



인삼 탄저병과 세균뿌리썩음병 대한 석회보르도액의 방제효과 검증

김민정 · 심창기* · 박상구

국립농업과학원 농업환경부 유기농업과

Control efficacy of Lime Bordeaux Mixture against *Collectotrichum gloeosporioides* JAFP5 and *Serratia plymuthica* JABP11 in Ginseng

Min-Jeong Kim, Chang-Ki Shim*, Sang-Gu Park

Organic Agriculture Division, National Institute of Agricultural Sciences, Wanju 55365, Korea

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

Abstract The purpose of this study was to evaluate the properties and antimicrobial activities between commercialized lime bordeaux mixture (CLBM) and self-made lime bordeaux mixture (SMLBM) for use in environmentally friendly control of ginseng anthracnose (*Collectotrichum gloeosporioides* JAFP5) and bacterial root-rot (*Serratia plymuthica* JABP11) diseases. Of the nine types of CLBM, three types of bordeaux's solutions (CLBM7, CLBM 8, and CLBM 9) were revealed the antibacterial activity against *S. plymuthica* JABP11 by showing over 12.5 mm in diameter of clear zone on culture media. In the case of SMLBMs, only SMLBM6-6 was revealed the antibacterial efficacy in *S. plymuthica* JABP11. In the screening of lime bordeaux mixtures efficacy against *C. gloeosporioides* JAFP5 by conidia germination and appressorium formation, CLBM7, CLBM8 and SMLBM6-6 were revealed the high efficacy at the treatment of four concentrations (1.25, 2.5, 5.0, 10%/v). As a result, the three kinds of lime bordeaux mixtures (CLBM7, CLBM8 and SMLBM6-6) can be used for eco-friendly control of ginseng anthracnose and bacterial root-rot diseases, and additional field experiments are considered to develop more practical application techniques.

Key words Anthracnose, Bacterial root rot, Eco-friendly agriculture, Ginseng, Lime bordeaux mixture

서론

약용작물 중에서 인삼(*Panax ginseng* C. A. Meyer)은 우리나라의 대표적인 한약재의 원료이다. 인삼은 다년생 작물로 토양 병해충에 노출되어 뿌리의 피해가 많을 뿐 아니라, 비가림재배로 인하여 지상부 조직이 연약하여 탄저병 (*Colletotrichum panacicola*, *Colletotrichum gloeosporioides*), 점무늬병 (*Alternaria panax*), 세균뿌리썩음병원균 (*Serratia plymuthica*) 등에 의한 병해로 조기 낙엽으로 큰 피해를 받는 경우가 많다(Oh, 1981; Mok, 2000; Doh and Kil, 2001; Li and Choi, 2009; Jung et al., 2018).

*C. gloeosporioides*에 의한 인삼 탄저병은 열매와 잎에 주로 발생하며, 장마철 이후인 7~8월에 피해가 심하게 발생하

며(Cho et al., 1998; Mok, 2000), 병원균의 특성상 고온다습한 환경에서 물과 함께 전파하여 전염되고 있는 것으로 알려져 있다(Bae et al., 2005).

인삼 뿌리에 병을 일으키는 세균으로는 *Pectobacterium carotovorum* (Yu et al., 1991), *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia liquefaciens* (Lee, 1975) 및 *Serratia plymuthica* (Jung et al., 2018) 등이 보고되어 있으며 *S. plymuthica*에 의한 인삼 세균뿌리썩음병은 8월경에 인삼 잎이 초록색을 띤 채 급격하게 시들고 마르는 증상을 보인 직후 인삼의 뿌리나 줄기에서 특별한 병징은 없으나, 시들음 증상을 보인 10일 후, 인삼 뿌리가 물러지면서 썩는 증상을 보이는 것이 특징적이다 (Jung et al., 2018).

최근 친환경 유기농산물에 대한 소비자의 관심이 높아져, 농약잔류가 없는 친환경 인삼을 생산하고자 하는 농가들이 늘어나고 있다. 그 중에서도 친환경 인삼의 생산은 국내의 소비자의 신뢰도를 높이고 수출 경쟁력도 올릴 수 있을 것

*Corresponding author
E-mail: ckshim@korea.kr

으로 기대하고 있다 (Lee et al., 2010).

그러나 친환경, 유기농산물의 수요가 증가함에 따라 농가들은 농업현장에서 병해충 방제가 가장 어려운 현상으로 중의 하나이며 (Lee et al., 2007), 다양한 유기농업자재 중에서 병해충 관리를 위해 광범위하게 사용할 수 있는 석회보르도액, 석회유황합제, 황토유황합제 등의 활용방법에 대한 연구에 관심이 증가하고 있다(Lee et al., 2010; Kim et al., 2014).

석회보르도액은 강알칼리성(pH 12.4)의 흰색을 띤 유리색 액체로 현수성을 가지고 있다. 석회보르도액은 황산구리($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)와 생석회(CaO)를 혼합하여 만드는 천연살균제로 1885년 프랑스에서 Millardet에 의해 포도의 노균병을 방제하기 위해 개발하였으며 치료보다는 예방효과가 뛰어난 것으로 보고되었다(Barker and Gimingham, 2011). 석회보르도액은 광범위 천연 살균제로 과수 위주로 사용하고 있으며, 우리나라는 친환경 재배 농가 중 70%가 석회보르도액을 자가제조하여 사용하고 있으며 30%는 시제품을 구입하여 사용하고 있는 실정이다.

석회보르도액을 식물에 처리할 경우 단점 중의 하나는 사용 후, 식물체의 표면에 약혼이 남아 상품성에 영향을 줄 수 있으며, 제조 후 바로 사용해야 하고 사용 전후에 비가 오면 구리이온(Cu^{2+})에 의한 약해가 발생할 수 있어 처리 전후의 날씨를 확인하고 사용해야 하는 번거로움이 있는 것으로 알려져 있다.

국내에서 석회보르도액의 작물별 적용사례를 살펴보면, 인삼은 점무늬병, 탄저병(Lee et al., 2010), 포도(*Vitis labruscana* B.)는 노균병(Jung et al., 2011), 탄저병, 잣빛곰팡이병, 갈색무늬병, 꼭지마름병, 및 덩굴조짐병(Kim et al., 2008), 배(*Pyrus serotina* var. *culta*)는 검은별무늬병(Choi et al., 2011) 복숭아(*Prunus persica*)는 세균성구멍병(Kim et al., 2015)에 적용하였으며, 벼(*Oryza sativa* L.)는 잎도열병(Kang et al., 2008)에 적용하였고, 감귤(*Citrus unshiu* Marow)에는 탄저병(Hyeun et al., 2005) 방제에 활용한 것으로 보고되었다.

인삼 탄저병균(*C. gloeosporioides*)을 방제하기 위한 식물 유래 천연물을 탐색하고자 양파(*Allium cepa*), 대황(*Rheum palmatum*) 및 황련(*Coptis chinensis*) 등 20종의 식물추출물에 대한 효과를 검정한 결과, 양파, 대황 및 황련 추출물에서 인삼 탄저병균에 대한 항균력이 있는 것으로 보고하였다(Doh and Kil, 2001).

따라서, 본 연구는 인삼 탄저병과 세균뿌리썩음병 친환경 방제에 활용하고자 시판 석회보르도액과 자가제조한 석회보르도액의 특성을 비교하고 식물병원균에 대한 항균력을 평가하여, 향후 석회보르도액을 인삼 병해 방제용으로 활용할 수 있도록 정보를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

시험재료

시판 석회보르도액의 경우 무작위로 시중에서 유기농업자재로 공시되어 있는 자재 중에서 선발하여 9종을 구입하여 활용하였으며, 시판 석회보르도액의 권장사용농도는 Table 1에서 보는 바와 같이 12~1000배로 평균 319배로 적용작물에 따라 다양한 처리농도를 추천하고 있다. 자가제조한 석회보르도액은 2-2식, 4-4식, 5-5식 및 6-6식 석회보르도액으로 국립농업과학원 “유기농업자재 만들기 쉽게 따라하기(NIAS, 2012)”에 제시한 석회보르도액 표준제조 방법에 따라 실험실에서 제조하여 사용하였다. 석회보르도액 자가제조에 사용한 생석회(CaO, BKP-96, (주)백광소재)는 순도 95%이며, 황산구리(쥘건도)는 순도 99.8%인 시험재료를 시중에서 구입하여 사용하였다. 자가제조한 2-2식, 4-4식, 5-5식 및 6-6식 석회보르도액의 제조에 사용된 생석회와 황산구리의 함량은 Table 1에 제시한 것과 같다.

인삼 식물병원균 분리 및 배양

실험에 사용한 인삼 탄저병원균(*C. gloeosporioides* JAFP5)과 세균뿌리썩음병원균(*S. plymuthica* JABP11)은 진안군농업기술센터의 유기인삼 3년근 재배포장에서 채집한 이병 식물체로부터 순수분리하여 배양하였다. 인삼 탄저병과 세균뿌리썩음병이 걸린 이병식물체로부터 병반부위와 건전부위가 포함되도록 50×50 mm 크기로 절단하여 70% 에탄올에 2분간 표면소독하고 멸균 증류수에 2회 세척한 후, 물한천배지(Water Agar)에 병징별로 4개씩 올려 28°C 항온기에 3일간 배양하였다. WA배지에서 출현한 탄저병원균과 세균뿌리썩음병원균의 균총을 PDA (Potato Dextrose Agar)와 TSA (Tryptic Soy Agar)에 각각 옮겨서 28°C 항온기에 7일간 순수배양하여 실험에 사용하였다. 세균뿌리썩음병원균의 현탁액은 실험 직전에 순수배양한 균총을 TSB배지에 접종한 후, 28°C 항온기에 4일간 배양하여 실험에 사용하였다.

인삼 탄저병과 뿌리썩음병의 분자생물학적 동정

진안군농업기술센터의 유기인삼 3년근 재배포장에서 채집한 이병 식물체로부터 순수분리한 인삼 탄저병원균(*C. gloeosporioides* JAFP5)과 뿌리썩음병원균(*S. plymuthica* JABP11)로부터 각각 genomic DNA를 분리한 후, 인삼 탄저병원균의 ITS (ribosomal internal transcribed spacer) 부위를 PCR로 증폭하고자 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')과 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') primer를 사용하여 PCR을 행하였다(White et al., 1990). 인삼 세균뿌리썩음병원균의 16s rRNA PCR증폭은 27F (5'-AGAGTTTGACMTGGCTCAG-3')과 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGAC TT-3') primer를 사용하여 PCR을 행

Table 1. The composition, recommended treatment rates, pH and EC of commercial and self-made lime bordeaux mixtures for crops in this study

Bordeaux	Formulation composition (%)	Recommended label rates (crops and diseases)	pH	EC (mS/cm)
CLBM ^{a)} 1	Unslaked lime 20, Cupric sulfate 12, water 68	100 times (apple, pear, grape, persimmon, ginseng)	6.9±0.01 ^{o)}	9.1±0.02
CLBM 2	Unslaked lime 14.9, Cupric sulfate 14.5, water 70.6	60 times (Korean melon), 40times (soybean)	6.6±0.03	111.5±0.05
CLBM 3	Slaked lime 20.5, Cupric sulfate 15.5, water 64	100 times (hot pepper, lettuce, Chinese cabbage, cucumber, tomato, rice)	6.7±0.00	21.2±0.15
CLBM 4	Slaked lime 40, Cupric sulfate 20, water 40	100 times (apple, hot pepper, ginseng, grape, peach, pear, plum)	6.7±0.00	9.1±0.01
CLBM 5	Slaked lime 35, Cupric sulfate 10, water 55	100 times (apple, hot pepper, ginseng, grape, lettuce, onion)	6.9±0.01	12.1±0.0
CLBM 6	Unslaked lime 0.4, Cupric sulfate 0.4, water 99.2	12 times (rice)	6.8±0.04	49.7±1.03
CLBM 7	Unslaked lime 14.1, Cupric sulfate 14.1, water 71.8	500-250 times (fruit tree, rice), 625 times (root vegetables), 500 times (fruit vegetables), 150 times (ginseng)	7.0±0.01	10.1±0.01
CLBM 8	Slaked lime 5, Cupric sulfate 5, water 90	1,000 times (prevention of gray mold disease), 500 times (cure of gray mold disease)	6.5±0.01	195.0±0.19
CLBM 9	Slaked lime 33, Cupric sulfate 8.32, water 58.68	1,000 times (leafy vegetables, stone fruits, persimmon), 750 times (fruit vegetable, fruit tree)	6.6±0.01	27.4±0.10
SMLBM ^{b)} 2-4	Unslaked lime 0.4, Cupric sulfate 0.2, water 99.4	All kinds of vegetable, food crops, and tree	7.1±0.02	1.6±0.04
SMLBM 4-4	Unslaked lime 0.4, Cupric sulfate 0.4, water 99.2	Onion downy mildew	6.9±0.04	2.7±0.03
SMLBM 5-5	Unslaked lime 0.5, Cupric sulfate 0.5, water 99.0	Grape leaf spot	6.9±0.02	3.2±0.03
SMLBM 6-6	Unslaked lime 0.6, Cupric sulfate 0.6, water 98.8	Grape downy mildew	6.8±0.04	3.7±0.02

^{a)}CLBM : CLBM is a commercial lime bordeaux mixture.

^{b)}SMLBM : SMLBM is a self-made lime bordeaux mixture according to the standard method (NIAS, 2010).

^{o)}Each value represents the mean±standard error (n=10)

하였다(Frank et al., 2008). ITS와 16s rDNA 유전자 분석은 BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, USA)를 사용하여 진행하였다. 각 식물병원균의 염기서열의 유전적 유사성은 NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)에 기탁된 시퀀스와 비교하였으며 분자 계통 발생 수는 MEGA7 프로그램에서 수행되었다(Kumar et al., 2016). 초기 유전적 상관관계는 MCL (Maximum Composite Likelihood) 접근 방식을 사용하여 추정하였으며 유전적 거리는 Neighbor-joining 알고리즘을 적용하여 표시하였다.

석회보르도액의 인삼 세균뿌리썩음병원균에 대한 항균력 검증

인삼 세균뿌리썩음병원균인 *S. plymuthica* JABP11에 대한 시판 석회보르도액 9종의 권장사용농도가 제품마다 다르다(Table 1), 자가제조한 석회보르도액 4종의 경우 원액을 사용토록 제조하였다. 따라서 서로 다른 석회보르도액의 항

균력 검정을 위해 시판 및 자가제조한 석회보르도액 원액을 멸균증류수에 1.25%, 2.5%, 5% 및 10%(v/v)로 희석하여 멸균된 8×1.5 mm paper disk (Advantec Co. Ltd)에 30 µl 씩 떨어뜨린 후, 30분간 크린벤치에서 건조한 후 실험에 사용하였다. 7일간 배양한 *S. plymuthica* JABP11의 단일 균층을 화염 살균한 백금선로 떠서 10 ml 멸균증류수에 희석하여 200 µl씩 TSA배지에 고르게 도말한 후, 석회보르도액 종류별로 희석액을 투여한 paper disk를 일정한 간격으로 올려 28°C 항온기에 7일간 배양하면서 24시간 간격으로 clear zone 형성의 크기를 조사하여 항균력을 평가하였다.

석회보르도액의 인삼 탄저병원균 분생포자 발암 및 부착기 형성 억제능력 검증

인삼 세균뿌리썩음병원균인 *S. plymuthica* JABP11에 대해 항균력이 우수한 석회보르도액 4종을 선발하여 인삼 탄저병원균인 *C. gloeosporioides* JAFP5의 분생포자 발아 및 부착기 형성 억제능력을 Doh와 Kill (2001)방법을 병행하여

검정하였다. 인삼 탄저병원균의 분생포자 현탁액은 7일간 배양한 균사체에 멸균증류수 20 ml로 분생포자를 2회 수확하여 멸균된 김와이프스에 2차례 걸러서 균사를 제거한 분생포자만 수집하여 4°C 저온저장고에 보관한 후 실험에 사용하였다. 인삼 탄저병원균의 분생포자 발아 및 부착기 형성 억제능력 검정을 위해 석회보로도액 원액을 멸균증류수에 1.25%, 2.5%, 5% 및 10% (v/v)로 희석하여 24 well cell culture disk (SPL Life Sciences, USA)에 200 µl씩 떨어뜨린 후, 인삼 탄저병 포자현탁액을 1×10^4 conidia/ml로 희석하여 접종하였다. 실험은 처리 당 3반복으로 실시하였고 28°C 항온기에 배양하면서 12시간 간격으로 광학현미경으

로 분생포자 발아와 부착기 형성 억제 정도를 조사하였다.

통계분석

모든 결과는 SAS (Statistical Analysis System, Ver. 6.0, 2006) 프로그램을 이용하여 석회보로도액 처리에 따른 세균에 대한 항균력(clear zone), 분생포자 발아 억제율 및 공시한 석회보로도액 종류별 중금속 함량에 대한 통계적인 유의성 검정을 one way 분산분석(ANOVA: analysis of variance)으로 F 값을 구하고 T-test, 표준편차(SD) 및 던컨의 다중검정(Duncan's multiple range test, $p=0.05$)을 이용하여 통계적 유의성을 검정하였다.

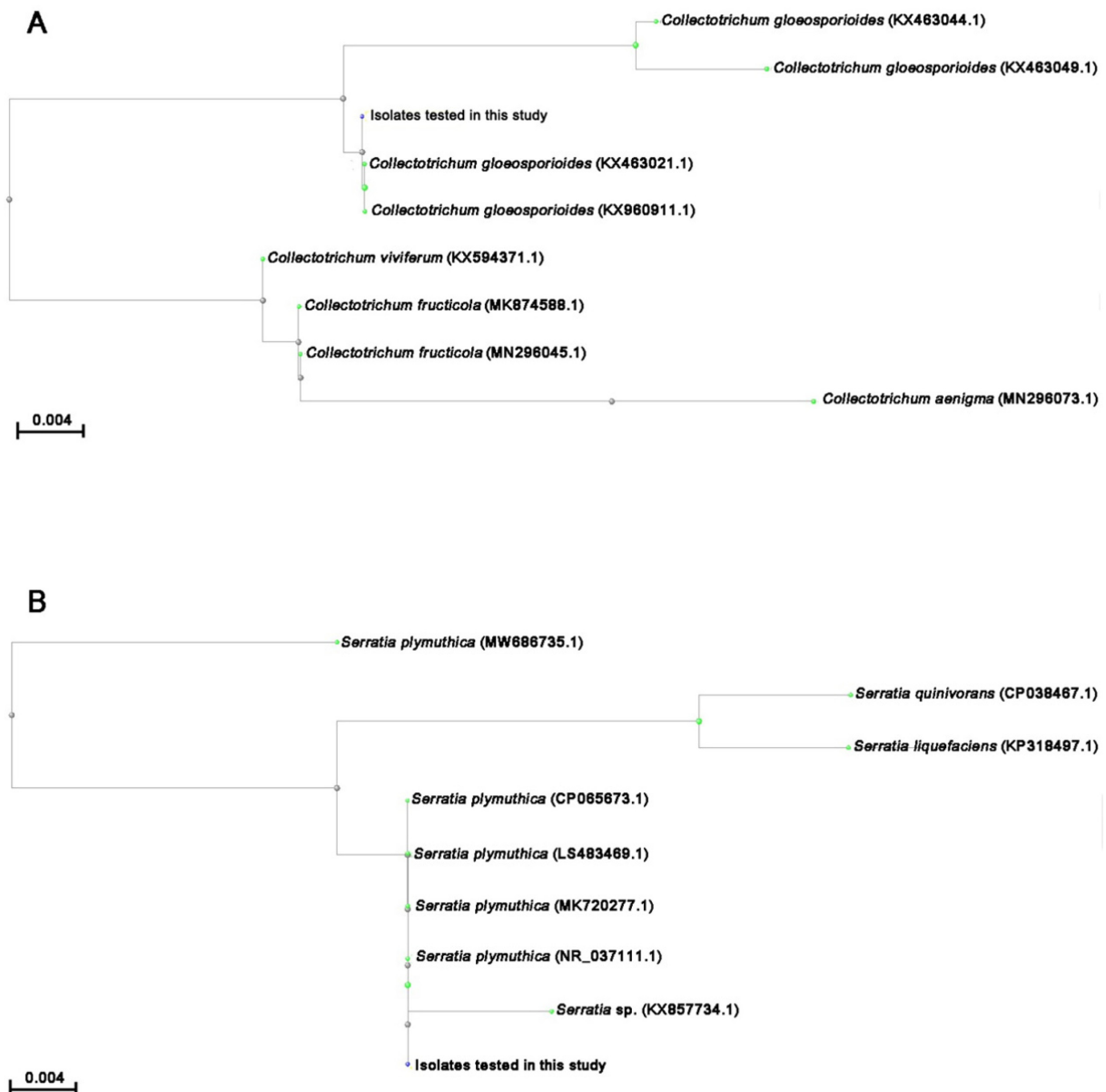


Fig. 1. Phylogenetic relationship between *Collectotrichum gloeosporioides* JAFP5 (A) and *Serratia plymuthica* JABP11 (B) isolated from ginseng plant constructed using the neighbor-joining tree analysis, based on the combined ITS region and 16S rRNA gene sequences.

결 과

시판 및 자가제조한 석회보르도액의 특성조사

Table 1과 같이 9종의 시판 석회보르도액과 4종의 표준제조방법에 따라 자가제조한 석회보르도액에 대한 성분함량, 적용작물, 권장 처리농도, pH 및 EC를 조사한 바, 시판 석회보르도액은 주원료로 생석회(Unslaked lime, CaO)를 사용한 비율이 44%이었고 소석회(Slaked lime, Ca(OH)₂)를 사용한 비율은 56%이었으며, 소석회에 대한 선호도가 다소 높은 것으로 조사되었다. 자가제조한 석회보르도액은 생석회(CaO)를 모두 사용하여 제조하였다. 석회보르도액 제조에 사용된 황산구리(CuSO₄·5H₂O)의 함량은 시판 석회보르도액은 0.4~20%로 다양한 농도의 황산구리를 사용하였으며 평균 11.1%의 황산구리의 함량을 나타내었다. 반면, 표준제조방법에 따라 자가제조한 석회보르도액의 황산구리의 함량은 0.2~0.6%로 평균 0.42%인 반면, 시판 석회보르도액에 비해 황산구리의 함량이 낮은 것으로 나타났다.

석회보르도액의 적용작물에 대해서는 시판 석회보르도액의 경우 CLBM6와 CLBM8을 제외하고 7종류 모두 과수와 채소작물에 적용 가능한 것으로 추천하였다. CLBM6의 경우는 벼에만 적용 가능한 것으로 표기하였으며 CLBM8은 적용작물에 대한 언급은 없으나 잣빛곰팡이의 예방 및 치료

에 사용토록 권장하고 있다. 자가 제조한 석회보르도액 중에서 SMLBM5-5와 SMLBM5-6은 포도 잎집무늬병과 노균병에 적용토록 보고하였으며 SMLBM4-4는 양파의 노균병에 적용 가능하며, SMLBM2-4는 대부분의 채소와 식량작물 및 과수에 적용 가능한 것으로 추천하고 있다(Table 1).

시판 석회보르도액의 권장사용농도는 12~1,000배이며 평균 319배로 적용작물에 따라 다양한 처리농도를 추천하고 있다. 시판 석회보르도액 중에서 CLBM8과 CLBM9의 경우 각각 잣빛곰팡이병과 엽채소, 핵과류 및 단감에 1,000배로 희석하여 사용토록 권장하고 있으며 CLBM6의 경우 벼에 12배의 고농도로 처리할 것을 권장농도로 추천하고 있다. 자가 제조한 석회보르도액의 경우 물에 희석하지 사용하지 않고 원래 제조한 원액의 용량에 맞게 물에 희석하여 사용토록 기술하고 있다(Table 1).

시판 석회보르도액의 pH의 범위는 6.5~7.0으로 나타났고 평균 pH는 6.7이었다. 시판 석회보르도액 중에서 CLBM8의 pH가 6.5로 가장 낮게 조사되었으며, CLBM7의 pH는 7.0으로 가장 높았다. 자가제조한 석회보르도액의 pH의 범위는 6.8~7.1으로 나타났고 평균 pH는 6.9로 시판 석회보르도액의 평균값보다 높게 나타났다. 자가제조한 석회보르도액 중에서 SMLBM6-6의 pH가 6.8로 가장 낮았고 SMLBM2-4의 pH는 7.1로 가장 높았다(Table 1).

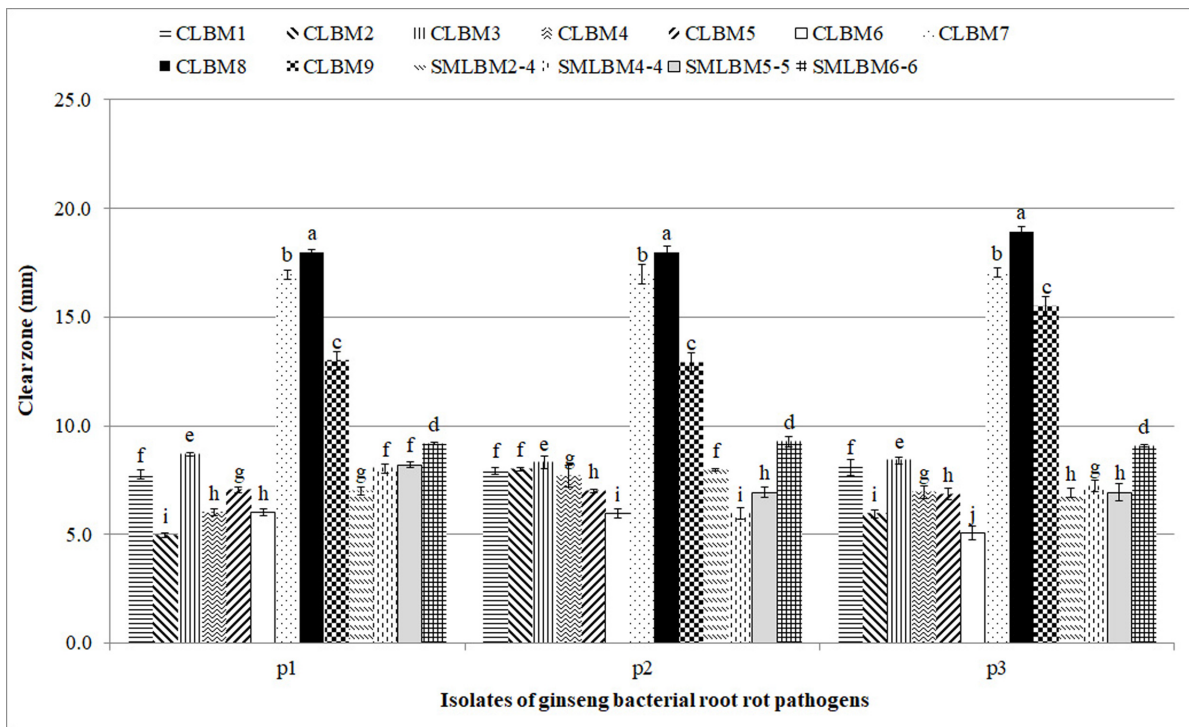


Fig. 2. Evaluation of commercial and homemade lime Bordeaux on the antibacterial activity against ginseng bacterial root rot pathogen, *Serratia plymuthica* (P1, P2, and P3) on TSA at 28°C for 7 days. CLBM: CLBM 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 and 9 are the commercial lime bordeaux mixtures. SMLBM: SMLBM 1, 2, 3, and 4 are the self-made lime bordeaux mixture according to the standard method (NIAS, 2010). Error bars show the standard error among 10 replications. Mean with same letters are not significantly different in DMRT ($p=0.05$).

시판 석회보르도액의 EC의 범위는 9.1~195 mS/cm로 제품의 종류에 따라 다양하게 나타났고 평균 EC는 49.5 mS/cm 이었다. 시판 석회보르도액 중에서 CLBM4의 EC가 9.1 mS/cm로 가장 낮게 조사되었으며 CLBM8의 EC는 195 mS/cm로 가장 높게 나타났다. 자가제조한 석회보르도액의 EC의 범위는 1.6~3.7 mS/cm로 나타났고 평균 EC는 2.8 mS/cm로 시판 석회보르도액의 평균값보다 매우 낮게 나타났다. 자가제조한 석회보르도액 중에서 SMLBM2-4의 EC가 1.6 mS/cm로 가장 낮게 조사되었으며 SMLBM6-6의 EC가 3.7로 가장 높게 나타났다. 자가제조한 석회보르도액의 EC는 석회보르도액 중의 구리의 함량이 증가할수록 EC가 증가하는 것으로 보인다(Table 1).

인삼 탄저병원균과 세균뿌리썩음병의 ITS와 16s rDNA 유전자 분석

인삼 탄저병원균과 세균뿌리썩음병원균으로부터 genomic DNA를 분리하여 ITS와 16s rDNA 유전자 단편을 PCR증

폭하여 분자 종동정을 수행하였다. 인삼 탄저병원균의 ITS 유전자 단편은 520 bp로 NCBI 데이터베이스에서 상동성이 높은 염기서열을 검색한 결과, *Collectotrichum gloeosporoides* (KX463021.1과 KX960911.1)과 99% 이상의 상동성을 보였다. 또한, 인삼 세균뿌리썩음병원균의 16s rDNA 유전자 단편은 1420 bp로 NCBI DB를 통해 상동성이 높은 유전자를 검색한 결과, *Serratia plymuthica*(CP065673.1, LS483469.1, MK720277.1, 그리고 NR_037111.1)와 100%의 상동성을 보였다. 따라서, 실험에 공시한 인삼 탄저병과 세균뿌리썩음병 균주를 각각 *C. gloeosporioides* JAFP5와 *S. plymuthica* JABP11로 명명하였다.

석회보르도액의 인삼 세균뿌리썩음병원균(*S. plymuthica*)에 대한 항균력 검정

Figure 2와 같이 공시한 9종의 시판 석회보르도액과 4종의 자가 제조한 석회보르도액의 인삼 세균뿌리썩음병원균(*S. plymuthica*) 3종(P1, P2, P3)에 대한 항균력을 검정한 결

Table 2. Evaluation of commercial and self-made lime bordeaux mixtures on the inhibition ratio of spore germination and appressorium formation of anthracnose fungus, *Collectotrichum gloeosporioides* on 16 well culture plate

Treatments	Content (%/v)	Inhibition ratio of (%)								
		Germination				Appressorium formation				
		12	24	36	48	12	24	36	48	
CLBM ^{a)} 7	1.25	0±0 ^{d)}	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	2.5	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	5	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	10	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
CLBM 8	1.25	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	2.5	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	5	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	10	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
CLBM 9	1.25	2.3±0.8	2.1±0.7	6.6±1.3	10.8±1.5	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	2.5	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	5	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	10	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
SMLBM ^{b)} 6-6	1.25	15.8±0.8	16.3±0.7	20.2±0.8	21.6±2.0	4.0±1.6	3.7±0.7	3.8±0.8	3.8±0.7	
	2.5	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	5	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	10	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
LoS ^{c)}	1.25	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	2.5	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	5	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	10	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
CK	-	43.1±4.5	52.6±2.0	69.9±2.8	73.0±2.0	18.6±1.4	19.5±0.7	24.0±2.0	30.3±2.0	

^{a)}CLBM 7, 8, and 9 is a commercial lime bordeaux mixture.

^{b)}SMLBM 6-6 is a self-made lime bordeaux mixture was made with 0.6% unslaked lime and 0.6% cupric sulfate according to the standard method (NIAS, 2010).

^{c)}LoS : LoS is positive control as a self-made loss-sulfur mixture according to the standard method (NIAS, 2010).

^{d)}Each value represents the mean±standard error (n=10).

과, 9종의 시판 석회보르도액 중에서 3종의 석회보르도액 (CLBM7, CLBM8, CLBM9)은 3종의 *S. plymuthica*에 대하여 항균력(clear zone)이 12.5 mm 이상으로 조사되어 항균력이 높은 것으로 나타났다. 또한 4종의 자가 제조한 석회보르도액 중에서 SMLBM6-6만이 3종의 *S. plymuthica* 균주에 대해 항균력을 보이는 것으로 나타났다(Fig. 2). 그러나 인삼 세균뿌리썩음병원균 균주에 따른 시판 석회보르도액과 자가 제조한 석회보르도액의 처리간에 항균력의 통계적 유의성 차이는 없는 것으로 조사되었다(Fig. 2).

석회보르도액의 인삼 탄저병원균의 포자발아와 부착기 형성이 미치는 영향

Table 2와 같이 인삼 세균뿌리썩음병(*S. plymuthica* JABP11)에 대한 항균력이 우수한 석회보르도액 4종을 선발하여 석회보르도액 처리농도(1.25~10%/v)별로 처리한 후, 12시간 간격으로 인삼 탄저병원균(*C. gloeosporioides* JAFP5)에 대

한 포자발아와 부착기 형성에 미치는 영향을 살내에서 검증 하였더니, 무처리의 경우 처리 12시간 이후 *C. gloeosporioides* JAFP5 분생포자의 발아율이 53.1%로 나타났고 48시간 후에는 73.0%로 높게 나타났다. 또한 무처리의 부착기 형성정도도 48시간 후에 30.3%로 나타났다. 대조구로 처리한 황토 유황합제(LoS)의 경우 모든 처리농도(1.25~10%/v)에서 48시간 이후에 *C. gloeosporioides* JAFP5의 분생포자의 발아와 부착기 형성을 완벽하게 억제하는 것으로 나타났다 (Table 2).

선발한 3종의 시판 석회보르도액 중에서 CLBM7과 CLBM8은 처리한 모든 농도(1.25, 2.5, 5.0, 10%/v)에서 48시간 동안 *C. gloeosporioides* JAFP5의 분생포자의 발아와 부착기 형성을 완벽하게 억제하였다. 시판 석회보르도액인 CLBM8는 2.5~10%/v의 농도에서는 *C. gloeosporioides* JAFP5의 분생포자의 발아와 부착기 형성을 완벽하게 억제 하였으나 1.25%/v 농도에서는 처리 48시간 후에 *C. gloeos-*

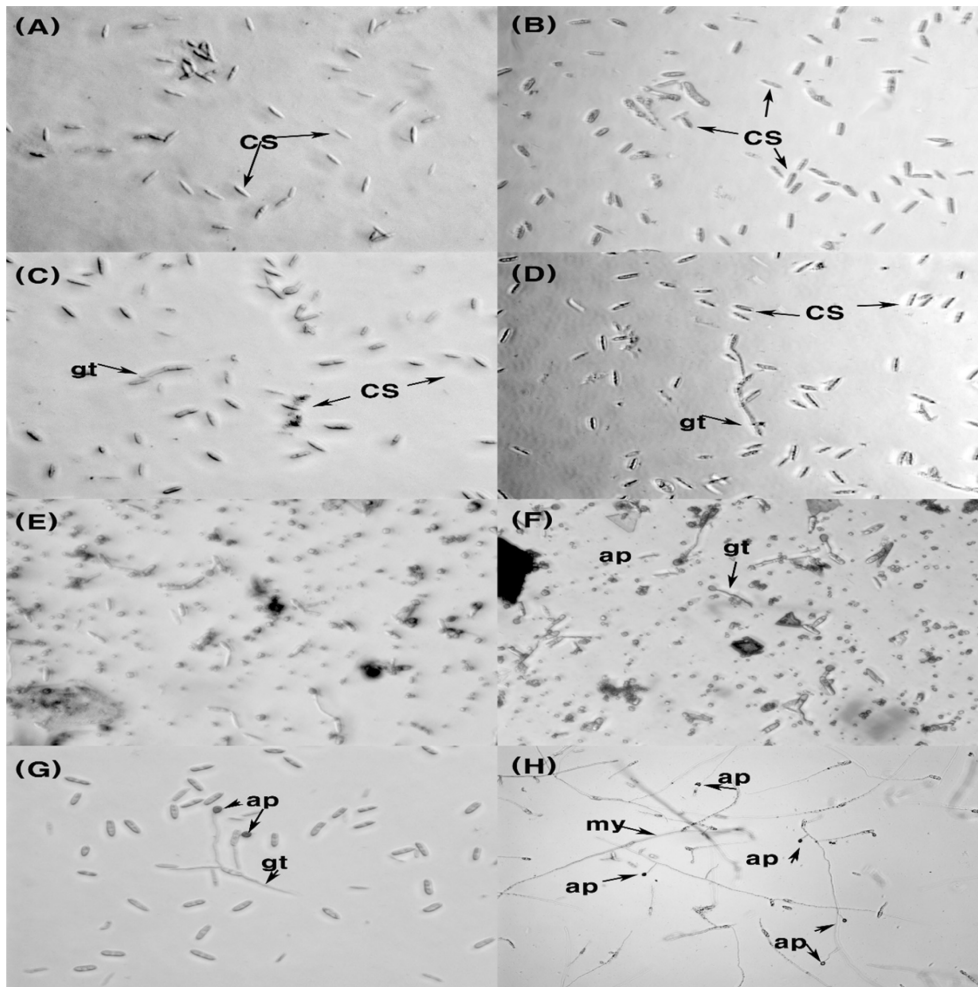


Fig. 3. Microscopic observation of the spore germination and appressorium formation of ginseng anthracnose fungus, *Collectotrichum gloeosporioides* JAFP5 treated with the commercial (CLBM8 (A-24 hr, B-48hr), CLBM9 (C-24 hr, D-48 hr)) and self-made (SMLBM6-6 (E-24 hr, F-48 hr)) lime bordeaux mixtures *in vitro* assay. Untreated control (G-24 hr, H-48 hr) was treated a distilled water same volume of each treatments. cs, conidia spore; gt, germ tube; ap, appressorium; my, mycelia.

porioides JAFP5의 분생포자의 발아율이 10.8%로 나타났고 부착기는 형성되지 않는 것으로 나타났다(Table 2, Fig. 2).

자가 제조한 석회보르도액인 SMLBM6-6도 2.5~10%/v의 농도에서는 *C. gloeosporioides* JAFP5의 분생포자의 발아와 부착기 형성을 완벽하게 억제하였으나 SMLBM6-6 1.25%/v 농도에서는 처리 48시간 후에 *C. gloeosporioides* JAFP5의 분생포자의 발아율과 부착기율이 각각 21.6%와 3.8%로 나타났다(Table 2, Fig. 3).

고찰

우리나라 친환경농산물 인증면적은 2014년 크게 감소한 이후 지속적으로 정체되는 양상을 보였으나, 최근(2016~2018년) 유기농산물 인증면적이 연평균 11.3% 증가하고 있고 인증 농가 수도 9.7% 증가하였다(Jung et al., 2019).

인삼은 우리나라 웰빙작물 중, 2016년 기준으로 재배면적이 1만4천 ha에 이르는 경제성 작물이지만 연작장애 등의 원인으로 해마다 신규 재배면적이 줄고 있는 실정이다. 그러나 2017년 현재 우리나라 무농약 인증을 포함하여 유기농 인삼 재배면적은 약 120 ha로 전체 인삼재배면적의 0.8%에 해당하지만 지속적으로 재배면적이 늘어날 것으로 예측하고 있다(Hyun, 2018).

그럼에도 불구하고, 한국농촌경제연구원에서 친환경 농가를 대상으로 설문조사를 한 결과, 친환경농업을 실천하는데 있어 가장 큰 어려움은 친환경농산물 생산기술(39.9%)로 잡초관리, 병해충관리 등에 어려움을 겪고 있는 것으로 나타났다(Kim et al., 2016).

본 연구에서는 인삼 탄저병과 세균뿌리썩음병 친환경 방제에 활용하고자 시판 석회보르도액(CLBM)과 자가제조 석회보르도액(SMLBM)의 특성과 항균력을 평가한 바, 석회보르도액 제조에 사용된 황산구리의 함량은 CLBM은 0.4~20%이며, SMLBM은 0.2~0.6%인 것으로 나타났으며, 시판 석회보르도액과 자가제조 석회보르도액의 적용작물은 대부분 과수와 채소작물인 것으로 나타났다.

유기농 인삼을 비롯해 고품질 인삼을 생산하기 위해서는 4~6년간 재배되는 과정에서 탄저병과 세균뿌리썩음병 등 다양한 식물병원균에 의해 피해를 받으며, 인삼의 재배 중 발생하는 병해는 약 38종으로 알려져 있다(Cho, 2009).

본 연구에서는 9종의 CLBM 중에서 3종의 석회보르도액(CLBM7, CLBM8, CLBM9)은 *S. plymuthica* 3종의 균주에 대해 clear zone 형성이 12.5 mm 이상 이었고 4종의 SMLBM 중에서 SMLBM6-6만이 *S. plymuthica* 3종의 균주에 대해 항균력을 보여 인삼의 세균성 토양병의 방제제로 활용 가능할 것으로 사료된다.

석회보르도액은 화학농약이 개발되기 전부터 인삼 병해 관리를 비롯하여 다양한 식물병 방제를 위하여 사용되었다. Jung et al. (2014)은 석회보르도액이 3년생 인삼의 점무늬병과 탄저병에 대한 예방 효과가 화학농약 살포와 유사한 것으로 보고한 바 있다. Kim et al. (2008)은 포도의 탄저병균인 *C. gloeosporioides* 04-159에 대해 시판중인 2종류의 보르도액 제제인 IC-66D와 Gold Bordo의 균사생육억제효과를 검정한 바, IC-66D의 효과가 매우 우수하였으나 *Acremonium* sp.에 대해서는 Gold Bordo가 IC-66D보다 균사생육억제 효과가 높은 것으로 보고하였다.

본 연구결과에서는 *S. plymuthica* JABP11에 대한 항균력이 높은 것으로 선발한 3종의 시판 석회보르도액 중에서 CLBM7과 CLBM8은 처리 후, 48시간 동안 *C. gloeosporioides* JAFP5의 분생포자 발아와 부착기 형성을 완벽하게 억제하였다. 자가 제조한 석회보르도액인 SMLBM6-6는 1.25%/v의 농도를 제외하고 모든 농도에서 분생포자 발아와 부착기 형성을 완벽하게 억제하였다.

Hyun et al. (2005)에 의하면 석회보르도액 제제에 따른 살균효과는 처리한 제제 속의 구리(Cu²⁺) 함량이나 식물체 표면에 부착되는 구리의 함량에 따라 차이가 나며 저농도로 여러 번 살포 할수록 효과가 있는 것으로 보고하였다.

유기농 인삼에 대한 수요 증가와 소비층 확대에 의한 생산 농가가 증가하고 있지만 유기인삼의 생산성은 관행의 절반에도 못 미치고 있으나, 농약 잔류에 의한 문제가 대두되면서, 수확하는 연도의 관행 인삼포장에서 석회보르도액을 사용하는 것으로 알려져 있다(Kim and Park, 2013). 또한 석회보르도액은 식물병에 대한 예방효과는 좋으나, 농업인이 자가제조하기가 번거롭기 때문에 시판되는 유기농업자재 위주의 식물병 방제가 이루어져 왔다(Lim et al., 2015).

석회보르도액의 작용기작은 Fig. 4와 같이 식물체에 살포된 석회보르도액은 엷은 막을 형성하고 이것이 천천히 공기 중의 수분에 의해 구리염으로 가용화 되어 구리이온(Cu²⁺)

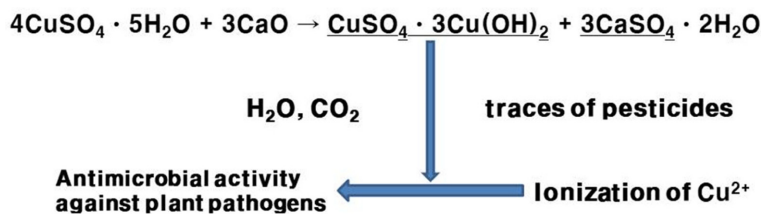


Fig. 4. The mechanism of antimicrobial activity of lime bordeaux mixture (Whiteside, 1977).

이 병원균의 표면에 흡착되어 병원균의 포자 내로 이동하여 포자의 발아 자체를 억제하고 균사생장도 저해하여 살균작용을 하는 것으로 보고되었다(Somer et al., 1965; Whiteside, 1977).

특히, Barker와 Gimingham (1911)에 의하면 석회보르도액은 식물체 외부에 처리할 경우 식물체내에 이미 침입한 병원균의 생장에 영향을 주지 못하기 때문에 예방적으로 사용해야 한다고 했다. 석회보르도액의 살균 작용기작은 구리 이온이 식물병원균 포자에 접촉할 경우 병원균 포자 내로 이동하여 포자의 발아를 억제하고 균사생장도 저해하는 것으로 알려져 있다(Somer et al., 1965).

따라서, 본 연구를 통해 선별한 3종의 석회보르도액은 인삼 탄저병과 세균뿌리썩음병을 효과적으로 방제할 수 있으나 사용하는 농도를 적절히 할 경우 토양이나 식물체에 잔류의 위험 없이 친환경적인 방제기술로 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업과학기술 연구개발사업(과제번호: PJ01475401)의 수행 결과를 바탕으로 작성되었습니다.

Author Information and Contributions

Min-Jeong Kim, Organic Agricultural Division, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration (RDA), Postdoctoral researcher, <https://orcid.org/0000-0001-8397-7746>

Chang-Ki Shim, Organic Agricultural Division, National Institute of Agricultural Sciences, RDA, Researcher, <https://orcid.org/0000-0002-4905-1947>.

Sang-Gu Park, Organic Agricultural Division, National Institute of Agricultural Sciences, RDA, Senior Researcher.

“Establishment of experimental plan, Formal analysis and Writing-original draft, Min-Jeong Kim, Chang-Ki Shim; Consultation, Sang-Gu Park”

Literate Cites

Bae YS, Park BY, Kang SW, Cha SW, Hyun KS, et al., 2005. Handbook of ginseng diseases and pests. Suwon: National Institute of Crop Science Press.
Barker BTP, Gimingham CT, 2011. The fungicidal action of bordeaux mixtures. J. Agric. Sci. 4(1):76-94.

Cho DH, 2009. Review on the cultural control methods of disease and pest on ginseng (*Panax ginseng*) in Korea. Korean Ginseng Res. and Indu. 3(2):16-34.
Cho JS, Mok SG, Won JW, 1998. Latest ginseng cultivation. Senjinmuwhasa. Seoul, Korea. p. 240.
Choi HS, Kim WS, Wu XY, Lee Y, 2011. Effects of chitin-decomposable agents and bordeaux mixtures on leaf scab and fruit quality in pear orchards. 23(1):64-68.
Doh WS, Kil GJ, 2001. Screening and utilization of antifungal plant against ginseng anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*). Korean J. Plant Res. 14(3):206-212.
Frank JA, Reich CI, Sharma S, Weisbaum JS, Wilson BA et al., 2008. Critical evaluation of two primers commonly used for amplification of bacterial 16S rRNA genes. Appl. Environ. Microbiol. 74(8):2461-2470.
Hyun DY, 2018. When organic rice and ginseng meet. Rural Development Administration of Korea. Korea Ginseng (KINX2018229648). 2018(5):6-7.
Hyun JW, Ko SW, Kim DH, Han SG, Kim KS, et al., 2005. Effective usage of copper fungicides for environment-friendly control of citrus disease. Res. Plant Dis. 11(2):115-121.
Jung HG, Sung JH, Lee HJ, 2019. 2019 Production and consumption of eco-friendly agricultural products at home and abroad and future tasks. KREI Issue Report 66:1-17.
Jung SM, Ma KB, Park SJ, Kim JG, Roh JH, et al., 2011. The effect of bordeaux mixture for control of grape cv. ‘Kyoho’ downy mildew (*Plasmopara viticola*). Korean J. Org. Agri. 19(4):529-541.
Jung WK, Ahn DK, Choi JK, Ryu TS, Jang MH, et al., 2014. Effects of repetitive using lime bordeaux mixture in the copper concentration of the soil and ginseng root. Korean J. Pestic. Sci. 18(4):404-408.
Jung WK, Kim YS, Choi JK, Kim SH, Jang MH, et al., 2018. First report of bacterial root rot caused by *Serratia plymuthica* on *Panax ginseng*. Res. Plant Dis. 24(4):332-338 (<https://doi.org/10.5423/RPD.2018.24.4.332>)
Kang BR, Kim SG, Kim DI, Lee YH, Choi KJ, et al., 2008. Effect of bordeaux mixture on control of rice leaf blast. Res. Plant Dis. 14(3):182-186.
Kim CG, Jung HG, Lim YA, Kim YG, 2016. Fostering environment-friendly agriculture and strengthening management of agri-environmental resources. KREI Research Report C 2016-3. pp. 406
Kim GJ, Choi MK, Park JH, Cha JS, 2008. Growth inhibition effect of environment-friendly farm materials on fungal pathogens of grape. Res. Plant Dis. 14(3):187-192.
Kim SY, Park WH, Son HJ, Lee SH, Song YW, et al., 2015. The best spray timing for the control of the bacterial shot hole with bordeaux mixture (6-6) after wintering in the peach orchard. Korean J. Pestic. Sci. 19(2):106-112.
Kim WS, Park JS, 2013. Selection and control effect of environmental friendly organic materials for controlling the

- ginseng *Alternaria* blight. Korean J. Medicinal Crop Sci. 21(5):388-393.
- Kim WS, Park JS, Ahn I, Park KH, Kim KH, 2014. Control efficiency for ginseng anthracnose by eco-friendly organic materials. Korean J. Medicinal Crop Sci. 22(4):270-275.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K, 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. Mol. Biol. and Evol. 33(4):1870-1874.
- Lee CW, Park UJ, Choi YS, 2007. Field application case of environment-friendly agriculture. 2007 Autumn Conference of Korean Society of Pesticide Science. pp. 23-24. (Abstr.)
- Lee MW, 1975. Studied on the *Pseudomonas fluorescens* causing root rot of Ginseng. Korean J. Microbiol. 13:143-156.
- Lee SW, Kim GS, Hyun DY, Kim YB, Kang SW, et al., 2010. Effects of spraying lime-bordeaux mixture on yield, ginsenoside, and 70% ethanol extract contents of 3-year-old ginseng in *Panax ginseng* C. A. Meyer. Korean J. Medicinal Crop Sci. 18(4):244-247.
- Li XG and Choi JE, 2009. Development of a system for controlling ginseng alternaria leaf blight (*Alternaria panax*) to reduce fungicide application and use. Res. Plant Dis. 15:17-22.
- Lim JS, Mo HS, Lee EH, Park KC, Chung CM, 2015. Suppressive effects of sulfur-containing compounds on ginseng anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) and proper application concentration. Korean J. Environ. Agric. 34(1):46-51.
- Martin JT, Somers E, 1957. Defense mechanism of plant against fungi: Solubilization of copper by leaves and water soluble acids from leaf wax. Nature 180:797-798.
- Mok SK, 2000. Standard cultivation method for ginseng. Rural Development Administration Press. Suwon, Korea. pp. 166-169.
- National Institute of Agricultural Sciences (NIAS), 2010. Easy adaptation of organic agricultural techniques. Dongjinhwasa, Suwon, Korea. pp.83
- Oh SH, 1981. Diseases of ginseng: Environmental and host effect on disease outbreak and growth of pathogens. Korean J. Ginseng Res. 5(1):73-83.
- Somers E, 1965. Solubilization of copper and the mode of action of bordeaux mixture. Nature 206(1980):216-217.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J, 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics In: PCR Protocols, A guide to methods and applications. Academic Press, San Diego, pp. 315-322. (<http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-372180-8.50042-1>)
- Whiteside JO, 1977. Sites of action of fungicides in the control of Citrus melanose. Phytopathology 67(8):1067-1072.
- Yu YH, Lee YK, Ohh SH, 1991. Stem rot of Ginseng caused by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. Korean J. Plant Pathol. 7(3):183-187.

인삼 탄저병과 세균뿌리썩음병 대한 석회보르도액의 방제효과 검증

김민정 · 심창기* · 박상구

국립농업과학원 농업환경부 유기농업과

요약 본 연구는 인삼 탄저병과 세균뿌리썩음병 친환경 방제에 활용코자 시판 석회보르도액(CLBM)과 자가제조 석회보르도액(SMLBM)의 특성과 항균력을 평가하고자 하였다. 9종의 CLBM 중에서 3종의 보르도액(CLBM7, CLBM8, CLBM9)은 *Serratia plymuthica* JABP11에 대해 clear zone 형성이 12.5 mm 이상 이었고 4종의 SMLBM 중에서 SMLBM6-6만이 *S. plymuthica* JABP11에 대해 항균력을 보였다. *S. plymuthica* JABP11에 대한 항균력이 높은 것으로 선발한 3종의 CLBM 중에서 CLBM7과 CLBM8은 모든 농도(1.25, 2.5, 5.0, 10%/v)에서 처리 후, 48 시간 동안 *Collectotrichum gloeosporioides* JAFP5의 분생포자 발아와 부착기 형성을 완벽하게 억제하였다. SMLBM6-6은 1.25 %/v의 농도를 제외하고 모든 농도에서 분생포자 발아와 부착기 형성을 완벽하게 억제하였다. 결과적으로 선발한 3종의 석회보르도액은 인삼 탄저병과 세균뿌리썩음병의 친환경방제에 활용할 수 있으며 보다 실용적인 방제기술을 개발하기 위해 추가적인 포장 실험이 필요할 것으로 생각된다.

색인어 *Collectotrichum gloeosporioides* JAFP5, *Serratia plymuthica* JABP11, 친환경 경, 인삼, 석회보르도액