

소독제 및 항생제의 적변삼 발생 억제 효과

박홍우* · 이은정* · 최재을*†

*충남대학교 농업생명과학대학 식물자원학부

Inhibitory Effect of Disinfectants and Antibiotics on Rusty-root Symptoms in *Panax Ginseng* C. A. Meyer

Hong Woo Park*, Eun Jeong Lee*, and Jae Eul Choi*†

*Division of Plant Science & Resources, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea.

ABSTRACT : The endophytic bacteria were isolated from the rusty-root ginseng. This isolated bacteria were occurred the rusty-root ginseng with artificial inoculation. For the suppressing of rusty-ginseng, disinfectants, antibiotics, kitosan, micro-organisms and metabolites were tested to isolated endophytic bacterium. All of the isolated bacteria strains were sensitive sodium hypochlorite, however, some of isolated bacteria lines were sensitive to other tested materials. For example, D (didecyl dimethyl ammonium bromide), ClO₂, ODDA (octyldecyl dimethyl ammonium chloride + diocetyl dimethyl ammonium chloride + alkyl diethyl benzyl ammonium chloride), GD (glutaraldehyde + dimethyl cocobenzyl ammonium chloride) suppressed some of bacteria strains. Otherwise, some of antibiotics (e.g. ampicillin, chloramphenicol, erythromycin, kanamycin, neomycin, rifampin, streptomycin, tetracycline) were sensitive to the isolated bacteria strains. All of isolated bacteria strains were inhibitive to the mixed formation with neomycin and streptomycin, and neomycin and tetracycline. Both sodium hypochlorite and antibiotic mixing of neomycin and tetracycline were effective to prevention of rusty-root ginseng of submerging ginseng in the ginseng field.

Key Words : endophytic bacteria, rusty-root, ginseng, disinfectants, antibiotics

서 언

인삼은 반음지성 다년생 식물로서 해가림 아래에서만 재배가 가능하고, 기지현상이 심해 연작이 불가능 하며, 토양 중의 무기염류에 대한 반응이 극히 예민하고 내병성이 약한 재배적 특수성을 갖고 있다 (박, 1996). 또한, 동일 포장에서 장기간 재배되기 때문에 재식토양의 물리, 화학적 특성에 의한 환경적 요인과 미생물의 밀도와 분포 변화 같은 생물적 요인의 상호작용에 의해 다양한 형태의 생리적 장해가 유발된다 (Chung et al., 1985; Yang et al., 1997). 이러한 환경은 인삼의 생육을 저해하고 품질의 저하 및 병해의 다발을 초래하는데, 특히 뿌리표면의 전부 또는 일부가 적색을 띠우며 세포의 벌달이 억제되고 심하면 동체표피에 종단파열을 동반하는 적변은 인삼 재배농가에 광범위하게 발생하여 막대한 피해를 주고 있다 (김 등, 1984; 목 등, 1996).

과거, 적변은 근관 미생물과 관계가 적고, 식물 병원균의 감염에 의해서 발생되는 것이 아니며 (오 등, 1978; 이, 1991),

불량한 재배환경, 즉 집중누수와 상면염류 집적 등이 적변의 원인인 것이라고 보고되었다 (목 등, 1995; 목 등 1996). 한편, Yang et al. (1997)은 적변 현상은 페놀물질이 인삼외피로 배출되면서 지질성 물질과 충합되고 이때 표피에 다량의 Fe가 침적되는 점과 세균을 포함한 미생물의 밀도가 적변삼에서 높은 점으로 미루어 보아 이들 미생물과 인삼뿌리의 이온흡수기작의 상호작용에서 Fe³⁺가 밀접하게 관련되어 있음을 제시하였다. Choi et al. (2002)은 적변 부위 표피에서의 세균밀도는 건전부위의 세균밀도보다 10⁴~10⁵ 이상 많았고, 세균을 접종하면 표피조직이 분해되는 사실을 보고하였다. 따라서, 적폐는 일차적인 방어기능을 담당하는 세포벽이 손상됨에 따라 인삼 근 표면에 토양의 유·무기 이온이나 칙화합물이 침적되는 등의 원인으로 적갈색의 병반이 생기고, 이차적으로 조직이 파괴된 세포벽을 통해, 세균을 포함한 미생물의 침입이 일어나 미생물상의 환경과 무기이온, 토양산도 등과 같은 환경요인과의 복합적 작용에 의한 생리적 장해로써 일어나는 것으로 보인다 (Lee et al., 2004). 인삼의 적변현상과 적, 간접적인 상

*Corresponding author: (Phone) +82-42-821-5729 (E-mail) chioje@cnu.ac.kr

Received September 18, 2006 / Accepted November 28, 2006

관관계를 보이는 미생물은 *Cylindrocarpon* sp., *Erwinia* sp., *Pseudomonas* sp., *Kurthia* sp., *Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp., *Micrococcus* sp., *Neisseria* sp. 등이 보고되었다 (Chung, 1974; 오 등, 1979; Matsuo & Miyazawa, 1984; Yang et al., 1997; Yun & Yang, 2000). 최근, 적변조직에서 분리한 *Fusarium* sp.가 적변을 일으키는 병원성을 갖고 있음이 확인되었다 (Punja et al., 2005). 그러나, 현재까지 적변을 유도하는 원인과 기작에 대해 완전하게 밝혀지지 않고 있으며, 적변암 유발의 병원 미생물에 대해서도 논란이 지속되고 있다.

본 연구진은 이전 연구를 통해 적변을 나타내는 인삼뿌리에서 내생세균을 다수 동정하였고 이를 내생세균을 상처 접종한 결과 자연현상의 적변과 유사하게 인삼표피가 적변화가 됨을 확인하였다 (Choi et al., 2005). 또한, 토양환경에 따른 적변발생정도를 조사한 결과, 토양수분이 많으면, 유기질비료의 사용에 따라 이를 내생세균에 따른 적변의 발생이 진전되었다 (Park et al., 2006). 동정된 내생세균이 적변을 유도하는 유일한 원인 균일지는 아직 확실치 않으나, 적변발생의 복합적 원인 중 하나로 판단되며 이러한 세균의 피해를 줄이는 것이 적변의 방제에 효과적인 영향을 미칠 것으로 기대된다. 최근 인삼의 주요병 방제를 위해 길항미생물 및 살균제를 이용한 생물학적 방제전략이 연구되고 있다 (Chung et al., 2006; Hwang et al., 2006).

본 연구는 적변 방제의 일환으로 적변 유발 내생세균의 침입 및 증식을 방제하기 위해 소독제, 미생물제제를 포함한 천연화합물, 항생제 등을 이용하였다. 이들에 대한 적변 유발균의 감수성을 조사하고 감수성이 강한 제제를 선발하여 실제 포장에서의 인삼의 생육 및 적변암 발생에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 소독제에 대한 적변유발균의 감수성 조사

Choi et al. (2005)에 의해 적변 유발이 확인된 내생세균을 이용하여 소독제 및 미생물제제 처리에 따른 이들 균주의 감수성을 조사하였다. King's B agar (bacto peptone 20 g, K₂HPO₄ · 3H₂O 1.5 g, MgSO₄ · 7H₂O 1.5 g, agar 15 g, glycerol 15 mL, 중류수 1 L) 배지에 소독제를 생산업자 권장 용농도로 희석하여 도말한 후, 적변 유발균을 도말하고 균의 생장여부를 조사하였다. 사용된 소독제는 D (didecyldimethyl ammonium bromide 10%), ClO(ClO₂ 24,000 ppm), ODDA (octyldecyl dimethyl ammonium chloride 2.250%, diocetyl dimethyl ammonium chloride 1.125%, didecyldimethyl ammonium chloride 1.125%, alkyl diethyl benzyl ammonium chloride 3.000%), GD (glutaraldehyde 1.5%, dimethyl cocobenzyl ammonium chloride 1%)로 각각 500배 희석하여 사용하였고,

NaOCl (sodium hypochlorite 99%)는 600배 희석하여 사용하였다.

2. 항생제에 대한 적변유발균의 감수성 조사

King's B agar 배지에 적변유발 내생세균을 도말하고 그 위에 각각 ampicillin (10 µg), chloramphenicol (30 µg), erythromycin (15 µg), kanamycin (30 µg), neomycin (30 µg), rifampin (5 µg), streptomycin (10 µg), tetracycline (30 µg)가 포함된 항생제 disc (paper disc for antibiotic)을 올려놓은 후, 28°C에서 3일간 배양하여 저지원의 적경을 조사하였다. 항생제의 혼합처리를 위해서는, 각각 30 µg의 농도로 희석한 neomycin (N)과 tetracycline (T)을 1:1 비율로 혼합한 액과, 각각 30 µg와 10 µg의 농도로 희석한 neomycin (N)과 streptomycin (S)을 1:1 비율로 혼합한 액을 paper disc에 흡착시켜 이용하였다.

3. 적변 발생억제 효과 검증

사용된 약제로서, NaOCl (600배 희석액), D, ClO, ODDA, GD를 각각 500배 희석한 액을 이용하여 D와 ClO를 1:1 비율로, ODDA와 GD를 1:1 비율로 혼합하여 이용하였다. 또한, 친환경 제제로서 미생물제제 (40배 희석; Bioshield Co., Ltd.), 식물 생리기능 활력증진제 (1000배 희석; Goemar Co., Ltd.), 0.2% 키토산 (MW 179.17, pH 5.8)을 사용하여 그 효과를 조사하였다. 항생제로서는 30 µg의 농도로 희석한 N과 T을 1:1 비율로 혼합한 액과, 각각 30 µg와 10 µg의 농도로 희석한 N과 S을 1:1 비율로 혼합한 액을 이용하였고, 코팅제로는 화이트카본, 제올라이트, 황토를 사용하였다.

건전한 묘삼에 적변을 강하게 유발하는 CG20105 (*Agrobacterium tumefaciens*)와 CG20126 (*Pseudomonas marginalis*)를 혼합접종한 후, 실내실험을 통해 내생세균의 감수성이 강하게 나타난 약제를 단독 또는 혼합 처리하여 포장에서의 적변 발생 억제효과를 조사하였다. 건전한 묘삼을 10⁶ cells/mL로 희석한 각각의 균주를 1:1로 혼합한 액에 20분간 침지시켰다. 침지한 묘삼을 음건하고, 음건한 묘삼을 각각의 약제에 5분간 침지시킨 후 다시 음건하였다. 약제 침지 처리된 묘삼은 개량형 해가림 시설하에서 생육하였으며, 완전임의 배치법으로 칸당 70분으로 2칸 (1칸: 90 cm × 180 cm)씩 3반복 식부하였다. 포장관리는 점무늬, 탄저병 동시방제 약제를 매년 4회 처리하였으며, 기타관리는 한국인삼연초연구원의 인삼 재배법에 준하였다.

4. 적변도 조사

각각의 소독제 처리 및 항생제 처리를 한 묘삼을 2004년, 2005년 봄에 이식하고 2005년 10월 및 2006년 9월에 채굴하여 각 처리 반복당 20개체씩 채굴하여 균적경, 균장, 균중, 적

Table 1. Proliferation potential of bacteria isolated from rusty ginseng root in response to various disinfectants.

Isolated bacteria	Type of disinfectants					
	NaOCl [†]	D/CLO [§]	B/ODDA	B/D	GD/D	ODDA/GD
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	-‡	-	-	-	-	-
<i>Agrobacterium rhizogenes</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas marginalis</i>	-	±	-	-	±	-
<i>Pseudomonas</i> sp.	-	-	±	-	-	-
<i>Microbacterium oxydans</i>	-	-	±	-	-	-
<i>Rhizobium tropica</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Burkholderia phenazinium</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Lysobacter gummosus</i>	-	+	-	-	±	-
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Rhodococcus globerulus</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Rhodococcus leguminosarum</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Microbacterium luteolum</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas veronii</i>	-	-	±	±	±	-
<i>Ensifer adhaerens</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Variovorax paradoxus</i>	-	-	-	-	-	-
Unknown	-	+	-	-	+	-

[†]NaOCl; sodium hypochlorite 99%, D; didecyl dimethyl ammonium bromide 10%, ClO; ClO₂ 24,000 ppm, B; benzalkonium chloride 10%, ODDA; octyldecyl dimethyl ammonium chloride 2.250%, diethyl dimethyl ammonium chloride 1.125%, didecyl dimethyl ammonium chloride 1.125% and alkyl dimethyl benzyl ammonium chloride 3.000%, GD; glutaraldehyde 1.5% and Dimethyl cocobenzyl ammonium chloride 1.0%.

‡; negative growth, ±; slight growth, +; positive growth.

§; mixed treatment.

변도를 조사하였다. 적변도는 4등급 (0; 건전, 1; 1~10%, 2; 11~24%, 3; 25% 이상)으로 구분하여 개체별로 조사하여 산술 평균하고 SAS program에서 Duncan의 다중검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

1. 적변 유발균의 소독제에 대한 감수성 조사

본 실험에 사용된 소독제의 성질을 분류해 보면, 산화력을 이용하여 박테리아, 세균 등을 멸균하는 염소가 주성분인 NaOCl, ClO, 세정력 및 살균력에 효과를 보이는 계면활성제인 D, ODDA, B, 알데히드제인 GD로 나눌 수 있다. 이들 소독제에 대한 적변유발균의 감수성을 조사한 결과는 Table 1과 같다. NaOCl를 600배 희석하여 배지에 도말한 후 적변 유발균을 도말한 결과, 모든 공시균이 생장하지 못했다. 또한, ClO, D, ODDA, B, GD의 다양한 혼합 효과를 조사한 결과, ODDA/GD의 혼합액 처리에서 모든 적변 유발균이 생장하지 못했다. D/ClO, B/ODDA, B/D 및 GD/D 처리는 균주에 대해 감수성의 차이를 보였으나, 대체적으로 적변 유발균의 생장을 억제하는 효과를 보였다.

2. 적변 유발균의 항생제에 대한 감수성 조사

항생제에 대한 적변 유발균의 저저원 크기를 관찰하여 감수성 정도를 조사한 결과는 Table 2와 같다. 각각의 적변 유발

균은 항생제에 따라 그 감수성 정도가 달랐는데, neomycin과 tetracycline 및 neomycin과 streptomycin의 혼합처리는 모든 적변 유발균이 감수성을 보였다.

일반적으로 항생제는 병원세균의 증식을 억제하여 초기의 병반 및 2차 진전을 막아주는 역할을 한다. 따라서, 적변 유발 내생세균에 의한 적변 발생을 초기에 방지하는 방안으로 Neomycin, Tetracycline, Streptomycin의 적절한 혼합처리가 효과적인 것으로 생각되어진다.

3. 소독제 및 천연화합물 제제 처리가 적변상 발생에 미치는 영향

NaOCl, D/ClO, ODDA/GD의 소독제 혼합 처리 및 천연화합물 제제를 처리한 묘삼을 2004년 봄에 이식하고, 2005년 10월에 채굴하여 생육조사 및 적변발생 여부를 조사한 결과, D/ClO, ODDA/GD 처리는 실내검정과는 달리 포장에 있어 적변의 정도가 대조구와 비슷하거나 증진되었으며, 생육도 저조하였다. 각종 병해에 대한 저항력을 높여주는 생리활성제 및 미생물제제 처리구에서도 적변 정도는 대조구와 거의 비슷했으나, 균중이 감소하는 등 생육이 저조하였다. 그러나, NaOCl 처리구는 대조구와 비교하여 전체적인 인삼의 크기나 모양에는 별다른 차이가 없으나, 적변 발생정도가 0.34로 대조구 1.40에 비해 적변방제 효과가 우수한 것으로 나타나 실내실험에서의 결과와 일치하였다 (Table 3).

Table 4. Efficacy of various immersion treatments with antibiotics in growth and rusty root of three years old ginsengs.

Treatments	Root diameter (mm)	Root length (cm)	Root weight (g)	Degree of rusty root
Control [†]	16.53 a [‡]	22.76 a	16.86 a	1.57 a
N/T [§]	14.13 a	20.43 a	11.76 b	0.47 c
N/T/W	16.38 a	18.18 a	14.53 a	1.45 a
N/T/L	15.19 a	18.51 a	13.36 a	0.93 b
N/T/Zeo	15.24 a	19.98 a	13.97 a	0.80 bc
N/S	15.75 a	22.14 a	16.16 a	0.67 bc

[†]Control; no treatment, N; neomycin 30 µg, T; tetracycline 30 µg, S; streptomycin 10 µg, W; white carbon, L; loess, Zeo; zeolite.

[‡]Different alphabet showed significant differences at 5% by Duncan's multiple range test. Each datum is average of three replicates.

[§]/; mixed treatment.

리가 실제 포장에서 적변 발생에 효과가 있는지를 알아보기 위하여, 묘삼에 적변 유발균 *Agrobacterium tumefaciens*와 *Pseudomonas marginalis*를 접종하고, 적정 농도의 neomycin, tetracycline 및 streptomycin의 항생제 조합에 침지시킨 후 이식하였다. 또한, 항생제의 효과를 증진시키기 위하여 코팅제 역할을 하는 화이트카본, 제올라이트 및 황토를 첨가하여 이들의 효과도 검토하였다. 2005년 봄에 이식 후, 다음해 가을에 인삼의 생육 및 적변 발생 정도를 조사한 결과는 Table 4와 같다. neomycin과 tetracycline의 혼합처리는 실내 실험과 마찬가지로, 대조구에 비해 적변도가 가장 크게 나타났으나, 근중이 적게 나가는 단점을 보였다. 코팅제를 첨가한 처리에서는 근중이 다소 항생제의 혼합처리 때보다 증가하지만 적변방제 효과는 감소하였다. 한편, neomycin과 streptomycin의 혼합처리는 적변방제에 다소 효과를 보이고, 생육에도 별다른 영향을 미치지 않았으나, 이들 항생제 조합에 코팅제를 첨가한 모든 처리구에서 적변이 대조구보다 더욱 진행되었다.

본 실험에 사용한 코팅제는 분말제제로서 이들을 물에 희석하여 이용하였는데, 실제 이를 전착제가 채굴시 근 표면에 다수 부착되어 있음을 확인하였다. 이는 코팅제가 오히려 인삼뿌리의 호흡에 저해를 초래한 결과로 보인다. 또한, 항생제 처리에 따른 인삼 생육의 부진은 항생제 처리가 토양의 유익한 미생물의 서식 또한 억제할 가능성에 기인한 것으로 생각된다.

인삼의 적변은 토양내 균권환경 및 병원균에 따른 복합적인 요인들에 의한 스트레스에 의해 발생하므로, 적변에 대한 종합적인 방제를 위해서는 소독제 및 항생제의 적절한 사용이 유효하다고 생각되어진다. 본 실험에서 사용한 천연제제 및 미생물제제는 다소 적변 방제에 효과를 보이는 것도 있으나, 생육부진을 초래하는 등 문제점이 노출되었으므로, 희석배수와 처리시간의 검토가 필요하다고 생각된다. 동시에 생육에 저해를 주지 않는 토양중에 있는 각종 유해균의 번식을 억제함으로써 균권에 유용미생물의 증식을 증진시켜 병의 발생을 억제시키고 인삼의 생육을 증진시키는 미생물제등의 개발이 요구되어진다.

적 요

본 연구는 소독제, 항생제 및 키토산, 미생물제, 생리활성제를 이용한 적변 방제법을 개발하기 위하여 실시하였다. 적변 유발세균은 sodium hypochlorite에 모두 감수성이었고, D (didecyl dimethyl ammonium bromide), ClO₂, ODDA (octyldecyl dimethyl ammonium chloride + diocetyl dimethyl ammonium chloride + didecyl ammonium chloride + alkyl diethyl benzyl ammonium chloride), GD (glutaraldehyde + dimethyl cocobenzyl ammonium chloride)에는 균주에 따라 감수성으로 반응하였다. 적변유발세균의 대부분은 ampicillin, chloramphenicol, erythromycin, kanamycin, neomycin, rifampin, streptomycin, tetracycline에 대하여 감수성으로 반응하였으며, neomycin + streptomycin, neomycin + tetracycline의 혼합접종에서는 모든 균주가 감수성으로 반응하였다. 적변 유발세균을 묘삼에 접종한 후, NaOCl (sodium hypochlorite), neomycin과 tetracycline의 혼합처리가 가장 적변방제에 효과를 나타냈다. 그러나, NaOCl를 제외한 소독제, 키토산, 미생물제제는 적변억제 효과가 없거나 미흡하였다.

사 사

본 논문은 농림부에서 시행한 농림기술개발사업 (2003-2006년)의 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사를 표한다.

LITERATURE CITED

- Choi JE, Lee JS, Yoon SM, Cha SK (2002) Comparison of inorganic elements and epidermis structures in healthy and rusty ginseng. Korean J. Crop Sci. 47:161-166.
 Choi JE, Ryuk JA, Kim JH, Choi CH, Chun JS, Kim YJ, Lee HB (2005) Identification of endophytic bacteria isolated from rusty-colored root of Korean ginseng (*Panax ginseng*) and its induction. Korean J. Medicinal Crop Sci. 13:1-5.
 Chung YR, Oh SH, Lee IH, Park CS (1985) Studies on the biological and chemical properties of rusty ginseng root and its

- casual mechanism. Korean J. Ginseng Sci. 9:24-35.
- Chung HS** (1974) The status of past and present research and problems of ginseng diseases, Symposium of Korean Ginseng, Kor. Society of Pharmacognosy. p. 55-67.
- Chung KC, Kim CB, Kim DK, Kim BJ** (2006) Isolation of Antagonistic Bacteria against Major Diseases in *Panax ginseng* C. A. Meyer. Korean J. Medicinal Crop Sci. 14:202-205.
- Hwang SK, Kim SB, Kim JH, Park YS, Bae YS, Park BY, Kim SK, Lee YS, Chung KC, Kim HT** (2006) Sensitivity variation of Botrytis cinerea causing Ginseng gary mold to fungicides, as procymidone, carbendazim and the mixture of carbendazim and diethofencarb. Korean J. Medicinal Crop Sci. 14 1s:550-551
- Lee TS, Mok SK, Cheon SK, Yoon JH, Baek NI, Choe J** (2004) Accumulation of crude lipids, phenolic compounds and iron in rusty ginseng root epidermis. J. Ginseng Res. 28:157-164.
- Matsuo T, Miyazawa Y** (1984) Scientific name of Cylindrocarpone species causing root rot of ginseng. Ann. Phytopathol. Soc. Japan 50:649-652.
- Park HW, Lim TK, Choi CH, Choi JE** (2006) Factors and cause of rusty-ginseng occurrence. Korean J. Crop Sci. 51:396-400.
- Punja ZK, Wan AM, Rahman M** (2005) Role of Fusarium species in rusty root development on ginseng roots. Phytopathol. 95 (Abstr.) In press.
- Yang DC, Kim YH, Yun KY, Lee SS, Kwon JN, Kang HM** (1997) Red-colored phenomena of ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer) root and soil environment Korean J. Ginseng Sci. 21:91-97.
- Yun KY, Yang DC** (2000) Red-colored phenomena and morphochemical characteristics of red-colored substances in ginseng roots (*Panax ginseng* C. A. Meyer). J. Ginseng Res. 24:107-112.
- 김명수, 이종화, 이태수, 백남인** (1984) 인삼연구보고서 (재배분야), 한국인삼연초연구소 : p. 1.
- 이태수** (1991) : 경북대학교, 박사학위논문 p. 79.
- 목성균, 반유선, 천성기, 이태수** (1995) 인삼연구보고서 (재배분야), 한국인삼연초연구소 : p. 61-75.
- 목성균, 반유선, 천성기, 이태수** (1996) 인삼연구보고서 (재배분야), 한국인삼연초연구소 : p. 353-493.
- 박훈** (1991) 인삼의 생리장애. 한국작물학회지 (기상재해연구 II). 459-480.
- 박명규** (1996) 최신고려인삼 (재배편). 천일인쇄사. p. 92.
- 오승환, 박창석, 김홍진** (1978) 인삼연구보고서(재배편). 고려인삼 연구소. p. 31.
- 오승환, 박창석, 김영인** (1979) 인삼의 적변원인 연구. 인삼연구보고서. p. 3-15.