

과제구분	기본연구	수행시기		전반기	
연구과제 및 세부과제		연구분야	수행기간	연구실	책임자
인삼 안정생산 및 토양관리기술 개발		인삼·약초	'15~'17	농업기술원 소득자원연구소	한정아
인삼 뿌리썩음병 길항균 현장 적용 기술 개발		인삼·약초	'15~'17	농업기술원 소득자원연구소	한정아
색인용어	인삼, 뿌리썩음병, 바실러스, 제형화, 생물학적방제				

## ABSTRACT

The research experimentd on formulations with antagonistic *Bacillus methylotrophicus* having antagonistic activity to most of the soil-born fungal pathogens for biological control to root rot of Ginseng by *Cylindrocarpon destructans*. *C. destructans* soil of  $10^2$ cfu/g the severity of the disease was so severe that the control effect could not be tested. In the onset soil of *C. destructans*  $10^1$ cfu/g, in the liquid formulation, the control of B treatment formulation was the most excellent at 51.6%. In the powder wettable powder form, the control of GG4 + F formulation was the most excellent at 52.5%.

Key words : *Panax ginseng*, root rot, *Bacillus sp.* formulation, biological control

### 1. 연구목표

인삼 뿌리썩음병은 *C. destructans*에 의하여 1차 감염이 되어 뿌리썩음병이 발병 후, *F. solani*를 비롯한 타 균주들이 2차적으로 감염되어 피해를 증가 시키는 것으로 보고되어있다(신 등, 2012). 인삼 뿌리썩음병은 인삼 생산에 직결되는 가장 중요한 토양병으로 발생부위가 지하부에 있으므로 지상부의 병해처럼 눈에 띄지 않아서 조기 발견이 매우 어렵고 식물체가 시드는 증상이 발견된다하더라도 이미 병이 만연되어 방제하기에 늦은 경우가 대부분이기 때문에 그 피해는 커진다(김과 김, 2002). 이러한 병해의 방제법으로는 토양내 병원균의 밀도를 감소시키거나 발병을 억제시키기 위한 유기물 사용 등을 통한 예정지 관리와 토양훈증제를 이용한 화학적방제가 시도중이며, 답전 윤회의 논삼 재배법 등에 의한 경종적 방제가 실시되고 있다. 그러나 이상의 방제법으로는 뚜렷한 효과를 거두기 어렵고 인삼뿌리썩음병 등과 같은 토양전염성 병원균들은 토양중에 후막포자를 형성하면서 병을 일으키므로 방제가 거의 불가능하다(오

등, 1978, 유 등, 1996). 토양훈증제의 사용은 토양 생태계의 파괴로 5년간에 병원균이 우점할 위험성도 있다. 특히 인삼의 주요 토양병들은 다양한 온도범위에서 감염이 성립되므로 한번 감염되면 비록 병의 진전은 느리지만 연중 피해를 받게 된다. 따라서 효과적인 토양병 방제를 위해서는 인삼재배 특성상 병방제 효과가 지속적이고 환경에 안정적인 인삼병의 방제 대책으로 생물학적 방제가 가장 적합하리라 생각되며 이에 관해 국내에서 인삼뿌리썩음병균(*Cylindrocarpon destructans*)에 길항력을 나타내는 스트렙토마이세스 종들(*Streptomyces species*)의 동정과 길항작용에 관해 보고된 바 있다(정후섭, 김충희). 현재까지 인삼뿌리썩음병을 방제하기 위한 방안으로 길항미생물을 이용한 생물학적 방제법과 특히 연작지의 경우 사이론, 밧사미드 등 토양훈증제를 이용한 화학적 방제법 및 담전 윤회의 논삼재배법등 경종적 방법이 사용되고 있으나, 현재까지 그 방법이 체계화되어 있지 않은 실정이다. 특히, 인삼 토양병에 대한 지금까지의 생물학적 방제연구는 길항미생물 선발과 포장처리 효과검정 등에 대해 주로 수행되어 왔지만 다양한 근권토양 환경에 대한 이해부족, 대상병원균에 대한 선발균주의 항균력이 높지 않거나 균제제 방법 또는 처리방법의 미비로 토양이나 종묘에서의 균 정착능력이 떨어지는 등 인삼뿌리썩음병에 대한 방제 효과가 뛰어난 길항 미생물이 발견되지 않고 있다. 본 연구에서는 환경친화적 안전한 인삼을 생산하기 위하여 선발한 *Bacillus* GG4 균주를 제형화 하고 인삼뿌리썩음병 방제 효과 검정을 실시하였다.

## 2. 재료 및 방법

인삼 뿌리썩음병 길항균 효과 검증 시험에서 방제효과가 높았던 GG4 균주를 이용하여 액제형(A, B, C, D), 수화제형(E, F, G, 증량제) 제형을 만들었다. 퇴비형(약토), 휴믹산, 대조로는 토양소독구, 건전토양, 발병토양을 사용하였다. 병발생 토양을 조성하기 위해 병원균 접종원은 조(1996년)의 방법으로 준비한 것을 사용하였다. 병원균은 접종전에 묘삼을 대상으로 병원성이 확인된 *Cylindrocarpon destructans* CY8005 균주 및 *Fusarium solani*는 소득자원연구소 포장내 이병개체에서 순수 분리하여 사용하였다. *Cylindrocarpon destructans* CY8005 균주 균주를 Rosebengal agar 배지에서 20℃로 2주간 생육시킨 균사체의 절편을 준비된 귀리접종원에 접종하였다. *Fusarium solani*는 Rosebengal agar 배지에서 25℃로 5일간 생육시킨 균사체의 절편을 준비된 귀리접종원에 접종하였다. *Cylindrocarpon destructans* CY8005 균주가 접종된 플라스크내 귀리는 20℃에서 30일간 생육시켜 균사체가 귀리 접종원 전체에 고루 퍼지도록 하였다. *Fusarium solani* 균주가 접종된 플라스크내 귀리는 25℃에서 20일간 생육시켜 균사체가 귀리 접종원 전체에 고루 퍼지도록 하였다. 배양후 이를 그늘에서 말린다음 분쇄기로 분쇄하여 DNA를 추출 후 *Cylindrocarpon*

*destructans* 및 *Fusarium solani*의 균 밀도를 real time PCR을 이용하여 정량하였다. 토양소독은 가열하여 멸균, 토양훈증은 건조토양을 마쇄한 다음 다조멧(상품명 밧사미드) 입제 200mg/kg을 토양과 잘 혼합하고 플라스틱상자에 넣어 적습상태로 수분을 조절한 다음 MITC(methyl iso-thiocyanate gas)가 새어나가지 않도록 잘 봉한 다음 보온을 위하여 비닐하우스내 보관하였다. 처리토양은 MITC gas의 휘산과 토양내 미생물의 정착을 위하여 15일간 비닐하우스내에서 공기중에 노출시킨 후 사용하였다. *Bacillus methylotrophicus* GG4 균주의 제형화는 해조추출물, 규산, 고분자 폴리머, 종자추출물, 풀빅산 등을 이용하여 수행하였다. 인삼 뿌리썩음병에 대한 항균 효과를 포트검정 하기 위해 각 병원균 발병토양( $10^2$ cfu/g)에 2년생 묘삼을 이식하고, 제형화된 길항미생물 제제를 1,000배 희석하여 5월 25일, 6월 4일, 6월 14일, 6월 24일 열흘간 4회처리 하였다. 약 60일이후 방제효과를 조사하였고, *C. destructans*의 경우  $10^2$ cfu/g의 발병토양에서는 병의 정도가 심하여 방제효과가 없었다. 추가 시험으로 *C. destructans* 밀도를  $10^1$ cfu/g으로 조성하여 9월 20일에 2년생 묘삼을 이식하여 길항미생물을 열흘간 4회 처리한 후, 방제효과를 조사하였다.

표1. 길항미생물 제형별 처리내용 및 균밀도

번호	제형	주성분	GG4 균밀도
1	액상제	GG4 + A	$1.3 \times 10^9$ CFU/ml
2		GG4 + B	
3		GG4 + C	
4		GG4 + D	
5	분말수화제	GG4 + E	$3.5 \times 10^9$ CFU/g
6		GG4 + F	
7		GG4 + G	
8		GG4 단계	
9	대조(토양소독구)		
10	발병토양		

### 3. 결과 및 고찰

길항미생물을 처리하기 전 토양화학성을 조사한 결과는 표2와 같다. 유효인산을 제외하면, 인삼을 재배하기에 적절한 토양이었다.

표 2. 길항미생물 처리전 토양화학성

구 분	pH	EC (dS/m)	OM (g/kg)	NO <sub>3</sub> -N (mg/kg)	Av.P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (mg/kg)	Ex-Cations(cmol/kg)			
						K	Ca	Mg	Na
시험토양	5.6	0.28	18.4	20.3	492	0.46	11.9	5.7	0.10
적정기준	5.0~6.0	<0.5	10~20	<50	50~150	0.2~ 0.6	3.0~ 5.0	1.0~ 2.0	0.10~ 0.15

*C. destructans*(10<sup>1</sup>cfu/g) 발병토양에서 길항미생물 처리별 출현율 및 뿌리썩음병 방제효과를 검정한 결과는 표3과 같다. 액상제형에서는 GG4+B의 방제가가 51.6%로 가장 높았다. 분말제형에서는 GG4+F의 방제가가 52.5%로 가장 우수하였다.

표 3. *C. destructans*(10<sup>1</sup>cfu/g) 발병토양에서 길항미생물 처리별 출현율 및 뿌리썩음병 방제효과

처리 번호	처리내용		출현율 (%)	정상 개체수	발병 개체수	발병유형		발병도	방제가 (%)
	제형	주성분				고사	생존		
1		GG4 + A	78.0	0	45	8	37	31.3	24.9
2	액상제	GG4 + B	84	2	43	5	38	20.2	51.6
3		GG4 + C	80	0	45	5	40	21.2	49.2
4		GG4 + D	78	4	41	8	33	29.1	30.2
5		GG4 + E	82	5	40	7	33	20.7	50.4
6	분말 수화제	GG4 + F	76	0	45	6	39	19.8	52.5
7		GG4 + G	78	8	37	6	31	22.5	46.0
8		GG4 단제	36	6	39	11	28	39.8	4.6
9		대조(토양소독구)	88	21	24	4	20	11.4	-
10		발병토양	70	0	45	13	32	41.7	-

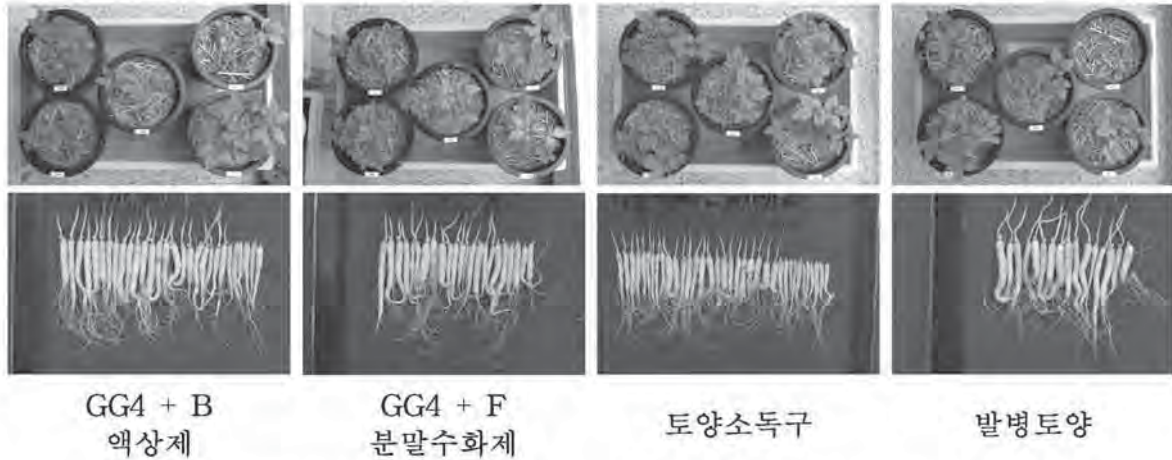


그림 1. 인삼 뿌리썩음병(*C. destructans*)에 대한 길항미생물 제형별 처리 효과

*F. solani*( $10^2$ cfu/g) 발병토양에서 길항미생물 처리별 출현율 및 뿌리썩음병 방제효과는 표4와 같다. 그러나 인삼 뿌리썩음병 진단 및 피해예측기술 개발 시험 결과 *F. solani*는 인삼뿌리썩음병의 주원인이 아닌 것으로 판정되어 *F. solani*에 의한 인삼 뿌리썩음병 방제에는 의미가 없는 것으로 생각된다.

표 4. *F. solani*( $10^2$ cfu/g) 발병토양에서 길항미생물 처리별 출현율 및 뿌리썩음병 방제효과

처리 번호	처리내용		출현율	정상 개체수	발병 개체수	발병유형		발병주율 (%)	방제가
	제형	주성분				고사	생존		
1		GG4 + A	96.7	13	14	2	10	48.2	44.1
2	액상제	GG4 + B	93.3	14	14	8	6	50.0	42.1
3		GG4 + C	96.7	6	23	8	15	79.3	8.1
4		GG4 + D	100.0	23	7	0	7	23.3	73.0
5		GG4 + E	100.0	13	17	9	8	56.7	34.3
6	분말 수화제	GG4 + F	93.3	12	16	6	10	57.1	33.8
7		GG4 + G	93.3	6	22	5	17	78.6	8.9
8		GG4 단제	100.0	15	15	7	8	50.0	42.1
9		대조(토양소독구)	100.0	12	13	5	8	43.3	49.8
10		발병토양	93.3	3	25	9	16	86.3	-

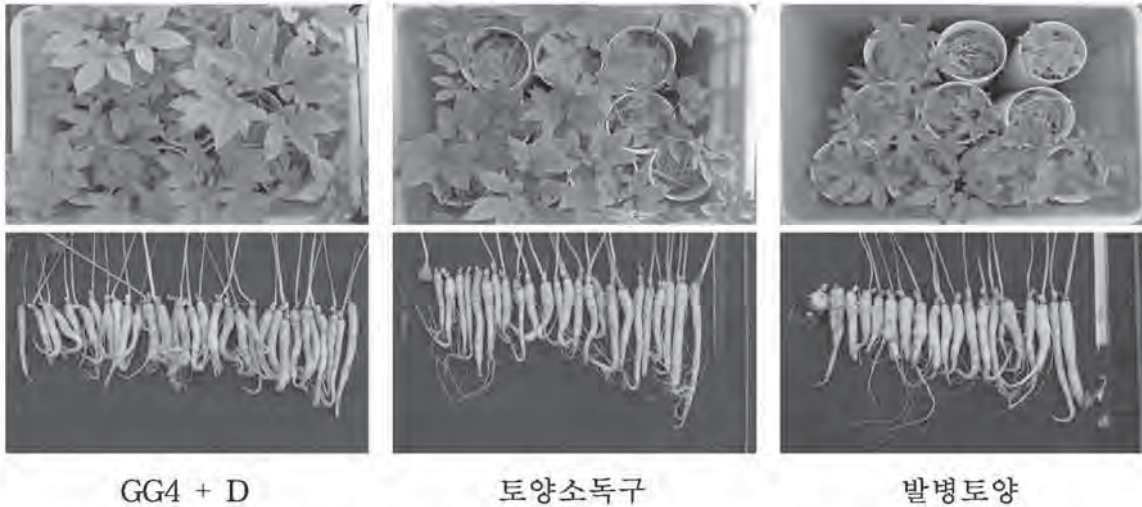


그림 2. 인삼 뿌리썩음병(*F. solani*)에 대한 길항미생물 제형별 처리 효과

#### 4. 적 요

본 연구는 인삼 뿌리썩음병의 길항미생물을 제형화하여 인삼 뿌리썩음병에 대한 효과적으로 방제할 수 있는 우수 제형을 선별하고자 수행한 결과는 다음과 같다.

- 가. *C. destructans*  $10^2$ cfu/g의 발병토양에서는 발병정도가 심하여 방제효과 검정을 할 수 없었다.
- 나. *C. destructans*  $10^1$ cfu/g의 발병토양에서는 액상제형에서는 GG4 + B 제형의 방제가가 51.6%로 가장 우수하였으며, 분말수화제형에서는 GG4 + F 제형의 방제가가 52.5%로 가장 우수하였다.
- 다. *F. solani*  $10^2$ cfu/g 발병토양에서 실험을 수행하고, 방제효과도 검정하였으나, 인삼 뿌리썩음병 진단 및 피해예측기술 개발 시험 결과 *F. solani*는 인삼뿌리썩음병의 주원인이 아닌 것으로 판정되었다.

#### 5. 인용문헌

- 경기도농업기술원. 2009. 토양 및 퇴비분석법. 27(3):272-281.
- 신지훈, 윤병대, 김혜진, 김시주, 정덕영. 2012. 인삼 뿌리썩음병 발병에 미치는 토양 전염성병원균과 토양환경요인. 한국토양비료학회지 45(3):370-376.
- 김충희, 김용기. 2002. 국내 토양병해 발생현황과 종합 관리방안. 식물병연구. 8(3):146-161.

박규진, 정후섭. 1997. 인삼 유묘 뿌리썩음병 진전에 따른 토양군별 특성. 한국식물병리학회지. 13(1):46-56.

오승환, 박창석, 김홍진. 1978. 인삼근부병방제시험. 고려인삼연구소 인삼연구보고서. 7-16.

유성준, 조진웅, 조재성, 유승현. 1996. 인삼 뿌리썩음병균(*Cylindrocarpon destructans*) 후막포자의 형성 및 발아에 영향을 주는 물리화학적 요인. 한국식물병리학회지. 12(4):422-427.

## 6. 연구결과 활용제목

- 토양에서 분리한 길항미생물 「바실러스 메틸로트로피커스(GG4)」의 인삼 뿌리썩음병 제어 효과(학술발표, 2015)

## 7. 연구원 편성

세부과제	구분	소속	직급	성명	수행업무	참여년도		
						'15	'16	'17
인삼 뿌리썩음병 길항균 현장 적용 기술 개발	책임자	농업기술원 소득자원연구소	농업연구사	한정아	세부과제총괄		○	○
	공동연구자	"	농업연구사	안영남	병 발생 조사	○	○	○
		"	농업연구사	소호섭	병원균 및 길항균 분석		○	○
		농업기술원 원예연구과	농업연구관	김진영	공동연구수행	○		
		농업기술원 소득자원연구소	농업연구관	이은섭	과제계획 및 평가자료 검토	○	○	○
"	농업연구관	조창휘	연구방향자문			○		