름병은 *Stemphylium vesicarium* (Wallr.) Simmom으로 동정되었다. 제주도와 추자도 일대 식물체의 뿌리에서 분리된 근권 미생물을 이용하여, 50개의 균주를 선발하고 대치배양을 통해 마늘 잎마름병에 대한 직접적인 항균효과 실험을 수행하였다. THJ 609-3, KRY 505-3, MRL 412, BRH 433-2, TRH 423-3 균주가 40% 이상의 균사 생장 억제를 나타냈다. THJ 609-3이 균사 생장 억제율이 가장 높았다. 마늘 잎마름병의 병 발생 억제효과 실험을 위하여 무처리구, 직접적인 항균효과가 있는 근권 미생물 THJ 609-3, KRY 505-3, TRH 423-3과 살균제를 병원균과 함께 혼합하여 마늘잎에 분무하여 접종하였다. 접종 후 7일째에 무처리구에서는 70%이상의 병 발생이 나타났으며, 근권 미생물인 THJ 609-3, KRY 505-3, TRH 423-3를 혼합하여 접종한 마늘잎에서는 THJ 609-3를 접종한 마늘잎에서 병 발생 억제 효과가 가장 높았다. 살균제와 혼합하여 처리한 마늘잎의 병 억제는 5%내외로 처리구 중 병 억제가 가장 높았으며 근권 미생물 THJ 609-3의 병 발생 억제 효과가 살균제를 혼합한 마늘잎에서의 병 억제율과 유사하게 나타났다. 이러한 결과로 마늘 잎마름병을 일으키는 *Stemphylium vesicarium*을 방제하기 위해 근권 미생물 THJ 609-3을 친환경적 방제에 대한 활용가치가 있다고 생각한다.

VI. 참고 문헌

- 강성민. 2006. 마늘 주요 병해 발생실태 구명. 제주특별자치도 서부농업기술센터. pp.511-513
- 김용기, 홍성준, 지형진, 박종호, 한은정, 박경석, 이상엽, 이승돈. *Pantoea agglomerans* S59-4를 이용한 마늘 푸른곰팡이병의 생물학적 방제. 2010. 농약과학회지. 14(2): 148-156
- 김천환, 성기철, 이진수, 강경희, 엄영철, 서효덕. 2009. 제주지역에서 난지형마늘 주아 과중에 의한 종구 생산. Journal of Bio-Environment Control. 18(1): 74-80
- 농약사용지침서. 2011. 한국작물보호협회. pp.1274-1275
- 서상태, 박종한, 김경희, 이상현, 오은성, 신상철. 2008. *Pseudomonas putida* P84 균주를 이용한 토마토 풋마름병의 억제. Res. Plant Dis. 14(1): 32-36
- 서효덕. 2002. 마늘의 재배 역사와 생산 현황. 동아시아식생활학회 학술발표대회 논문집. p.15
- 송승엽, 김천환, 성기철, 강경희, 김인중. 2009. '남도'와 '제주재래' 마늘로부터 원형질체 나출, 융합 및 콜로니 형성. Kor. J. Hort. Sci. Technol. 27(3): 470-475
- 양현숙, 손황배, 정영륜. 2002. *Bacillus stearothermophilus* YC4194에 의한 Pythium 모잘록병의 생물학적 방제. Res. Plant Dis. 8(4): 234-238
- 이상엽, 이상범, 김용기, 황순진. 2006. *Bacillus subtilis* 112와 *Trichoderma harzianum* 23에 의한 마늘 흑색썩음균핵병의 생물적 방제. Res. Plant Dis. 12(2): 81-84
- 이승호, 이경미, 허인혜. 2003. 마늘의 품종별 분포와 기후와의 관계. 대한지리학회. p.56-57
- 이춘녕, 김우정. 1995. 천연 향신료와 식용색소. 향문사, pp.25-29
- 정희영, 임종희, 김병극, 이중중, 김상달. 2010. 마늘 잎집썩음병과 마른썩음병을

- 길항하는 토착길항미생물의 선발 및 기작. Kor. J. Microbiol. Biotechnol. 38(3): 295-301
- 제주특별자치도 서부농업기술센터. 2011. 서부농업현황. <http://seobu.agri.jeju.kr>
- 조정일, 조자용. 카네이션의 시설재배에서 길항성 세균을 이용한 Fusarium Wilt의 생물학적 방제. 2004. 한국유기농업학회지. 12(2): 183-196
- 통계청. 2010. 농업면적조사. <http://kostat.go.kr/>
- 한국식물병목록. 2009. 한국식물병리학회. pp.95-98
- Anith, K. N., Momol, M. T., Kloepper, J. W., Marois, J. J., Olson, S. M., and Jones, J. B. 2004. Efficacy of plant growth-promoting rhizobacteria, Acibenzolar-S-methyl, and soil amendment for integrated management of bacterial wilt on tomato. Plant Dis. 88: 669-673
- Aveling, T.A.S.. 1993. *Stemphylium* leaf blight of garlic in South Africa. Phytophylactica. 25: 293-294
- Aveling, T. A. S. and Naude, S. P. 1992. First report of *Stemphylium vesicarium* on garlic in South Africa. Plant Dis. 76: 426
- Aveling, T. A. S., and Rong, I., H. 1994. Scanning electron microscopy of conidium formation of *Stemphylium vesicarium* on onion leaves. Journal of Phytopathology-Phytopathologische zeitschrift. 140: 77-81
- Basallote-Ureba, M.J., Prados-Ligero, A.M., and Melero-Vara, J.M.. 1998. effectiveness of tebuconazole and procymidone in the control of *stemphylium* leaf spots in garlic. Crop Protection. 17: 491-495
- Basallote, M. J., Prados, A. M., Pereg, A. and Melero-Vara, J. M. 1993. First report in Spain of two leaf spot of garlic caused by *Stemphylium vesicarium*. Plant Dis. 77: 925
- Boiteux, L. S., Lima, M. F. Sobirinho, J. A. M., and Lopes, C. A. 1994. A garlic leaf blight caused by *Stemphylium vesicarium* in Brazil. Plant Disease. 43: 412-414
- Cook, R. J., and Baker, K. F. 1983. The Nature and practice of biocontrol of plant pathogens. Am. Phytopathol. Soc., St. Paul. Minn. p.539

- Copping, L. G. 2004. The manual of biocontrol agents. third edition, BCPC. UK. p.702
- Coridier, C., Pozo, M. J., Barea, J. M., Gianinazzi, S., and Gianinazzi-Pearson, V. 1998. Cell defense responses associated with localized and systemic resistance to *Phytophthora parasitica* induced in tomato by arbuscular mycorrhizal fungus. MPMI. 11: 1017-1028
- Dowling, D. N., and O'Gara, F. O. 1994. Metabolites of *Pseudomonas* involved in the biocontrol of plant disease. Trends in Biotech. 12: 133-141
- Elad, Y., and Baker, R. 1985. The role of competition for iron and carbon in suppression of chlamydospore germination of *Fusarium* spp. by *Pseudomonas* spp. Phytopathology. 77: 190-195
- Elad, Y., Chet, I., Boyle, P. and Henis, Y. 1983. Parasitism of *Trichoderma* spp. *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*-scanning electron microscopy and fluorescence microscopy. Phytopathology. 73: 85-88
- Farr, D. F., Chamuris, G. P., Rossman A. Y. 1989. Fungi on plants and plant products in the United States. St. Paul, Minnesota: APS press. p.1252
- H. Suheri, T.V. Price. 2000. *Stemphylium* leaf blight of garlic (*Allium sativum*) in Australia. Australasian Plant Pathology. 29: 92-199
- Hwang JM, Lee BY. 1990. Effect of temperature and humidity conditions on rooting and sprouting of garlic. J Kor Soc Hort Sci. 31: 15-21
- Hye Sun Cho and Seung Hun Yu. 1998. *Stemphylium vesicarium* on garlic and other *Allium* spp. in Korea. Korean J. Plant Pathol. 14(6): 567-570
- Hyo-Jeong Kim and Yong-Chull Jeun. 2007. Infection Structures on the infected leaves of potato pre-inoculated with bacterial strains and DL-3-amino butyric acid after challenge inoculation with *Phytophthora infestans*. Plant Pathol. J. 23(3): 203-209
- Hyo-Jeong Kim and Yong Chull-Jeun. 2006. Resistance induction and enhanced tuber production by pre-inoculation with bacterial strains in potato plants against *Phytophthora infestans*. Mycobiology. 34(2): 67-72

- Jo JE, Lee SK. 1990. Food materials. Gijeonyungusa. Seoul. pp.154-155
- Johnson, D. A., and Lunden, J. D. 1984. First report of purple spot (*Stemphylium vesicarium*) of asparagus in Washington. Plant Disease. 68: 1099
- Jung, H. K. and S. D. Kim. 2004. Selection and antagonistic mechanism of *Pseudomonas fluorescens* 4059 against phytophthora blight disease. Kor. J. Microbiol. Biotechnol. 32: 312-316
- Kim, C. Y., Gal, S. H., Choe, M. S., Jeong, S. Y., Lee, S. I., Cheong, Y. H., Lee, S. H., Choi, Y. J., Han, C. D., Kang, K. Y., and Cho, M. J. 1998. A new class II rice chitinase, Rcht2, whose induction by fungal elicitor is abolished by protein phosphatase 1 and 2A inhibitor. Plant Molecular Biology. 37: 523-534
- Kloepper, J. W., and Lima Ramos Mariano, R. 2000. Rhizobacteria to induce plant disease resistance and enhanced growth-theory and practice. Biological Control for Crop Protection. 99-114
- Kloepper, J. W., and Schroth, M. N. 1981. Relationship of in vitro antibiosis of plant growth and the displacement of root microflora. Phytopathology. 71: 1020-1024
- Koga, J., Yamauchi, T., Shimura, M., Ogawa, N., Oshima, K., Umemura, K., Kikuchi, M., and Ogasawara, N. 1998. Cerebrosides A and C, sphingolipid elicitors of hypersensitive cell death and phytoalexin accumulation in rice plants. J. Biological Chem. 273: 31985-31991
- Knoester, M., Pieterse, C. M. J., Bol, J. F., and Van Loon, L. C. 1999. Systemic resistance in Arabidopsis induced by rhizobacteria requires ethylene-dependent signalling at the site of application. MPMI. 12: 720-727
- Kuchitsu, K. 1993. N-acetylchitoooligosacchrides, biotic elicitor for phytoalexin production, induce transient membrane depolarization in suspension-cultured rice cells. Protoplasma. 174: 79-81

- Labudova I and Gogorova I. 1998. Biological control of phytopathogenic fungi through lytic action of *Trichoderma* species. FEMS Microbiol Lett. 52:193-198
- Lacy, M. L. 1982., Purple spot: A new disease of young asparagus spears caused by *Stemphylium vesicarium*. Plant Disease. 66: 1198-1200
- Lee WS. 1974. Studies on dormancy of korean local garlies. Kor J hort Technol. 15: 119-141
- Liu, L., Kloepper, J. W., and Tuzun, S. 1995. Induction of systemic resistance in cucumber by plant growth-promotion rhizobacteria: Duration of protection and effect of host resistance on protection and root colonization. Phytopathology. 85: 1064-1068
- M.A.M. Hussein, M.A.M. Hassan, A.D.A. Allam and K.A.M. Abo-Elyousr. 2007. Management of *Stemphylium* Blight of Onion by using Biological Agents and Resistance Inducers. Egypt. J. Phytopathol. 35(1): 49-60
- Menzies, S. A., Broadhurst, P. G., and Triggs, C. M. 1992. *Stemphylium* disease of asparagus (*Asparagus officinalis* L.) in New Zealand. New Zealand Journal of Crops and Horticultural Science. 20: 427-433
- Ogawa T, Mori N, Matsubara N. 1975. The study on the ecological distribution and bulbing habit of garlic plants. Bull Nagasaki Agri Forest Exp Stat. 3: 9-15
- O'Sullivan, D. J., and O' Gara F. 1992. Traits of fluorescent *Pseudomonas* spp. involved in suppression of plant root pathogens. Microbiol. Rev. 56: 662-676
- Pennickx, I. A. M. A., Thomma, B. P. H. J., Buchala, A., Metraux, J. P., and Broekaert, W. F., 1998. Concomitant activation of jasmonate and ethylene response pathway is required for induction of a plant defensin gene in Arabidopsis. The Plant Cell. 10: 2103-2113
- Raupach, G. S., and Kloepper. J. W. 1998. Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple

- cucumber pathogens. *Phytopathology*. 88: 1158-1164
- Ryals, J. A., Neuenschwander, U. H., Willits, M. G., Molina, A., Steiner, H. Y., and Hunt, M. D. 1996, Systemic Acquired Resistance. *The Plant cell*. 8: 1809-1819
- 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
- Scherwinski, K., R. Grosch, and G. Berg. 2008. Effect of bacterial antagonist on lettuce: active biocontrol of *Rhizoctonia solani* and negligible, short-term effects on nontarget microorganisms. *FEMS Microbiol. Ecol.* 64: 106-116
- Simmons, E. G. 1985. Perfect states of *Stemphylium*. II. *Mycologia*. 38: 284-293
- Spencer, S., and Benson, D. M. 1982. Pine bark, hardwood bark compost, and peat amendment effects on development of *Phytophthora* spp. and lupine root rot. *Phytopathology*. 72: 346-351
- Ton, J., Pieterse, V. M. J., and Van Loon, L. C. 1999. Identification of a locus in *Arabidopsis* controlling both the expression of rhizobacteria-mediated induced systemic resistance (ISR) and basal resistance against *Pseudomonas syringae* pv. tomato. *MPMI*. 12: 911-918
- Van Loon, L. C., Baker, P. A. H. M., and Pieterse, C. M. J. 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathology*. 36: 453-458
- Wei, L. Kloepper, J. W., and Tuzun, S. 1991. Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by selected strains of plant growth-promotion rhizobacteria. *Phytopathology*. 81: 1508-1512
- Woo, J. K., H.D. Suh, Y.C. Cho, and M.Y. Eun. 1982. Physio-ecological studies for stabilizing garlic production. *Res. Rept R.D.A.* pp.7-10(in Korea)

Yamada, A., Shibuya, N., Kodama, O., and Akatsuka, T. 1993. Induction of phytoalexin formation in suspension-cultured rice cells by N-acetylchitooligosacchrides. *Biosci. Biotech. Biochem.* 57: 405-409

Yedidia I, Chet I, Kapulnik Y. 2000. Induction and accumulation of PR proteins activity during early stages of root colonization by the mycoparasite *Trichoderma harzianum* strain T-203. *Plant Physiol. Biochem.* 38: 863-873

Yong-Chull Jeun, Yun-Jeong Lee and Yeoung-Seuk Bae. 2004. Rhizobacteria-mediated Induced systemic resistance in cucumber plants against Anthracnose Disease caused by *Colletotrichum orbiculare*. *Plant Pathol. J.* 20(3): 172-176

감사의 글

이 논문의 마지막장을 정리하는 이 순간 그 동안의 많은 일들이 주마등처럼 스쳐 지나갑니다.

미국에 계신 동안 메일로 밖에 인사드리지 못한 저를 받아주시고, 많은 조언과 격려로 오늘의 자리까지 이끌어 주신 전용철 교수님께 머리 숙여 감사드립니다. 그리고 본 논문의 심사를 위해 애써주신 송창길 교수님, 김동순 교수님께 감사드리며, 항상 관심과 많은 가르침을 주신 강영길 교수님, 현해남 교수님, 김주성 교수님께도 감사드립니다.

실험 수행에 많은 도움을 주신 제주도 농업기술원 신양수 선생님과, 김찬우 박사님, 그리고 낯선 생활에 많은 도움을 주시고, 많은 조언과 관심으로 이 논문의 완성을 도와주신 송진영 · 고우리 · 하영삼 조교선생님, 장용성 선생님 및 많은 학과 선�후배님들께도 감사드립니다.

존재만으로도 든든한 고평렬 선배님, 항상 세심함으로 저를 챙겨주신 이충선 선배님, 그리고 실험실이라는 좁은 공간에서 힘든 일, 즐거운 일 함께 나눈 실험실 식구들 강소영 선배님 · 고운정 · 강지혜 · 김용성 · 이승학 후배님 그리고 김소연 · 손찬학 후배님에게도 감사의 마음을 전합니다.

이제는 굳이 말하지 않아도 든든한 10년 지기 친구들인 지영 · 미란 · 은경 · 선경 · 연실 그리고 이 지면에 다 하지 못하지만 보이지 않게 많은 도움을 주신 분들께 감사드립니다.

항상 저를 위해 기도해주시는 외할아버지, 지금은 하늘에 계신 외할머니, 늦은 공부를 시작하겠다는 제게 언제나 믿음으로 지켜봐주시고, 응원해주시고, 마음 많이 애태우셨을 부모님, 그리고 하나 밖에 없는 동생 윤호에게 감사의 마음을 전합니다.