인삼 점무늬병균(*Alternaria panax*)과 탄저병균(*Colletotrichum gloeosporioides*)에 대한 길항미생물 *Bacillus* spp. 선발

이혜진*[†] · 박기춘* · 이승호* · 방경환* · 박홍우* · 현동윤* · 강승원* · 차선우* · 정일민**

*농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부, **건국대학교 생명환경과학대학 응용생물과학과

Screening of Antifungal *Bacillus* spp. against Alternaria Blight Pathogen (*Alternaria panax*) and Anthracnose Pathogen (*Colletotrichum gloeosporioides*) of Ginseng

Hye Jin Lee*[†], Kee Choon Park*, Seung Ho Lee*, Kyong Hwan Bang*, Hong Woo Park*, Dong Yun Hyun, Seung Weon Kang, Seon Woo Cha* and Ill Min Chung**

*Department of Herbal Crop Research, NIHHS, RDA, Eumseong 369-873, Korea.

**Department of Applied Bioscience, College of Life and Environmental Science, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea.

ABSTRACT : This study was carried out to research microorganisms having the antifungal activity against ginseng *Alternaria* blight pathogen *Alternaria panax* and ginseng anthracnose pathogen *Colletotrichum gloeosporioides*. Eleven *Bacillus* strains were isolated from Korean traditional soybean paste and Kimchi. Among the 11 isolates, DJ5, KC1, KC2 and KC4 showing antagonistic activity on the mycelial growth of *A. panax* and *C. gloeosporioides* in pairing culture were finally selected as the antagonistic microorganisms. Based on 16S rRNA sequence and phylogenetic tree analysis, they were identified as *Bacillus* spp.. The selected microorganisms were investigated antagonistic activity by measured leaf-segment colonization in pot test. When *Bacillus* sp. were injected after *A. panax* treatment, KC1, KC2 and KC4 showed similar effect to chemical pesticides treated control. To measure preventive effect of *Bacillus* sp, antagonistic microorganisms were injected and *C. gloeosporioides* was treated in pot. When measuring the effectiveness for the prevention of Anthracnose, All *Bacillus* spp. showed approximately 83~90 % degree of superior preventive effect. In general, The four *Bacillus* spp. isolated from Korean traditional fermented foods showed therapeutic effect of *Alternaria* blight and preventive effect of Anthracnose.

Key Words : Ginseng, *Bacillus*, Antagonistic Microorganism, *Alternaria panax*, *Colletotrichum gloeosporioides*, Biological Control

서 언

고려인삼 (高麗人蔘, *Panax ginseng* C.A. Mayer)은 다년생의 쌍떡잎식물로, 아시아의 극동지방 북위 34~48° 사이의 제주도, 제주도를 제외한 한반도의 전지역, 중국 동북3성 지방 그리고 러시아의 연해주에서 자생하고 있다 (Woo *et al.*, 2004). *Panax*의 어원은 ‘모든’이라는 뜻의 그리스어 ‘pan’과 ‘치료’라는 뜻의 그리스어 ‘axos’의 합성어로 만병통치약이라 뜻으로 러시아 식물학자 Carl Anton Meyer에 의해 1843년 명명되었다 (Hu, 1976; Gillis, 1997). 고려인삼은 어원에서 알 수 있듯이 오랜 기간 동안 동양의 귀중한 약초로 사랑받아왔으며, 현재 면역력 증진, 피로회복, 혈류개선 등의 효능은 과학적으로 입증되었고 방사선 방어효과 (Nam *et al.*, 2011), 정자의 운동성 및 활력 증진을 통한 불임치료 등의 연구가 계속되고 있다 (Park *et al.*, 2012).

인삼은 1년생 묘삼을 정식한 뒤에 본밭에서 3~5년 정도 더 재배된 후 수확된다. 이런 긴 재배기간 동안, 토양과 공기 중 에서 유래된 병원균이 인삼을 침입하게 되고, 그로 인해 인삼의 수확량의 약 30~60%가 감소된다 (Kim *et al.*, 2012). 그중 인삼 점무늬병균 (*Alternaria panax*)과 탄저병균 (*Colletotrichum gloeosporioides*)은 인삼의 잎, 줄기, 열매 등에 발생되고 이 병들은 인삼 생육 과정에서 큰 해를 미친다. 특히 장마기 때 습도가 높아 발병이 많아지고 (Kim *et al.*, 1990), 이때 방제를 소홀히 한다면, 점무늬병과 탄저병이 만연하여, 8월 중하순에 지상부 잎이 조기 고사하여 인삼 뿌리 생육에 지장을 준다 (Lee *et al.*, 2010).

*A. panax*에 의한 인삼 점무늬병은 4월 하순부터 5월 상순까지는 연약한 줄기에 바람 등에 의한 기계적인 상처에 의해 많이 발생하며, 앞에는 5월 중순부터 6월 상순에 부정형의 갈

[†]Corresponding author: (Phone) +82-43-871-5537 (E-mail) sunkistjin@korea.kr

Received 2012 August 9 / 1st Revised 2012 August 22 / 2nd Revised 2012 September 20 / Accepted 2012 September 27

색 병반을 형성한다. 이후 7, 8월 고온기에 대량 발생한다 (Lee *et al.*, 1990). 공기전염성 병해로 바람에 의해 쉽게 전파가 이루어지며, 이 병반은 엽맥을 따라 점점 퍼져 암갈색의 큰 병반을 형성한다.

탄저병은 *C. gloeosporioides*에 의해 발현되는 병으로 7~8월에 인삼 해가림 시설 내의 온도가 높아지면 발병이 쉽다. 특히 병원균은 빗물에 용해되어 장마철 이후의 고온 다습한 환경에서 물과 함께 이동하여 전염된다 (Bae *et al.*, 2005).

이러한 병해 방제를 위해서 물리적 방제, 경종적 방제, 화학적 방제 등 여러 방제법이 이용되지만 대부분이 화학농약을 사용하는 화학적 방제에 의존하는 경향이 있다 (Lee *et al.*, 2008). 화학적방제시에 유기합성농약의 오·남용 및 농축은 토양과 수질을 오염 시킬 뿐 아니라, 나이가 생태계를 교란시키고 농산물의 안전성을 위협 하는 등 부작용이 발생되기 때문에 선진국을 중심으로 화학농약 사용을 줄이고 친환경적 농업을 장려하고 있는 추세이다.

친환경 농업에 이용되는 길항미생물이 병원균에 미치는 기작은 크게 3가지로 구분되고 있다. 1) 길항미생물이 병원균에 직접 기생하거나 병원균을 분해하여 죽게 하는 용균작용을 하는 것, 2) 길항미생물의 항생물질에 의해 병원균의 필수 요소를 억제하여 생육을 저지시키는 것 3) 에틸렌과 같은 길항미생물의 대사 물질이 병원균에 간접적으로 해를 주는 것 등이다 (Lee *et al.*, 2008; Glick *et al.*, 2007). 특히 *Bacillus* spp.는 독성을 가진 항균성 물질을 세균의 세포 밖으로 분비하여 병원균에 대해 길항 작용하는 것이 많으며 식물병 방제를 위한 연구가 활발히 진행되고 있다. 대표적인 균주로는 *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. polymixa* 등이 알려져 있다 (Baker *et al.*, 1983; Mehnaz *et al.*, 2001).

이 연구는 인삼의 대표적인 지상부 병해 점무늬·탄저병 방제용 길항미생물을 선발 및 동정하여 화학농약 사용을 절감하고 친환경적인 인삼 병해 방제를 위해 수행되었다.

재료 및 방법

1. 미생물의 분리

자연발효식품의 보관과정에서 발생하는 *Bacillus* 균을 분리하기 위해 재래식 된장 5종류, 김치 6종류에서 10~20 g 씩 수시로 채집하여 길항미생물의 분리원으로 이용하였다. 된장, 김치 등은 0.1 g을 정량하여 멸균수에 넣은 후 충분히 마쇄하고 80℃에서 10분간 열처리를 한 후, 1/10 Tryptic Soy Agar (TSA)배지에 옮겨서 25℃ 조건에서 배양하였다 (Msadek *et al.*, 2002). 이 후 단일균집을 형성하는 미생물을 분리하였다. 분리한 미생물은 Tryptic Soy Broth(TSB) 액체배지에 배양한 후 생리식염수(0.85%, NaCl)와 1 : 1로 혼합하여 냉장고에 보관하였다.

2. 분리 미생물의 대치배양 및 길항균 선발

대치 배양에 이용 할 인삼 병원균 *A. panax*와 *C. gloeosporioides*를 7일간 20℃, 암 상태에서 PDA 배지에 배양한 후, 콕 보러 (cork borer)를 이용하여 가장자리를 채취하여 새로운 PDA 배지의 정 가운데에 곰팡이 균사가 아래쪽으로 향하게 치상한다. 분리 미생물은 미리 TSA배지에 도말 한 후 단일균집을 백금으로 채취하여 30 µl의 멸균수가 든 1.5 ml e-tube에 넣고 볼텍스 (Vortex)를 이용하여 혼합 후 분리 미생물 혼합액 30 µl를 8 mm 원형 흡습지 (Adventec, USA)에 로딩 (loading) 한 후 병원균을 치상한 petri dish 사방에 배치한다. 25℃에서 10일간 대치 배양시켜 5 mm 이상의 저지대를 형성하는 균주를 길항 균으로 선발하였다 (Lim *et al.*, 2000).

3. 길항미생물 동정 및 계통도 작성

선발한 길항미생물은 TSB 액체 배지에 접종하여 25℃ 항온기에서 120 rpm으로 3일간 진탕 배양하고, 배양한 균주 50 mg 는 솔젠트 (Solgent, Daejeon Korea)의 SolgTM Genomic DNA Prep Kit와 동봉된 프로토콜에 따라 genomic DNA를 추출하였고 전기 영동하여 PCR에 사용하였다. 16s rRNA 분석을 위한 PCR 프라이머는 universal primer 27F(5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3')와 1492R(5'-GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3')를 사용하였고 (Reysenbach *et al.*, 1992), 정방향 프라이머 27F 1 µl, 역방향 프라이머 1492R 1 µl, DNA 20 ng/µl, 4dNTP(10 mM) 2 µl, 10 × Tagq 버퍼 2.5 µl, solgent EF Tag 0.3 µl, 멸균수 17.2 µl가 혼합된 총 25 µl의 PCR 혼합 반응액을 94℃ 20초 동안 가열하여 DNA의 변성(denature)을 유도한 후 50℃로 온도를 낮추어 단일 가닥으로 변성된 용에 프라이머가 일치하는 sequence에 결합할 수 있도록 40초 동안 반응시켰으며 이 후 72℃에서 온도를 높여 DNA 복제를 1분 30초 동안 유도하는 주기(cycle)를 1 주기(cycle)로 하여 30 주기를 실시하였다. PCR 산물을 1% 아가로스 겔에 전기영동하여 16s rRNA 부분이라 예상되는 부분을 분리하여, RNA 염기서열 분석을 솔젠트(Solgent, Daejeon Korea)에 의뢰하였다.

염기서열은 BioEdit program (Tom Hall, Carlsbad USA)을 이용해 편집하였으며, NCBI (National Center for Biotechnology Information)의 BLAST 검색프로그램을 통해 염기서열의 상동성을 분석하였다. 계통도는 MEGA v4.1 program (Nei and Kumar, 2000; Tamura *et al.*, 2007)으로 neighbor joining method (Saitou and Nei, 1987)를 이용하여 작성하였고, Bootstrap analysis 1000 반복으로 수행하였다. 계통도 작성은 우리가 선발한 길항 균의 염기서열과 문헌 검색을 통하여 길항력이 인정된 *Bacillus subtilis* LSBA1975 (GenBank: FJ908706.1), *Bacillus subtilis* LEV-006 (GenBank: DQ323983.1) 두 균주와 *Bacillus*속 균주 *Bacillus* sp. B SAP01

(GenBank: JN872502.1), *Bacillus thuringiensis* Pp14 (GenBank: JQ861546.1) 및 *Bacillus megaterium* Z2 (GenBank: JQ864207.1) 16S rRNA의 염기서열을 사용하였다.

4. 길항미생물 생물검정 및 포장실험

생물검정에 사용한 인삼은 1년생 자경종으로 한 포트 (10 × 10 cm, W × H)당 3개씩 정식하여 약 2개월 동안 온실에서 재배하였다. *A. panax*와 *C. gloeosporioides*을 petri dish (85 × 15 mm)에 25℃에서 7일간 암 배양한 뒤, 포자의 생성 정도를 현미경으로 관찰한 다음 petridish에 적당량의 멸균수를 넣고 loop로 병원균을 모두 긁은 뒤 4겹의 거즈에 거른 후 거른 여액에 멸균수를 추가하여 50 ml로 조정하였다. 대치배양으로 1차 선발한 길항미생물은 TSB배양기를 이용하여 28℃에서 120 rpm으로 24시간 진탕 배양 후 농도를 1.5×10^{10} cfu/ml로 희석하여 포트 당 50 ml씩 엽면 살포하여 처리하였다. 또한 positive control로 이미녹타딘트리스아베실레이트(iminocadime albesilate) 계통의 화학농약을 사용했으며, 규정대로 희석하여 50 ml씩 엽면 살포하고, negative control은 증류수를 사용하여 50 ml씩 엽면 살포하였다. 길항미생물의 병 치료효과 검정을 위해 준비한 pot에 포자현탁액 50 ml를 먼저 처리한 후 24시간동안 비닐봉투를 덮어 과습한 발병환경을 조성하였고, 하루 뒤에 희석한 길항미생물 50 ml를 엽면 살포하고 다시 비닐봉투를 덮어 7일 후 조사를 실시하였다. 길항미생물의 병 예방효과 검정을 위해서는 병원균을 처리하기 하루 전에 희석한 길항미생물을 50 ml씩 엽면 살포하였고, 위와 같은 방법으로 발병환경을 조성하였다. 각 실험은 5 반복으로 실시하였다. 병의 예방 및 치료 방법 조사는 접종 후 7일 후에 실시하였으며 병의 치료 및 예방 효과는 병발생지수로 조사하였다. 발병율을 (Disease incidence, %) 계산은 다음과 같다.

$$\frac{1}{2} \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \frac{1}{\sigma} e^{-\frac{1}{2} \left(\frac{\bar{x} - \mu}{\sigma} \right)^2} = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \frac{1}{\sigma} e^{-\frac{1}{2} \left(\frac{\bar{x} - \mu}{\sigma} \right)^2} \times 100$$

길항미생물의 포장에서의 실제 병 억제 효과를 검증하기 위해 충북 음성에 위치한 인삼특작부 시험포장에 실증 실험을 실시하였다. 실험에 사용된 인삼은 7년근 재래종으로 병은 자연발병을 유도하였으며, 분리 배양한 길항미생물 KC1을 50배 희석하여 4반복으로 처리하였다. Negative control로 아무런 약제도 처리하지 않은 실험구를 사용하였고, positive control로는 이미녹타딘트리스아베실레이트(iminocadime albesilate) 계통의 인삼 점무늬병, 탄저병 억제에 쓰이는 약제를 규정대로 희석하여 사용하였으며 병 방제가 조사는 7일 뒤에 이루어졌다. 병 방제가의 계산은 다음과 같다.

$$\frac{1}{2} \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \frac{1}{\sigma} e^{-\frac{1}{2} \left(\frac{\bar{x} - \mu}{\sigma} \right)^2} = \frac{\bar{x} - \mu}{\sigma} \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{1}{2} \left(\frac{\bar{x} - \mu}{\sigma} \right)^2} \times 100$$

결과 및 고찰

1. 미생물의 분리

재래식 된장 5종류, 김치 6종류에서 분리한 후 80℃에서 10분간 가열하고 난 후에 생존 미생물을 조사한 결과 된장에서 6종, 김치에서 5종 총 11종의 미생물이 분리되었다(Table 1).

2. 대치배양을 통한 미생물 선발

전통 발효식품에서 분리한 11종 미생물의 항균력을 조사하기 위해 *A. panax*와 *C. gloeosporioides*과의 대치배양으로 실시하였다. 대치배양을 통한 우수 길항 균주 선발실험에서 항균력을 조사한 결과 인삼 점무늬병원균에 대해서 저지선이 5 mm 이상인 균은 KC1, KC2, KC4, DJ5으로 총 5개의 균이 우수한 길항작용을 보였고, 인삼 탄저병원균과 대치 배양했을 때 좀 더 강력한 길항력을 보인 균은 4균주로 KC1, KC2, KC4, DJ2, DJ5가 선발되었다. 인삼점무늬병과 탄저병에 공통적으로 길항력을 보이는 미생물은 KC1, KC2, KC4, DJ5으로 총 4종의 *Bacillus*균이 생물적 방제 균주로서 가능성이 확인되었다. (Table 2)

3. 길항미생물 동정 및 계통도 작성

분리된 길항균의 16S rRNA PCR 생산물의 염기서열을 NCBI Genebank에 등록된 다른 균주와 염기서열을 비교, 분석한 결과, 길항미생물 KC1은 *Bacillus subtilis* (GenBank:

Table 1. Selected antagonistic microorganisms.

Source	The Number of <i>Bacillus</i> spp.
Korean Traditional Soybean Paste	6
Kimchi	5
Total	11

Table 2. Inhibition zone of mycelial growth of *A. panax* and *C. gloeosporioides* against the isolated *Bacillus* spp. on PDA.

Source		Inhibition zone*	
		<i>Alternaria panax</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
Korean Traditional Soybean Paste	DJ1	+	+
	DJ2	+	++
	DJ3	+	+
	DJ4	+	+
	DJ5	++	++
	DJ6	+	+
Kimchi	KC1	++	++
	KC2	++	++
	KC3	+	+
	KC4	++	++
	KC5	+	+

*Inhibition zone ++ : > 5 mm, + : < 5 mm.

JQ308555.1)와 99%, *Bacillus amyloliquefaciens* (GenBank: GQ340497.1)와 99%, *Bacillus vallismortis* (GenBank: JQ735970.1)와도 99%의 유사도를 보였다. KC2는 *Bacillus subtilis* (GenBank: JQ308571.1)와 99%, *Bacillus amyloliquefaciens* (GenBank: JF460736.1)와 99%의 유사도를 보였고, KC4는 *Bacillus subtilis* (EU346662.1), *Bacillus amyloliquefaciens* (JQ229807.1)와 99% 유사도를 보였다. DJ5는 *Bacillus subtilis* (GenBank: HQ441254.1), *Bacillus amyloliquefaciens* (GenBank: JN08, 6147.1)와 99%의 유사도를 보였다. 길항미생물 KC1, KC2, KC4 및 DJ5를 16s rRNA sequence로 동정하고 길항력이 인정된 *B. subtilis* LSBA1975, *B. subtilis* LEV-006 두 균주, *Bacillus*속 균주 3종의 16s rRNA와 neighbor joining method를 활용하여 계통도를 작성한 결과 선발한 길항미생물을 *Bacillus subtilis*로 동정되었다 (Fig. 1).

Fig. 1. A phylogenetic relationship of isolated *Bacillus* spp. from Korean traditional soybean paste and Kimchi to other related species in *Bacillus* genus having antifungal activity. This phylogenetic tree was constructed based on 16s rRNA sequences by the neighbour-joining method using MEGA v4.1 program. phylogeny showing the relationship of *Bacillus* spp. The scale bar shows the genetic distance between the isolates, representing substitutions per base pair. Reference isolates are marked with asterisk (*).

4. 길항미생물의 길항능력 검증

선발한 길항미생물의 *A. panax*에 대한 방제효과를 조사하였다 (Table 3). 인삼 점무늬병이 발병하기 전 길항미생물을 처리하여 점무늬병의 예방효과를 관찰한 결과 KC1, KC4이 발병률 9%, 15%로 병원균만 처리한 대조구의 발병률 17%보다 낮은 발병률을 보였다. 하지만 Duncan분석 결과 유의성은 입증되지 않는다. 또한 무처리 대조구와 같거나 조금 높은 발병률을 보인 KC2, DJ5 또한 Duncan분석 결과 유의적인 차이가 나타나지 않아 병 발생을 조장하지는 않았다. 점무늬병을 먼저 일으키고 길항미생물의 치료효과 검증결과 KC1, KC2, KC4이 6%, 7%, 6%의 발병률을 보였다. 이는 화학농약을 처리한 대조구와 같은 수준의 점무늬병 치료효과가 있음을 나타내었지만 무처리 대조구가 낮은 발병률을 보여 추가적인 실험이 필요하다 (Fig. 2).

대치배양을 통해 탄저병 억제효과를 보였던 길항미생물 4종의 탄저병에 대한 예방효과 실험결과 무처리 대조구가 95%의 높은 이병률을 보인 반면에 길항미생물은 12~19%의 낮은 발병률을 보여 탄저병에 대한 예방효과가 있음을 입증하였다 (Fig. 3). 반대로 탄저병의 치료효과 검증을 위한 생물실험 결과, 선발한 균주 4종 모두 치료효과가 없음을 확인하였다. 무

Table 3. Antifungal effect of selected antagonistic microorganisms on *A. panax*.

Selected Antagonistic Microorganisms	Preventive effect	Therapeutic effect
	Leaf-Segment Colonization (%) [†]	Leaf-Segment Colonization (%)
control [‡]	17a	17a*
chemical	18a	3b
DJ5	19a	14ab
KC1	9a	6b
KC2	21a	7b
KC4	15a	6b

[†]Leaf-Segment Colonization(%) = (Total number of blight leaf) / (Total number of leaf) × 100.

[‡]Inoculated with only *A. panax*.

*Means separation was conducted with by Duncan' multiple range test. (P = 0.05), Means followed by same letters are not significantly different.

Fig. 2. The effect of *Bacillus* sp. KC1 on leaf spot disease of *A. panax* on one old ginseng in growth pot experiment. A; Negative control (pathogen only), B; Positive control (iminocyclamide albesilate) and C; *Bacillus subtilis* KC1.

Fig. 3. Preventive effect of *Bacillus* sp. KC1 on leaf spot disease of *C. gloeosporioides* on one old ginseng in growth pot experiment. A; Negative control (pathogen only), B; Positive control (iminocadime albesilate) and C; *Bacillus subtilis* KC1.

Fig. 4. Preventive effect of *Bacillus subtilis* KC1 on leaf spot disease of *A. panax* and *C. gloeosporioides* on seven old ginseng in field. A; negative control (water), B; Positive control, C; *Bacillus subtilis* KC1.

Table 4. Antifungal effect of selected antagonistic microorganisms on *C. gloeosporioides*.

Selected Antagonistic Microorganisms	Preventive effect	Therapeutic effect
	Leaf-Segment Colonization(%) ^a	Leaf-Segment Colonization(%)
control ^b	95a	95a*
chemical	0b	0b
DJ5	16b	99a
KC1	19b	100a
KC2	12b	100a
KC4	16b	99a

^aLeaf-Segment Colonization(%) = (Total number of anthracnose leaf)/(Total number of leaf) × 100.

^bInoculated with only *C. gloeosporioides*.

*Means separation was conducted with by Duncan' multiple range test. (P = 0.05). Means followed by same letters are not significantly different.

처리 대조구는 95%의 이병률을 보였고, 4종의 길항미생물은 99~100%의 이병률을 보였지만 이들 사이의 유의성은 나타나지 않았고 모두 발병하였음을 알 수 있다. 화학농약을 처리한 대조구만이 탄저병원균을 효과적으로 치료하여 0 %의 발병률을 보였다 (Table 4).

Bacillus subtilis KC1을 화학농약을 대신하여 포장에 처리해 본 결과, 58%의 방제가를 보였다. 이는 화학농약 대조구의 방제가 77%의 약 2/3 수준으로 화학농약만큼은 아니지만 포장에서도 어느 정도의 방제효과가 있음을 알 수 있다 (Fig. 4).

본 연구에서 실시한 인삼 점무늬병, 탄저병의 방제 외에도 *Bacillus*균은 인삼 뿌리썩음병의 원인균인 *Cylindrocarpon destructans*의 생물학적 방제를 위해 선행연구 되었다 (Lee and Park, 2004). Chung 등 (2006)의 연구에서는 *Phytophthora cactorum*에 의한 역병 방제 효과를 알아보기 위해 길항 균을 처리한 이후 병원균을 처리했을 때 약 88~100%의 병 방제 효과를 나타냈다. 우리가 선발한 균의 탄저병 예방효과는 약 80~90%으로 근소한 방제효과를 나타내었을지라도 농약에 의한 환경오염 발생 및 약제 안전성 저해 등을 고려한다면 이용 가능성이 충분하다고 생각된다. 이와 같이 *Bacillus*균이 인삼의 뿌리 병 방제에도 효과가 있는 미생물이라는 것을 고려하여 볼 때, *Bacillus*균을 이용하면 뿌리뿐만 아니라 지상부에 병해를 발생시키는 병원균을 동시에 방제할 수 있다고 사료된다.

본 길항 균과 같은 속의 미생물에 의한 생물학적 방제에 관한 기보고는 다음과 같은데, Lee 등 (2011)의 연구에서는 고추의 탄저병원균인 *Phytophthora cactorum*에 대해서 80% 이상의 방제력을 보여주었고, 배추 뿌리썩음병 및 참다래 꼭지썩음병, 잔디 갈색괴저병 등 다양한 작목의 진균병에도 높은 방제가를 나타냈다 (Yong et al., 2003; Cho et al., 2007; Jung et al., 2008). 이처럼 *Bacillus*균은 다양한 작목의 다양한 병 방제에 효과가 있었으므로 본 연구에서 선발한 길항 균들도 인삼뿐 아니라 다양한 작목에 적용해본다면 높은 방제가를 형성 할 수 있을 것이라 기대된다.

*Bacillus amyloliquefaciens*균은 병원균 외막에 함유된 chitin

성분을 분해시키는 chitinase을 분비하여 용균작용을 한다고 알려져 있다 (Han *et al.*, 2001). 선발한 *Bacillus subtilis* 또한 이러한 효소를 분비하여 길항작용을 할 것이라 예상된다. 따라서 항균활성 물질탐색 및 생산의 최적 조건을 검토하고 실용화에 필요한 추가적인 연구를 수행한다면 산업적으로 충분히 가치 있을 것으로 판단된다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 시험연구사업 (PJ007375022012)의 연구비지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

LITERATURE CITED

- Bae YS, Park BY, Kang SW, Cha SW, Hyun KS, Yeon BR, An TJ, Lee SW, Hyun DY, Kim YC, Chung KC, Kim SK and Han MJ. (2005). Handbook of ginseng diseases and pests. National Institute of Crop Science Press. Suwon, Korea. p.1-79.
- Baker CJ, Staveland JR, Tomas CA, Myron S, Janet S and Macfall S. (1983). Inhibitory effect of *Bacillus subtilis* on *Uromyces phaseoli* and on leaves development of rust pustules on bean leaves. *Journal of Phytopathology*. 73:1148-1152.
- Cho JI, Cho JY, Yang SY, Park YS and Heo BG. (2007). Screening and identification of antifungal bacillus sp. #72 against the pathogenic stem-end rot of kiwi fruit. *The Korean Journal of Community Living Science*. 18:241-246.
- Chung KC, Kim CB, Kim DK and Kim BJ. (2006). Isolation of antagonistic bacteria against major diseases in *Panax ginseng* C. A. Meyer. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 14:202-205.
- Gillis CN. (1997). *Panax ginseng* pharmacology: A nitric oxide link. *Biochemical Pharmacology*. 54:1-8.
- Glick BR, Chen Z, Czarny J and Duan J. (2007). Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. *European Journal of Plant Pathology*. 119:329-339.
- Han OK, Lee ET and Kim SD. (2001). Chitinase of multifunctional antagonistic bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* 7079 against phytopathogenic fungi. *Korean Journal of Microbiology and Biotechnology*. 29:142-148.
- Hu SY. (1976). The genus *panax*(Ginseng) in chinese medicine. *Economic Botany*. 30:11-28.
- Jung WC, Shin TS, Kim BS, Im JS, Lee JH and Kim JW. (2008). Efficacy of antagonistic bacteria for biological control of *Rhizoctonia blight* (Large patch) on zoysiagrass. *Research in Plant Disease*. 14:43-50.
- Kim YH, Yu YH and Lee JH. (1990). Effect of shading on the quality of raw, red and white ginseng and the contents of some minerals in ginseng roots. *Journal of Ginseng Research*. 14:36-43.
- Kim YS, Lee MS, Yeom JH, Song JG, Lee IK, Yeo WH and Yun BS. (2012). Screening of antagonistic bacteria for biological control of ginseng root rot. *The Korean Journal of Mycology*. 40:44-48.
- Lee BD and Park H. (2004). Control effect of *Bacillus subtilis* B-4228 on root rot of *Panax ginseng*. *Journal of Ginseng Research*. 28:67-70.
- Lee GW, Kim MJ, Park JS, Ju JE, Lee KJ, Chae JC and Soh BY. (2011). Biological control of phytophthora blight and anthracnose disease in red-pepper using *Bacillus subtilis* S54. *Research in Plant Disease*. 17:86-89.
- Lee JH, Yu YH, Kim YH, Ohh SH and Park WM. (1990). Morphological characteristics and pathogenicity of *Alternaria* isolates causing leaf and stem blight and black root rot of Korea ginseng. *Plant Pathology Journal*. 6:13-20.
- Lee SW, Kim, GS, Hyun DY, Kim YB, Kang SW and Cha SW. (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 Journal of Medicinal Crop Science*. 18:244-247.
- Lee WH, Kim JH and Choi IY. (2008). Advantages and disadvantage in using biological control of plant diseases and integrated control. *Journal of Agriculture & Life Science*. 39:66-76.
- Lim SY, Kim JD, Kim BS and Hwang BK. (2000). Isolation and numerical identification of *Streptomyces humicus* strain S5-55 antagonistic to plant pathogenic fungi. *Plant Pathology Journal*. 16:189-199.
- Nam KY, Park JD and Choi JE. (2011). Radioprotective potential of *Panax ginseng*: current status and future perspectives. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 19:287-299.
- Nei M and Kumar S. (2000). Molecular evolution and phylogenetics. Oxford University Press. New York City. New York, USA. p.1-333.
- Mehnaz S, Mirza MS, Hanrat J, Bally R, Normand P, Bano A and Malik KA. (2001). Isolation and 16S rRNA sequence analysis of the beneficial bacteria from the rhizosphere of rice. *Canadian Journal of Microbiology*. 47:110-117.
- Msadek T, Dartois V, Kunst F, Herbaud ML, Denizot F and Rapoport G. (1998). ClpP of *Bacillus subtilis* is required for competence development, motility, degradative enzyme synthesis, growth at high temperature and sporulation. *Molecular Microbiology*. 27:899-914.
- Park EH, Kim DR, Park SK and Chang MS. (2012). Effects of ginseng radix on sperm count and CatSper3, 4 proteins expression in male mice. *Korean Journal of Herbology*. 27:47-51.
- Reysenbach AL, Giver LJ, Wickham GS and Pace NR. (1992). Differential amplification of rDNA genes by polymerase chain reaction. *Applied and Environmental Microbiology*. 58:3417-3418.
- Saitou N and Nei M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Journal of Molecular Biology*. 4:406-425.
- Tamura K, Dudley J, Nei M and Kumar S. (2007). MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version4.0. *Molecular Biology and Evolution*. 24:1596-1599.
- Woo SY, Lee DS and Kim PG. (2004). Growth and eco-physiological characteristics of identification of *Panax ginseng* grown under three different forest type. *Journal of Plant Biology*. 473:230-235.
- Yong YL, Kim JH, Kim BS, Jeon JY and Yun CS. (2003). Effects of beneficial antagonists (*Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., and *Trichoderma* sp.) on control of clubroot of Chinese cabbage. *Korean Journal of Horticultural Science & Technology*. 21:194-198.