



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

*Chlorella fusca*를 처리한 오이 잎에서
오이탄저병균의 침입구조

Infection structures of *Colletotrichum orbiculare* on cucumber leaves
pre-treated with *Chlorella fusca*

濟州大學校 大學院

農學科

李允珠

2017年 02月

*Chlorella fusca*를 처리한 오이 잎에서
오이탄저병균의 침입구조

指導教授 田 溶 哲

李 允 珠

이 論文을 農學 碩士學位 論文으로 提出함

2016 年 12 月

李允珠의 農學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長 _____ (인)

委 員 _____ (인)

委 員 _____ (인)

濟州大學校 大學院

2016 年 12 月

CONTENTS

List of Figures	ii
ABSTRACT	1
I. 서론	2
II. 재료 및 방법	5
1. 식물	5
2. 조류	5
3. 병원균	6
4. <i>C. fusca</i> 의 오이탄저병원균에 대한 직접적 항균활성	7
5. <i>C. fusca</i> 전처리와 <i>C. orbiculare</i> 접종	7
6. <i>C. orbiculare</i> 의 감염구조 관찰	8
7. SEM관찰을 위한 식물조직처리	9
8. 통계분석	10
III. 결과 및 고찰	11
1. <i>C. fusca</i> 의 오이탄저병원균에 대한 직접적 항균활성	11
2. 오이식물체에 <i>C. fusca</i> 전처리에 의한 오이탄저병 발병정도 억제	14
3. <i>C. orbiculare</i> 의 감염구조 관찰	17
4. <i>C. fusca</i> 전처리에 의한 오이탄저병의 감염 미세구조관찰	23
IV. 적 요	28
V. 참고문헌	29

List of Figures

Fig. 1. Inhibition of mycelia growth of anthracnose pathogen *Colletotrichum orbiculare* on potato dextrose agar medium inoculated with *Chlorella fusca* at concentration 1.0×10^7 (A) and 1.0×10^6 (B) cells/ml and untreated (C). The presented photos were taken at 7 days after inoculation with *C. fusca*. The suspension of *C. orbiculare* (1.0×10^5 conidia/ml) was dropped at center of the medium when the inoculation with the green algae. The vertical bars indicate the standard deviation of 3 replications. Different letters on the columns indicate significant differences ($P < 0.05$) according to Duncan's multiple test.
..... 13

Fig. 2. Disease severity on cucumber leaves pre-treated with H₂O (A), suspension of *Chlorella fusca* at concentration with 2.0×10^5 (B), 2.0×10^6 (C) and 2.0×10^7 (D) cells/ml and a commercial fungicide Benomyl (E) at 6 days after inoculation with anthracnose pathogen *Colletotrichum orbiculare*. The suspension of *C. fusca* were treated at 5 h before the fungal inoculation. The concentration of *C. orbiculare* and the Benomyl[®] (a.i. 50%, WP) were 1.8×10^5 conidia/ml and 0.7g/L, respectively. The lesion number was counted at 10 days after inoculation with *C. orbiculare*. The vertical bars indicate the standard deviation of 3 replications. Different letters on the columns indicate significant differences ($P < 0.001$) according to Duncan's multiple test.
..... 16

Fig. 3. Fluorescence microscopical observations of infection structure on the leaves of cucumber plants untreated (A, D, G), pre-treated with *C. fusca* (B, E, H) and a commercial fungicide Benomyl® (C, F, I) after inoculation with *C. orbiculare* for 1 (A-C), 3 (D-F) and 5 (G-I) days. The concentration of *C. fusca*, *C. orbiculare* and Benomyl® (a.i. 50%, WP) were 1.0×10^7 cells/ml, 1.0×10^5 conidia/ml and 0.7 g/L, respectively. All bars = 50 μ m. Abbreviation: a, appressorium; c, conidium; cf, *C. fusca*. 20

Fig. 4. Number of conidia (A), germination rate (B) and rate of appressorium formation (C) of *C. orbiculare* untreated, pre-treated with *C. fusca* and a commercial fungicide Benomyl®. The concentration of *C. fusca*, *C. orbiculare* and Benomyl® (a.i. 50%, WP) were 1.0×10^7 cells/ml, 1.0×10^5 conidia/ml and 0.7 g/L, respectively. The different letters represent significant differences ($P < 0.001$) according to Duncan's multiple range test from three independent experiments. 21

Fig. 5. Photographs of scanning electron micrographs on the untreated cucumber leaves at 12 h (A), 1 (B), 3 (C) and 5 days (D) after inoculation with *Colletotrichum orbiculare* (1.0×10^5 conidia/ml). All Bar = 10 μ l. a, appressorium; c, fungal conidia; ca, collapsed appressorium; gt, germ tube. 26

Fig. 6. Photographs of scanning electron micrographs on the cucumber leaves pre-treated with *Chlorella fusca* (1.0×10^7 cells/ml) at 12 h (A), 1 (B), 3 (C) and 5

days (D) after inoculation with *Colletotrichum orbiculare* (1.0×10^5 conidia/ml). All Bar = 10 μ l. c, fungal conidia; ch, *C. fusca*; gt, germ tube; h, fungal hyphae. 27

Abstract

Chlorella is known as chlorophyceae which can live autotrophically by photosynthesis, promote the growth of plants and suppress some plant diseases. However, a few researches in inhibition mechanism of plant diseases by chlorella have been carried out. In this study cucumber leaves pre-treated with *Chlorella fusca* suspension were investigated whether anthracnose by *Colletotrichum orbiculare* is suppressed or not. Furthermore, in order to illustrate how the algae can restrain the anthracnose, the infection structures of *C. orbiculare* were observed on the cucumber leaves pre-treated with the algae. Consequently, appressorium formation rate was apparently reduced in the cucumber leaves pre-treated with *C. fusca* compared to untreated control one. Also, the numbers of conidia found at the inoculation sites were significantly reduced compared to untreated one. On the other hand, on the leaves pre-treated with Benomyl[®] appressorium formation were decreased remarkably and numbers of conidia were also reduced similar with those pre-treated with *C. fusca*. Based on these results, it was revealed that occurrence of anthracnose can be suppressed by *C. fusca* pre-treatment and suggested that biochemical or structural hinderance by *C. fusca* resulting in the decline of appressorium formation on the leave surfaces may play an important role in the disease suppression.

I. 서 론

자낭균에 속하는 *Colletotrichum orbiculare* 에 의해 발생하는 오이탄저병은 오이뿐 아니라 수박과 머스크멜론 등 박과류에서도 피해를 입히는 매우 중요한 식물병이다(Agrios, 2005). 한국에서는 *C. acutatum* 에 의한 고추탄저병이 연중 생산량의 10% 이상 발생하는 병해로 고추에 매우 심각한 피해를 입히고 있으나(Kim 등, 2008) 오이탄저병에 의한 대발생 피해 사례는 최근까지 보고되지 않았다. 그러나 최근 기후변화로 인해 오이탄저병 발생에 적합한 기후 환경이 조성된다면 대발생할 가능성을 배제하기 어렵다. *C. orbiculare* 은 반활물영양체로 2 단계의 감염과정을 거치는데 식물체 감염 시 초기에는 기주세포와 활물영양 관계를 이루고 2 차 감염균사 발생 후에는 사물영양 단계를 이룬다고 알려져 있다(Gan 등, 2013). *C. orbiculare* 은 식물체에 침입 과정에서 식물체표면에 특수한 침입구조인 부착기를 형성하며 부착기의 세포벽 내면은 멜라닌 성분으로 되어있다. 부착기에 멜라닌이 없는 돌연변이는 부착기 내부에 팽압형성되지 않아 병원력이 감소되며 멜라닌 생합성은 최소한 3 개의 구조유전자에 의해 이루어진다고 알려져 있다(Agrios, 2005). Kojima 등(2002)은 오이탄저병균의 Mitogen-Activated Protein Kinase Gene (MAF1) 유전자를 삭제하였더니 부착기를 형성하지 않고 균사생장만 하였으며 병원력도 상실하였다고 보고하였다.

우리나라에서는 오이탄저병에 대한 방제는 주로 농약에 의존하며 Benomyl®, Chlorothalonil® 과 Kasugamycin®이 약제로 등록되어 있다. 그러나 최근 안전한 농산물을 찾는 소비자들의 요구에 따라 친환경농산물에 대한 관심이 증가하고 있다. 한국농촌경제연구원에서 발표된 자료에 따르면 친환경농산물은

2000년 대비 2010년에는 52배 증가하였으며 매년 51.6%의 급신장세를 보였다 (Jeong 등, 2012). 따라서 증가하는 친환경농산물을 안전하게 생산하기 위해 농약을 대체할 수 있는 친환경적으로 식물병을 방제하기 위한 연구들이 많이 진행되고 있다.

클로렐라는 직경 2 - 10 μm 의 구형 단세포 조류로 세포 표면은 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스의 단단한 세포막으로 이루어져 있으며 광합성을 통해 독립적으로 생활할 수 있는 녹조류이다. 클로렐라는 인체에 필요한 영양소인 단백질, 탄수화물, 색소, 비타민, 미네랄을 생산하는 원료가 되며(Mata 등, 2010) 바이오연료, 인간의 영양소, 동물의 먹이, 폐수정화, 농업적 활용 등으로 다양하게 적용되고 있다. 국외에서는 클로렐라를 농업적으로 활용하여 수확량 증가에 따른 소득이 증대되고 있는데, 클로렐라 추출물을 밀 엽면에 살포하였더니 수확량이 140% 증가되었고 비료로서도 유용하게 사용될 수 있다고 하였다(Safi 등, 2014; Shaaban, 2001). 국내에서도 클로렐라의 농업적 활용 가능성이 증가되고 있다. 예를 들면 가축인 소에 영양원으로 공급되는 볏짚사일지리에 클로렐라를 처리하였더니 조단백질의 함량이 증가되는 것으로 나타났다(Chol 등, 2015). 또한 과수에서도 그 효과가 확인되었는데 거창지역 사과 과원에서 클로렐라를 처리한 결과 상품과 비율이 30% 증가하는 것으로 나타났다(Ha, 2008).

클로렐라를 농업에 보다 적극적으로 활용하기 위하여 클로렐라의 생물학적 특성을 조사하여 클로렐라의 배양조건을 밝혔으며(Kim 등, 2014a), 클로렐라에 처리에 의한 콩나물의 생육촉진 효과와 항산화 능력 증진에 대한 연구결과를 보고하였다(Kim 등, 2015). 또한 클로렐라에 의한 작물의 저장성병해 억제 효과에 대해서도 연구되었는데 딸기에 클로렐라를 처리하였더니 무처리구에 비해 저장성 병해가 약 74% 감소하는 것으로 나타났으며 엽채류의 경우도 클로렐라의

처리구에서 저장성 병해가 현저하게 감소하는 것으로 나타났다(Kim 등, 2014b). 이는 클로렐라 처리가 친환경 농산물의 생육촉진과 기능성물질의 증대뿐만 아니라 식물병 발생을 억제하는데도 효과적이라 할 수 있다.

그러나 클로렐라의 의한 식물병 발생 억제 기작에 대해서는 아직까지 연구가 미흡하다. 따라서 본 연구에서는 클로렐라를 전처리한 오이잎에서 오이탄저병 발생 억제 여부를 조사하였다. 또한 클로렐라를 전 처리한 오이 잎에서 *C. orbiculare*의 감염구조를 형광현미경 및 주사전자현미경을 통하여 관찰함으로써 클로렐라에 의한 병 감소 원인을 밝히고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 식 물

시판되고 있는 오이종자 중 오이탄저병에 감수성으로 공시한 오이품종 정선삼척(*Cucumis sativus* L, cv. Jeongseonsamcheok, Dongbu Farm Hannong Co., Ltd, Seoul, Korea)을 구입하여 실험에 사용하였다. 오이 종자를 발아시키기 위하여 Petri-dish에 filter paper(Ø 90 mm)를 넣고 멸균수 3 ml로 습윤 처리한 후 오이 종자를 넣고 25°C에서 24시간 동안 암배양 하였다. 최아된 오이종자를 시판되는 원예용 상토(Tuksimi[®], NongwoogreenTec. Suwon-si, Korea)가 채워진 플라스틱 포트(Ø 8 cm)에 파종하고 주간 25°C±1°C, 야간 18°C±1°C, 광주기 12:12가 유지되는 식물 배양실에서 재배하였으며 정식 후 10일 후인 제 1엽이 완전히 전개된 직후의 식물에서 유사한 면적의 제1엽을 채취하여 실험재료로 사용하였다.

2. 조 류

Chlorella fusca CHK0059 균주를 국립농업과학원으로부터 분양 받아 실험에 사용하였다. 이 조류를 배양하기 위해서 Bold's basal 배지(Thompson 등, 1988)와 BG11배지(Anderson, 2005; Stanier 등, 1971)의 질소원과 탄소원, 미량원소를 적절히 조화시켜 변형한BGMM(BG11 Modified Medium)을 Kim 등 (2014a)의 방법에 따라 작성하였다. *C. fusca*를 5% BGMM 고체배지에 3단 분리법으로 접종하여 28°C에서

5일간 배양하여 순수 분리하였다. 배양된 단일 균총을 기포발생기(SH-A2, Chosion Electric Appliance Factory, Beijing, China)가 설치된 배양용기에 담긴 BGMM(BG11 Modified Medium, BGMM) 5%를 첨가한 액체배지에 재접종한 후 28°C, 5000 lux 에서 7일간 배양하였다. 클로렐라 처리를 위해서 hemocytometer (Hausser Scientific Inc., PA, USA)를 이용하여 세포 수를 1.0×10^7 cells/ml 로 조정하였다. 준비된 현탁액에 Tween 20을 0.01%의 농도로 첨가한 후 분무기 (Aervoe Industries, Inc., Nevada, USA)를 이용하여 오이 식물에 처리하였다.

3. 병원균

오이에 탄저병을 일으키는 *C. orbiculare* 균주를 potato dextrose agar(PDA: Becton, Dickson and company, Claix, France)배지에 접종하고, 배양기(DA-MIL-2500; DONG-A, Siheung-si, Korea)로 옮겨 25°C에서 10일간 배양하였다. 분생자층(acervuli)이 형성된 탄저병균의 plate에 멸균수 10 ml을 넣고 loop를 이용하여 포자 현탁액을 작성하였다. 포자현탁액은 miracloth(Calbiochem corporation, Lajolla, U.S.A)로 여과하여 균사를 제거한 후 hemocytometer를 이용하여 포자 농도를 1.0×10^5 conidia/ml 로 조정하여 사용하였다. 식물에 접종을 하기 위해서는 병원균이 오이 잎에 잘 부착되도록 포자현탁액에 Tween 20을 0.01%의 농도로 첨가한 후 분무기를 이용하여 접종하였다.

4. *C. fusca*의 오이탄저병균에 대한 직접적 항균활성

오이탄저병균에 대한 *C. fusca*의 직접적 항균활성 여부를 알아보기 위해서 인공배지를 이용한 *in vitro* 실험을 실시하였다. BGMM 액체배지에서 배양된 *C. fusca*를 1.0×10^5 , 1.0×10^6 , 1.0×10^7 cells/ml로 조정하여 각각 PDA에 $100 \mu\text{l}$ 씩 도말하였다. *C. fusca*가 도말된 PDA 중양에 1.0×10^5 conidia/ml 농도인 오이탄저병균 현탁액을 $10 \mu\text{l}$ 와 $100 \mu\text{l}$ 를 각각 접종한 후 28°C , 5000 lux의 조건이 유지되는 배양기에서 7일간 배양하였다. 또한 *C. fusca* 대신 멸균수를 PDA 배지에 도말한 후 오이탄저병균 현탁액을 접종하여 비교구로 사용하였다. 배양 후 성장한 오이탄저병균의 균총의 직경을 측정하여 항균 활성 여부를 조사하였다.

5. *C. fusca* 전처리와 *C. orbiculare* 접종

실내실험을 통해 *C. orbiculare*에 대한 직접적인 항균활성이 확인된 *C. fusca*가 오이식물에서도 오이탄저병 발생을 억제하는지 여부를 확인하기 위해 *in vivo* 실험을 실시하였다. *C. fusca* 현탁액의 농도를 2.0×10^5 , 2.0×10^6 , 2.0×10^7 cells/ml로 조정한 후 준비된 오이식물 엽면에 분무 살포하였다. 이 조류를 처리한 오이식물체를 상온에서 5h 동안 건조시킨 후 *C. orbiculare* 현탁액(1.8×10^5 conidia/ml)을 분무하여 접종하였다. *C. orbiculare*이 접종된 오이식물을 상대습도 99%가 유지되는 항온항습기(DA-DC, DONG-A, Siheung-si, Korea)에서 28°C , 24h 동안 보관한 후 주간 $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$, 야간 $18^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 가 유지되는 식물 배양실로

옮기고 10일 동안 병 발생 여부를 관찰하였다. 한편, *C. fusca* 의 오이탄저병 발생 억제 정도를 보다 정확하게 측정하기 위하여 *C. fusca* 현탁액 대신 살균수 그리고 시판 중인 Benzimidazole계 살균제인 Benomyl® (a.i. 50%, WP; Agrotech, Seoul-si, Korea)을 0.7 g/L 농도로 각각 처리하였다. 병 발생정도는 병원균 접종 10일 후에 병반수를 계수하여 측정하였다. 실험은 2주일 간격으로 총 3번을 실시하였다. 각 실험 마다 처리구당 5개의 식물을 반복하여 15개의 식물체를 사용하였다.

6. *C. orbiculare*의 감염구조 관찰

C. fusca 에 의한 *C. orbiculare*의 감염 억제 여부를 알아보기 위해 *C. orbiculare*의 감염구조를 형광현미경을 이용하여 관찰하였다. 살균수, *C. fusca*, Benomyl®을 전처리하고 *C. orbiculare*을 접종한 후 1, 3, 5일 간격으로 오이 잎을 채취하여 Jeun 등(2000년)이 보고한 방법에 따라 시료를 작성하였다.

오이탄저병에 감염된 오이 잎의 병반 부위(Ø9 mm)를 채취하여 2 % glutaraldehyde을 포함한 0.05 M phosphate buffer (pH 7.2)에 2 h 동안 고정된 후 동일한 phosphate buffer로 10 min 동안 각각 3회 세척하였다. 오이 탄저병균의 세포벽을 염색하기 위해 0.2 % diethanol(UVtex-2B, Muellheim, Germany)을 포함한 phosphate buffer에 20 min 동안 염색하고 phosphate buffer로 10 min 동안 3회 세척하였다. 염색을 마친 식물조직을 slide glass로 올려놓고 70 % glycerol을 한 방울 떨어뜨린 후 cover glass로 mounting하였다. 각 시료들은 형광 필터(exciter filter, BP 400-440; interference beam splitter, FT 460; barrier filter, LP 470)가 갖추어진 형광현미경(Olympus, Tokyo, Japan)을 이용하여 *C. orbiculare*의 감염구조를

관찰하였고 병원균의 포자, 발아관 그리고 부착기를 계수하였고 관찰된 포자수에 대한 발아율 (= 발아관 수 / 포자 수 %)과 발아관에 대한 부착기 형성율 (= 부착기 수 / 발아관 수 %)을 산정하였다. 실험은 2주일 간격으로 3번의 분리된 접종 실험을 실시하였으며 각 실험마다 처리구별로 오이식물 5개를 준비하였고 각 엽에서 임의로 3개 부분을 채취하여 관찰하였다.

7. SEM관찰을 위한 식물조직처리

주사전자현미경을 이용하여 *C. fusca*에 의한 오이탄저병균의 감염 억제 양상을 관찰하기 위하여 살균수 및 *C. fusca*를 전처리하고 오이탄저병균을 접종한 잎을 1일, 3일, 5일 후에 각각 채취하였다. 채취한 잎에서 병반 부위를 면도날로 $0.5 \times 0.5 \text{ mm}^2$ 의 크기로 잘라 2% glutaraldehyde를 포함한 0.05 M phosphate buffer solution (PBS)에 담아 30 sec 동안 진공처리한 후 실온에서 2 h 동안 고정하였다. 고정이 끝난 시료를 PBS로 10 min 동안 3회 세척하였다. 세척된 시료들은 ethanol 시리즈(30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95%, 100% 각각 10 min)를 통해 탈수하였고 100% acetone에 담아 30 min 동안 2-3회 처리하여 치환하였다.

각 시료들은 critical point drier (CPD 030; BAL-Tec, Los Angeles, CA, USA)로 임계점에서 15 min 동안 건조시켰다. 건조된 시료들을 sputter coater-gold(108A sputter coater, Cressington Scientific Instruments Inc., Watford, UK)로 표면을 금으로 코팅(~100 Å)한 후 주사전자현미경(JSM-6700F; JEOL Ltd., Tokyo, Japan)을 통해 20 kV에서 오이잎 표면을 관찰하였다.

8. 통계분석

살균수, *C. fusca*, Benomyl®를 전처리한 후 오이탄저병을 접종한 오이 앞에서 조사된 *C. orbiculare*의 전체 포자수, 발아된 포자수 및 형성된 부착기수의 각 처리구 평균간의 차이에 의한 유의성 검정은 SAS 9.3 (SAS institute Inc, USA)를 이용한 Duncan의 다중검정방법으로 분석하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. *C. fusca*의 오이탄저병균에 대한 직접적 항균활성

*C. fusca*가 오이탄저병균에 대한 직접적인 항균효과가 있는지 여부를 알아보려고 *in vitro* 실험을 한 결과 *C. fusca*가 성장하고 있는 배지에서 오이탄저병균의 균사생장이 억제되는 것을 확인할 수 있었다. 또한 *C. fusca*를 높은 농도로 도달한 배지일수록 오이탄저병균의 균사생장 억제 정도가 증가하는 것으로 나타났다. 이는 *C. fusca*가 오이탄저병균에 직접적인 항균효과를 나타내는 것으로 보인다(Fig. 1).

미생물에 의한 직접적인 항균 활성에 의해 식물병이 억제된 사례는 많이 보고되었다. 감귤 더듬이병균이 길항세균 *Pseudomonas putida*와 *Burkholderia gladioli*에 의해 생장이 억제 되었으며(Kim 등, 2011), *Glomus intraradices*, *Burkholderia gladioli* 또한 *Miamiensis avidus* 에 의해 식물병원균의 생장이 직접적으로 억제되었다(Lee and Jeun, 2005; An, 2010). 특히 *B. gladioli*는 오이탄저병균과 모잘록병 방제에 이용되고 있고(Raupach와 Kloepper, 1998; Bae 등, 2007) 토마토와 콩에서 발생하는 잣빛곰팡이병이 *P. putida* WCS358에 의해 억제되었다고 보고되었다(Meziane 등, 2005).

길항미생물에 의한 식물병원균의 직접적인 항균작용의 기작에 대해서는 어느 정도 알려져 있다. 길항세균인 *Bacillus spp.*는 iturin, surfactin과 bacillomycin을 포함하여 다양한 항생물질을 분비하는 것으로 보고되었다(Ongena와 Jacques, 2008). 또한 *B. methylotrophicus*와 *B. amyloliquefaciens*는 cellulase와 protease를

분비하며 siderphore의 활성으로 인해 영양경쟁을 통하여 식물병원균의 포자발아와 균사생장을 억제한다고 보고하였다(Han 등, 2015).

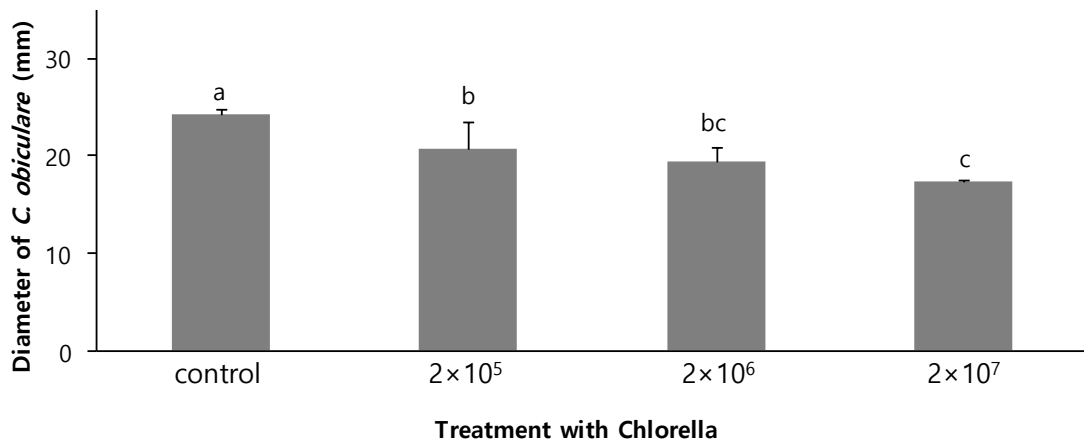
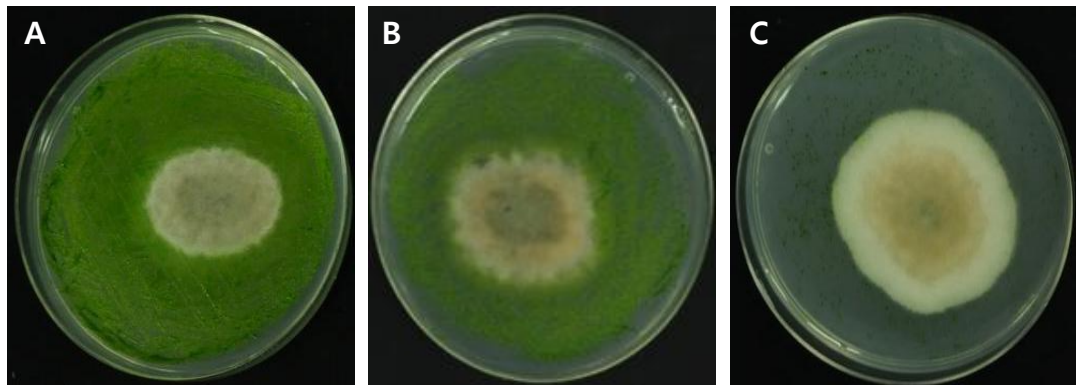


Fig. 1. Inhibition of mycelia growth of anthracnose pathogen *Colletotrichum orbiculare* on potato dextrose agar medium inoculated with *Chlorella fusca* at concentration 1.0×10^7 (A) and 1.0×10^6 (B) cells/ml and untreated (C). The presented photos were taken at 7 days after inoculation with *C. fusca*. The suspension of *C. orbiculare* (1.0×10^5 conidia/ml) was dropped at center of the medium when the inoculation with the green algae. The vertical bars indicate the standard deviation of 3 replications. Different letters on the columns indicate significant differences ($P < 0.05$) according to Duncan's multiple test.

2. 오이식물체에 *C. fusca* 전처리에 의한 오이탄저병 발병정도 억제

*C. fusca*의 직접적인 항균활성이 오이탄저병 발생을 억제하는지 여부를 알아보기 위해 오이식물체에 *C. fusca*를 처리한 잎과 처리하지 않은 잎에 *C. orbiculare*를 접종한 후 나타난 오이탄저병의 병반 수를 조사하였다.

무처리한 오이 잎에서의 병반 형성은 병원균 접종 후 3일째부터 작은 반점들이 조금씩 보이기 시작해 5일째부터 병반이 뚜렷하게 나타났으며 병반의 모양은 경계가 명확하지 않은 원형의 겹둥근무늬로 나타났다. 접종 10일 후 병이 진전되면서 작은 병반들의 크기가 증가되고 합쳐지면서 잎의 부정형 원형병반으로 점점 확대되었다(Fig. 2A).

*C. fusca*를 전처리 한 오이 잎에서는 처리한 *C. fusca*의 농도가 높아질수록 오이탄저병의 병반 수가 감소하는 경향을 보였다. *C. fusca* 농도가 10^5 cells/ml인 현탁액을 처리한 잎에서는 처리를 하지 않은 무처리 잎에 비해 병원균 접종 10일 후에 약 56% 병반 수가 감소하였다. 그러나 *C. fusca* 현탁액 농도가 10^7 cells/ml 현탁액을 전 처리한 잎에서는 병반 수가 더욱 감소되어 약 78%까지 감소하였다(Fig. 2D). 또한, 형성된 병반의 크기가 작아서 시간 경과에 따라 병반이 합쳐지는 양상은 나타나지 않았다. 따라서 *C. fusca* 현탁액 처리에 의해 오이탄저병의 발생이 억제됨을 알 수 있었다.

한편, *C. fusca*의 오이 탄저병 억제효과를 시판농약과 비교하기 위하여 Benzimidazole계 Benomyl[®] 수화제를 오이 잎에 동일한 방법으로 전 처리한 후 형성된 병반 수를 조사하였다. 시판 농약을 전 처리한 오이 잎에서 무처리구에 비해 병반 수가 77.0% 적게 나타났으며 이는 *C. fusca*를 10^7 cells/ml 으로 처리했을 때와 유사한 억제효과가 있는 것으로 조사되었다(Fig. 2).

조류에 의해 식물병이 억제되는 사례는 이미 보고되어 있다. 주로 해초로 불리는 바다 조류에서 항균활성을 지닌 물질이 발견되었으며 이들의 추출물에 의해 식물병이 억제되었다고 보고되었다(Kulik, 1995). 최근 보고에 따르면 건조된 클로렐라를 포도묘목에 처리하였더니 유묘기에 생육이 촉진되었으며 포도나무에 GFLV를 매개하는 *Xiphinema*의 개체수가 감소되었다(Bileva, 2013). 또한 엽채소나 딸기를 저장하기 전에 *C. fusca*와 같은 속인 *C. vulgaris* CHK008을 엽면처리하면 저장성이 현저하게 향상되는 것으로 보고되었다(Kim 등, 2014b). 이러한 클로렐라의 생육촉진 효과, 직접적 항균활성뿐만 아니라 식물의 방어반응인 유도저항성의 발현에 관한 연구도 진행되었다. Lee와 Ryu(2016)에 따르면 *Arabidopsis*에 *C. fusca*를 처리하고 *Pseudomonas syringae* pv. tomato를 접종한 후 RNA-seq을 진행한 결과 *C. fusca*를 처리한 *Arabidopsis*에서 ROS와 식물방어유전자의 발현은 *C. fusca*에 의해 저항성이 유도된 결과라고 보고하였다.

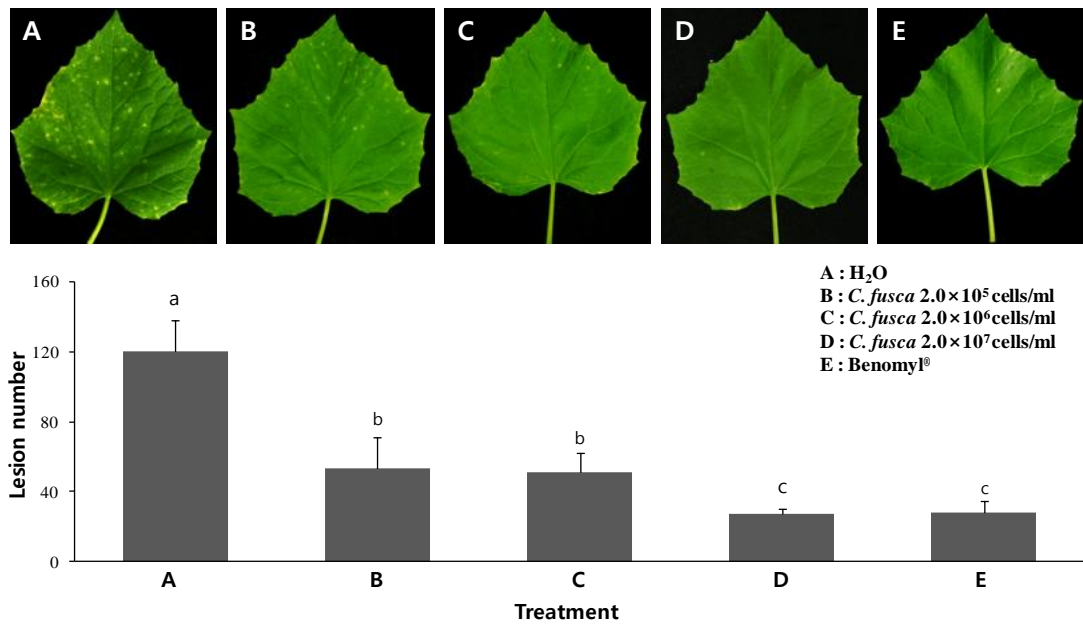


Fig. 2. Disease severity on cucumber leaves pre-treated with H₂O (A), suspension of *Chlorella fusca* at concentration with 2.0×10⁵ (B), 2.0×10⁶ (C) and 2.0×10⁷ cells/ml (D) and a commercial fungicide Benomyl (E) at 6 days after inoculation with anthracnose pathogen *Colletotrichum orbiculare*. The suspension of *C. fusca* were treated at 5 h before the fungal inoculation. The concentration of *C. orbiculare* and the Benomyl[®] (a.i. 50%, WP) were 1.8×10⁵ conidia/ml and 0.7g/L, respectively. The lesion number was counted at 10 days after inoculation with *C. orbiculare*. The vertical bars indicate the standard deviation of 3 replications. Different letters on the columns indicate significant differences ($P < 0.001$) according to Duncan's multiple test.

3. *C. orbiculare*의 감염구조 관찰

*C. fusca*에 의한 오이탄저병 발생 억제 원인을 보다 정확하게 알아보기 위해 오이잎에서 *C. orbiculare*의 감염부위를 접종 후 시간 별로 *C. orbiculare*의 포자수, 발아율과 부착기 형성율을 형광현미경을 이용하여 조사하였다.

무처리한 오이 잎에 *C. orbiculare*를 접종한 다음 1일 후에 접종한 잎의 표면을 관찰하였더니 약 60개/시료의 *C. orbiculare* 포자가 관찰되었고 그 중 80% 이상이 발아되었다(Fig. 3A, 4A, 4B). 많은 경우 발아 직후 부착기를 형성한 포자가 많이 관찰되었고, 관찰된 전체 포자 중 35% 정도가 부착기를 형성하였다(Fig. 3A, 4C). 접종 후 3일째에는 포자수와 포자의 발아율 그리고 부착기 형성율에는 1일째에 비해 뚜렷한 차이가 없었다(Fig. 3D, 4A, 4B). 접종 후 5일째에도 관찰된 포자수, 포자의 발아율 그리고 부착기 형성율에는 별다른 차이가 나타나지 않았다(Fig. 4A, 4B). 이는 병원균이 식물과 접촉한 후 포자가 발아하고 식물체에 침입하기 위한 부착기 형성이 접종 후 24 시간 이내에 이루어진다고 볼 수 있다.

*C. fusca*를 전처리한 오이 잎의 표면에서 조사된 *C. orbiculare*의 포자수는 접종 후 1일째 무처리한 잎에 관찰된 포자수에 비하여 유의성 있게 감소되었다. 이러한 포자수 감소는 접종 후 3일째와 5일째에서도 유사하게 조사되었다(Fig. 4A). 미생물을 전처리한 감귤잎에 더듬이병원균을 접종한 결과 무처리에 비해 포자수와 발아율이 감소되는 것을 형광현미경을 통해 확인하였으며 이는 미생물 처리가 식물의 접종 부위에 접종원의 밀도를 감소시킨다는 결과라고 판단된다(Kim 등, 2011). 따라서 *C. fusca*의 전처리에 의한 식물 접종 부위의 병원균 밀도 감소가 오이탄저병 억제의 한 원인으로 작용할 수 있다고 볼 수 있다. 이는 *C. fusca*의 전처리에 의한 식물 잎에서 공간적 경쟁에 의해 병원균의

밀도가 감소한 것으로 추측할 수 있지만 정확한 원인을 규명하기 위해서는 추가적인 생화학적 연구가 수행되어야 한다.

*C. fusca*를 처리한 잎에서 포자의 발아율은 접종 후 1일째 다소 감소하였다. 그러나 접종 후 3일째와 5일째에서는 무처리에 비해 포자 발아율은 감소되지 않았다(Fig. 4B). 따라서 *C. fusca*에 의한 오이탄저병의 병 억제는 포자 발아를 감소시킴으로 나타나는 현상이라고 보기는 어렵다. 그러나 일반적으로는 포자발아를 억제하여 병발생을 효과적으로 방제할 수 있다고 알려져 있다. 예를 들면, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *Panibacillus polymyxa*, *Pseudomonas putida* 등의 미생물제제에 의해 고추탄저병의 포자발아가 억제되었으며(Kwak 등, 2012), 옥수수 밀둥썩음병 방제를 위해 *B. methylotrophicus*, *B. amyloliquefacies*을 처리한 결과 포자발아와 균사생장이 억제되어 약 70%의 방제가를 나타내는 것으로 보고하였다(Han 등, 2015).

*C. fusca*에 의한 오이탄저병 발생 억제는 병원균의 부착기 형성 억제에 의한 것으로 여겨진다. *C. fusca*를 전 처리한 오이 잎에서 병원균 접종 후 1일째 *C. orbiculare*의 부착기 형성이 무처리한 잎에 비해 급격하게 감소하였으며 그 이후에도 *C. fusca*를 전 처리한 잎에서는 *C. orbiculare*의 부착기를 관찰하기 어려웠다(Fig. 3B, 3E, 3H, 4C). 부착기는 탄저병균을 포함한 몇몇 식물병원균이 식물체를 침입하기 위해서 형성하는 균사의 한 형태로서 탄저병균과 도열병균은 부착기 내부가 멜라닌 성분으로 되어 있어 내부 팽압에 의해 식물체를 침입한다고 알려져 있다(Agrios, 2005; Howard와 Ferrari, 1989; Than 등, 2008). 이러한 병원균의 식물체 침입에 관련된 기관의 형성 감소는 직접적으로 병 발생 감소를 의미한다. *B. methylotrophicus*, *B. amyloliquefacies* 등과 같은 길항미생물 처리에 의해 옥수수 밀둥썩음병원균의 부착기 형성이 억제되는 것으로

나타났으며(Han 등, 2015) 미생물 외에도 오배자나무에서 추출한 식물추출물을 처리하면 벼도열병의 부착기 형성율을 감소시킴으로써 벼도열병 발생을 억제하였다고 보고 되었다(Ahn 등, 2005).

한편 Benomyl®을 전처리한 오이잎에 관찰된 포자수는 접종 후 시간에 관계없이 무처리구에 비해 유의성 있게 감소하였고(Fig. 4A) 포자 발아율도 무처리에 비해 일관성 있게 감소하였다(Fig. 4B). 또한 병원균의 부착기는 접종 후 5일째까지 거의 찾아볼 수가 없었다(Fig. 3C, 3F, 3I, Fig. 4C). Benomyl®은 세포내에서 methyl 2-benzimidazole carbamate로 전환되어 세포분열을 억제함으로써 살균효과를 나타내는데(McCarroll 등, 2002) *C. fusca*를 전 처리한 식물에서도 유사하게 부착기 형성율의 감소가 현격하게 감소하였으므로 이러한 부착기 형성억제가 오이탄저병 발생 억제에 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다.

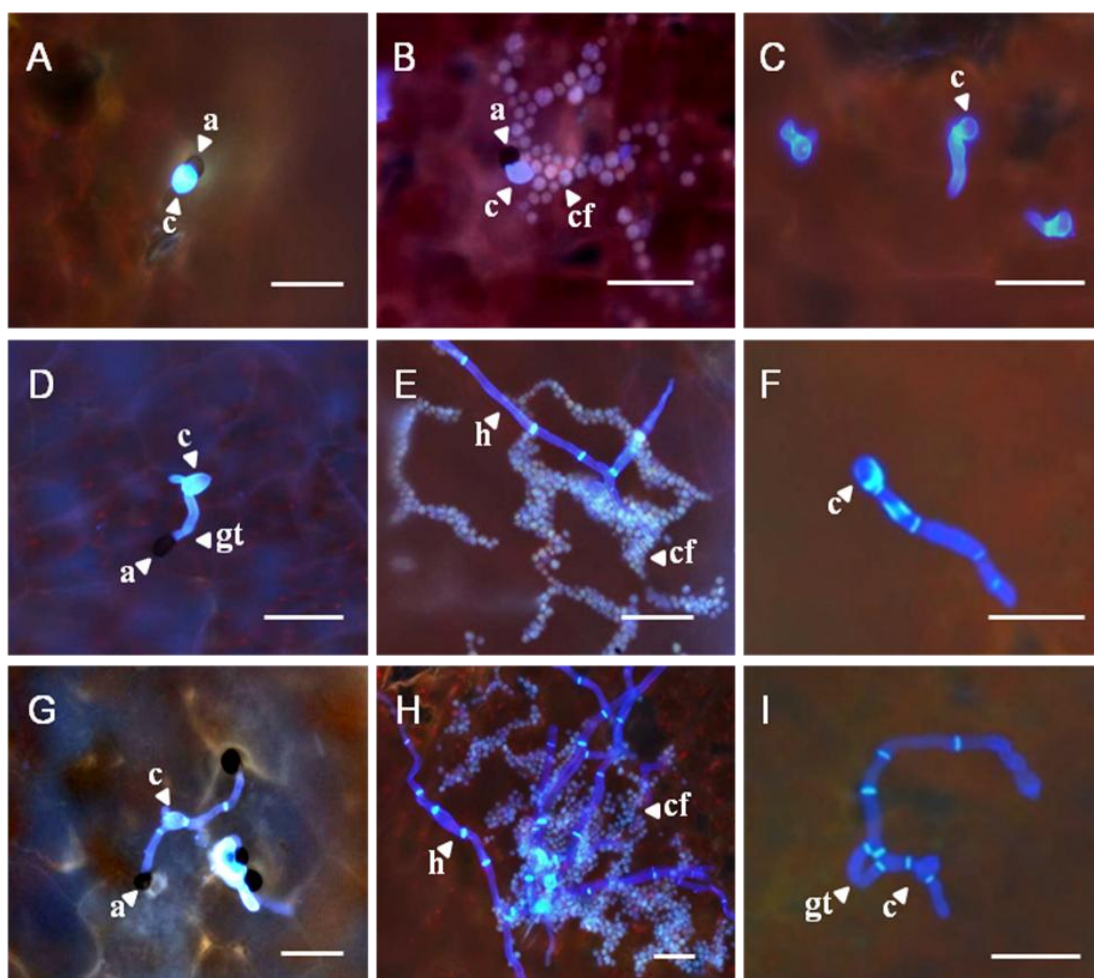


Fig. 3. Fluorescence microscopical observations of infection structure on the leaves of cucumber plants untreated (A, D, G), pre-treated with *C. fusca* (B, E, H) and a commercial fungicide Benomyl[®] (C, F, I) after inoculation with *C. orbiculare* for 1 (A-C), 3 (D-F) and 5 (G-I) days. The concentration of *C. fusca*, *C. orbiculare* and Benomyl[®] (a.i. 50%, WP) were 1.0×10^7 cells/ml, 1.0×10^5 conidia/ml and 0.7 g/L, respectively. All bars = 50 μ m. Abbreviation: a, appressorium; c, fungal conidia; cf, *C. fusca*; gt, germ tube; h, fungal hyphae

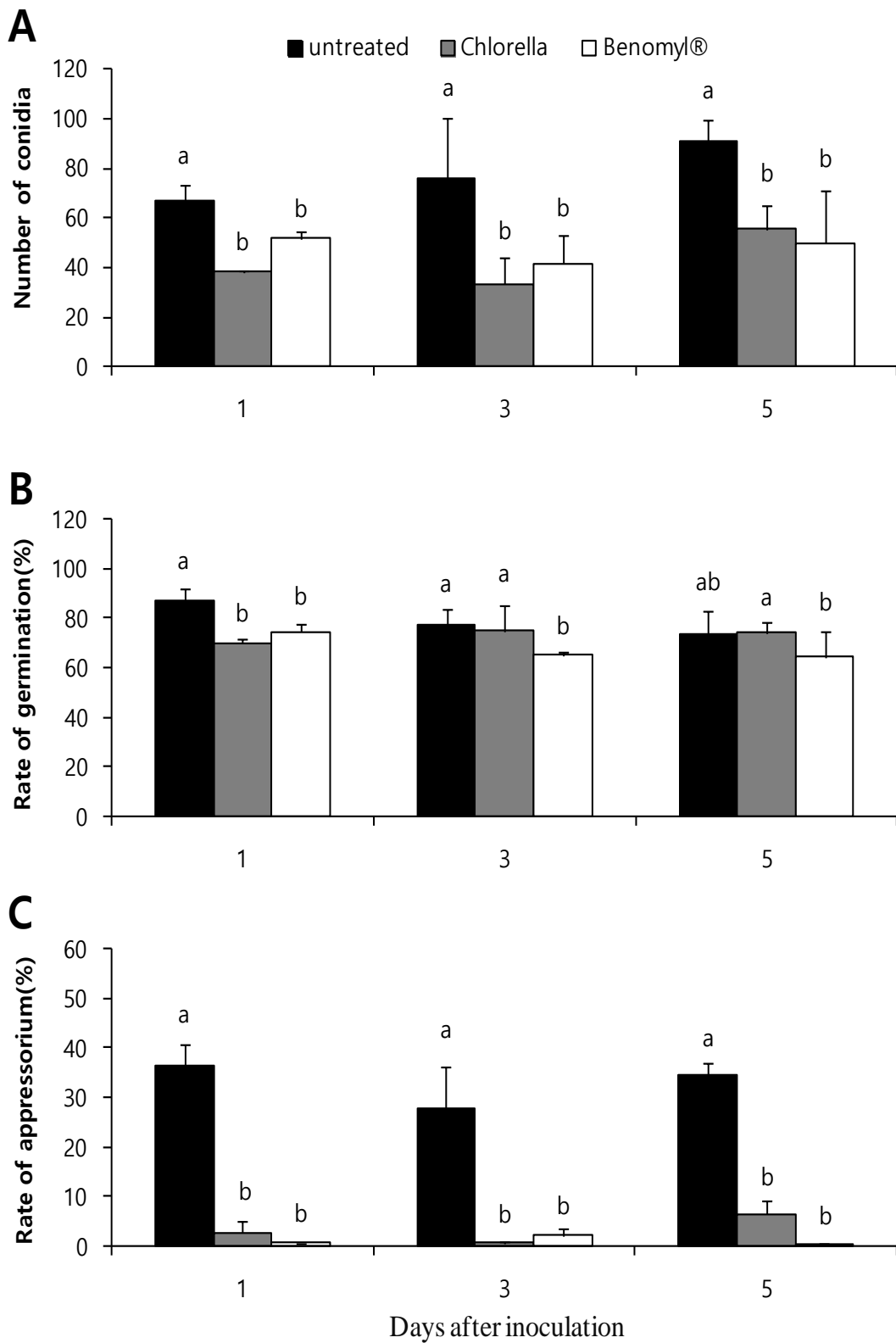


Fig. 4. Number of conidia (A), germination rate (B) and rate of appressorium formation (C) of *C. orbiculare* untreated, pre-treated with *C. fusca* and a commercial fungicide Benomyl[®]. The concentration of *C. fusca*, *C. orbiculare* and Benomyl[®] (a.i. 50%, WP) were 1.0×10^7 cells/ml, 1.0×10^5 conidia/ml and 0.7 g/L, respectively. The different letters represent significant differences ($P < 0.001$) according to Duncan's multiple range test from three independent experiments.

4. *C. fusca* 전처리에 의한 오이탄저병의 감염 미세구조관찰

오이 잎에 멸균수를 전처리하고 *C. orbiculare*를 접종한 후 오이식물 표면을 주사전자현미경으로 관찰한 결과 접종 12시간 후에 대부분 포자가 발아하여 발아관을 짧게 형성하였고 부착기도 드물지만 관찰되었다(Fig. 5A). 병원균을 접종한 후 1일째에는 대부분의 포자가 발아하였으며 발아된 포자에서 부착기가 자주 관찰되었다. 부착기의 모양은 구형이거나 곤봉모양으로 형성되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 5B). 접종 후 3일째에는 병원균의 발아율과 부착기 형성율은 1일째와 비슷하게 나타났으나 종종 함몰된 형태의 부착기가 관찰되었다(Fig. 5C). 이는 부착기 내의 세포질이 식물과 접촉한 부분에 형성된 침입균사를 통해 감염 소포 (infection vesicles)로 옮겨간 결과인 것으로 보인다 (Perfect 등, 1999). 병원균 접종 후 5일째에는 함몰된 부착기가 더 자주 관찰되었으며(Fig. 5D) 부착기를 형성하지 못한 균사들은 길이생장을 지속하는 것으로 관찰되었다. 따라서 함몰된 부착기는 식물과 친화적 반응 (compatible interaction)을 암시하지만 SEM 관찰을 위한 인위적인 전처리를 통한 형태적 변화일 가능성도 배제할 수 없다 (Pathan 등, 2008).

한편, *C. fusca*를 전 처리한 오이 잎 표면에서 *C. orbiculare* 를 접종한 후 주사전자현미경으로 관찰한 결과, 접종 12시간 후에 무처리구와 비슷하게 대부분의 포자가 발아하였으나 부착기는 관찰되지 않았다. 하지만 무처리구에서는 관찰 할 수 없었던 *C. fusca* 세포들을 오이탄저병균의 포자 주변에서 관찰되었다(Fig. 6A). 접종 후 1일째에서는 병원균의 발아된 포자 주변에 *C. fusca* 세포들이 12시간에 비해 그 수가 증가되었다(Fig. 6B). 접종 후 3일째에는 분지된 오이탄저병균의 균사가 자주 관찰되었으며 이러한 균사와 접촉된 *C. fusca* 세포들이 많이 관찰되었

으며 이러한 *C. fusca* 수의 증가가 오이탄저병균의 균사 형태에 영향을 주며 부착기형성을 억제하는 원인인 것으로 보인다(Fig. 6C). 접종 후 5일째는 부착기가 형성되지 않은 오이탄저병균 균사의 길이생장이 무처리에 비해 왕성하였으며 그 주변에 *C. fusca* 세포의 증식도 뚜렷하게 관찰되었다(Fig. 6D).

오이에 탄저병을 일으키는 *Colletotrichum orbiculare*는 벼 도열병의 원인 균인 *Magnaporthe grisea*와 마찬가지로 부착기라는 특수한 침입구조를 가지고 있으며 부착기가 기주식물 표면에 부착되어 침입균사를 식물체 내로 침입 시켜 병을 야기시킨다(Bechinger 등, 1999). 특히, 탄저병균(*Colletotrichum spp.*)은 반환물영양체로 식물에 감염 시 2단계의 감염과정을 거친다. 감염초기 1차 균사 형성 시에는 살아 있는 기주식물 세포로부터 영양분을 취하는 활물기생을 하다가 2차 균사를 형성한 후에는 사물기생체로 전환하는 생활사를 가진다(Bailey 등, 1996).

선행연구(Lee 등, 2016)에서 *C. fusca*를 전처리하고 *C. orbiculare*를 접종한 오이 잎을 형광현미경으로 관찰한 결과 무처리구에 비해 발아율에는 큰 차이가 없었으나 부착기 형성율이 *C. fusca*를 전처리한 오이 잎에서 뚜렷하게 감소하였다. 부착기 감소는 병 발생억제에 직접적인 원인이 될 수 있으므로 본 실험에서는 주사전자현미경을 통해 *C. fusca*에 의한 부착기 형성 억제 기작을 관찰하고자 하였다. 예상했던 대로 오이탄저병균 균사에 직접에 접촉된 *C. fusca* 세포를 주사전자현미경을 통하여 관찰할 수 있었으며(Fig. 6C) 이는 병원균의 정상적인 성장을 저해하는 원인이 될 수 있다고 생각된다. 또한 시간 경과에 따라 *C. fusca* 세포 수가 증가하는 것도 관찰되었고(Fig. 6A-D) 이를 통해 식물체에서 공간적 또는 영양적 경합이 일어나 오이탄저병균의 부착기 형성이 억제될 수 있는 가능성도 배제할 수 없다. 특히 *Chlorella*는 무성생식으로 증식하고 통상 10-30시간에 1회씩 4개의 낭세포로 분열하여 증식을 계속하므로 하루에 4-16배로 증식속도가 매우 빠

르다고 알려져 있다(Kang과 shim, 2004, Safi 등, 2014). 실제로 길항세균 *Pseudomonas pudia*와 *Burkholderia gladioli* 을 감귤 잎에 전처리하고 감귤더맹이병을 접종했을 때 접종 부위에서 접종원의 밀도를 감소시킬 수 있다고 보고한 바 있다(Kim 등, 2011).

*C. fusca*에 의한 *C. orbiculare*의 부착기 형성억제 기작에 대해서는 알려진 바가 없다. 다만 *C. fusca*의 분비물질에 의해 오이탄저병균의 부착기 형성 능력이 저하될 가능성이 있다. 예를 들면, 동일한 속에 속하는 *C. vulgaris*는 생장 과정 중 지방산과 탄수화물의 혼합체인 chlorellin이라는 물질을 분비하는데 이 물질은 다른 조류와 세균에 까지 독성을 나타낸다고 보고되었다(McCracken 등, 1980). 따라서 *C. fusca*에 의한 오이 탄저병의 발생감소는 *C. fusca* 전 처리에 의한 *C. orbiculare*의 부착기 형성 억제에 결정적인 원인일 것으로 판단되지만 보다 정확한 기작을 밝히기 위해서는 추가적인 생화학적 또는 세포구조학적 연구가 필요하다.

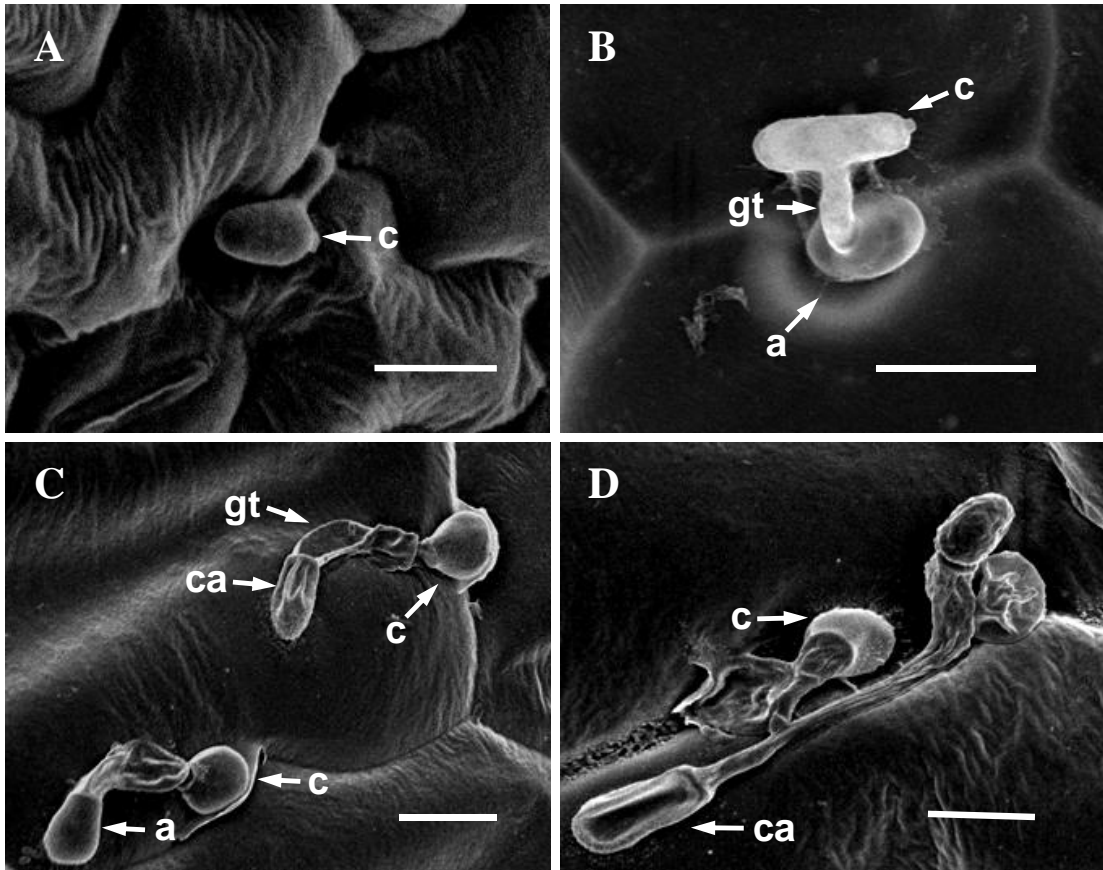


Fig. 5. Photographs of scanning electron micrographs on the untreated cucumber leaves at 12 h (A), 1 (B), 3 (C) and 5 (D) days after inoculation with *Colletotrichum orbiculare* (1.0×10^5 conidia/ml). All Bar = 10 μ l. Abbreviation: a, appressorium; c, fungal conidia; ca, collapsed appressorium; gt, germ tube

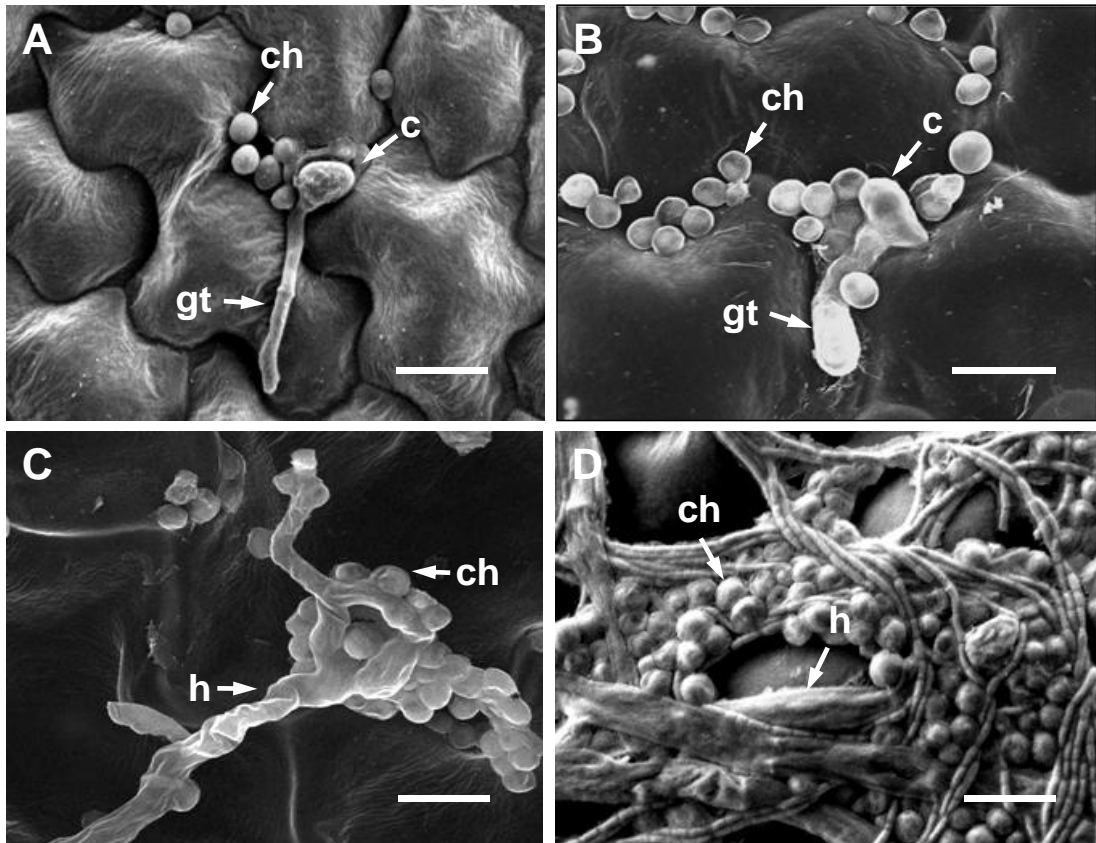


Fig. 6. Photographs of scanning electron micrographs on the cucumber leaves pre-treated with *Chlorella fusca* (1.0×10^7 cells/ml) at 12 h (A), 1 (B), 3 (C) and 5 (D) days after inoculation with *Colletotrichum orbiculare* (1.0×10^5 conidia/ml). All Bar = 10 μ m. Abbreviation: c, fungal conidia; ch, *C. fusca*; gt, germ tube; h, fungal hyphae

IV. 적 요

클로렐라는 광합성을 통해 독립적으로 생활할 수 있는 녹조류로서 작물의 생육촉진효과와 더불어 식물병 발생을 억제한다고 알려져 있다. 그러나 클로렐라의 의한 식물병 억제 기작에 대해서는 연구가 미흡한 실정이다. 본 연구에서 클로렐라 일종인 *Chlorella fusca*의 현탁액을 오이 잎에 전 처리하였을 때 오이탄저병 진전이 억제되는지 여부를 조사하였으며, *C. fusca*를 전 처리한 오이 잎에서 오이탄저병 억제기작을 알아보았다. 그 결과, 무처리한 잎에 비해 *C. fusca*를 전 처리한 잎에서 *C. orbiculare*의 부착기 형성율이 뚜렷하게 감소하였다. 또한 접종 부위에서 발견된 포자수도 무처리한 잎에 비해 유의성 있게 감소하였다. 한편, 살균제 Benomyl® 을 전 처리한 오이 잎에서도 *C. orbiculare*의 부착기 형성율이 크게 감소하였으며 포자수도 *C. fusca*를 전 처리한 잎과 유사하게 감소되었다. 따라서 이들 결과를 통해 *C. fusca* 전 처리에 의해 오이탄저병 발생이 억제되며 이는 *C. fusca*에 의한 식물 잎 표면에서 생화학적 또는 구조적 작용으로 인한 *C. orbiculare*의 부착기 형성 감소가 그 원인 중 하나일 것이라고 생각된다.

V. 참고문헌

- Agrios, G. N. 2005. Plant pathology. In: How pathogens attack plants, pp. 175-203, Anthracnose diseases caused by ascomycetes and deuteromycetes, pp.483-500. Elsevier Academic Press, Burlington.
- Ahn, Y. J., Lee, H. S., Oh, H. S., Kim, H. T. and Lee, Y. H. 2005. Antifungal activity and mode of action of Galla rhois-derived phenolics against phytopathogenic fungi. *Pestic Biochem Physiol.* 81: 105-112.
- Anderson, R. A. 2005. Algal Culturing Techniques. *J. phycol.* 41: 906-908.
- Bileva, T. (2013). Influence of green algae *Chlorella vulgaris* on infested with *Xiphinema* index grape Seedlings. *Journal Earth Sci Climate Change.* 4: 136.
- Choi, K. C., Ilavenil, S., Arasu, M. V., Park, H. S. and Kim, W. H. 2015. Effect of Addition of *Chlorella* and Lactic Acid Bacteria on Nutritive Value and Fermentation Quality of Fresh Rice Straw Silage. *J. Korean Soc. Grassl. Forage Sci.* 35: 159-165.
- Gan, P., Ikeda, K., Irieda, H., Narusaka, M., O'Connell, R. J., Narusaka, Y., Takano, Y., Kubo, Y. and Shirasu, K. 2013. Comparative genomic and transcriptomic analyses reveal the hemibiotrophic stage shift of *Colletotrichum* fungi. *New Phytol.* 197: 1236-1249.
- Ha, J. S. 2015. Field investigation of major apple diseases and pests in Geochang, and evaluation of *Chlorella* and reflective film treatment for apple quality improvement. Thesis for degree of master of agriculture. Gyeongsang National University, Korea. 1-52.
- Han, J. H., Park G. C., Kim J. O. and Kim K. S. 2015. Biological control of *Fusarium* stalk rot of maize using *Bacillus* spp. *Res. Plant Dis.* 21: 280-289.
- Howard, R. J. and Ferrari, M. A. 1989. Role of melanin in appressorium function. *Exp. Mycol.* 13: 403-418.

- Jeong, H. K., Kim, C. G. and Moon, D. H. 2012. Analysis of contribution of environment-friendly agricultural products to health promotion. *Korean J. Org. Agric.* 20: 125-142.
- Jeun, Y. C., Siegrist, J. and Buchenauer, H. 2000. Biochemical and cytological studies on mechanisms of systemically induced resistance to *Phytophthora infestans* in tomato plants. *J. Phytopathol.* 148: 129-140.
- Kim, J. T., Park, S. Y., Choi, W. B., Lee, Y. H. and Kim, H. T. 2008. Characterization of *Colletotrichum* isolates causing anthracnose of pepper in Korea. *Plant Pathol. J.* 24: 17-23.
- Kim, M. J., Shim, C. K., Kim, Y. K., Hong, S. J., Park, J. H., Han, E. J., Jee, H. J., Yun, J. C. and Kim, S. C. 2014a. Isolation and morphological identification of fresh water green algae from organic farming habitats in Korea. *Korean J. Org. Agric.* 22: 743-760.
- Kim, M. J., Shim, C. K., Kim, Y. K., Park, J. H., Hong, S. J., Ji, H. J., Han, E. J. and Yoon, J. C. 2014b. Effect of *Chlorella vulgaris* CHK0008 fertilization on enhancement of storage and freshness in organic strawberry and leaf vegetables. *Korean J. Hort. and Tech.* 32: 872-878.
- Kim, M. J., Shim, C. K., Kim, Y. K., Hong, S. J., Park, J. H., Han, E. J., Jee, H. J., Lee, S. B. and Kim, S. C. 2015. Effect of *Chlorella* sp. on Improving Antioxidant Activities and Growth Promotion in Organic Soybean Sprout Cultivation. Korea. *Korean J. Org. Agric.* 23: 939-950.
- Kim, S. Y., Hyun, J. W. and Jeun, Y. C. 2011. Suppression effect and mechanism of citrus scab in the citrus pre-inoculated with rhizobacterial strains. *Res. Plant Dis.* 17: 302-310.
- Kulik, M. M. 1995. The potential for using cyanobacteria(blue-green algae) and algae in the biological control of plant pathogenic bacteria and fungi. *Eur. J. plant pathology.* 101: 585-599.

- Kwak, Y. K., Kim, I. S., Cho, M. C., Lee, S. C. and Kim, S. 2012. Growth inhibition effect of environment-friendly farm materials in *Colletotrichum acutatum* in vitro. *J Bio-Environ Control*. 21: 127-133.
- Lee, S. M. and Ryu, C. M. 2016. *Chlorella fusca* elicited induced resistance against *Pseudomonas syringae* pv. tomato in *Arabidopsis*. In: The 2016 KSPP Fall Meeting and international conference, eds. by Korean Society of Plant Pathology, pp. 120. Pyeongchang, Gangwon-do, Korea.
- Mata, T. M., Martins, A. A. and Caetano, N. S. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. *Renew Sustain Energy Rev*. 14: 217-232.
- McCarroll, N. E., Protzel, A., Ioannou, Y., Stack, H. F., Jackson, M. A., Waters, M. D. and Dearfield, K. L. 2002. A survey of EPA/OPP and open literature on selected pesticide chemicals: III. Mutagenicity and carcinogenicity of benomyl and carbendazim. *Mutat Res Rev Mutat Res*. 512: 1-35.
- McCracken, M. D., Middaugh, R. E. and Middaugh, R. S. 1980. A chemical characterization of an algal inhibitor obtained from *Chlamydomonas*. *Hydrobiologia*. 70: 271-276.
- Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P. Y. and Vaca-Garcia, C. 2014. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renew Sustain Energy Rev*. 35: 265-278.
- Shaaban, M. M. 2001. Green microalgae water extract as foliar feeding to wheat plants. *Pak J Biol Sci*. 4: 628-632.
- Stanier, R. Y., R. Kunisawa, M. Mandel and G. Cohen-Bazire. 1971. Purification and properties of multi-cellular blue-green algae(order *Chlorococcales*). *Bacteriol Rev*. 35: 171-205.
- Thompson, A. S., Rhodes, J. C. and Pettman, I. 1988. Culture and collection of algae and protozoa, pp.13-35. Culture Collection of Algae and Protozoa Freshwater Biological Association, Cumbria, UK.

Than, P. P., Prihastuti, H., Phoulivong, S., Taylor, P. W. J. and Hyde, K. D. 2008. Chilli anthracnose disease caused by *Colletotrichum* species. *J Zhejiang Univ Sci B*. 9: 764-778.

감사의 글

감귤연구소 식물병리학 실험실 인턴으로 일을 시작하면서 처음 식물병리학을 접했습니다. 실험은 정말 재미있었습니다. 하지만 시간이 갈수록 실험 방법에는 익숙해지고 능숙해 졌지만 실험의 원리나 실험설계에 대한 수정을 할 때 경험하는 한계에 답답함을 느끼며 막연하게 공부하고 싶은 욕심이 생겼습니다. 이런 저의 맘을 안 언니와 형부가 일을 하면서 대학원에 진학할 수 있는 방법이 있다고 알려 주었고 바로 제주대학교 대학원 산학연으로 진학하게 되었습니다. 호기심으로 시작한 학문이 이렇게 재미있을지 몰랐습니다. 반면 학문의 결과물을 내는 일이 이렇게 어려운 일인지도 몰랐습니다. 아마도 산학연으로 시작한 대학원 생활을 그대로 마무리했다면 학문의 결과물인 논문은 쓸 엄두도 내지 못했을 것입니다. 또한 대학원 실험실에 들어와 실험을 체계적으로 배우고 경험하게 되어 얼마나 감사한지 모릅니다.

무엇보다도 개인적인 사정으로 산학연을 한학기 남긴 채 그만두고 방황하고 있을 때 실험실로 이끌어 주신 전용철 교수님께 진심으로 감사드립니다. 대학원 생활 내내 참 교육자의 모습을 보여주시면서 의기소침해 있을 때 격려해 주시고 부족한 부분은 채워주시고 학문의 길로 바르게 이끌어 주신 전용철 교수님께 맘을 다해 감사인사를 전합니다.

식물병리학 실험실 식구들에게도 감사합니다. 뒤늦은 공부에, 과제수행까지 실험실 식구들의 도움 없이는 어려웠을 일들입니다. 교수님이 독일에 계시는 동안 든든한 버팀목이 되어 주셨던 고평렬 박사님, 이 논문이 나오기까지 시간과 정성을 다해 실험을 도와준 윤정씨, 논문을 쓰면서 궁금한 것이 생길 때마다 나의 질문에 함께 고민해 주고 나의 부족한 부분을 아낌없이 채워 준 승학, 은주, 용호에게 진심으로 감사인사를 전합니다.

마지막으로 며느리 공부한다고 대학원 학비를 지원해 주시면서 “우리 운주 잘한다.” 응원해 주셨던 시부모님, 일상에 지쳐있는 내게 대학원을 진학할 수 있게 가능성을 열어준 형부와 언니, 아이들에게 엄마 손이 부족할 때 묵묵히 빈 공간을 채워 주셨던 친정엄마, 뒤늦은 나의 공부를 아낌없이 지원해 주고 기도해 준 나의 신랑 이시영씨와 엄마를 늘 응원하고 자랑스러워 해준 황하, 민협이와 이 기쁨을 함께 나누고 싶습니다.