



ORIGINAL ARTICLES

과수화상병 병원세균 *Erwinia amylovora*에 대한 지의류 추출물의 방제 능력 및 항생제 상호작용 효과 검증이수인¹ · 김원준¹ · 김다란^{2*} · 곽연식^{2,3*}¹경상국립대학교 식물의학과, ²경상국립대학교 생명과학연구원, ³경상국립대학교 응용생명과학부Evaluation of Antibacterial and Synergistic Effect of Lichen Extracts with Antibiotics Against Fire Blight Pathogen, *Erwinia amylovora*Su In Lee¹, Wonjun Kim¹, Da-Ran Kam^{2*}, Youn-Sig Kwak^{2,3*}¹Department of Plant Medicine, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea²Research Institute of Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea³Division of Applied Life Science (BK21Plus), Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

(Received on March 19, 2021. Revised on March 24, 2021. Accepted on March 25, 2021)

Abstract Fire blight disease, caused by *Erwinia amylovora*, occurred at more than 40 countries around the world. In 2015, the fire blight disease was firstly reported on pear trees in Korea. The disease has been attempted to manage by antibiotic, sulfate, copper, and biological control agents such as *Bacillus subtilis*, *Pantoea agglomerans* as biocontrol agent. However, the management of the fire blight disease has been very limited. Therefore, apply to control of the pathogen with new antibacterial compounds and other bio-compounds that can replace pesticides. In this study, we used lichen extracts to evaluate anti-*Erwinia amylovora* and determine synergistic effect with antibiotics such as streptomycin, oxytetracycline, kasugamycin, and oxytetracycline + streptomycin *in vitro*. As results, demonstrated EC₅₀ with liner regression analysis that was provide a value for synergistic effect. A lichen extracts, *Rimelia reticulata*, had properties of antibacterial activity against *E. amylovora*, also shown synergistic effect with streptomycin WG. Moreover, *R. reticulata* lichen extract has positive results at Pearson correlation coefficient, which was negative correlation with *E. amylovora* growth. To our reports, lichen extracts (F-1A) and streptomycin WG combination was the most synergistic effect to decreased bacterial growth. Fundamentally, the lichen extract can be useful to control the fire blight disease.

Key words Antibiotic, Biocontrol, *Erwinia amylovora*, Fire blight, Lichen

서 론

과수 화상병(Fire blight)은 사과(*Malus domestica*), 배(*Pyrus pyrifolia*) 등 장미과에 속하는 과수나무등을 기주로 하는 *Erwinia amylovora*에 의해 발생하는 병해이며(Zwet et al., 1979), 화상병으로 인해 미국, 유럽 등 매년 백만달러 이상의 경제적 손실이 발생하고 있다(Zwet et al., 2012). 화상병의 발생은 1780년 미국 동부에서 최초 보고되었으며, 1957

년 영국을 시작으로 다수의 유럽국가에 확산되었다(Bonn and Zwet, 2000). 국내에서는 2015년 5월 경기도 안성시 배나무 과원에서 처음으로 화상병이 보고되었다(Park et al., 2016). 국내에서 처음 보고된 시기와 비슷하게 최초 발생지와 근거리인 천안시와 보다 늦게 최초 발생지와 원거리에 있는 제천시에서도 화상병이 확인되었다(Myung et al., 2016).

*E. amylovora*는 꽃, 신초 등을 통해 감염하여 과수 전체를 고사시킬 수 있으며, 월동기가 끝나는 시기부터 주로 식물의 새순에 발생하고 잎, 가지, 줄기, 꽃, 열매에도 병징이 확인된다(Dellagi et al., 1998). 특히 감염 초기 잎자루와 만나는 곳에서 검은 반점이 나타나기 시작하며 잎맥을 따라 발

*Corresponding authors

E-mail: dalan0125@gnu.ac.kr (D.-R. Kim)

kwak@gnu.ac.kr (Y.-S. Kwak)

달하여 결국에는 잎이 검게 변해 말라 죽게된다. 가지나 새순에서는 병으로 생긴 반점이 꼭대기에서부터 시작하여 아래쪽으로 확산되는데, 감염 후기에는 새순이나 가지가 시들어 구부러지며 흑색으로 변해 말라 죽어 마치 동해를 입은 것처럼 보이기도 한다. 그리고 꽃에서는 주로 암술머리에서 발생하기 시작하여 꽃잎까지 전파가 되며 꽃 전체가 시들고 흑색으로 변한다. 열매에서는 처음엔 갈색의 세균 유출액이 생기며 점차 흑색으로 변한다(Johnson et al., 2000).

이런 화상병은 세균성 병해의 특징상 방제에 어려움을 겪고 있으며 미국 등 화상병의 발생이 심한 국가에서도 항생제와 구리 합성 약제의 사용을 권고하고 있다(Jamar and Lateur, 2007; Stockwell et al., 2008). 국내에서도 농촌진흥청 직권으로 외국의 사례를 바탕으로 항생제와 구리 합성 약제 중 총 16개의 약제를 직권 등록시켰다(Lee et al., 2018). 그러나 직권 등록 이란 등록된 농약이 없거나 소면적 작물의 농산물 안전성 확보를 위해 약해를 나타내지 않는 것만을 보장하여 실시하는 과정이지만, 실제로 약효검증이 이루어지지 않는 것이다. 또한 한국과 다른 외국의 환경조건 및 재배 품종의 다양성의 차이를 감안한다면, 직권 등록 약제의 한계가 있을 것으로 인식되고 있다. 더불어 농가에서 일반 방제를 위해 살균제가 남용되거나 약제의 특성을 이해하지 않고 오용하게 되는 경우가 발생하고 있는데, 이러한 문제를 극복하기 위하여 화학적 방제를 줄일 수 있는 생물학적 방제에 대한 연구가 이루어졌으며 국외에서는 과수 화상병을 방제하기 위한 균주로 *Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas fluorescens*, *Latobacillus plantarum*가 밝혀졌다(Pusey et al., 2011; Jordi et al., 2007; Rosello et al., 2013). 그러나 생물학적 방제 역시 실험실 내부의 효과가 실제 포장에서 구현되지 못하거나 방제 효과의 지속성 등의 한계점이 확인되었다(Bérdy et al., 2012; Parnell et al., 2016).

이와 같은 문제점을 해결하기 위해 새로운 활성을 나타내는 물질을 탐색하고자 생물적 자원이자 다양한 대사산물을 분비하는 지의류 추출물을 이용한 연구가 활발하게 이루어졌다(Barnes, 2000; Behera et al., 2005; Karagoz et al., 2009). 지의류(Lichen)는 특별한 구조인 지의체라는 성장체를 형성하며, 곰팡이와 조류가 공생관계를 가지는 생명체로 전세계적으로 널리 분포하는 진핵생물 중 하나이다(Crittenden et al., 1995). 대부분 지의류는 약용으로 사용되었으며, 1944년 지의류로부터 streptomycin과 penicillin이 발견된 후 지의류로부터 분비되는 대사 산물에 관한 연구가 활발히 진행되었다(Ingolfssdottir et al., 2002). 그 결과로 항균작용을 하는 다양한 1차, 2차 대사산물이 발견되었고, usnic acid 성분이 항균작용이 우수한 것으로 밝혀졌다(Ingolfssdottir et al., 2002). 또한 최근에는 지의류를 이용한 항바이러스제, 제초제 등의 개발에 사용되고 있으며 활용 범위가 확대되어 활발한 연구가 이루어지고 있다(Gang et al., 2004).

본 연구는 화상병균 *Erwinia amylovora*를 대상으로 남극의 지의류에서 추출되는 대사산물 중 과수 화상병에 효과가 있는 추출물을 선별하고, 선별된 지의류 추출물들과 항생균 항생제로 사용되고 있는 옥시테트라사이클린 수화제(Oxyteracycline, WG), 스트렙토마이신 수화제(Streptomycin, WG), 옥시테트라사이클린 + 스트렙토마이신 수화제(Oxyteracycline, WG + Streptomycin, WG), 가스가마이신 액제(Kasugamycin, SL)의 EC₅₀ 값을 측정하였다. 이후 과수 화상병원균에 대한 4가지 살균제의 EC₅₀ 값과 선별된 지의류 추출물들 간의 상호작용 효과를 검토하여 새로운 생물적 자원인 지의류 추출물을 선별하였다.

재료 및 방법

국내 화상병원세균 및 지의류 추출물

지의류 추출물은 순천대학교 한국지의류생물자원소재은행으로(Korean Lichen Research Institute, KoLRI)부터 622종을 분양 받아 사용하였다. 과수화상병원균에 대한 항생균력 평가는 국립농업과학원에서 수행하였다. 그리고 항생균성 지의류 추출물을 선별하기 위해 MGY media (D-mannitol, 10 g; L-glutamic acid, 2 g; KH₂PO₄, 0.5 g; NaCl, 0.2 g; MgSO₄·7H₂O, 0.2 g; Yeast extract, 1 g; Agar, 15 g per 1 L, pH 7.0)를 제조하여 균주 배양을 진행하였다(Park et al., 2016).

지의류 추출물의 항생균 활성 선별시험

균주는 MGY media (D-mannitol, 10 g; L-glutamic acid, 2 g; KH₂PO₄, 0.5 g; NaCl, 0.2 g; MgSO₄·7H₂O, 0.2 g; Yeast extract, 1 g; Agar, 15 g per 1 L, pH 7.0)에 선상도말평판배양법으로 분리한 후 28°C에서 3일간 정체 배양하였다(Choi et al., 2019). 이후 생성된 단일 colony를 MGY broth 10 mL (D-mannitol, 10 g; L-glutamic acid, 2 g; KH₂PO₄, 0.5 g; NaCl, 0.2 g; MgSO₄·7H₂O, 0.2 g; Yeast extract, 1 g per 1 L, pH 7.0)에 접종하여 28°C에서 3일간 진탕배양하였다. 1차 스크리닝에서 배양이 완료된 TS3128 균주는 MGY broth를 이용해 O.D.₆₀₀에서 0.1로 희석 후 96-well plate (SPL, Korea)에 각각 100 µL 분주하였고 622종의 지의류 추출 물질은 10 µL (V/V)로 5반복으로 첨가하였다. 2차 스크리닝은 1차 스크리닝과 동일한 방법으로 균주를 배지에 O.D.₆₀₀에서 0.1로 희석 후 96-well plate에 각각 100 µL 분주하였고 지의류의 항생균력이 높은 지의류 추출물을 선별하기 위해 5 µL (V/V)로 5반복 첨가하였다. 그리고 3차 스크리닝은 2차 스크리닝에서 지의류 추출물의 양을 1 µL (V/V)로 낮추어 5반복으로 진행하였다. 흡광도 측정은 1시간 간격으로 파장 600 nm에서 Microplate reader (BioTek, Synergy H1, Nederland)를 이용하여 28°C 조건으로 48시간

동안 측정하였다. 그 측정값으로 화상병원세균의 생장이 저해되는 정도를 두가지 방법으로 선발하였으며 절대값 수치인 48시간 배양 후 OD₆₀₀ 값에서 배양 전 OD₆₀₀ 값의 차이를 통해 선발하는 방법과 상대적 수치인 IAE (Index Antimicrobial Effectivity)로 전환하여 1차: >85%, 2차: >88%, 3차: >88% 를 사용하였다(Kokoskova et al., 2007). 최종적으로 두가지 선발 방법 모두에서 항세균력을 나타낸 지의류 추출물 선발하였다.

IAE (Index Antibacterial Effectivity, %) =

$$1 \times \frac{*C - T}{C + T} \times 100$$

*C: OD of untreated, T: OD of treatment

선발된 지의류 추출물에 대한 EC₅₀ 검정은 MYG 액체배지에서 수행하였으며, 96 - well plate (SPL, Korea)에 MGY broth (D-mannitol, 10 g; L-glutamic acid, 2 g; KH₂PO₄, 0.5 g; NaCl, 0.2 g; MgSO₄·7H₂O, 0.2 g; Yeast extract, 1 g per 1 L, pH 7.0)와 함께 TS3128 균주를 OD_{600nm}에서 0.1 농도로 현탁 하였다. 현탁한 배지에 지의류 추출물을 각각 D-3C와 D-5C는 최소 10 µL (V/V)에서 최대 40 µL (V/V)로 G-2A는 최소 2.5 µL (V/V)에서 최대 10 µL (V/V)로 F-1A은 최소 10 µL (V/V)에서 최대 50 µL (V/V)를 첨가하였다. 균주와 지의류 추출물을 접종한 24-well plate (SPL, Korea)를 28°C에서 48시간 진탕배양 후 Microplate reader (Biotek, Synergy H1, Nederland)에 흡수파장 600 nm에서 흡광도를 조사하여 EC₅₀을 확인하였다. 각 플레이트에는 대조구(MGY broth)를 포함하였고 EC₅₀ 수치가 낮은 것을 항세균효과가 높은 것으로 판정하였다.

항세균성 항생제 EC₅₀ 측정

현재 과수 화상병에 대한 16개의 직권 등록된 방제제(Lee et al., 2018) 중 4개의 항생제 Kasugamycin SL (stock 0.5 g/L), Oxytetracycline WG (stock 0.5 g/L), Streptomycin WG (stock 0.5 g/L), Oxytetracycline + Streptomycin WG (stock 0.5 g/L)를 대상으로 진행하였다. 과수화상병에 대한 항세균력 검증을 위해 96-well plate (SPL, Korea)에 MGY broth media에 *E. amylovora* TS3128 균주를 OD_{600nm}에서 0.1로 희석 후 100 µL 분주하였으며 각 항생제를 1 µL/mL, 5 µL/mL, 10 µL/mL, 15 µL/mL, 20 µL/mL 농도가 되도록 첨가하였다. 각 플레이트에는 대조구(MGY broth)와 TS3128 균주 처리구를 포함하였으며 3반복으로 진행하였다. 흡광도 측정은 28°C shaking incubator에서 48시간 배양 후 Microplate reader (Biotek, Synergy H1, Nederland)로 흡수 파장 600 nm를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 결과값을 이용해 선형 회귀 분석을 진행하여 EC₅₀을 산출하였으며, 선

형 회귀 분석(linear regression analysis)은 R (version 4.0.3)에서 ggplot2의 stats package (version 4.0.3)를 사용하여 실시하였다(Seber and Lee, 2003).

항세균성 선발 지의류 추출물과 항생제의 상호작용 효과 검증

지의류 추출물과 화학적 방제 인자의 상호작용 효과를 검증하기 위하여 각각의 EC₅₀ 측정 농도를 MGY broth (D-mannitol, 10 g; L-glutamic acid, 2 g; KH₂PO₄, 0.5 g; NaCl, 0.2 g; MgSO₄·7H₂O, 0.2 g; Yeast extract, 1 g per 1 L, pH 7.0) 배지에 첨가하였다. 상호작용 검증은 24 well plate (SPL, Korea)에 1 mL MGY broth 배지를 넣은 후 선발된 지의류 추출물과 항생제의 EC₅₀에 해당하는 양을 첨가하였으며 화상병원세균은 OD_{600nm}에서 0.1 농도로 현탁하여 100 µL를 첨가하였다. 이후 28°C shaking incubator에서 48시간 배양하였다. 배양 완료된 plate는 Microplate reader (Biotek, Synergy H1, Nederland)를 이용하여 흡수 파장 600 nm에서 흡광도를 측정하여 항생제와 선발 지의류 추출 물질의 상호작용을 검증하였다.

통계분석처리

과수화상병 방제 약제로 직권 등록된 4개의 항생제에 대해 지의류 추출물의 결과값을 선형 회귀분석(linear regression analysis)를 사용하여 R-squared 값이 0.99~0.97 범위에 포함되는지 확인하였다. 그리고 지의류 추출물과 화상병원세균과의 상관관계를 확인하기 위하여 R program (version 4.0.3)의 ggplot2 package와 Pearson correlation coefficient 분석법을 통하여 상관관계 분석 및 시각화를 수행하였다.

결과 및 고찰

지의류 추출물의 항세균 활성 선발시험

순천대학교 한국지의류생물자원소재은행(Korean Lichen Research Institute, KoLRI)에서 분양받은 622종의 지의류 추출물을 대상으로 과수 화상병의 원인균인 *Erwinia amylovora*에 대한 길항 능력을 확인하였다(Fig. 1). Fig. 1을 통해 무처리구보다 지의류 추출물 처리구가 병원균의 생장을 억제하는 것을 확인하였다. 이를 통해 *E. amylovora*에 대한 길항 지의류 추출물 6종(1차, 154종; 2차, 50종; 3차, 6종) 선발하였다(Table 1). 선발된 6종은 A-7B, D-3C, D-5C, F-1A, F-6C, G-2A이었으며 각 *Xanthoparmelia stenophylla*, *Tephromela atra*, *Dadonia macroptera*, *Rimelia reticulata*, *Myelochroa irrugans*, *Cladonia furcate* 균주로 부터 추출되었다. 선발된 6종의 길항 능력을 가진 지의류 추출물 중 IAE 결과값을 통해 *Rimelia reticulata*의 추출물 1종을 최종적으로 선발하였다(Table 2). 선발된 *Rimelia reticulata*의 경

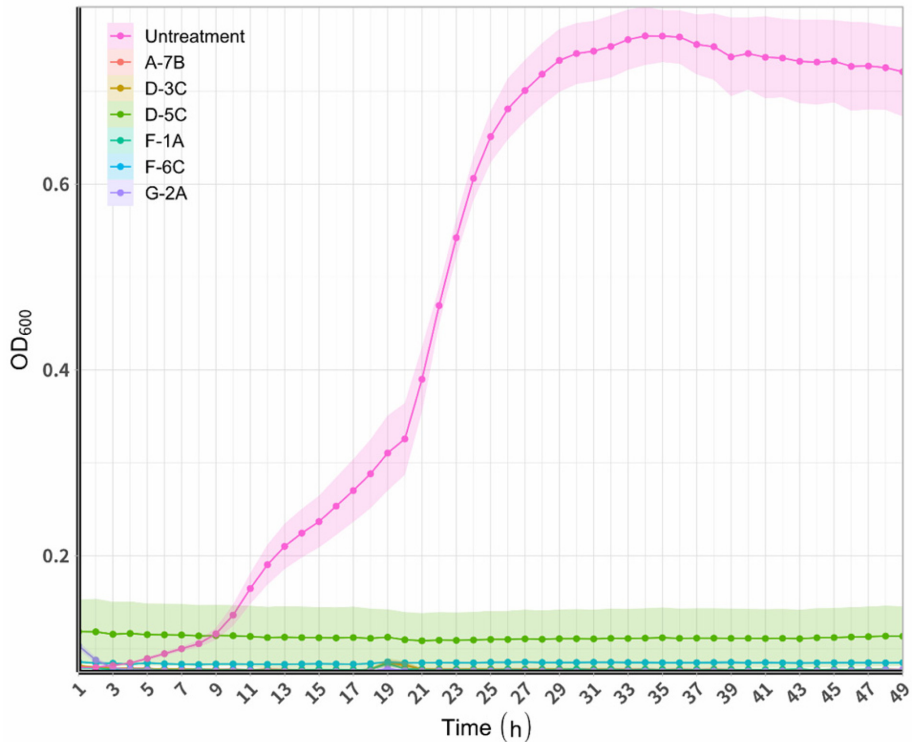


Fig. 1. Inhibitory effect of the lichen extracts against the *Erwinia amylovora*. The bacterial stock added 100 μ L and lichen extracts was 1 μ L on MGY broth medium ($n = 5$). Plate-96 well was incubated at 28°C for 48 h. Lichen list: A-7B, *Xanthoparmelia stenophylla*; D-3C, *Tephromela atra*; D-5C, *Cladonia macroptera*; F-1A, *Rimelia reticulata*; F-6C, *Myelochroa irrugans*; G-2A, *Cladonia furcata*. Bacterial growth curve was calculated with ggplot2 package of the R (4.0.3) program.

Table 1. Selection status of antibacterial lichen extract

Screening	Methods	
	OD ₆₀₀ after - OD ₆₀₀ before	IAE ^a
Number of lichens	622	622
1 st screening	154	82
2 nd screening	50	14
3 rd screening	6	1

^aIAE : index antibacterial effectivity

Table 2. Lists of antibacterial lichen extract for suppression of *E. amylovora* growth

Sample	Isolated lichen species	Activity (IAE%) ^a	Function	Reference
A-7B	<i>Xanthoparmelia stenophylla</i>	+ (87%)	Antibacterial	Simonyan et al., 2020
D-3C	<i>Tephromela atra</i>	+ (87%)	Unknow	-
D-5C	<i>Cladonia macroptera</i>	+ (87%)	Unknow	-
F-1A	<i>Rimelia reticulata</i>	++ (90%)	Antibacterial	Meera et al., 2009
F-6C	<i>Myelochroa irrugans</i>	+ (86%)	Antifungal	Jeon et al., 2008
G-2A	<i>Cladonia furcata</i>	+ (86%)	Antimicrobial	Ranković et al., 2007

^aantibacterial activity: 85%~87%, +; >88%, ++

우 항세균력을 가진 것으로 보고가 되었으며(Meera et al., 2009), 이를 통해 과수 화상병원균인 *E. amylovora*에 길항 능력을 보였을 것이라 판단된다.

지의류 추출물 및 항세균성 항생제의 EC₅₀ 측정

MGY 액체배지에서 지의류 추출물의 EC₅₀은 최소 10 μ L에서 최대 50 μ L 결과값으로 선형 회귀분석(linear regression

analysis)을 사용하여 산출하였다. 선형 회귀분석을 한 결과 D-3C는 EC_{50} 으로 20 μL , G-2A는 EC_{50} 으로 5 μL , D-5C는 EC_{50} 으로 20 μL , F-1A는 EC_{50} 으로 30 μL 로 산출되었다. 각 처리구별 값을 선형 회귀분석(linear regression analysis)을 통해 분석하였을 때 R^2 값이 G-2A, 0.84; D-5C, 0.88; F-1A, 0.94; D-3C, 0.97 확인되었다. 이와 같은 R^2 은 지의류 추출물의 용매가 휘발성이 강한 에틸아세테이트를 사용함에 따라 물질의 효과가 감소되는 경향이 있었을 것이라 사료된다. 이후 지의류 추출물이 과수화상병세균의 성장을 억제하였는지 상관 관계분석(Pearson Correlation analysis)으로 ρ 값(D-3C, -0.984; G-2A, -0.916; D-5C, -0.939; F-1A, -0.969)을 확인하였다. Pearson 상관 분석의 경우 상관계수값이 -1에 가까워질수록 음의 상관관계로 해석할 수 있으므로 본 결과 음의 상관관계가 있음을 확인하였다(Fig. 2).

직권 등록된 4종의 항생제의 EC_{50} 은 권장 사용량 기준으로 지정된 kasugamycin 1 g/L, oxytetracycline 0.5 g/L, streptomycin 0.5 g/L 그리고 oxytetracycline + streptomycin 0.5 g/L 보다 낮은 oxytetracycline, 3.2 μL ; streptomycin 1.7 μL ; oxytetracycline + streptomycin, 2.5 μL 농도로 확인되

었다(Fig. 3). 기존의 보고에 따르면 Aminoglycoside 계열의 항생제로 과수 화상병원세균에 대하여 가장 유효한 억제 효과가 확인된 Streptomycin (Russo et al., 2008)은 본 연구의 결과에서도 4종의 항생제 중 가장 낮은 EC_{50} 인 1.7 μL 으로 확인되었다(Fig. 3, C). 반면 동일한 Aminoglycoside 계열인 kasugamycin은 미국에서 방제제로 효과가 입증되었으나 (McGhee and Sundin, 2011) 본 연구에서는 결과를 확인할 수 없었으므로 Streptomycin의 효과가 국내에의 과수 화상병 억제에도 효능을 보일 것이라 사료된다.

지의류 추출물과 방제제의 시너지 효과 검증

흡광도를 이용하여 화상병원세균의 성장 정도를 확인한 결과 대조구는 $OD_{600\text{nm}}$ 0.66, F-1A처리구는 $OD_{600\text{nm}}$ 0.58로 확인되었으며 streptomycin을 단독으로 처리하였을 시 0.22로 대조구에 비하여 3배 높은 억제력을 나타내는 것으로 확인하였다. 또한 선발된 지의류 추출을 이용하여 1 mL MGY 배지에서 EC_{50} 으로 확인된 D-3C, 10 μL ; G-2A, 2.5 μL ; D-5C, 10 μL ; F-1A, 10 μL 와 각 항생제의 EC_{50} oxytetracycline, 3.2 μL ; streptomycin 1.7 μL ; oxytetracycline + strep-

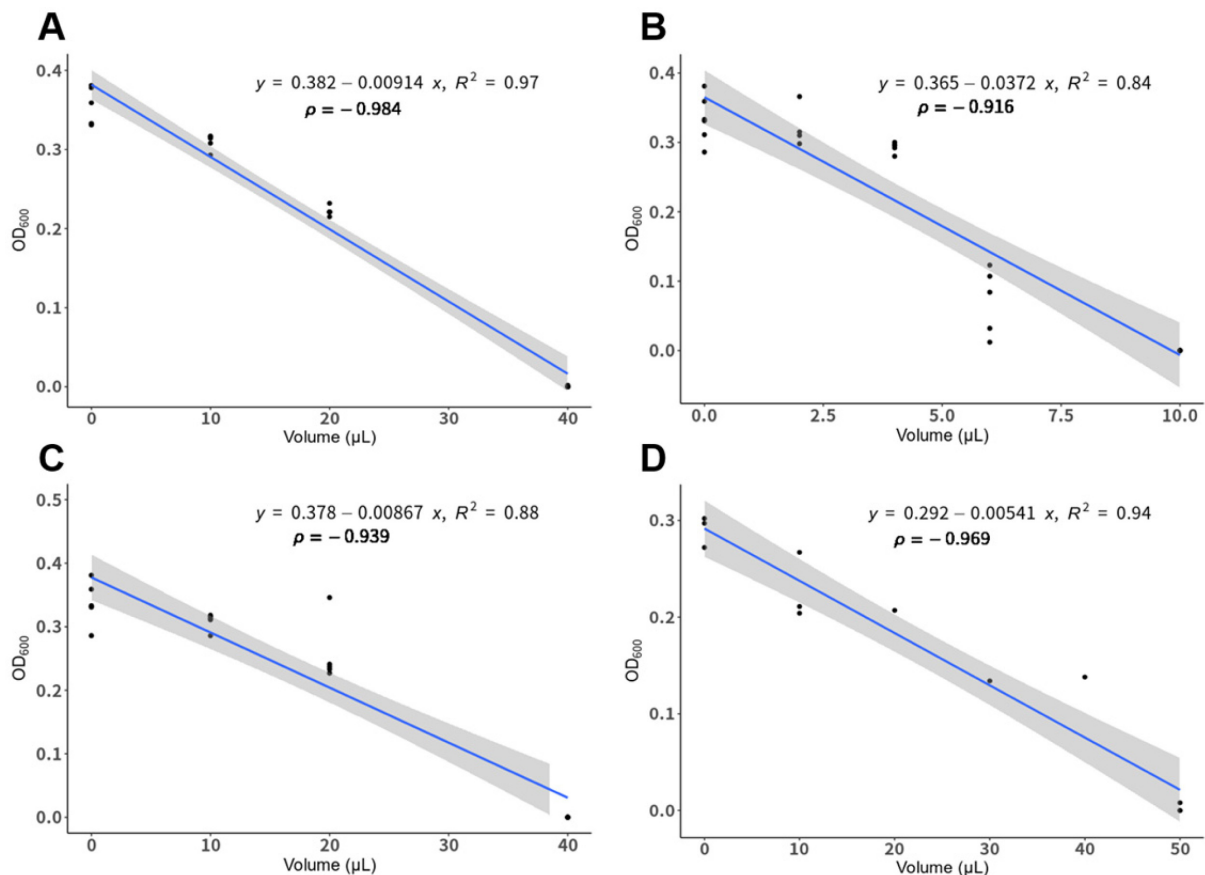


Fig. 2. Antibacterial activity of lichen extracts regression analysis results on MGY broth. A; *Tephromela atra* (D-3C), B; *Cladonia macroptera* (G-2A), C; *Cladonia furcata* (D-5C), D; *Rimelia reticulata* (F-1A). All lichen extracts were containing of *Erwinia amylovora* and incubated at 28°C for 48 h in MGY broth medium ($n = 5$). Linear regression analysis (blue line) and Pearson correlation coefficient were calculated with ggplot2 package of the R (4.0.3) program. The gray area is confidence level 95%.

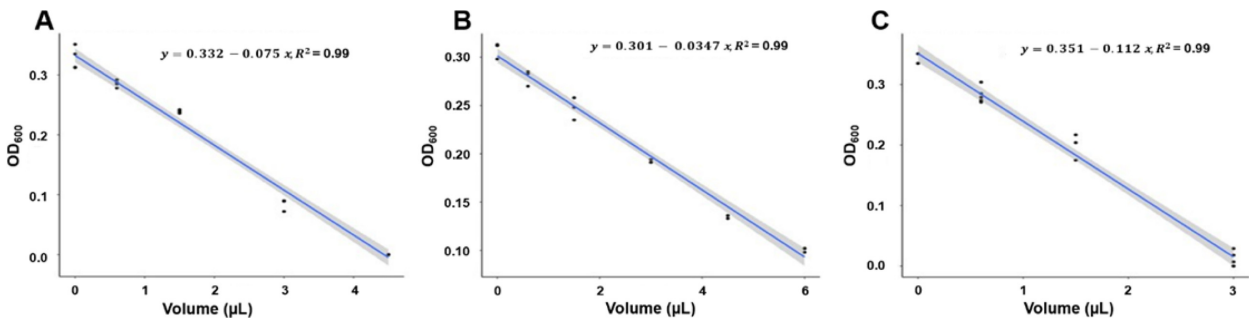


Fig 3. Antibacterial activity of antibiotics regression analysis results on MGY broth. A: Oxytetracycline + streptomycin (stock: 0.5 g/L, 1-5 µL/mL), B: Oxytetracycline (stock: 0.5 g/L, 1-6 µL/mL), C: Streptomycin (stock: 0.5 g/L, 1-3 µL/mL). All treatments added *Erwinia amylovora* (OD₆₀₀ 0.1, 100 µL) was cultured at 28°C in MGY broth medium (n = 5). Pearson correlation coefficient and linear regression analysis were computed with ggplot2 package of the R (4.0.3) program. Confidence level 95% is displayed on the gray area.

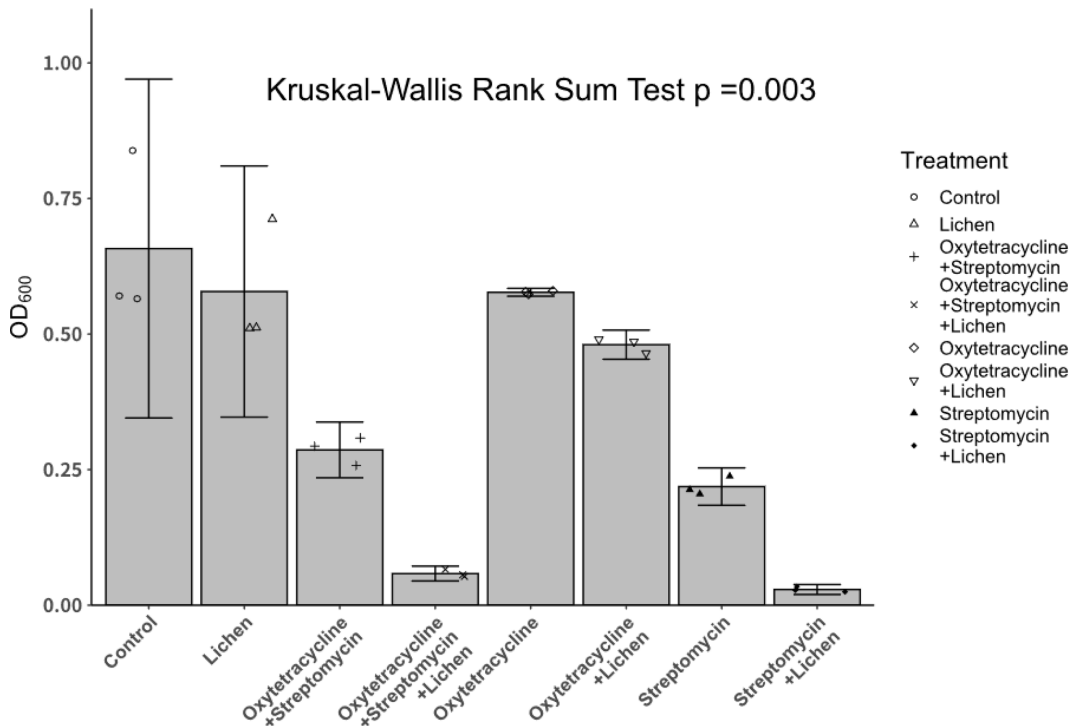


Fig. 4. Antibiotic synergy effect test results for *Rimelia reticulata* extracts. *Rimelia reticulata* extracts was cultured at 28°C in MGY broth medium (n = 3). Kruskal-Wallis Rank Sum Test and bar graph were calculated with ggplot2 package of the R (4.0.3) program. (Control, *E. amylovora* OD₆₀₀ 0.1 00 µL; Lichen 10 µL (V/V); Oxytetracycline 3.2 µL; Streptomycin 1.7 µL, Oxytetracycline + Streptomycin 2.5 µL).

tomycin, 2.5 µL를 혼합 처리시 지의류 추출물인 F-1A 만이 OD_{600nm} 0.03, OD_{600nm} 0.06으로 streptomycin과 streptomycin + oxytetracycline에서 단일 항생제 처리구 보다 더 높은 성장 억제력을 확인하였다. 이를 통해 항생제의 단독처리 했을 때보다 본 연구에서 선발한 지의류 추출물 F-1A와 streptomycin 또는 streptomycin + oxytetracycline 항생제를 혼합 처리 시 화상병원세균의 성장 억제에 있어 상호작용을 나타내는 것으로 확인하였다. 단 F-1A와 혼합하였을 때 streptomycin 처리구와 streptomycin + oxytetracycline 처리구에서

유사한 억제력을 보이므로 이를 통해 화상병원세균억제에 있어 streptomycin 수화제의 영향이 더 클 것이라 판단된다. 향후 본 연구에서 사용된 지의류 추출 물질은 병원 세균의 성장 억제력을 나타낸 것으로 보아 새로운 생물적 방제제 개발의 자원이 될 수 있으며 선발된 지의류 추출물인 F-1A와 다른 항생제의 상호작용을 조사한다면 현재 개발되어 있지 않은 화상병 방제제 개발의 기초 자료로서 활용 가치가 높을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청의 연구과제(PJ014934)의 지원으로 수행되었습니다. 지의류 추출물을 분양하여 주신 순천대학교 한국지의류생명자원소재은행에 감사드립니다.

Author Information and Contributions

Su In Lee, Department of Plant Medicine, Gyeongsang National University, Undergraduate student

Wonjun Kim, Department of Plant Medicine, Gyeongsang National University, Undergraduate student

Da-Ran Kam, Research Institute of Life Science, Gyeongsang National University, Research Professor, <http://orcid.org/0000-0003-3460-901X>

Youn-Sig Kwak, Division of Applied Life Science (BK21Plus), Gyeongsang National University, Professor, <http://orcid.org/0000-0003-2139-1808>

Literature Cited

- Barnes J, 2000. Pharmacognosy in the 21 st century. *Pharm J.* 264:701-703.
- Behera BC, Verma N, Sonone A, Makhija U, 2005. Antioxidant and antibacterial activities of lichen *Usnea ghattensis in vitro*. *Biotechnol Lett.* 27(14):991-995.
- Bérdy J, 2012. Thoughts and facts about antibiotics: where we are now and where we are heading. *J. Antibiot.* 65(8):385-395.
- Bonn WG, van der Zwet T, 2000. Distribution and economic importance of fire blight. Fire blight: the disease and its causative agent, *Erwinia amylovora*. CABI Publishing, Wallingford, UK, Pp. 37-54.
- Choi HJ, Kim YJ, Lim YJ, Park DH, 2019. Survival of *Erwinia amylovora* on surfaces of materials used in orchards. *Plant Dis.* 25(2):89-93.
- Crittenden PD, David JC, Hawksworth DL, Campbell FS, 1995. Attempted isolation and success in the culturing of a broad spectrum of lichen-forming and lichenicolous fungi. *New Phytol.* 130(2):267-297.
- Dellagi A, Brisse MN, Paulin JP, Expert D, 1998. Dual role of desferrioxamine in *Erwinia amylovora* pathogenicity. *Mol. Plant Microbe Interac.* 11(8):734-742.
- Gang HI, Yun BJ, Kim SH, Sin DJ, Kim HU et al., 2004. An ecological analysis of lichens distributed in rocks of coast and field in U-do by molecular technique. *Biotechnol. Lett.* 32(4):334-340.
- Ingoldsdottir K, 2002. Usnic acid. *Phytochemistry.* 61(7):729-736.
- Jamar L, Lateur M, 2007. Strategies to reduce copper use in organic apple production. *Acta Hort.* 737:113-120.
- Johnson KB, 2000. Fire blight of apple and pear. The plant health instructor. DOI: 10.1094/PHI-I-2000-0726-01.
- Jordi C, Anna B, Emilio M, 2007. Mechanisms of antagonism of *Pseudomonas fluorescens* EPS62e against *Erwinia amylovora*, the causal agent of fire blight. *Int. Microbiol.* 10:123-132
- Karagoz A, Dogruoz N, Zeybek Z, Aslan A, 2009. Antibacterial activity of some lichen extracts. *J Med Plants Res.* 3(12):1034-1039.
- Kokoskova B, Pavela R, 2007. Effectiveness of plant essential oils on the growth of *Erwinia amylovora*, the causal agent of fire blight disease. *Pest Technol.* 1(1):76-80.
- Lee MS, Lee IG, Kim SG, Oh CS, Park DH, 2018. *In vitro* screening of antibacterial agents for suppression of fire blight disease in Korea. *Plant Dis.* 24(1):41-51.
- McGhee GC, Sundin GW, 2011. Evaluation of kasugamycin for fire blight management, effect on nontarget bacteria, and assessment of kasugamycin resistance potential in *Erwinia amylovora*. *Phytopathology* 101(2):192-204.
- Meera R, Devi P, Madhumitha B, Kameswari B, 2009. Antibacterial activity of crude extracts and semi synthetic hydrazone derivatives of *Rimelia reticulata*. *Asian J. Chem.* 2(4):445-447.
- Myung IS, Lee JY, Yun MJ, Lee YH, Park DH et al., 2016. Fire blight of apple, caused by *Erwinia amylovora*, a new disease in Korea. *Plant Dis.* 100(8):1774.
- Park DH, Yu JG, Oh EJ, Han KS, Yea MC, et al., 2016. First report of fire blight disease on Asian pear caused by *Erwinia amylovora* in Korea. *Plant Dis.* 100(9):1946.
- Parnell JJ, Berka R, Young HA, Sturino JM, Kang Y et al., 2016. From the lab to the farm: an industrial perspective of plant beneficial microorganisms. *Front. Plant Sci.* 7, 1110.
- Pusey PL, Stockwell VO, Reardon CL, Smits THM, Duffy B, 2011. Antibiosis activity of *Pantoea agglomerans* biocontrol strain E325 against *Erwinia amylovora* on apple flower stigmas. *Phytopathology.* 101(10):1234-1241.
- Ranković B, Mišić M, Sukdolak S, 2007. Antimicrobial activity of extracts of the lichens *Cladonia furcata*, *Parmelia caperata*, *Parmelia pertusa*, *Hypogymnia physodes* and *Umbilicaria polyphylla*. *Br. J. Biomed. Sci.* 64(4):143-148.
- Rosello G, Bonaterra A, Frances J, Montesinos L, Badosa et al., 2013. Biological control of fire blight of apple and pear with antagonistic *Lactobacillus plantarum*. *Eur. J. Plant Pathol.* 137(3):621-633.
- Russo NL, Burr T.J, Breth DI, Aldwinckle HS, 2008. Isolation of streptomycin-resistant isolates of *Erwinia amylovora* in New York. *Plant Dis.* 92(5):714-718.
- Seber G, Lee AJ, 2003. Linear regression analysis second edition. Wiley series in probability and statistics. John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, USA.
- Simonyan AG, Sargsyan RR, Panosyan HH, Trchounian AH,

2020. Study of antibacterial and antioxidant activities of saxicolous lichen *Xanthoparmelia stenophylla*. Chem. Biol. Sci. 54(2):132-137.
- Stockwell VO, Temple TN, Johnson KB, Loper JE, 2008. Integrated control of fire blight with antagonists and oxytetracycline. Acta Hort. 793:383-390.
- Van der Zwett T, 1979. Fire blight: A bacterial disease of rosaceous plants (No. 510). US Department of Agriculture. van der Zwett T, Orolaza-Halbrendt N, Zeller W, 2012. Fire blight history, biology, and management. APS Press, St. Paul, MN, USA.
- Wei X, Jeon HS, Han KS, Koh YJ, Hur JS, 2008. Antifungal activity of lichen-forming fungi against *Colletotrichum acutatum* on hot pepper. Plant Pathol. J. 24(2):202-206.

과수화상병 병원세균 *Erwinia amylovora*에 대한 지의류 추출물의 방제 능력 및 항생제 상호작용 효과 검증

이수인¹ · 김원준¹ · 김다란^{2*} · 곽연식^{2,3*}

¹경상국립대학교 식물의학과, ²경상국립대학교 생명과학연구원, ³경상국립대학교 응용생명과학부

요약 과수 화상병은 국내에 2015년 최초 보고되었으며 장미과에 속하는 과수나무에서 피해를 주고 있다. 국내에 발생한 과수화상병에 대한 방제로는 다른 식물세균병해에 등록된 약제가 사용되며, 이러한 문제로 살균제가 농가에서 오남용 되고 있다. 이에 본 연구는 622종의 지의류에서 추출된 대사산물과 항세균성으로 등록된 항생제 4종 Kasugamycin, Oxytetracycline, Streptomycin, Oxytetracyclin + Streptomycin을 이용하여 과수 화상병세균 성장 억제에 대한 상호작용을 검토하고 항세균 능력을 가진 지의류 추출물을 선발하였다. 본 연구 결과 1종(F-1A)의 지의류 추출물이 선발되었으며 각각의 항생제와 혼합하여 첨가하였을 때 화상병세균의 성장을 보다 높게 억제하는 것을 확인하였다. 특히, 선발된 지의류(F-1A)는 Oxytetracyclin + Streptomycin과 Streptomycin의 혼합처리에서 우수하게 화상병원균의 성장을 억제하였다. 이를 통하여 지의류 추출 물질과 직권등록 상호작용을 확인하였으며, 과수 화상병균에 대한 생물적 방제제의 기초적 자료와 가능성을 마련하였다.

색인어 항생제, 생물적방제, 화상병원균, 화상병, 지의류