



인삼 뿌리썩음병원균에 대한 길항미생물 분리 및 동정

김수현^{1†} · 김다란^{2†} · 곽연식^{1,2*}

¹경상대학교 식물의학과, ²경상대학교 생명과학연구원

Isolation and Characterization of Beneficial Microbe Against Ginseng Root Rot Pathogens

Su-Hyeon Kim^{1†}, Da-Ran Kim^{2†}, Youn-Sig Kwak^{1,2*}

¹Department of Plant Medicine, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

²RILS, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Republic of Korea

(Received on September 12, 2020. Revised on September 21, 2020. Accepted on September 23, 2020)

Abstract Ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer) are cultivated in Korea, Japan, and China as major production countries. The ginseng contains anti-aging substances, it is pretended a very important medicinal plant. While ginseng grown for 4 – 6 years in soil and may be diseased by a variety of soil-borne pathogens. Biological control approach has potential to suppress ginseng root rot disease. In this study, we investigated the biocontrol agents against ginseng root rot disease, which usually occurs during high temperature and humid periods. *Fusarium* sp. was isolated and characterized from more than 50% of the root rot diseased plant. In addition, antifungal activity was verified by separating the ginseng rhizosphere microorganisms, and 8 strains of *Bacillus* species and one strain of *Ensifer adhaerens* presented reliable antifungal activity against the root rot pathogen. In this study, we presented that *Fusarium* sp. is the major ginseng root rot pathogen during summer season and selected microbes may consider as a sources of biological control agent for the root rot disease.

Key words *Bacillus* spp., Biocontrol, *Fusarium*, *Panax ginseng*, Root rot

서 론

인삼(*Panax ginseng* C. A. Meyer)은 다년생의 반 음지성 식물로 한국, 일본, 중국 등 아시아 지역에서 주로 재배되고 있는 약용작물이다(Kim et al., 2008). 특히 인삼의 주요성분인 사포닌은 중추신경계 조절, 항당뇨 조절 등 다양한 기능을 지니고 있어 최근의 서구식 식습관으로 문제되는 현대인들에 의해 다양한 식재료로 이용되고 있고 그 가공품도 대한 수요가 꾸준히 증가하고 있다(Jin et al., 1982; Nah et al., 1995; Kim et al., 2008; Fan et al., 2016; Yu et al., 2019). 고려인삼(*Panax ginseng* C. A. Meyer)의 주요 재배 지역은 경기도 북부지역, 경북 풍기와 충남 금산으로 알려

져 있으며, 2017년 재배농가의 수는 21,008 농가에 이르고 생산량은 23,310톤을 달성하였다(MAFRA, 2018).

고품질 인삼을 생산하기 위하여 4-6년간 재배되는 과정에서 다양한 식물병원균에 의해 피해를 받으며, 인삼의 재배 중 발생하는 병해는 약 38종이 알려져 있다(Cho et al., 2007; Noh et al., 2012). 또한 묘삼에서부터 6년생에 이르는 전 생육단계에서 발생하는 인삼 역병(*Phytophthora blight*) 외에도 토양 전염성병해인 *Fusarium* sp.과 *Cylindrocarpon destructans*에 의한 뿌리썩음병(Root rot)은 재배시기나 지역에 따라 다양하게 발생하고 있다(Lee et al., 2006; Cheong et al., 2007; Lee and Park, 2009). *Fusarium* sp.는 기주 범위가 광범위한 토양 전염성 병원균으로 후막포자를 만들어 토양 내에서 오랫동안 생존이 가능하며 식물체가 감염되면 대형포자가 도관을 막아 시드는 증상을 발생시킨다(Park et al., 2012).

이러한 다양한 병해충에 취약한 인삼을 재배하기 위해서

*Corresponding author
E-mail: kwak@gnu.ac.kr

†: These authors contributed equally to this work

현재 농약 살포에 의존적이며 인삼 역병에 등록된 약제는 58품목으로 그중 빠르게 침투 이행하여 높은 약효를 보이는 propamocarb와 모잘록병 방제를 위한 Pentachloronitrobenzene (PCNB)과 toclofos-methy 등이 사용되고 있다(Noh et al., 2012). 그러나 토양병원균의 효과적인 방제를 위해 지속적으로 사용되어온 화학적 방제는 잔류농약 등의 농산물 안정성에 대한 문제와 살균제 저항성 병원균의 출현과 같은 문제가 나타남에 따라 효과적인 생물학적 방제법이 대두되고 있다(Lee et al., 2007; Kim et al., 2012; Shim et al., 2013).

이에 본 연구는 친환경적이며 농산물 안정성을 확보할 수 있는 생물학적 방제 균주를 선발하고자 하였다. 여름철에 발생하는 뿌리 썩음 병원균의 분리 및 동정과 그 병원균에 대한 *Bacillus* spp.의 항진균 능력을 평가하였다.

재료 및 방법

인삼 뿌리 썩음 병원균 분리 및 동정

2017년 8월 전라남도 영광군 흥농읍(35°24'15.9"N 126°28'28.4"E) 소재지의 인삼 재배 포장에서 4년생을 대상으로 인삼 뿌리 썩음 병징으로 보이는 시료를 채집하였다. 포장에서의 병 발생 정도는 30개체를 기준으로 감염된 식물체의 뿌리를 대상, 육안으로 조사하였다. 조사한 값은 %로 평가하였다. 병원균의 순수 분리를 위해 인삼의 뇌두와 뿌리를 0.5 cm 크기의 절편으로 절단하여 각각 70% ethanol 30초, 1% Sodium hypochlorite (NaOCl) 30초 침지 하여 표면 살균 후 멸균수로 2회 세척하였다. 병반 조직은 9 cm filter paper에서 습기를 제거한 후 water agar (WA; 20 g of agar per L)에 치상 하여 27°C 배양기에서 암 조건으로 3일간 배양하였다. 병반 조직에서 자란 균사를 떼어내 PDA (PDA; 24 g of Potato Dextrose Broth [BD Difco, USA], 20 g of agar per L) 배지에서 5일간 27°C에서 암 조건으로 정체 배양 후 형태학적 동정 및 분자생물학적 동정을 진행하였다.

분리 배양된 균주의 genomic DNA를 추출하고자 CTAB buffer를 사용하였다(Graham et al., 2003). 멸균된 E-tube에 500 µL의 CTAB buffer에 균사를 넣은 뒤 4 µL Proteinase K (25 mg/mL)를 첨가하여 65°C에서 30분간 반응시켰다. 이후 E-tube에 700 µL의 Phenol:Chloroform:Isoamyl alcohol (PCI; 25:24:1)을 첨가하여 pipette으로 혼합한 뒤 다음 12,470 × g, 4°C에서 10분간 원심 분리를 진행하였다. 상층액을 새로운 E-tube로 옮긴 후 400 µL의 Isopropanol을 첨가하여 12,470 × g, 4°C에서 5분간 원심 분리를 진행하고 상층액을 제거하였다. DNA 정제 과정에서 사용된 잔여물을 제거하기 위해 700 µL의 70% ethanol을 첨가하여 12,470 × g, 4°C에서 5분간 원심분리 후 ethanol을 버리는 과정을 2회 반복하였다. 마지막으로 20 µL TE buffer (5 mL of 1 M Tris pH 8, 1 mL of 0.5 M EDTA pH 8, 496 mL of

dH₂O)에 정제된 DNA를 녹인 후 농도를 검증하고자 1 µL를 이용해 Nano Drop 2000C spectrophotometer (Thermo scientific, Waltham, MA, USA)로 측정하였다.

분자생물학적 동정을 위해 ITS 영역: ITS1 (5'-TCCGTA GGTGAACCTGCGG-3'), ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGA TATGC-3'), Long subunit for Ascomycota: F (5'-AACKGC GAGTGAAGCRGYA-3'), R (5'-CSATCACTSTACTTGTK CGC-3'), Short subunit: F (5'-TGTTACGACTTTTACTT-3'), R (5'-TTTGACTCAACACGGG-3')로 3종류 프라이머 세트를 이용하여 PCR을 진행하였다 (White et al., 1990; Asemaninejad et al., 2016; Zaremski et al., 2019). 증폭된 절편들은 Expin™ Gel SV kit (BIONEER, Republic of Korea)를 이용하여 정제 후 Macrogen (Seoul, Republic of Korea)에서 염기서열 분석을 의뢰하였다. 분석된 염기서열은 NCBI Nucleotide BLAST search program (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)를 이용하여 동정하였으며 maximum likelihood method를 사용하여 MEGA 10 program 유사성 검증을 통해 계통수를 작성하였다.

형태학적 동정으로 대형 분생포자 형성을 위해 2 X V8 (20% V8 broth, 4 g CaCO₃, agar 20 g per L) 배지에 7일간 배양 후 멸균된 cheese cloth로 포자 현탁액을 수집하고 현미경 (BX53, Olympus, Tokyo, Japan)에서 400배율로 관찰하였다.

인삼 뿌리 썩음 병원균 병원성 검정

분리된 뿌리 썩음 병원균의 병원성 검증은 건전한 3년근 인삼 뿌리에 병원균 접종하여 검정하였다. 실험 처리구는 병원균을 처리하지 않은 무처리구와 각 병원균 *F. solani*, *F. oxysporum*으로 설정하였다. 모든 처리구는 주사기(15 mL)를 이용하여 인삼의 뇌두, 중간, 잔뿌리에 3번씩 찔러 상처를 낸 뒤 PDA (PDA; 24 g of Potato Dextrose Broth [BD Difco, USA], 20 g of agar per L)에서 배양된 병원균을 Cork bore (diam. 4-mm)로 자르고 needle을 이용하여 균사 조각이 상처부위에 닿도록 고정하였다. 병원균이 접종된 인삼은 플라스틱 용기에 넣기 전 멸균수로 적셔준 여과지를 깔고 거름망 위에 고정시킨 뒤 28°C 항온기에 보관을 하였다. 인삼에서의 병반은 병원균 접종 5일 후에 확인하였다.

재배지 인삼 근권 토양에서의 길항 미생물의 분리 및 선발

인삼의 근권에서 미생물 분리를 위해 뿌리의 표면 토양을 붓으로 털어 근권을 수집하였다. 수집된 토양으로부터 미생물을 분리하기 위해 토양 0.5 g을 멸균수 9 mL을 튜브에 넣고 10초간 vortexer로 혼합하였다. 현탁액 1 mL을 9 mL의 멸균수에 혼합한 다음 10⁻⁵, 10⁻⁶, 10⁻⁷의 농도로 희석하였다. 희석액 100 µL를 1/5 TSA (Tryptic soya broth 30 g, agar 20 g per L)배지에 도말 후 27°C 항온기에 3일 동안 배양하

였다. 배지에서 자란 미생물 균락은 1/5 TSA에 획선법(streaking)으로 한 개의 균총을 확보하였다. 보관 균주 제작을 위해 96 well plate에 100 μ L TSB (Tryptic soy broth 30 g per L) 배지를 분주 후 단일 균총을 접종하였다. 이 후 27°C에서 3일간 진탕 배양을 하였다. 배양이 완료된 96 well plate에 50% glycerol 100 μ L 첨가하여 Platemax® Pierceable Aluminum Sealing Film (Axygen, Union City, CA, USA)로 밀봉하여 -20°C에 보관하였다.

분리된 근권 미생물을 인삼 뿌리 썩음 병원균과 대치 배양을 통해 길항 미생물을 선발하였다. 대치 배양은 3 단계로 진행되었으며 1 단계로 tray plate에 PDK (Potato dextrose broth 10 g, Peptone 10 g, agar 20 g per L) 배지를 제조한 후 replica를 이용하여 96 well에 있는 보관 균주를 접종한 뒤 27°C에서 2일간 배양하였다. 이후 PDA 배지에서 배양이 완료된 병원균을 tray plate에 접종하여 27°C에서 대치 배양 진행하였다. 1 단계에서 clean zone을 보였던 colony를 2단계와 3단계에서는 PDK broth 배지 5 mL에 접종하였다. 2일간 진탕 배양 후 OD₆₀₀ 값이 0.8이 되도록 조정하여 PDK agar 배지의 중심으로부터 3 cm 떨어진 위치에 중심선과 직각이 되도록 3 cm를 획선법을 실시하고 1단계와 동일한 조건으로 배양하였다. 분리된 미생물이 배양이 완료된 후 병원균을 중심부에 접종하여 27°C에서 5일간 대치 배양 후 clean zone의 길이를 측정하여 - no inhibition; + (low inhibition), 0.1–0.5 cm; ++ (medium inhibition), 0.5–1 cm; +++ (strong inhibition), 1–1.5 cm; ++++ (the highest inhibition), >1.5 cm을 기준으로 항진균능력을 검증하였다.

인삼 뿌리 썩음병 억제 미생물 분자생물학적 동정

선발된 항진균성 미생물을 TSB 배지 5 mL에 접종하여 3일간 진탕 배양한 뒤 2 mL을 E-tube로 옮겨 원심분리기에 12,470 \times g 조건으로 3분간 반응하여 pellet를 확보하였다. Pellet이 형성된 E-tub에서 상층액은 버린 후 CTAB buffer 500 μ L를 넣고, CTAB 기법으로 DNA를 정제하였다 (Graham et al., 2003). 이 후 분자 생물학적 동정을 위해

16S rRNA 영역을 증폭하였으며 PCR 과정에서 Genomic DNA 1 μ L (100 ng/ μ L), Primer (10 pmol) 1 μ L, dNTP (10 mM) 1 μ L, 10 \times reaction buffer 2 μ L, Taq polymerase 0.2 μ L (500 unit), ddH₂O 12.8 μ L로 최종 20 μ L 반응물을 조제한 후 PC를 수행하였다. 사용된 프라이머는 27 F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') 1492 R (5'-TACGGY TACCTTGTACGACTT-3')을 사용하였으며 증폭된 산물을 1% agarose gel에 전기 영동을 하여 약 1400 b의 증폭된 DNA 절편은 Expin™ Gel SV kit (BIONEER, Republic of Korea)로 정제 후 Macrogen (Seoul, Republic of Korea)에서 염기서열 분석을 진행하였다. 분석된 염기서열은 NCBI Nucleotide BLAST search program (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)를 이용하여 동정 후 maximum likelihood method를 사용하여 MEGA 10 program 유사성 검증을 통해 계통수를 나타내었다.

결과 및 고찰

인삼 뿌리 썩음 병원균 분리 및 동정

2017년 8월 전라남도 영광군 흥농읍에 위치한 4년근 인삼 재배지에서 잎의 가장자리가 갈색으로 변하면서 시들어가는 식물체가 발견되었다(Fig. 1A and B). 이러한 증상을 나타내는 인삼 개체수를 발병도로 확인한 결과 인삼 재배지에서 42%~67%가 확인되었다. 인삼 뿌리에서는 흰색의 균사체가 다량으로 형성되었다(Fig. 1C). 병징을 나타내는 식물체는 채집하여 해당 병원균을 분리하였고, 형태학적 동정과 분자 유전학적 동정을 진행하였다. 채집하여 온 인삼 병반의 뇌두 부분에서 11개, 뿌리 부분에서 9개의 균체를 분리하였으며 광학현미경을 통해 포자를 이용한 형태학적 동정을 진행한 결과 3가지 형태가 관찰되었다. A type으로 양끝이 뾰족하며 긴 포자 형태로 2~4개의 격막을 가지며, 초승달 모양을 나타내는 3.5~5.5 \times 25~30 μ m 크기로 확인되었다(Y1, Y4, Y5, Y6, Y7, Y8, Y9, Y10, Y11, Y12, Y13, Y17, Y18, Y19). B type 유주자낭의 형태를 띠는 그룹(Y16, Y20, Y21), C type 포자를 관찰할 수 없었던 그룹(Y2, Y3, Y14)



Fig. 1. Root rot symptom of disease on *P. ginseng* caused by *Fusarium* sp. (A): *Panax ginseng* cultivated field for 4 years, (B): Root rot disease symptom on above ground leaf, (C): Symptom of root disease and white hyphae on root.

으로 크게 3가지 형태로 관찰되었다. 이후 3가지 유전자 영역인 Internal transcribed spacer (ITS), small-subunit (SSU) rRNA, large-subunit (LSU) rRNA 로 분자생물학적 동정 결과 A type은 NCBI BLAST 분석을 통해 각각 *F. oxysporum*, *F. solani*와 100% 일치하여 분자계통학적 유연 관계에 함께 속하는 것을 확인되었다(Fig. 2 and Fig. 3). B type은 Kim et al. (2020a)에 의해 보고된 *Phytophthora cinnamomi*로 확

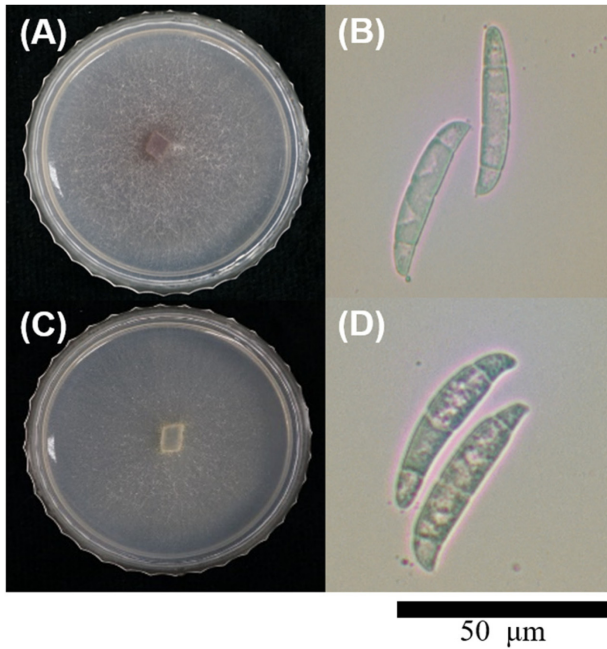


Fig. 2. Mycelium and conidia of pathogens isolated from *P. ginseng* root. (A): Colony of *F. oxysporum*, (B): Macroconidia of *F. oxysporum* (C): Colony of *F. solani* (D): Macroconidia of *F. solani*. Pathogen was incubated at 28°C for 5 days at PDA media and macroconidia as seen through the microscope with 400×.

인되었다. 병징으로부터 분리된 20개의 균총은 *Fusarium* sp. 가 70%로 대부분을 차지하였으며 *P. cinnamomi*가 15%로 확인되었다(Kim et al., 2020a).

인삼에 토양 전염성이며 진균류 병원균으로는 *Cylindrocarpon destructans*, *F. solani*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia nivalis* 등의 여러 병원균들이 보고되어 있다(Lee et al., 2018). 이들 병원균은 토양 내에 장기간 서식하면서 뿌리 부위를 침해하므로 공기 전염성 병해의 국부적인 병반과는 달리 때때로 식물 전체를 죽게 하는 전신감염성의 병해를 초래한다(Lee et al., 2018). 인삼에 피해를 주는 병원균 중 고온 다습한 시기에 발병된 뿌리 썩음 병징으로부터 분리된 병원균은 *F. oxysporum*과 *F. solani* 가 70%를 차지하였다.

인삼 재배지로부터 분리된 뿌리 썩음 병원균의 병원성 검증

병원균 *F. oxysporum*, *F. solani*는 건전한 3년근 인삼에 접종하여 병원성 검증을 실시하였다. 무처리구에서는 병이 발생하지 않았지만(Fig. 4A) *F. solani* 병원균 처리구에서는 접종 부위를 중심으로 갈색 병반을 띄며 썩어 들어가는 것을 볼 수 있었으며 인삼의 표면이 벌어지는 것을 관찰할 수 있었다. 또한 표면에는 인삼 재배지에서 관찰된 흰색 균사체들이 뿌리를 덮었으며 절단면에서 너부 부분과 도관부의 갈변이 확인되었다 (Fig. 4B). *F. oxysporum* 처리구에서는 접종부위에서만 일부 갈변 된 현상이 관찰되었으며 *F. solani*와 비교하여 병원성이 약한 것을 확인하였다(Fig. 4C). 이러한 인삼 뿌리로부터 코호의 가설을 검증하고자 병원균 재분리가 진행된 결과 접종하였던 병원균과 동일한 *Fusarium* sp.가 재분리 되었다. 이를 통해 인삼재배지에서 뿌리 썩음 병 감염의 원인균로 *Fusarium* sp. 임을 뒷받침할 수 있는 근거를 확보하였다.

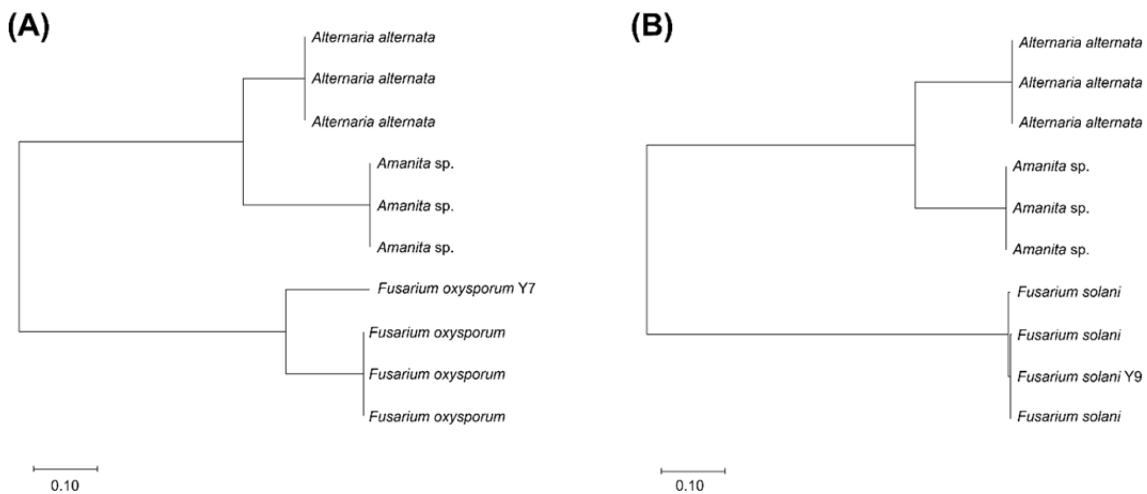


Fig. 3. Phylogenetic tree obtained through the maximum-likelihood of MEGA 10 program using the ITS, SSU rRNA, LSU rRNA sequence of other isolates and that of other isolates of GenBank. (A): Phylogenetic tree of *F. oxysporum*, (B): Phylogenetic tree of *F. solani*

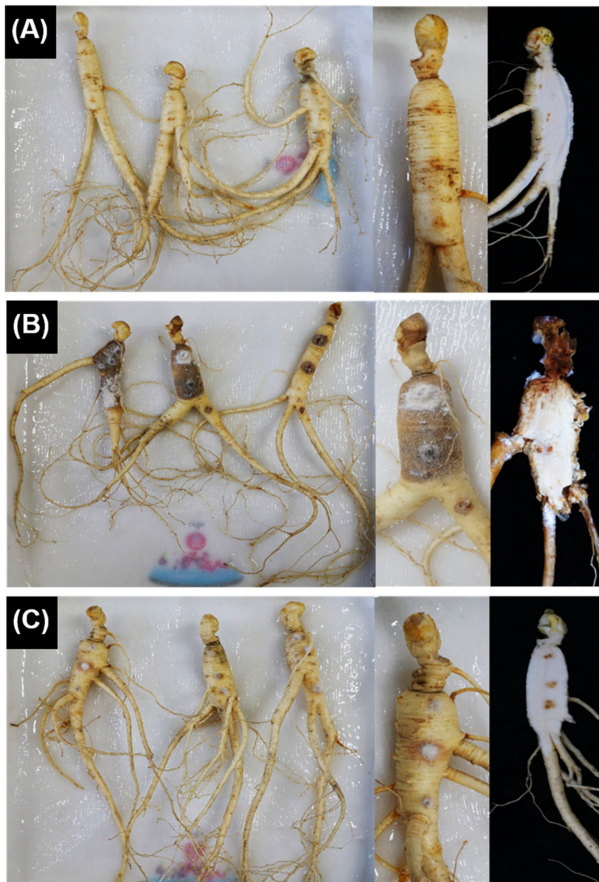


Fig. 4. Pathogenicity test of *P. ginseng* (A): Control treated, which had wound with syringe and no inoculated pathogen, (B): *F. solani* treatment, (C): *F. oxysporum* treatment. All treatments are inoculated and treated at 28°C, 90-95% relative humidity for 7 days ($n = 3$).

인삼 뿌리 썩음 병원균 억제 미생물 선발 및 항진균 효과 검증

인삼 근권에서 분리한 미생물은 총 1508개이며, 이 중 고병원성인 *F. solani* strain Y9과 1단계 대치 배양을 통해 길항미생물 59개를 선발하였으며 2 단계 대치배양에서 17개, 3 단계 대치배양에서 13개가 선발되었다. 그 중 4-1 C4, 4-1 C6, 4-1 D6, 4-1 E6, 4-1 F6, 4-1 H6, 4-1 H11, 4-3 F4, 5-1 G7 등 9개가 길항세균으로 선발되었다. 선발된 9개의 균주 중 *F. oxysporum*에 대해서는 4-1D6, 4-1C4, 4-1C6, 4-1E6, 4-1F6, 4-1H6, 5-1G7균주가 높은 항균 활성을 나타냈다 (Table 1; Fig. 5A). 5-1G7는 *F. solani*에 대해 우수한 항균 능력이 확인되었다(Fig. 5B). *F. oxysporum*를 억제하지 못했던 4-3F4 균주는 *F. solani*에 대해 항균 활성을 띠었고 4-1C4, 4-1C6, 4-1D6, 4-1E6, 4-1F6, 4-1H6, 4-1H11는 *F. solani*에 대해 모두 억제 능력을 지니고 있음을 검증하였다.

인삼 뿌리썩음병 항진균 기능 미생물의 동정

뛰어난 항균능력을 나타낸 9개의 길항미생물은 16S

Table 1. Antifungal activity of rhizosphere bacteria isolated from ginseng

Strain	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Fusarium solani</i>
4-1C4	++	+
4-1C6	++	+
4-1D6	++	+
4-1E6	++	+
4-1F6	++	+
4-1H6	++	+
4-1H11	+	+
4-3F4	-	+
5-1G7	++	++

* - no inhibition; + (low inhibition), 0.1 – 0.5 cm; ++ (medium inhibition), 0.5 – 1 cm; +++ (strong inhibition), 1 – 1.5 cm

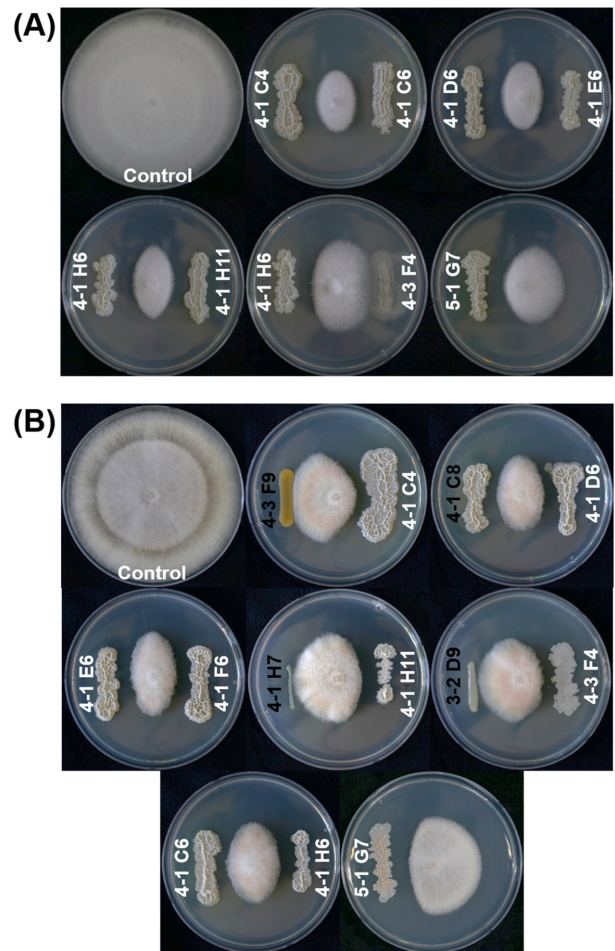


Fig. 5. Antifungal activity test using isolated bacteria (A): Antifungal assay against to *F. oxysporum*, (B): Antifungal assay toward to *F. solani*. Bacteria ($OD_{600} 0.8$) was streak on PDK media and incubated for 2 days. After 2 days, a pathogen (0.4-cm diam.) was inoculated at the center of the plate and incubated at 28°C for 5 days ($n = 3$).

rRNA 염기서열 분석을 통한 분류 및 동정이 진행되었다. 4-3F4 균주는 *Ensifer adhaerens*로 동정되었으며 나머지 8개

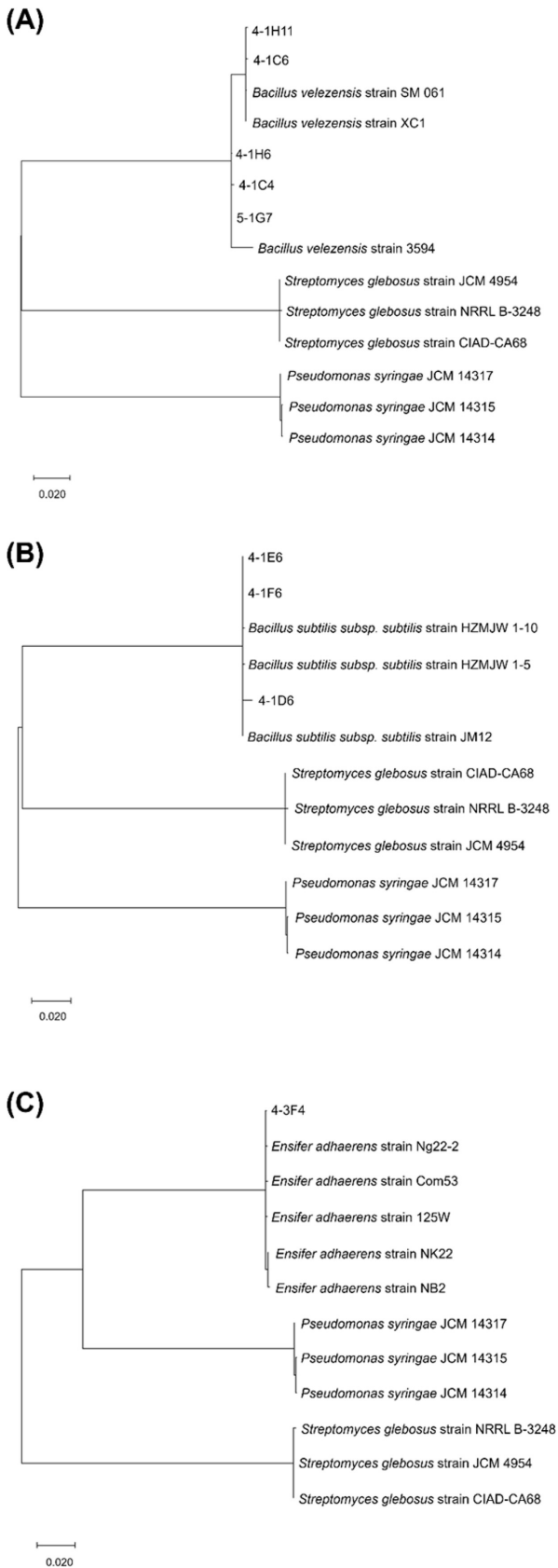


Fig 6. Phylogenetic tree for *Bacillus* spp. from a Maximum likelihood analysis. Phylogenetic tree analysis with 16S rRNA region and Mega10 alignment.

의 균주는 모두 Genbank의 각각 *Bacillus subtilis*, *B. velezensis*와 100%로 일치함이 확인되었고 분자계통학적 유연 관계 분석에서도 함께 속함을 알 수 있었다(Fig. 6A and B). *Bacillus* 속에 속하는 균주 들은 인삼의 뿌리 썩음병에 관여하는 *F. oxysporum*과 *F. solani*에 대해 뛰어난 항진균 능력을 나타내는 것을 확인하였다. 기존의 보고에 따르면 인삼에서 뿌리 썩음 병의 원인균인 *Fusarium*과 *C. destructans* 대해 항진균능력을 지니고 있는 *Bacillus*가 보고된 바 있다(Jang et al., 2011; Song et al., 2014). 기존의 연구에서 보고된 바와 유사하게 인삼 뿌리썩음병에 항진균 능력을 나타내는 다양한 *Bacillus* 속을 선발하여 미생물 제제의 다양성을 확보할 수 있을 것으로 사료된다.

국내에서는 인삼의 생물학적 방제로 인삼 모잘록병에 대한 *Bacillus velezensis* CC112와 뿌리 썩음병에 항진균능력을 나타내는 *Bacillus* sp. 가 보고된 바 있다(Kim et al., 2012; Kim et al., 2020b). *Bacillus* 균주는 국외에서도 생물학적 방제 인자로서 다양한 보고가 이루어졌으며 cyclic lipopeptides (bacillomycin D, fengycin, iturin, surfactin), a dipeptide (bacilysin), siderophore (bacillibactin), polyketides (bacillaene, difficidin, and macrolactin) 등과 같은 다양한 이차대사산물 생합성 관련 유전자를 보유하고 있어 병원성 세균 및 진균류에 대한 친환경 방제로 상품화되어 활용되고 있다(Lee et al., 2012). 본 연구를 통해 선발된 *Bacillus* sp. 는 고온 다습한 환경에서 발생하는 인삼 뿌리 썩음병 방제 인자를 지니고 있으며 생물적 방제 미생물로서 제형 개발, 포장에서의 효과 검정 등의 연구를 거쳐 실효성이 확인된다면 향후 인삼의 안정적 생산에 기여할 수 있을 것으로 판단 된다.

감사의 글

이 성과는 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(No. 2020RA2C2004177).

Author Information and Contributions

Su-Hyeon Kim, Department of Plant Medicine, Gyeongsang National University, Undergraduate Student, <http://orcid.org/0000-0002-0914-9114>

Da-Ran Kim, RILS, Gyeongsang National University, Research professor, <http://orcid.org/0000-0003-3460-901X>

Youn-Sig Kwak, Department of Plant Medicine, Gyeongsang National University, Professor, <http://orcid.org/0000-0003-2139-1808>

Literature cited

- Asemaninejad A, Weerasuriya N, Gloor GB, Lindo Z, Thorn RG, 2016. New primers for discovering fungal diversity using nuclear large ribosomal DNA. *PLoS One* 11(7):e0159043.
- Cheong SS, Park JS, Yang JC, Ryu J, Kim HJ, et al., 2007. Growth characteristics and occurrence rate of disease and pest according to the forest field in *Panax ginseng* CA Meyer. *Korean J. Medic. Crop Sci.* 15(4):261-265.
- Cho KM, Hong SY, Lee SM, Kim YH, Kahng, GG, et al., 2007. Endophytic bacterial communities in ginseng and their antifungal activity against pathogens. *Micro. Ecol.* 54(2):341-351.
- Graham J, Marshall B, Squire GR. 2003. Genetic differentiation over a spatial environmental gradient in wild *Rubus ideaus* populations. *New Phytol.* 157(3):667-675.
- Fan LY, Guo T, Ren J, Zhou YF, 2016. Effect of ginseng root polysaccharides on cutaneous wound repair in mice. *Trop. J. Pharm. Res.* 15(11):2399-2405.
- Jang Y, Kim SG, Kim YH, 2011. Biocontrol efficacies of *Bacillus* species against *Cylindrocarpon destructans* causing ginseng root rot. *Plant Pathol. J.* 27(4):333-341.
- Kim BY, Ahn JH, Weon HY, Song J, Kim SI, et al., 2012. Isolation and characterization of *Bacillus* species possessing antifungal activity against ginseng root rot pathogens. *Korean J. Pestic. Sci.* 16(4):357-363.
- Kim DR, Chae DH, Kwon SB, Kwak YS, 2020a. First report of *Phytophthora cinnamomi* causing soft rot on ginseng root in republic of Korea. *Plant Dis.* 104(2):598-598.
- Kim HJ, Cheong SS, Kim DW, Park JS, Ryu J, et al., 2008. Investigation into disease and pest incidence of *Panax ginseng* in Jeonbuk province. *Korean J. Med. Crop Sci.* 16(1): 33-38.
- Kim SY, An J, Park KH, Lee SY, Weon H, et al., 2020b. Effect of *Bacillus* CC112 inoculation on fungal pathogens and soil microbial community in a ginseng-cultivated soil. *KJSSF.* 53(2):128-139.
- Lee BD, Park H, 2009. Control of phytophthora blight of *Panax ginseng* caused by *Phytophthora cactorum* using phosphonate under the controlled condition. *J. Ginseng Res.* 33(4):311-315.
- Lee SY, Kim BY, Ahn JH, Song J, Seol YJ, et al., 2012. Draft genome sequence of the biocontrol bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* strain M27. *J Bacteriol.* 194(24):6934-6935.
- Lee SW, Kim TS, Hyun DY, Kim CG, Park, HK, et al., 2007. Investigation of agricultural problems among farmers culturing ginseng in paddy soil. *KSMS: Poster:*131-132.
- Lee, SW, Kim TS, Park CG, Hyun DY, Kang SW, et al., 2006. Variation of growth characteristics and quality between upland and paddy ginseng (*Panax ginseng* CA Meyer). *Korean J. Medic. Crop Sci.* 14(suppl 2):54-55.
- Lee SW, Lee SH, Seo MW, Park KH, Jang IB, 2018. Effects of irrigation and ginseng root residue on root rot disease of 2-years-old ginseng and soil microbial community in the continuous cropping soil of ginseng. *Korean J. Med. Crop Sci.* 26(5):345-353.
- Nah SY, Park HJ, McCleskey EW, 1995. A trace component of ginseng that inhibits Ca²⁺ channels through a pertussis toxin-sensitive G protein. *PNAS* 92(19):8739-8743.
- Noh HH, Lee KH, Lee JY, Lee EY, Park YS, et al., 2012. Residual characteristics and processing factors of difenoconazole in fresh ginseng and processed ginseng products. *Korean J. Pestic. Sci.* 16(1):35-42.
- Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs (MAFRA). (2018). Sejong, Korea. p.39.
- Park YH, Lee SG, Ahn DJ, Kwon TR, Park SU, et al., 2012. Diversity of fungal endophytes in various tissues of *Panax ginseng* Meyer cultivated in Korea. *J. Ginseng Res.* 36(2):211-217.
- Shim WB, Kim JS, Chung DH, 2013. Microbiological hazard analysis of ginseng farms at the cultivation stage to develop a good agricultural practices (GAP) Model. *J. Food Hyg. Saf.* 28(4):312-318.
- Song M, Yun HY, Kim YH, 2014. Antagonistic *Bacillus* species as a biological control of ginseng root rot caused by *Fusarium cf. incarnatum*. *J. Ginseng Res.* 38(2):136-145.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J, 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications.* 18(1):315-322
- Yu J, Jang IB, Moon JW, Jang IB, Lee SW, et al., 2019. Physicochemical characteristics of a 4-year-old ginseng based on steaming temperatures and times. *Korean J. Medic. Crop Sci.* 27(2):86-95.
- Zaremski C, Ducouso-Détrez A, Amusant N, Zaremski A, 2019. Taxonomic study of French guiana fungi to identify and isolate pure cultured fungi for oleoresin production in *Aquilaria*: Use of sequences from the small ribosomal DNA (R) subunit (SSU) and the two primer pairs SR6/SR10R and SR7/SR1R. *Lingo.* 15(3):3-16.

인삼 뿌리썩음병원균에 대한 길항미생물 분리 및 동정

김수현^{1†} · 김다란^{2‡} · 곽연식^{1,2*}

¹경상대학교 식물의학과, ²경상대학교 생명과학연구원

요 약 인삼은 한국, 일본, 중국 등에서 재배되고 있는 작물로서 항 노화 물질을 함유하고 있어 수요가 증가하고 있다. 국내에서 재배되고 있는 고려인삼은 다년간 재배하는 특성으로 인해 토양 전염성병해에 취약한 실정이다. 화학적 방제는 과거부터 현재까지 사용되고 있는 방법이나 소비자들의 식품안전성에 대한 수요가 증가함에 따라 제제가 강화되고 있다. 이에 생물학적 방제는 유용한 방안으로 제시되고 있으며 본 연구에서는 고온 다습한 시기에 주로 발생하는 인삼 뿌리 썩음 병의 원인균을 조사하고 생물학적 방제 균주를 확보하고자 하였다. 2018년 확보된 감염 시료로 분리된 뿌리 썩음 병원균은 *Fusarium* sp.가 50%로 대부분을 차지하고 있는 것을 확인하였다. 또한 근권 미생물을 분리하여 항 진균 능력을 검증한 결과 *Bacillus* species로 8개와 *Ensifer adhaerens* 1종을 확보하였다. 본 연구를 통하여 기존에 보고된 인삼 뿌리 썩음 병은 고온 다습한 시기에는 *Fusarium* 속을 대비해야 하는 것을 시사하는 것과 더불어 이를 생물학적 방제를 하기 위한 다양한 유전자원을 확보하였음을 보고하는 바이다.

색인어 바실러스, 생물적방제, 푸자리움, 인삼, 뿌리썩음병