

마늘추출액의 식물병원균에 대한 억제 효과

서상태 · 이중섭* · 박종한 · 한경숙 · 장한익

원예연구소 원예환경과

Inhibitory Effect of Garlic Extracts on Some Plant Pathogens

Sang-Tae Seo, Jung-Sup Lee*, Jong-Han Park, Kyoung-Suk Han and Han-Ik Jang

Dept. of Horticultural Environment, National Horticultural Research Institute,
Rural Development Administration, Suwon 441-440, Korea

(Received on November 23, 2004)

Antimicrobial activity of garlic extracts of four local cultivars (Namdo, Goheung, Danyang and garlic imported from China) against several plant pathogenic bacteria and fungi was investigated. The garlic extracts exhibited marked in vitro antimicrobial activities against the Gram-positive and -negative bacteria as well as fungal pathogens. Of the four cultivars, two cultivars (Namdo and garlic imported from China) showed relatively good antimicrobial activities. Gram-positive bacteria, *Clavibacter michiganensis* was most sensitive, whereas *Burkholderia cepacia* was the strong resistant towards garlic extracts. Results from the planta bioassays under greenhouse conditions indicated that garlic extracts significantly reduced the cucumber powdery mildew disease showing control value 59.7-61.9% compared with the nontreated controls.

Keywords : Antimicrobial activity, Garlic

많은 병원미생물들이 기존 농약, 항생제 등에 높은 저항성을 나타내고 있으며, 이들에 대한 대체물질의 요구가 높아지고 있는 실정이다. 특히, 환경친화적인 천연물질의 개발은 안전성면에서 필연적인 개발과제라고 할 수 있을 것이다. 향미생물 작용을 보이는 천연물질은 여러 식물들로부터 보고되고 있는데(Alzoreky와 Nakahara, 2003), 그 중 마늘(*Allium sativum* Linn.)이 가장 잘 알려져 있다. 마늘은 백합과에 속하는 식물로서 향신료로서의 역할 뿐만 아니라 다양한 생리작용이 보고되어 있다. 마늘은 많은 황화합물(11~35 mg/100 g 생체중)을 포함하고 있으며, 항세균작용, 항진균작용, 항바이러스작용, 항산화작용, 항암작용 등을 나타낸다(Lawson, 1996; Tsai 등, 1985). 마늘은 많은 cystein sulfoxides를 포함하고 있는데, 상처를 내거나 마쇄하였을 때 allinase란 효소가 방출되면서 cystein sulfoxides를 thiosulfates로 변화시키게 된다(Block 등, 1992). Thiosulfates 화합물의 주요성분인 allicin은 마늘

이 갖는 향미생물작용 등의 중요한 생화학적 활성을 갖는 물질로서 총 thiosulfates 중 60~80%를 차지한다(Small 등, 1949). 마늘의 향미생물 작용에 대한 많은 연구보고가 있으나, 대부분 식품미생물이나 임상병원균에 국한되고 있으며(Sivam 등, 1997), 식물병원균에 대한 항균효과를 분석한 연구가 절대적으로 부족한 실정이다.

이 연구는 마늘의 향미생물 작용을 이용한 식물병원균 방제를 위한 기초연구로서 남도마늘, 단양마늘, 고흥마늘, 중국산 수입마늘 각각에 대한 단순추출액과 메탄올을 이용한 유기용매 추출액을 이용하여 식물병원균에 대한 항균효과를 측정, 비교하였다.

재료 및 방법

재료. 이 실험에 사용한 마늘 중 남도마늘과 고흥마늘은 원예연구소 남해출장소로부터, 단양마늘은 충북농업기술원 단양마늘시험장으로부터, 중국산 수입마늘은 원예연구소 채소과로부터 각각 구입하여 4°C에 냉장보관하면서 사용하였다.

사용균주 및 배지. 마늘 추출물의 항균효과를 측정하

*Corresponding author

Phone)+82-31-290-6232, Fax)+82-31-290-6259

E-mail)jslee@rda.go.kr

Table 1. Antimicrobial activity of garlic extracts against some plant pathogens

Test organism ^a	Inhibition zone (mm) ^b								Strepto- -mycin
	Namdo		Goheung		Danyang		Chinese		
	W	M	W	M	W	M	W	M	
<i>Acidovorax avenae</i> Avc1	14	17	12	15	11	11	16	13	15
<i>Agrobacterium rhizogenes</i> KACC 11125	13	25	12	15	12	0	17	25	0
<i>A. tumefaciens</i> KACC 10298	15	34	13	24	12	15	16	25	0
<i>Burkholderia cepacia</i> KACC 10167	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Clavibacter michiganensis</i> Cm1	22	33	23	26	12	0	29	26	21
<i>Erwinia carotovora</i> MAFF 301629	15	21	12	17	11	0	15	15	12
<i>E. carotovora</i> EC1	18	28	16	22	13	0	22	22	12
<i>Ralstonia solanacearum</i> R4	15	35	14	26	12	13	23	23	20
<i>R. solanacearum</i> R14	15	33	13	21	13	12	19	17	19
<i>Xanthomonas campestris</i> Xc1	15	34	14	23	11	0	21	22	21
<i>Fusarium oxysporum</i> F1	18	20	16	18	14	13	17	20	-
<i>Pythium</i> sp. P1	17	22	15	19	14	14	18	21	-

^aKACC, Korean Agricultural Culture Collection; MAFF, Ministry of Agriculture, Forestry, and Fisheries Genebank, Japan.

^bW, garlic extracts with distilled water; M, garlic extracts with methanol.

기 위하여 사용된 세균 및 진균은 Table 1과 같다. 세균의 배양은 YPDA 배지(yeast extract 3 g, peptone 0.6 g, dextrose 3 g, agar 15 g/l, pH 7.2)에서, 진균은 PDA 배지에서 배양하여 이용하였다.

마늘추출액의 제조. 마늘 단순착즙액의 제조는 생마늘 100 g을 박피하여 멸균수 300 ml을 가하여 blender를 이용하여 2분간 마쇄하였다. 마쇄된 마늘액은 4°C에서 15분간 1,000×g(Optima LE-80K, Beckman Coulter, USA)로 원심하고 상청액을 취하여 filter paper(0.45 µm pore size)를 이용하여 멸균시킨 후 4°C에서 냉장보관하면서 사용하였다. 유기용매를 이용한 추출액의 제조는 박피마늘 100 g을 취하여 메탄올 300 ml을 가하여 blender를 이용하여 2분간 마쇄하였다. 마쇄된 마늘액은 whatman No. 2 여과지에 여과시킨 후 rotary evaporator(Eyela CCA-1100, Tokyo Rikakikai, Japan)를 이용하여 40°C에서 감압농축하여 최종 용량이 30 ml이 되도록 하였다.

항균력 측정. 마늘 단순착즙액과 유기용매 추출액의 항미생물성은 그람음성균 9종과 그람양성균 1종, 진균 2종에 대하여 고체배지 확산법(agar diffusion method) (Davidson과 Parish, 1989)을 이용하여 측정하였다. 세균은 YPDA배지에서 자란 균을 0.5% water agar에 균수가 10⁷~10⁸ cfu/ml가 되도록 조절하여 접종원으로 사용하였고, 진균은 PDA 배지에서 자란 균사를 멸균된 칼로 마쇄하여 0.5% water agar(WA)에 일정한 농도가 되도록 조절한 후 접종원으로 사용하였다. 기초배지(YPDA 또는 PDA) 위에 접종원이 들어있는 WA를 분주하고 30분간 clean bench상에 응고시킨 후 멸균된 paper disc(Advantec 8 mm

filter paper, Toyo Roshi Kaisha, Japan)를 밀착시켜 올려 놓은 후, 각각의 마늘 추출액을 20 µl씩 흡수시켜 25°C에서 48시간 동안 배양하여 그 주위에 나타난 clearing zone의 직경을 측정하였다. 대조약제로서 농용신 1,000배액을 제조하여 이용하였다.

포장에서의 항균활성 효과를 관찰하기 위해 오이흰가루병원균(*Sphaerotheca fusca*)에 대한 항균력을 조사하였다. 박피마늘 100 g에 증류수 1 l를 가하여 blender를 이용하여 2분간 마쇄한 후 거르로 2회 걸러 그 액을 비닐하우스의 오이에 흰가루병이 초기 발생하였을 때 잎이 충분히 젖도록 7일 간격으로 2회 살포하였고, 항균력은 발병도로 조사하였다. 대조약제로서 사프롤유제(Triforine)를 사용하였다.

결과 및 고찰

마늘 단순착즙액과 메탄올을 이용한 유기용매 추출액의 식물병원세균 10균주 및 식물병원진균 2균주에 대한 실내 항균효과는 Table 1과 Fig. 1과 같았다. 단순착즙액의 경우 식물병원세균 10균주에 대한 평균 항균효과는 중국산 수입마늘이 가장 높았으며, 남도마늘, 고흥마늘, 단양마늘 순으로 나타났다(Fig. 1). 대체적으로 마늘 단순착즙액은 대조약제로 사용된 농용신과 대등하거나 보다 우수한 항균효과를 보여주었다. 일반적으로 식물체로부터 유효성분을 추출할 때 메탄올이 가장 효과적이므로(Alzoreky와 Nakahara, 2003; Cowan, 1999), 이번 연구에서도 극성이 강한 메탄올로 마늘 추출액을 제조하였다. 유기용매를

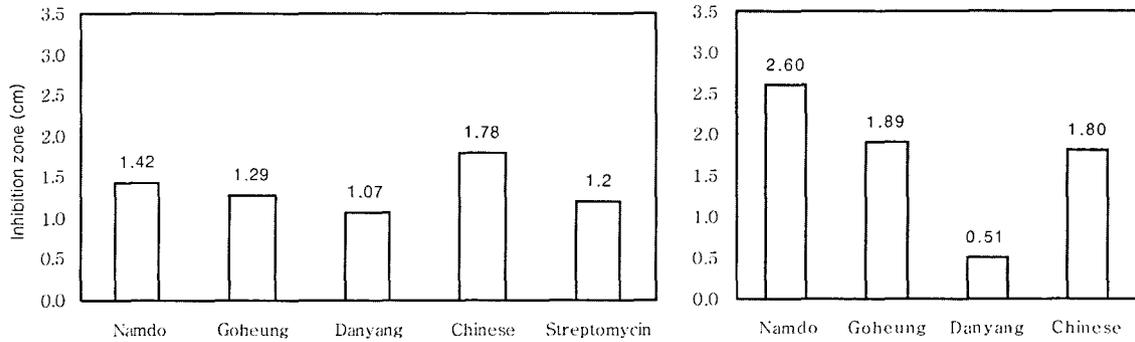


Fig. 1. Inhibitory effect of garlic extracts with distilled water (left figure) and with methanol (right figure) on 10 strains of plant pathogenic bacteria.

이용한 마늘추출액의 평균효과는 남도마늘에서 가장 높았으며, 고흥마늘, 중국산 수입마늘, 단양마늘 순이었다 (Fig. 1). 남도마늘, 고흥마늘, 중국산 수입마늘은 단순착즙액에 비해 유기용매 추출액에서 보다 높은 평균효과를 나타내었으나, 유기용매 추출액이 단순착즙액에 비해 10 배 농축된 점을 감안한다면 기대했던 만큼의 높은 평균효과는 얻을 수 없었다. 그리고, 단양마늘의 경우는 오히려 유기용매 추출액이 단순착즙액에 비해 평균효과가 낮게 나타났다(Fig. 1). 마늘의 주요성분중의 하나이며 항균물질로 잘 알려진 allicin의 전구물질인 alliin의 함유량을 조사한 결과 남도마늘에 비해 단양마늘에서 높게 나타났는데(Hong 등, 1997), 이번 실내항균효과 실험에서는 단양마늘의 평균효과가 가장 낮게 나타나 alliin의 함유량이 식물병원균에 대한 항균활성과 직접적인 영향이 관찰되지 않았다.

여러 실험들에서 그람음성균은 그람양성균에 비해 식물추출물들에 대해 일반적으로 저항성이 높다는 연구결과(Brantner 등, 1996; Nostro 등, 2000)가 보고되고 있다. 본 연구에서도 비록 그람양성균(*Clavibacter michiganensis*)은 1균주에 불과했지만 마늘추출액에 대해 그람음성균에 비해 높은 감수성을 나타내었다(Table 1). 이런 그람음성균의 저항성은 외막을 형성하는 지질다당체(lipopolysaccharide, LPS)와 관련이 있는 것으로 생각되어지고 있다(Gao 등, 1999). *Burkholderia cepacia*는 양파, 심비디움 등에 무름병을 일으키는 식물병원세균이면서(Burkholder, 1950; Tsuchiya 등, 1986), 또한 면역력이 약한 사람이나 특히, 낭포성섬유증(Cystic Fibrosis) 환자에게 노출되었을 때 위험한 human pathogens으로도 알려져 있다(Govan과 Deretic, 1996). 그러나, 이번 실험에 공시된 10개의 세균중 *B. cepacia*만이 마늘추출물과 농용수에 대해 모두 강한 저항성을 나타내었다. 또한, 이 세균은 여러 항생제에 대한 내성이 강한 균으로 알려져 있어, 이 세균이 대발생하였을 때의 대

Table 2. Effect of garlic extracts on control of cucumber powdery mildew in greenhouse

Treatment	Degree of disease incidence				Control value
	1st	2nd	3rd	Av.	
Namdo garlic (100 g/l l)	16.3	23.8	21.3	20.5a ^a	61.9
Chinese garlic (100 g/l l)	16.3	21.3	27.5	21.7a	59.7
Triforine (25 ml/10a)	7.5	11.3	8.8	9.2a	82.9
Control	66.3	48.8	46.3	53.8b	-

^aMean separation by DMRT at 5% level.

책이 시급하다고 사료된다.

오이흰가루병원균(*S. fusca*)에 대한 포장실험을 위해 실내실험에서 우수한 평균효과를 보여준 남도마늘과 중국산 수입마늘을 선택하여 사용하였는데, 남도마늘이 61.9%, 중국산 수입마늘이 59.7%의 높은 방제효과를 나타내었다 (Table 2). 그러나, 2차 살포 후 부터 잎에 부생균이 발생하는 약해를 보여주었으며, 이는 마늘추출액의 유기물질이 잎에 잔류되면서 부생균의 영양원으로 이용된 것으로 생각되었다. Didry 등(1992)은 마늘즙액을 항생제와 함께 병용투여 하였을 때 상승작용을 나타낸다고 보고하였는데, 식물체에서도 부생균을 억제시킬 수 있고, 마늘즙액과 함께 혼용가능하며 상승작용을 나타낼 수 있는 항생물질이나 미생물의 탐색이 앞으로 이루어져야 할 것이라고 사료된다.

요 약

4품종(남도마늘, 고흥마늘, 단양마늘, 중국산 수입마늘)의 마늘추출액의 식물병원세균과 진균에 대한 평균효과를 조사하였다. 실내실험에서 마늘추출액은 그람양성세균, 그람음성세균, 진균 모두에 좋은 평균효과를 나타내었다. 본 연구에 사용된 4품종의 마늘추출액 중 남도마늘과 중국산 수입마늘이 보다 좋은 평균효과를 나타내었

다. 그람양성세균인 *Clavibacter michiganensis*가 마늘추출액에 가장 민감하였으며, *Burkholderia cepacia*가 가장 저항성이 컸다. 마늘추출액을 이용한 오이 흰가루병에 대한 항균효과 포장실험에서는 59.7~61.9%의 방제가를 보여주었다.

감사의 글

이 연구는 농촌진흥청 대형공동연구과제 연구비 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Alzoreky, N. S. and Nakahara, K. 2003. Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *Int. J. Food Microbiol.* 80: 223-230.
- Block, E., Naganathan, S., Putman, D. and Zhao, S. H. 1992. *Allium* chemistry: HPLC analysis of thiosulfonates from onion, garlic, wild garlic, leek, scallion, shallot, elephant garlic, and Chinese chive. Uniquely high allyl to methyl ratios in some garlic samples. *J. Agricul. Food Chem.* 40: 2418-2430.
- Brantner, A., Males, Z., Pepeljnjak, S. and Antolic, A. 1996. Antimicrobial activity of *Paliurus spina-chrisit* mill. *J. Ethnopharmacol.* 52: 119-122.
- Burkholder, W. H. 1950. Sour skin, a bacterial rot of onion bulbs. *Phytopathology* 40: 115-117.
- Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 12: 564-582.
- Davidson, P. M. and Parish, M. E. 1989. Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technol.* 43: 148-155.
- Didry, N., Dubreuf, L. and Pinkas, M. 1992. Antimicrobial activity of naphthoquinones and *Allium* extracts combined with antibiotics. *Pharm. Acta Helv.* 67: 149.
- Gao, Y., Belkum, M. J. V. and Stiles, M. 1999. The outer membrane of Gram-negative bacteria inhibits antibacterial activity of Brochocin C. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 4329-4333.
- Govan, J. R. W. and Deretic, V. 1996. Microbial pathogenesis in cystic fibrosis: mucoid *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia*. *Microbiol. Rev.* 60: 539-574.
- Hong, G. H., Lee, S. K. and Moon, W. 1997. Alliin and fructan contents in garlies, by cultivars and cultivating areas. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 38: 483-488.
- Lawson, L. D. 1996. Garlic: a review of its medicinal effects and indicated active compounds. In Lawson, L. D. and Bauer, R. (Eds.), *Phytomedicines of Europe: Their chemistry and biological activity* (p. 176-209). Washington DC, ASC Press.
- Nostro, A., Germano, M. P., D'Angelo, V., Marino, A. and Cannatelli, M. A. 2000. Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Lett. Appl. Microbiol.* 30: 379-384.
- Sivam, G. P., Lampe, J. W., Ulness, B., Swanzy, S. R. and Potter, J. D. 1997. *Helicobacter pylori* in vitro susceptibility to garlic (*Allium sativum*) extract. *Nutri. Cancerol.* 27: 118-121.
- Small, L. D., Bailey, J. H. and Cavallito, C. J. 1949. Comparison of some properties of thiosulfonates and thiosulfonates. *J. Am. Chem. Soc.* 71: 3565-3571.
- Tsai, Y., Cole, L. L., Davis, L. E., Lockwood, S. J., Simmons, V. and Wild, G. C. 1985. Antiviral properties of garlic: in vitro effects on influenza B, herpes simplex and coxsackie viruses. *Planta Med.* 5: 460-461.
- Tsuchiya, K., Akhter, T., Takasaki, T., Tanaka, S. and Wakimoto, S. 1986. Bacterial brown spot disease of *Cymbidium* spp. caused by *Pseudomonas cepacia*. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan* 52: 825-834.