

어젠다코드	3-13-43		구 분	세부완결	
기술분야코드	V2	기술유형코드	P01	작목구분코드	IC-03-1901
과제종류	공동연구		세세부사업	유기농식품현장실용화사업	
연구과제 및 세부과제			수행기간	소속	과제책임자
유용미생물을 활용한 유기농 인삼의 뿌리썩음병 억제기술 개발			'12~'14	인삼약초연구소	김성일
1)인삼뿌리병 방제를 위한 기능성 미생물 퇴비개발			'12~'14	인삼약초연구소	김성일
책임용어	인삼뿌리병, 생물적방제, 기능성퇴비, 길항균, 발효퇴비				

## ABSTRACT

*Ginseng*(*Panax ginseng* C.A. Meyer) cultivate for 4~6 years to harvest root under a solar shuttered bed in korea. The shade circumstance of ginseng garden and long term requirement to harvest, ginseng plant susceptible to the phytopathogens which attack phylloplane or rhizosplane. To practice organic ginseng cultivation, the most important field managing technique which needed for successful ginseng cultivation is to control root-rot disease effectively and to prepare a good organic fertilizer for a long term sufficient nutrient supply. Among the ginseng pathogens, ginseng root-rot caused by soil-borne pathogens is the most prevalent problem in the ginseng garden. To establish a strategy to control the ginseng root-rot with environment friendly agent, we isolated four promising candidates by the dual culture test. They inhibited the mycelial growth of *Cylindrocarpon destructans*, *Rhizoctonia soani*, *Sclerotinia nivalis*, *S. sclerotiorum*, *Botrytis cinere* on PDA.

To increase the biocontrol efficacy of composted livestock manure against soil-borne disease and to supply enough nutrient required to grow high quality ginseng, we prepared a antagonistic microorganism added organic fertilizer(AMOF). To produce AMOF, we developed techniques for the antagonist mass cultivation on solid medium, the alive microorganism containing formulator manufactureing protocole and the manure composting procedure which maximize the viability and colonization ability of antagonistic isolate. The AMOF prepared by inoculating strain BK185 to organic fertilizer. The organic fertilizer produced after composting of cow dung and soybean debris mixture. Composting procedure needed for 120days and three times turning. The organic fertilizer produced after composting, pH value decreased to 6.9 and the content of total nitrogen was 1.98%. The strain BK185 which used to AMOF manufacture, grew well to spores on mineral nutrient added potato extract agar in 15 days and the number of spores per ml was 10 billion. The spore germination rate of strain BK185 in the

organic fertilizer estimated equal to 1% sucrose solution. The AMOF effectively controlled the soil borne pathogen, promoted the healthy ginseng growth, inhibited the mycelium growth of *C. destructans*. Bioassays with strain BK185 added compost-amended and non-amended soil, which was previously developed the serious root rot disease and the survived 6 year old ginseng number decreased to less than 40%, were practiced to evaluate the disease incidence decreasing effect on ginseng root rot. The percentage of rotted root numbers in *C. destructans* inoculated soil was 46.7% but the disease incidence decreased to 4.2% after AMOF amendment.

To shorten and increase seed germination rate, the ginseng seed was collected from the red, ripe berries by mashing the berries and washing the debris off. The seeds were then mixed with coarse sand at a ratio of two parts sand to one part seed. The seed/sand mixture is put in 300 ℓ plastic vessel and placed in cool stratified place. The stratified place maintained for 4 months with sufficient mineral water pouring for leaching and prohibiting harmful microorganism colonization. This process helps seed coat cracking while the embryo develops and grows. Stratified seed stored in -2°C refrigerator during winter (September through March) and planted in early spring. The stratified ginseng seed germinated more than 80% and rotted seed was less than 3%. Stratified ginseng seeds plant in self soil nursery(virgin soil nursery) or yang jik nursery(mixture saprolio 5 parts and composted manure 1 parts by volume) and grow for 1 year to harvest rootlet. The digged rootlet transplant into the ginseng garden and cultivate for 3~5years in korea. During the ginseng seedling cultivation in above two nursery, many soil-borne pathogens infest and injury on ginseng seedling. To overcome the problems which developed in soil nursery, we prepared the artificial nursery medium(ANM) which contains peat moss 10 parts, perlite 10 parts and AMOF 2 parts by volume. The stratified seed planted 298 seeds in each nursery box(49w X 33l X 23h, cm) filled up with ANM by hand made seed machine in spring, and cover the seeds with 2 cm of topsoil. After planting, carefully pressed to firm the nursery medium around the seeds. The ANM had beneficial aspects, sprouting rate enhanced about 6% more than yangjik nursery, need not the additional fertilizer supply and fungicide spray. The ANM needed only regular water irrigation to maintain appropriate moisture. The average weight of rootlet was 0.87g per root and root length was 11.7cm, and the percentage of high quality seedling number was 60%. The organic ginseng seedling growing was practicable with the ANM, it need not chemical fungicide spray or chemical fertilizer supply.

## 1. 연구목표

고려인삼(*Panax ginseng* C. A. Meyer)은 반음지식물로 해가림시설하에서 4~6년 간 재배

한 후 뿌리를 수확한다. 우리나라 인삼산업은 2009년 기준 전국 인삼재배 농가수는 2만 3,285호이고 재배면적은 1만 9,702ha로 보고되어 있으며, 3.3m<sup>2</sup> 당 년 평균 조수익은 14,000원 이상으로 고소득 작물이다. 고려인삼은 캐나다와 미국의 화기삼(*Panax quinquefolius* L.)이나 중국의 전칠삼(*Panax notoginseng* Burkill)보다 상품가치가 높아 국제 시장가격이 높게 형성 유지되고있다. 유구한 재배역사와 지속적인 재배법 개선 그리고 최적의 한반도 기후조건에서 생산된 고려인삼은 국내외 수요를 안정적으로 공급해왔으며, 최근에는 잔류농약에 대한 첨단 분석기술을 인삼에 적용함으로써 과거 인삼병해충 방제를 위해 오남용되었던 화학농약이 극히 제한적으로 사용되고, 이를 대체하기 위한 환경친화적인 병해충 방제법이 널리 보급되어 안전성이 확보된 인삼이 생산되고있다. 이러한 인삼재배 농업인들의 고품질인삼 생산을 위한 적극적인 노력과 한국 농산물중 최고의 브랜드 가치를 배경으로 한 인삼은 소비자들의 건강보조식품에 대한 관심증가와 홍삼효능에 대한 임상실험결과 홍보에 힘입어 시장규모가 점차 늘어가고 있다. 이러한 인삼산업의 지속적인 발전을 위해 최근 소비자들이 요구하는 안심먹거리에 대한 관심을 충족시키고, 유기농식품 유통과정이 정착됨에 따라 친환경 안전농산물에 대한 수요가 증가하고, 유기농 식품에 대한 선호도가 높아짐에 따라서 고품질의 유기농인삼에 대한 관심이 집중되고있다. 그러나, 인삼은 타 작물에 비해 긴 재배기간과 병해충 방제를 위해 사용하는 잔류농약의 우려로 안전성 논란도 그치지 않아 이를 해결할 수 있는 무농약 인삼재배 기술 개발이 시급히 요구되고 있다.

유기농 인삼 수요증가에 따른 안정적인 인삼공급을 위해 해결해야 할 가장 중요한 재배기술은 토양전염병원균에 의한 인삼뿌리병을 효과적으로 방제하는 기술개발이 시급히 요구되고있다. 인삼뿌리병에 관여하는 국내에서 보고된 주요 병원균은 *Cylindrocarpon destructans*, *Fusarium solani*, *Scerotinia nivalis*, *S. sclerotiorum*, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani* 등이며 이 병원균들은 모두 토양에서 수 년간 생존하면서 인삼에 해를 주어 인삼 수확시 50% 이상 피해를 주고있다. 이러한 토양병은 재배기간 중 피해를 줄 뿐만 아니라 인삼을 수확한 밭에는 10년 이상 재그루가 불가능하여 인삼재배지 확보가 어렵게하여 인삼재배농가는 과거 인삼재배 이력이 없는 신작지를 찾아 헤메는 유량식 인삼재배의 주요인이 되고있다. 이를 해결하기 위한 그간의 연구내용으로 토양병원균에 의한 연작장애 해소를 화학농약선발 및 처리방법, 작부체계, 태양열소독, 증기소독, 담수처리, 녹비작물 재배 등이 보고되었으며, 이러한 종합적인 연구결과를 인삼재배에 꾸준히 실천한 결과 전국에서 인삼재배가 가능해지고, 밭삼재배로 부족한 경작지를 논삼 재배기술개발로 보충하고, 훈증소독제 사용 후 퇴비관리기술로 재작기간을 단축하는 성과를 이루었다.

본 연구는 유용미생물을 이용한 토양병 생물적방제법을 인삼토양병 방제기술개발에 활용하고자 수행하였으며, 이를 위해 공시한 인삼토양병원균에 길항력이 있는 균주를 찾아 확보하고, 인공대량배양을 위한 배지조성, 배양조건, 장기보존을 위한 제형기술개발, 토양살포시 유용미생물의 활착력과 활력을 극대화 할 수 있는 발효퇴비 혼합과정 등을 정립하고자 수행하였다. 현재 우리나라 인삼재배는 신작지를 선정하여 축분을 살포 한 후 2년 간 호밀과 수단그라스를 교대로 재배하면서 20회 이상 뒤집기 작업과 로타리 작업을 반복하여 토양 염분을 제거한 후 두둑작업을 하여 파종하고 있다. 이는 토양 내 유기물을 완전발효시켜 가스장해를 예방

하고, 장기 인삼재배에 필요한 영양분을 확보할 뿐만 아니라 토양물리성을 개선하여 인삼의 수량과 품질을 향상시켜 주는 주요 농사법으로 정착되었다. 그러나 이러한 일련의 작업과정은 퇴비발효에 필요한 온도, 습도, 통기발효, 혐기발효 조건이 충분하지 않아 균일한 효과를 얻기에 어려움이 있다. 이를 보완하여 효과적인 토양병방제와 고품질 인삼재배를 위해 발효퇴비에 유용미생물을 첨가하여 만드는 유용미생물첨가 토양병방제퇴비(Beneficial microorganism added soil-borne disease control compost)를 제조하는 방법을 연구하였다. 발효퇴비는 우분에 농산부산물을 혼합하여 C/N율을 조정하고 노천에서 수분공급과 뒤집기작업 그리고 비닐로 덮어 보온하여 단기간에 완숙퇴비를 제조하였다. 완숙된 퇴비에는 인공대량배양하여 제형한 길항균을 첨가하여 입제로 생산하여 인삼밭에 정량 살포할 수 있도록 개발하였다. 본 연구의 결과는 전국 인삼재배농가의 애로사항을 해결하고, 특히 국가적으로 추진하고있는 유기농 인삼재배 규모가 전국 재배농가의 0.3%인 60여 농가, 20ha에 그치고 있으나, 최근 전국적으로 유기농 인삼재배농가가 늘어나고, 유용미생물을 활용한 유기농법에 대한 농민들의 관심이 높아지고 있어 그 활용도가 크게 증가할 것으로 예측된다.

## 2. 재료 및 방법

### (시험 1) 인삼 병원균에 대한 항균활성을 갖는 유용미생물 선발

인삼근권토양을 채집하여 멸균수로  $10^6$ 배로 연속희석한 다음 현탁액 0.1mL를 선택배지에 도말접종한 후 30°C 항온배양기에 배양하여 형성된 집락으로부터 순수분리하여 보존하였다. 분리배지로 일반 세균류는 TSA agar, 형광세균류는 King's B agar, *Bacillus*균은 현탁액을 80°C에서 30분간 처리한 후 Nutrient agar를 사용하였다. 수집한 균주들은 농촌진흥청 농업미생물은행(Korean Agricultural Culture Collection, KACC)에서 분양받은 인삼토양병원균 5종(*Cylindrocarpon destructans* KACC 41077, *Rhizoctonia solani* KACC 40123, *Fusarium solani* KACC 44891, *Scelrotinia nivalis* KACC 45152)에 대하여 균사생장 억제력이 있는 것들을 길항균주로 선발하였다.

### (시험 2) 길항균 분류·동정 및 미생물제형화

분리 보존 중인 길항균은 형태적특성, 생화학적분해능, 유전적 유연관계, 항균물질생산 관여 유전자분석 등을 통하여 동정하였다. 연구에 사용될 미생물제 생산을 위해 인공배양 조건에서 포자상태로 배양할 수 있는 배지를 선발하여 고체배양함으로써 액체배양에 필요한 발효조 구입비를 절감하고, 생산력을 높여 산업화에 필요한 원제생산비를 최소화하고자하였다. 수확한 포자는 탈비분유에 현탁한 다음 동결건조하여 생균수가 유지되도록하였다.

### (시험 3) 퇴비제조 및 인삼뿌리썩음병 방제용 미생물퇴비(AMOF)제조

인삼밭 예정지관리용과 미생물첨가 상토를 제조하기 위해 우분에 볏짚, 콩짚, 낙엽을 혼합하여 C/N율을 조정하고, 수분조절과 뒤집기 작업, 보온을하여 발효기간을 최대한 단축하였으

며, 발효퇴비 내 *S. geldanamicininus* BK185의 정착력을 높이기 위해 발효퇴비제조 과정의 각 단계에서 채취한 시료를 Petri dish에 옮긴 후 인공배양하여 수확한 방선균포자의 최대 발아율을 확인하였다. 길항미생물첨가유기질퇴비(AMOF)는 120일 발효시킨 유기질퇴비에 시험 2에서 제조한 *S. geldanamicininus* BK185제제를 첨가한 후 30일간 후숙시켜 제조하였다. AMOF는 인삼뿌리썩음병으로 피해를 본 토양에 살포하여 병발생억제효과를 조사하고, 유기인삼재배용 묘삼육묘 상토는 피트모스와 펄라이트를 섞은 상토에 일정비율을 첨가한 후 파종하여 묘소질을 조사하였다.

#### (시험 4) 유기농 묘삼생산용 기능성인공상토 시험

인삼종자는 4년근 인삼밭에서 7월말에 수확하여 과육을 제거하고, 세척한 후 양파망에 넣어 모래와 충적하여 지하수로 탈삼하면서 10월 말까지 개갑처리하였다. 개갑처리된 종자는 마르지 않도록 비닐봉지에 넣고, -2°C냉장고에 보관하여 이듬해 4월 하순에 파종하였다. 묘삼재배용 상토는 피트모스와 펄라이트를 1:1부피비로 혼합하여 준비한 후 미생물퇴비를 추가하였다. 묘삼재배는 밀폐되지 않은 플라스틱 상자(52×32×23cm) 밑바닥을 상토가 새지 않도록 한냉사를 깔고 준비된 상토를 채운 뒤 상자당 288립씩 파종하고, 해가림 시설하우스에서 관수하면서 관리하였다.

#### (시험 5) 미생물퇴비 인삼포장시험

예정지관리는 한우 축사에서 준비한 미숙퇴비를 10당 3MT 살포한 후 경운하고, 2년 간 녹비작물로 호밀과 수단그라스를 차례로 재배하여 년 10회 이상 경운하여 토양의 염분을 제거하였다. 예정지 관리가 끝난 인삼밭에 미생물펠렛퇴비를 10a당 300kg 살포 한 후 깊이 10cm 이하로 토양과 혼합시킨 후 4~5일간 방치하여 펠렛퇴비가 충분히 수분을 흡수하여 경운작업 시 쉽게 부스러지게하였다. 인삼밭은 높이 50cm, 폭 90cm로 두둑작업을 한 후 칸(90×180cm)당 묘삼 72주를 정식하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### (시험 1) 인삼 병원균에 대한 항균활성을 갖는 유용미생물 선발

공시한 각각의 병원균 균총을 8 mm cork borer 를 이용하여 절단한 후 PDA(Potato Dextrose Agar; Difco) 배지 중앙에 치상한 다음 분리균주와 대치 배양하였다. 대치 배양된 각각의 병원균을 최적 생장온도(*C. destructans*, *S. nivalis*는 21°C, *F. oxysporum*, *F. solani*, *R. solani*는 25°C) 에서 4~5일간 배양한 후 선발 균주들의 균사 생장 억제 능력을 조사하였다. *R. solani*와 *S. nivalis* 에 대한길항력이 확인된 35 균주에 대해서 인삼 뿌리썩음병원균 5종(*C. destructans*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *R. solani*, *S. nivalis*)과 대치 배양하여 균사 생장 억제능력을 조사한 결과, Table 1와 같이 모든 균주가 인삼뿌리썩음병의 주요인으로 보고된 *C. destructans*에 대한 길항력이 큰 것으로 확인되었으며, 묘삼밭에서 잘록병을 일으키는 *R. solani*와 최근에 뿌리썩음병으로 보고된 *S. nivalis*에 대한 길항력도 확인

되었다. 특히 BK185균주는 시험한 5종의 인삼 병원균에 대해서 항균활성을 보였다. 3 균주가 비교적 동일한 유형의 항균성을 보이고 있지만, GR4-5 균주가 다른 두 균주에 비해 약간 더 강한 활성을 보였다. 특히, 인삼 뿌리썩음병의 주원인균인 *C. destructans* KACC 44656 과 *C. destructans* KACC 41077 에 대한 뚜렷한 길항성은, 이들 균주가 인삼 뿌리썩음병 방제를 위한 미생물제제로서의 잠재적 우수성이 크다는 것을 증명한다(Table 1). 추후 실제 야외 생물검정을 통해 생물적 방제제로서의 가능성을 추가적으로 확인해야 할 것으로 판단된다.

Table 1. 선발균주의 인삼 뿌리썩음병원균에 대한 균사생장억제능

Strain	mycelium growing inhibition				
	<i>Rhizoctonia</i>	<i>Sclerotinia</i>	<i>Cylindrocarpon</i>	<i>F. solani</i>	<i>F.oxysporum</i>
BYK1470	+++	+++	++	+	++
BYK1471	+++	+++	++	++	+++
BYK1472	+++	+++	++	+++	+++
BYK1473	+++	+++	+++	+++	+++
BYK1474	+++	+++	+++	+	+++
BYK1475	+++	+++	++	+	+++
BYK1476	+++	+++	++	+	+++
BYK1477	+++	+++	++	+	+
BYK1478	+++	+++	++	+	++
BYK1479	+++	+++	++	+	-
BYK1480	+++	+++	+++	+	+++
BYK1481	+++	+++	++	+	+++
BYK1482	+++	+++	++	+	++
BYK1483	+++	+++	++	+	+++
BYK1484	+++	+++	++	+	+++
BYK1485	+++	+++	++	+	-
BYK1486	+++	+++	++	+	++
BYK1487	+++	+++	++	++	++
BYK1439	+++	+++	+++	+++	+++
BYK1441	+++	+++	++	+	+
BYK1488	+++	+++	++	-	-
BYK1489	+++	+++	++	-	-
BYK1490	+++	+++	+++	-	-
BYK1491	+++	+++	++	-	-
BYK1492	+++	+++	+++	-	-
BYK1493	+++	+++	++	+	++
BYK1494	+++	+++	+++	-	-
BK185	+++	+++	+++	+++	+++
GH1-13	+++	++	+++	+	++

(시험 2) 길항균 분류.동정 및 미생물제형화

PDA평판배지에서 방선균 BK185의 길항작용을 조사한 결과 인삼뿌리썩음병에 관계하는 *C. destructans*와 *F. solani* 뿐만아니라 묘삼밭에서 잘록병을 일으키는 *R. solani*와 최근 고년 근 인삼밭에서 단기간에 넓은 면적에 피해를 주는 균핵병원균(*S. sclerotiorum*)에 대한 군사생장억제도 높은 것으로 확인되었다(Fig 1).

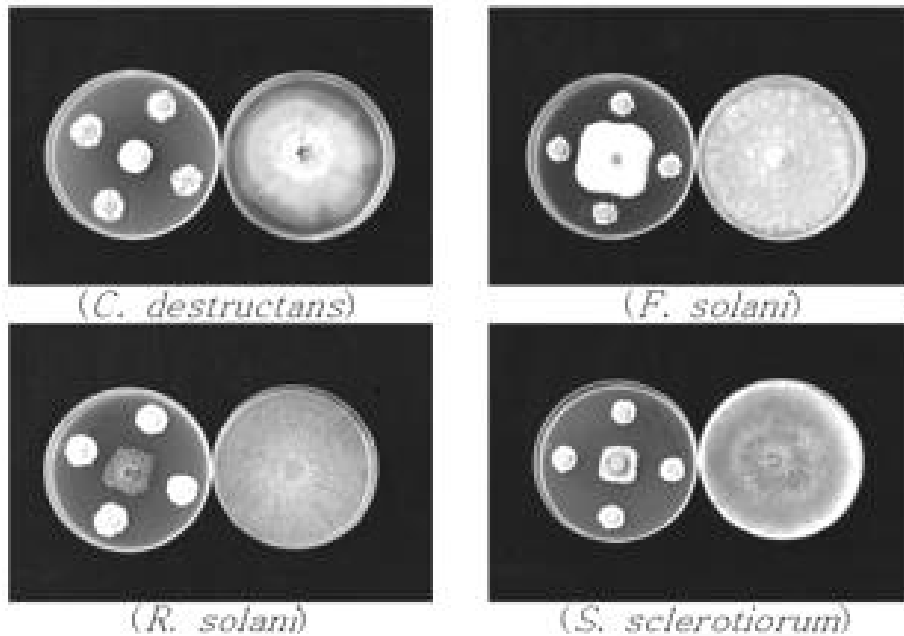


Fig 1. 인삼 주요토양병원균에 대한 BK185의 군사생장억제능

방선균 BK185의 토양내 유기물 분해능으로 chitin을 첨가한 배지에 접종한 후 배양하면 콜로니 주변은 물로 평판배지 전체에 있는 chitin을 분해하여 Lugal's Iodine 용액으로 염색하면 Fig 2와 같이 배지전체가 투명대를 형성하였다. 이는 방선균 BK185가 생산한 chitinase에 의해 chitin이 단당류로 분해된 결과로 보라색염색반응이 나타나지 않는 것이며, 이러한 효소적 작용은 토양 내 유기물순환을 원활하게 할 뿐만 아니라 진균성 토양병원균의 세포벽을 효과적으로 분해하여 토양병을 방제해준다(Chung et al., 1989, Chet & Baker, 1980). 또한, 방선균 BK185이 생산하는 항균물질을 확인하기 위해 seed 배양은 125 ml 삼각플라스크에 50 mL YEME 액상 배지(4 g yeast extract, 10 g malt extract, 4 g glucose/ 1 L distilled water)를 분주한 후 접종하여 72시간 1차 배양하였다. 본 배양은 2.8 L Fernbach 플라스크에 YEME 액체배지 1ℓ씩 분주하여 6일간 배양한 후 배양된 방선균 BK185 배양액 6ℓ에 에틸아세테이트 9ℓ를 부어 진탕한 후 정치하여 추출된 에틸아세테이트 층을 별도로 분리하여 sodium sulfate로 잔존 수분을 제거한 후 농축하여 조추출물을 얻었다. 획득된 추출물을 Sep-Pak C18 cartridge에 옮긴 후에 각각 20mℓ의 20%, 40%, 60%, 80%, 100% 메탄올 용매를 사용하여 분획하였다. 각각의 분획물은 Mass (Agilent Technologies 6130 Quadrupole mass spectrometer, USA)가 장착된 액체크로마토그래피(Agilent Technologies 1200

series, USA)로 분획을 포집하였다. 분리용 컬럼은 C18 reversecolumn (Phenomenex Luna, 100×4.6mm)을 사용하였으며, 20분 동안 10% acetonitrile 에서 100% acetonitrile로 높아지는 gradient 방법으로 이동상 조건을 설정하여 분석한 결과 geldanamycin과 unknown 2종의 물질이 확인하였다(Fig 3).

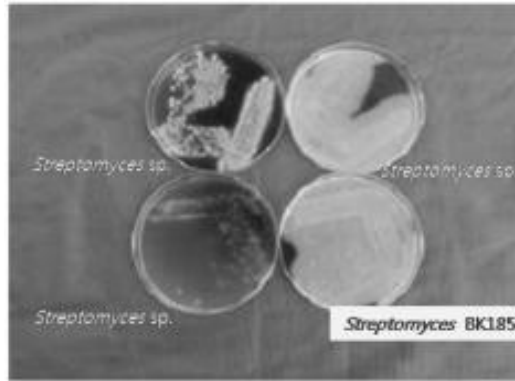


Fig 2. 방선균 BK185의 chitin 분해능조사

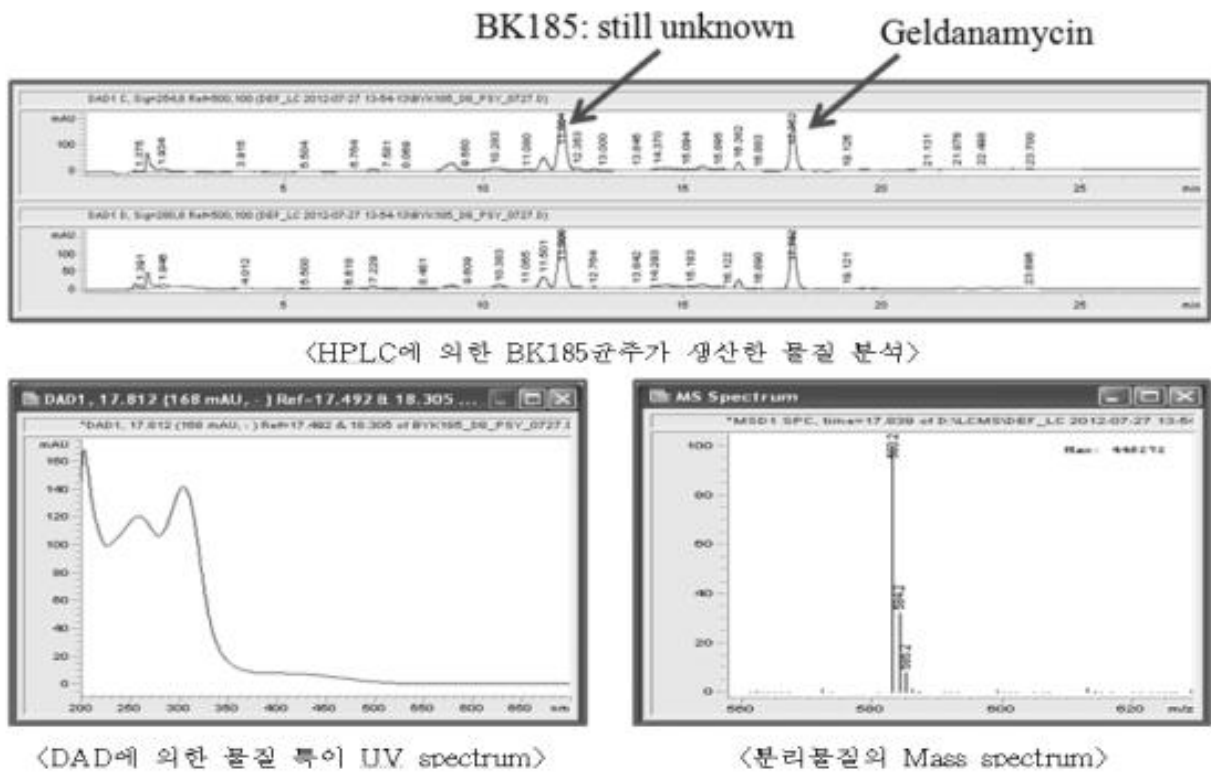


Fig 3. 방선균 BK185 생산항균물질 분리

방선균 BK185는 그램음성균으로 고체배지에서 20일 이상 장기간 배양하면 균사끝 부분에서 포자를 생산하여(Fig 4) 방선균류 중 *Streptomyces*속의 전형적인 형태적 특성이 확인되었다. 이 균주가 생산하는 항균물질 생산관련 유전인자와 16S rRNA 유전자분석을 통한 유전적

유연관계를 확인한 결과 병원세균과 곰팡이에 항균력이있는 geldanamycin을 생산하는 *Streptomyces geldanamycininus*로 확인되었다(Fig 5).

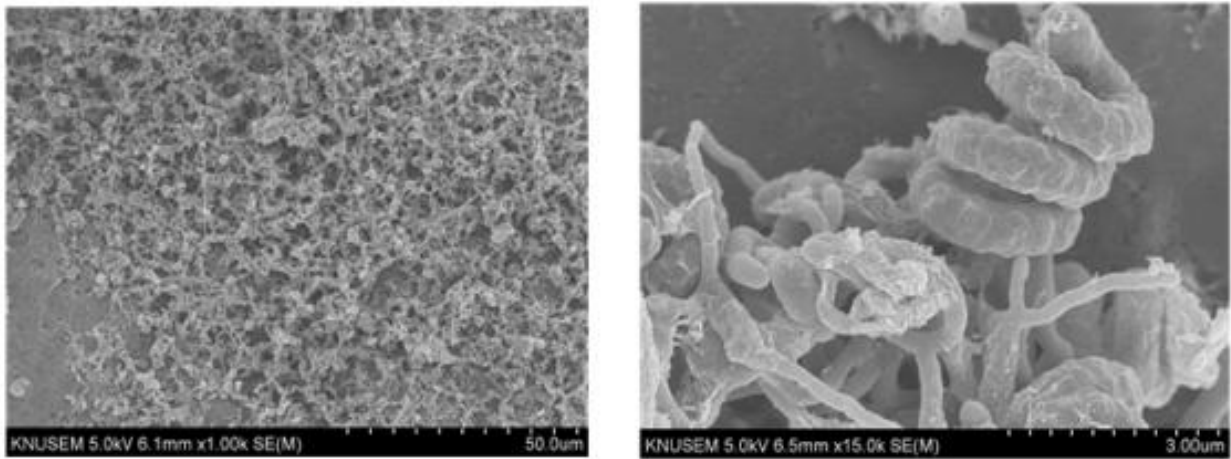


Fig 4. 방선균 BK185의 형태적관찰

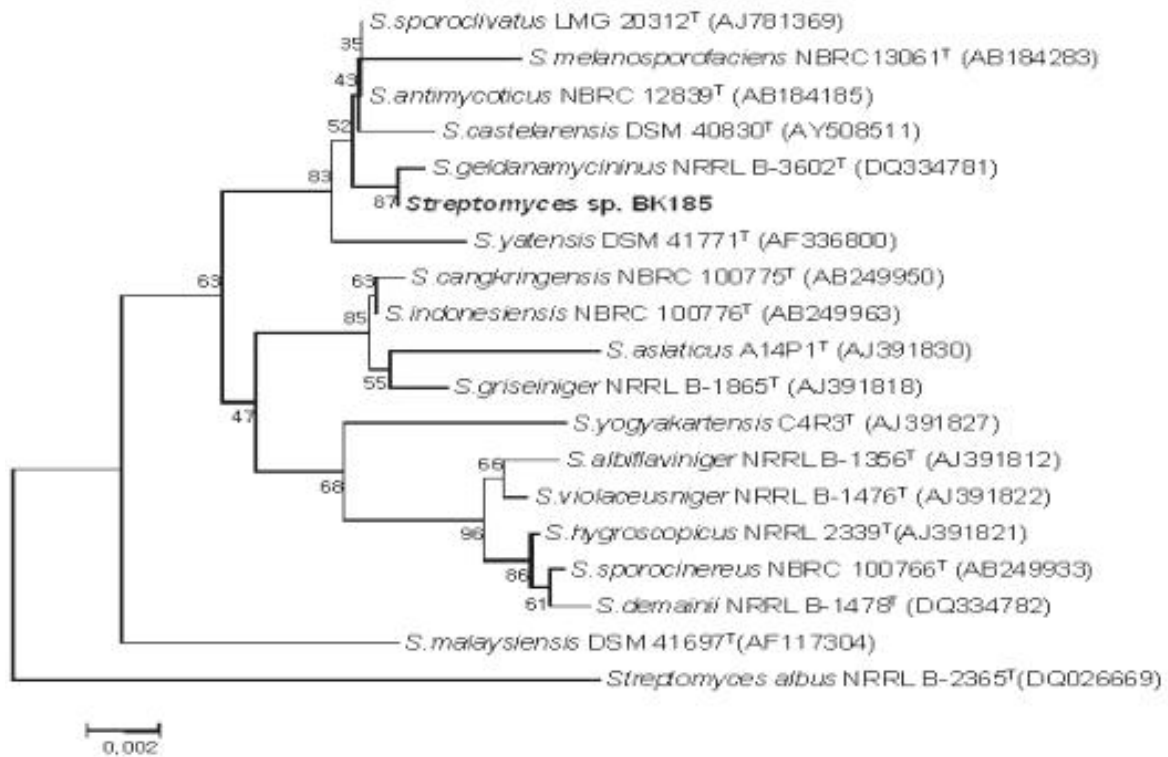


Fig 5. 방선균 BK185의 16S rDNA 유전자기반 유전적유연관계

감자추출액에 무기영양원으로 철과 마그네슘, 아연을 첨가한 고체배지(Table 2)에 포자를 고밀도로 도말접종하면 30°C 배양기에서 10일 배양 후 Fig 4와 같이 포자를 형성하였다(Badr et al. 2000). 방선균 BK185의 포자는 멸균수로 현탁시키면 모두 물표면으로 떠올라 원심분리

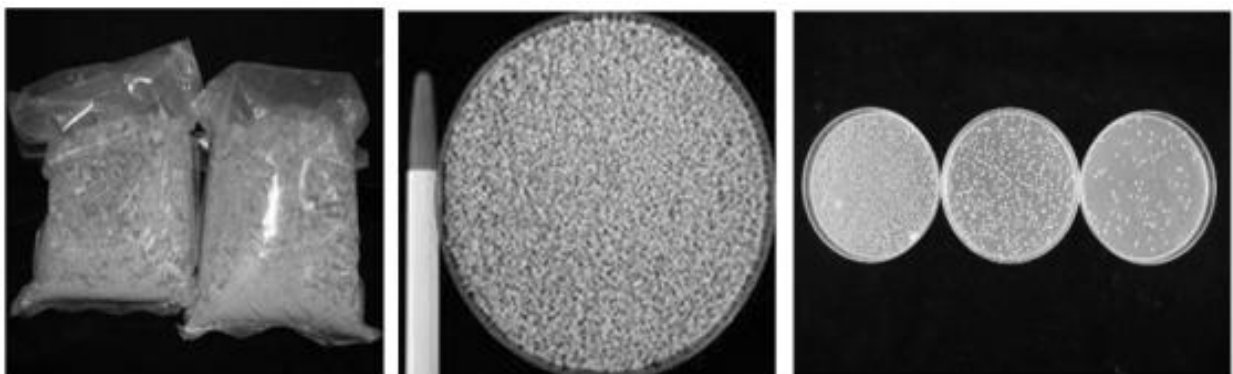
방법으로 수확이 불가능하고 주방용세제를 1,000로 희석하여 4시간 이상 방치하여야 수확이 가능하였다(Fig 6). 수확한 포자는 멸균수에서 떠오르지 않아 원심분리법으로 세척이 가능하였으며, 보존제인 탈지분유에 희석하여 동결건조하면 자유로이 생균밀도 조절이 가능하여 미생물원제로 제조할 수 있었다. 사면배지에 보존 중인 방선균 BK185를 무기물첨가 PDA평판배지에 접종하여 10일간 배양한 후 포자를 수확한 결과 지름 9cm인 petri dish 1개 당  $2 \times 10^{12}$  포자수를 수확하였다. 수확한 포자는 원심분리(3,000rpm, 20min)하여 멸균수로 세척하고, 10% 탈지분유에 현탁한 후 동결건조하여 원제를 생산하였다. 퇴비첨가용 입제는 증량재와 포자발아와 생육촉진을 위한 영양재를 혼합한 후 역회전과립기로 입제(1g 당  $10^8$  포자수)로 생산하였다(Fig 7).

Table 2. 방선균 BK185 포자생산을 위한 고체배지선발

배 지 명	포자형성 소요일수(일)	수확량 (spores/ml)	배지조성
GYM agar	15	$4 \times 10^6$	glucose 4g, yeast extract 4g, malt extract 10g, CaCO <sub>3</sub> 2g, agar 20g
chitin agar	18	$7 \times 10^6$	chitin 2.5g, K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 0.7g, KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0.5g, MgSO <sub>4</sub> 0.5g, FeSO <sub>4</sub> 0.01g, ZnSO <sub>4</sub> 0.001g, agar 20g
PDA + 무기영양원	10	$3 \times 10^8$	chitin agar무기영양원 +200g 감자추출물



Fig 6. 방선균 BK185원제생산



원제 1010spores/g

퇴비첨가용 입제

입제 생균수조사

Fig 7. 퇴비첨가용 방선균 BK185 입제생산

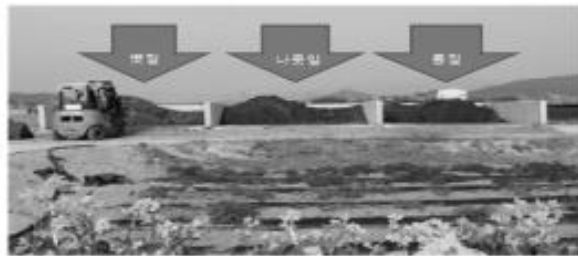
### (시험 3) 발효퇴비 제조

#### 가. 퇴비 제조

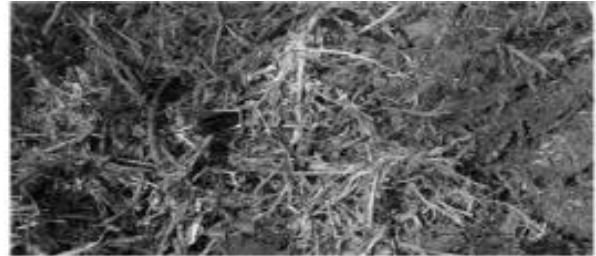
실험에 사용한 우분은 한우사육 우사에서 수집하여 1년간 야적한 것(Lundquist et al. 1999, Magdoff & Van Es. 2001)으로 pH 8.6, C/N율은 20.5 이었다(Table 3). 인삼재배 농가에서는 인삼밭 예정지에 우분을 퇴비살포기로 살포한 후 호밀이나 수단그라스를 파종하고 1~2년간 경운하여 관리하였다. 방선균 BK185를 첨가한 기능성퇴비제조를 위해 벧짚, 나뭇잎, 콩짚을 각각 우분과 층층이 쌓아 발효시킨 결과 콩짚을 섞은 퇴비가 발효속도가 빨라 120일 후에는 입제로 압축시킬 수 있게 잔재물이 부스러졌다(Fig 8). 구입한 퇴비의 후 발효는 퇴비장에 퇴적한 후 15일 간격으로 3회 뒤집기를 하고, 45일에 관수하였다. 퇴비 발효과정에서 온도변화는 우분은 최대 68°C 상승하고, 3회 뒤집기와 1회 관수한 40일 후에는 45°C로 안정화되었다. 콩짚을 섞은 우분은 퇴적 20일 후부터 우분보다 온도가 상승하여 55일까지 60°C 이상을 유지하였고 3회 뒤집기와 1회 관수 후 80일부터 48°C 이하로 안정화되었다(Fig 9).

Table 3. 우분 화학성분

구분	pH	회분(%)	OM(%)	T-C(%)	T-N(%)	C/N율
합량	8.6	70.1	34.3	16.4	0.8	20.5



퇴비발효



우분 + 콩짚

Fig 8. 퇴비발효

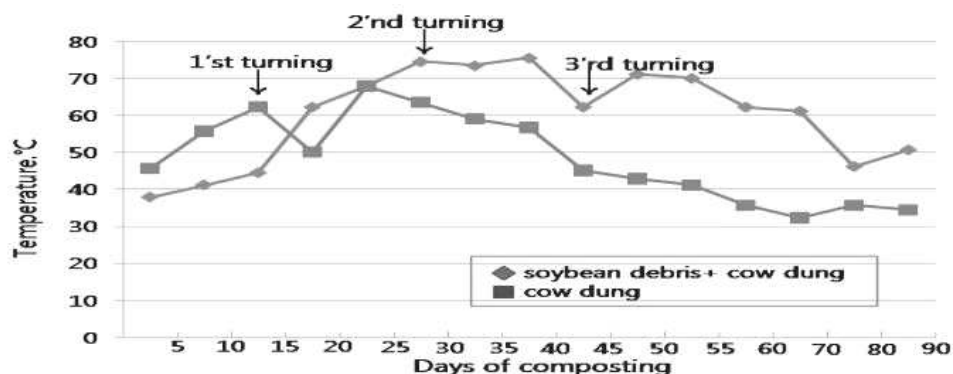


Fig 9. 퇴비발효 기간별 온도변화

우분에 콩짚을 섞어 발효시킨 퇴비는 안정화되어 산도와 EC가 낮아지고(Tang et al, 2007), 총 질소함량이 증가하였다(Table 4). 방선균 BK185의 정착능력을 조사하기 위해(Wang et al, 1989 Whipps 2001) 퇴비추출액에 대한 방선균 BK185의 포자발아율을 조사한 결과 방선균 BK185는 영양원이 전혀 없는 멸균수에서 2년 이상 발아하지 않았으며 발효가 안된 우분추출액에서도 발아율이 20% 이내로 낮았다. 방선균 BK185 포자의 발아(Williams 1978, Yoo 등, 1996) 위해서는 탄수화물의 공급이 요구되었으며 sucrose를 첨가하면 발아율이 90% 이상이었다. 발효퇴비는 부숙 중기와 후기에 수집한 추출액에서 90% 정도의 포자발아가 확인되어 발효퇴비 내에서 방선균 BK185의 활력이 왕성할(Wellington et al. 1990, Janvier et al 2007)것으로 예견되었다(Fig 10).

Table 4. 방선균 BK185첨가 인삼뿌리병 방제용 기능성퇴비 영양성분

구 분	pH	건물중(%)			OM(%)	C/N율
		N	P	K		
합 량	6.9	1.98	0.14	2.17	48.2	18.7

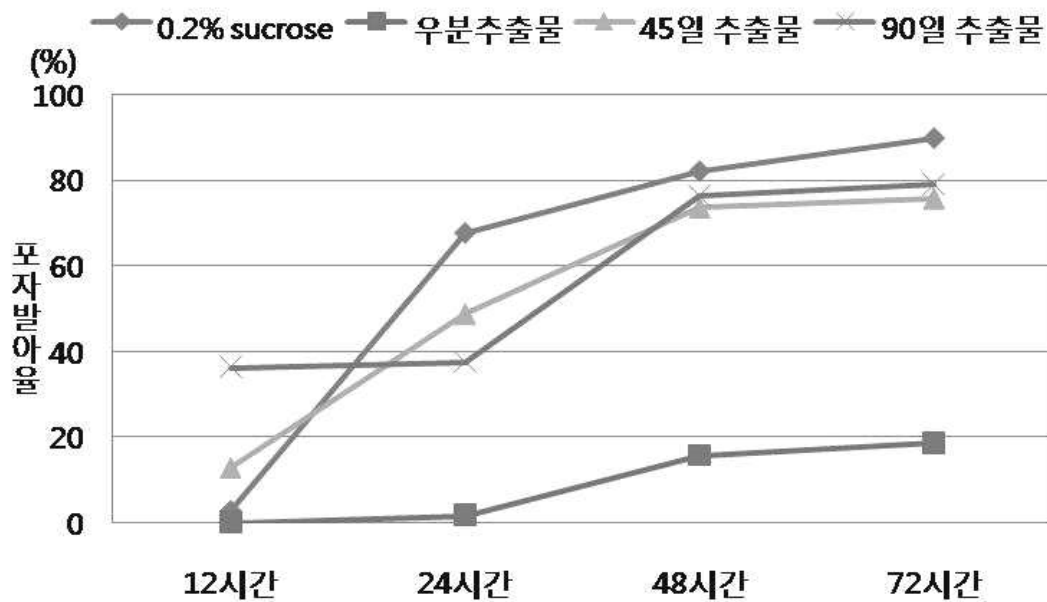


Fig 10. 방선균 BK185 발효퇴비 내 정착력

#### 나. 미생물퇴비제조

우분과 콩짚을 섞어 120일간 후 발효시킨 퇴비는 온도, pH, 무기영양원 함량이 적정범위로 안정되어, 방선균 BK185입제를 톤당 10kg을 넣고 혼합한 다음 30일간 퇴적하여 인삼뿌리썩음병 방제용 기능성퇴비(Kamalakaran et al. 2003)를 준비하였다.

6년근 인삼을 수확한 인삼밭에서 인삼뿌리썩음병 피해가 심했던 토양을 채취하여 준비한 미생물퇴비를 3수준으로 살포하고(Bonanomi et al. 2010) 1달 후 토양을 채취하여 Fig 11과

같이 멸균한 유리페트리접시에 놓아 병원균발아 실험준비를 하였다. 고체배지에서 자란 *F. solani* 포자는 가아제로 걸러 균사를 최대한 제거하여 준비한 현탁액을 0.25 $\mu$ m 투명 membrane filter paper에 0.1ml 씩 놓고 vaccum하여 포자를 올려놓은 다음 준비된 토양시료에 밀착시키고 24시간 28°C배양기에서 배양한 다음 Rosebengal 염색액으로 염색하여 400배 광학현미경하에서 발아여부를 조사하였다. 발병토에서 처리 24시간 후 *F. solani*의 macroconidia 발아율은 28.6%이었으며 미생물퇴비를 첨가한 토양에서는 10.6% 이하로 발아율이 억제되었다(Duniway 2002). 발병토에서 발아한 포자는 균사생장이 왕성하고 2일 후에는 포자구분이 어렵게 균사가 덮여있었으나 미생물퇴비에서 발아된 포자는 균사생장이 더디고 균사 끝 부분이 뭉툭하게 길이생장이 중지되었다(Table 5).

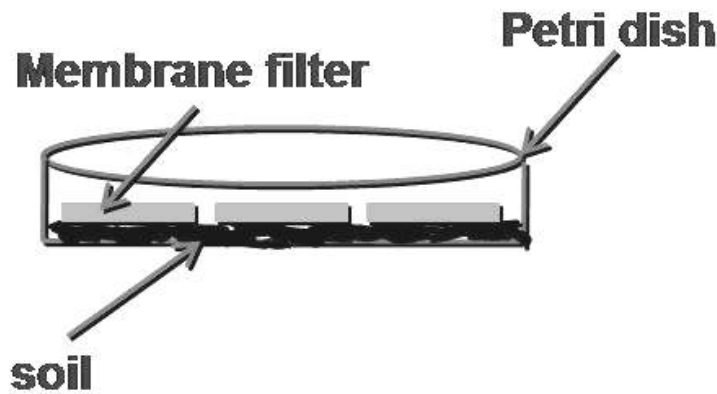


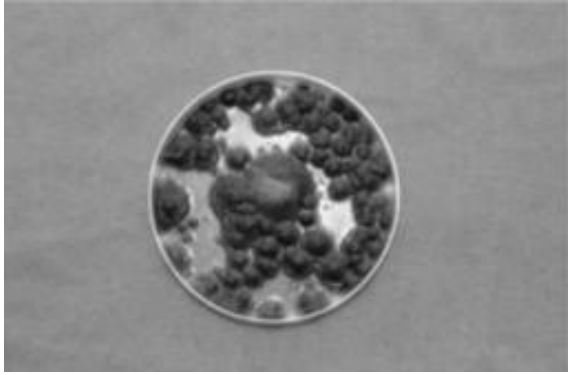
Fig 11. 병원균 토양정균현상 조사

Table 5. 방선균 BK185 퇴비 첨가에 의한 발병토양 내 *F. solani* 포자 발아 억제 효과

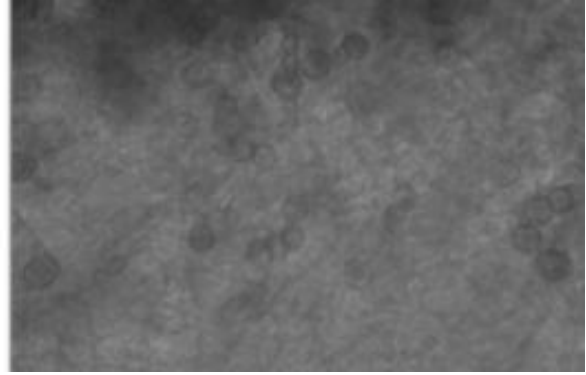
퇴비살포량 (3.3m <sup>2</sup> 당)	<i>F. solani</i> 포자 발아율(%)		
	발효퇴비	미생물퇴비	발병토
0.5kg	18.6±3.8	6.4±2.7	
1kg	12.6±2.3	8.6±3.1	28.6±7.3
3kg	19.4±1.6	10.6±1.3	

#### 다. 방선균 BK185첨가 퇴비 인삼뿌리병 방제효과 기내시험

멸균토양에 미생물퇴비를 첨가하여 인삼뿌리썩음병 방제효과를 조사하기 위해 2013년 10월 초 6년근 인삼을 수확예정인 밭에서 인삼뿌리썩음병으로 결주된 토양을 채취하여 3일간 1시간씩 121°C로 고압증기소독한 후 *C. destructans* 후막포자와 *F. solani* 포자를 접종하여 이 병토양을 준비하였다(Fig 12). 병원균 밀도는 각각 250×16.4, 32.6×250 cfu/g.soil로 조정하였다. 두 병원균의 병원성은 *C. destructans*가 *F. solani*보다 강해 46.7%의 발병율을 보였다. 우분에 콩짚을 섞어 발효시킨 퇴비를 처리한 시험구에서는 발병율이 각각 68.3, 57.2%로 병발생을 촉진시켰고, 방선균 BK185를 첨가한 시험구에서는 *C. destructans*에 의한 발병율이 4.2%로 무처리 대비 91%의 방제효과(Table 6)가 있었다.



*C. destructans* 액체배양



*C. destructans* 후막포자



병원균 접종토양

Fig 12. 병원균 인공접종토양 내 병방제효과시험

Table 6. 방선균 BK185 첨가 기능성퇴비 인삼뿌리썩음병 방제효과

	병원균밀도 (250×cfu/g.soil)	발병율(%)		
		무처리	우분발효퇴비	미생물퇴비
<i>C. destructans</i>	16.4	46.7b	68.3a	4.2c
<i>F. solani</i>	32.6	5.2b	57.2a	6.3b

DMRT=0.05

(시험 4) 유기농 묘삼생산용 기능성인공상토 시험

가. 인삼종묘 생산용 인공상토 개발

인삼재배는 자가채종한 종자를 약 3개월 간 개갑 처리한 후 모밭에서 1년 간 재배하여 묘삼을 키우고 굴취하여 본 밭에 옮겨심는다. 관행적인 묘삼재배는 신작지 토양에 발관리를 한 후 두둑을 만들어 파종하는 토직모밭(Fig 13)이나 산에서 채취한 마사토에 약토를 혼합한 후

상광작업을 하여 파종하는 양직모밭(Fig 14)에서 묘삼을 키우고있으나 토양병에 의해 우량묘삼의 수확량이 적고, 한 한번 수확한 땅에는 재그루를 할 수 없어(Fig 15) 새땅을 찾아 유량식으로 묘삼을 재배하고 있어 이를 해결할 수 있는 대책마련이 필요하였다.



Fig 13. 토직모밭

이를 위해 본 연구자들은 상자에 가벼운 상토를 채운 후 인삼종자를 파종하여 고정된 시설에서 묘삼을 안정적으로 생산할 수 있는 인공상토를 개발하였다(Fig 16). 양직모밭에서는 5월 말에 모잘록병이 발생하여 6회 이상 방제약제를 살포하고, 생육상황에 따라 2회 정도 추비를 하였으나 미생물퇴비를 사용한 상자재배에서는 출현율이 양직모밭보다 6% 높았으며(Table 7), 모잘록병은 장마철이 지난 8월 말에 발생하여 약제방제 2회로 종삼을 수확(Table 8)하였다.



모밭 흙섞기 작업



상광작업

Fig 14. 양직모밭



신작지



재작지

Fig 15. 양직모밭 생육상황



Fig 16. 인공상토 상자재배

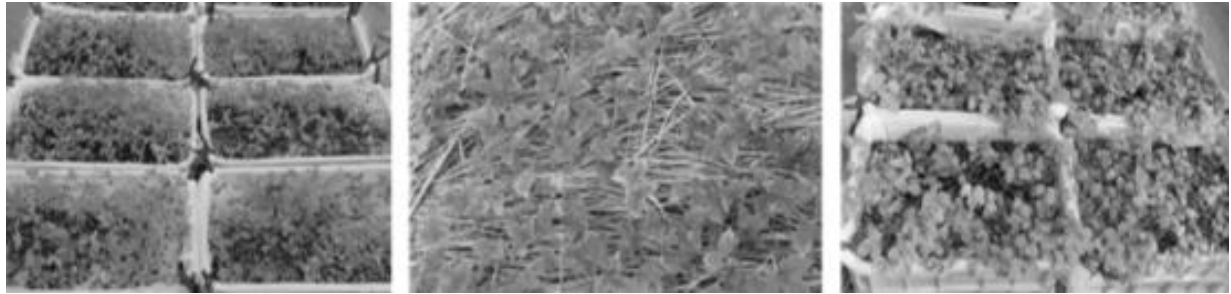
Table 7. 종자파종 및 출현율

구 분	재배방법		
	인공상토	양직묘	미생물상토
파종시기	2014. 4. 22	2013. 11. 21	2014. 4. 28
파종방법	기계파종	손파종	손파종
출현율(%)	83	74	80
자경종종자	4년근	4년근	4년근

Table 8. 묘삼발 병해관리

구 분	재배방법		
	인공상토	양직묘	미생물상토
잘록병 초기발생	-	5월 30일	8월 26일
병방제(회)	0	6	2
영양제관주	1	2	0
발병율(%)	0	2.4	0.2

미생물상토를 이용해 상자육묘를 한 결과 영양공급이 원활하여 양직묘나 인공상토 보다 생육이 촉진되었으며(Fig 17), 지상부는 물론 근권생육도 촉진되었다(Fig 18).



인공상토

양직묘

미생물퇴비 첨가상토

Fig 17. 처리별 종삼생육상황

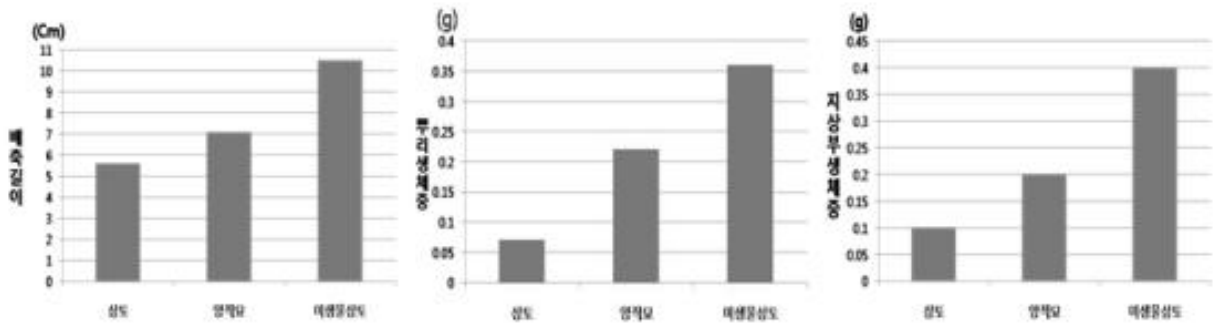


Fig 18. 생육중기 종삼 부위별 생육상황

미생물퇴비에서 재배한 묘삼은 생육중기에 가시적으로 생육이 촉진(El-Tarabily 2008, Franzluebber et al. 1995)된 것을 확인되었으며(Fig 19) 묘삼의 평균 무게는 AMOF첨가상 토 0.83g로 양직묘의 0.64g보다 품질이 향상되었으며, 주근장도 18cm이상 인 개체가 60%이상이었다(Fig 20).



생육중기



종삼수확

Fig 19. 미생물퇴비 종삼생육

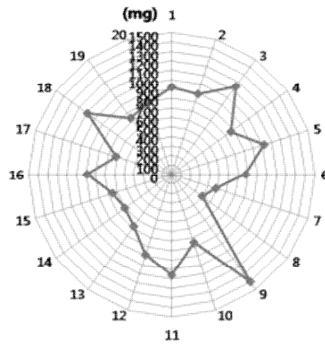


Fig 20. 미생물상토 종삼 주당 뿌리무게 분포

### (시험 5) 미생물퇴비 인삼 포장시험

2년간 예정지관리를 위해 2010년 가을 논 14a에 퇴비를 살포하고 하였다. 2011년과 2012년에는 봄에는 호밀을 가을에는 수단그라스를 파종하여 키운 후 경운하고, 2012년 가을에 발효퇴비에 방선균 BK185를 첨가한 퇴비를 300kg/10a로 살포하여 경운한 다음 두둑짓기를 하였다. 종삼은 2013년 봄에 칸 당(1.65m<sup>2</sup>) 8×9=72주씩 파종하였다(Fig 21).

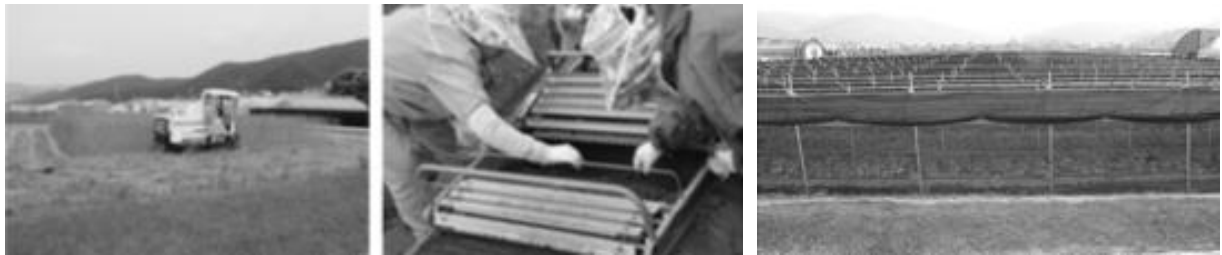


Fig 21. 인삼밭 예정지관리 및 재배

3년근 인삼밭에는 뿌리가 썩어 결주가 증가하여(Fig 22) 농가포장과 시판퇴비와 관행적으로 우분퇴비를 살포한 후 인삼밭 예정지를 관리한 인삼밭에서는 발병율이 각각 23.2%, 15.4%였으나 미생물퇴비를 살포한 시험구의 발병율은 10.8%로 낮았으며(Hoitink & Boehm 1999, Cho 등 1995, Nolling 2002)(Table 9), 잔뿌리손상에 의한 생리장해주 발생률도 낮았다(Fig 23, Table 10).



Fig 22. 인삼뿌리썩음병 발병 인삼밭



Fig 23. 잔뿌리손상에 의한 지상부 생육장해

Table 9. 인삼밭 미생물퇴비 살포효과

처리구	입모율(%)	발병율(%)	생리장해(주/칸)
미생물퇴비	89.2±6.7a	10.8	2.7
시판퇴비	84.6±8.3a	15.4	6.3
농가포장	76.8±5.7b	23.2	4.8

DMRT 0.05

Table 10. 처리구 별 인삼뿌리 생육상황

처리구	g/주			평균
	1반복	2반복	3반복	
미생물퇴비	36.1	44.0	41.3	40.5b
시판퇴비	26.2	31.1	28.5	28.6a
농가포장	29.2	31.6	19.1	26.6a

DMRT 0.01

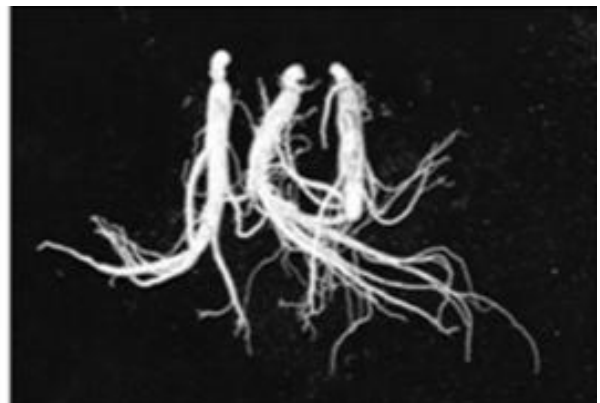
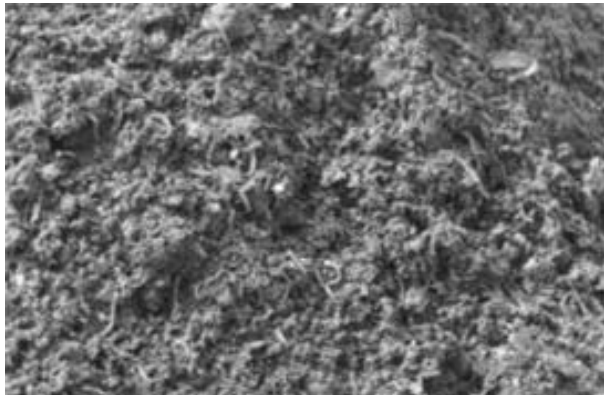


Fig 24. 인삼뿌리생육상황(좌-미생물퇴비살포구, 우-인삼재배농가)

고품질 인삼생산을 위해 인삼밭에 뿌리는 퇴비를 정량화하기 위해 우분과 혼합하여 발효시킨 콩짚퇴비는 수분함량이 56.7%로 압출식 펠렛기로 펠렛퇴비를 생산하면 하루에 6회 정도 기기정비를 실시해야하고, 시간 당 생산량이 57kg으로 낮았다(Table 11). 이를 해결하기 위해 발효퇴비를 자연건조시켜 수분함량을 20%이하로 낮춘 다음 방선균 BK185를 chitin과 등겨에 섞어 증량한 다음 제올라이트를 첨가하여 펠렛작업을 실시하였다(Fig 25).

Table 11. 발효퇴비입제생산

발효퇴비	수분함량(%)	시간당 생산량(kg)	정비횟수/1일	경도(kg/cm <sup>2</sup> )
벼 짚	42.4	80	4	3.3
콩 짚	56.7	57	6	3.1
나뭇잎	38.9	97	3	5.0



발효퇴비



수분조절 20%이하



방선균 BK185 첨가



펠렛퇴비제조

Fig 25. 펠렛 미생물퇴비제조 과정

생산한 펠렛퇴비는 사용목적에 따라 퇴비살포용, 추비용, 인삼밭관리용으로 구분하여 퇴비 배합비율과 방선균 BK185 생균수를 조정하여 제조하였으며(Fig 26), 농가보급을 위해 생산한 펠렛퇴비는 25kg씩 포대에 포장하여 농가에 분양하였다(Fig 27).



Fig 26. 용도별 미생물펠릿퇴비



Fig 27. 미생물 펠릿퇴비 분양

#### 4. 적 요

##### (시험 1) 인삼 병원균에 대한 항균활성을 갖는 유용미생물선발

- 가. 인삼 주요토양병에 대한 생물적방제법 개발을 위해 인삼뿌리썩음병(*C. destructans*, *F. solani*), 균핵병(*S. sclerotiorum*), 모잘록병(*R. solani*) 그리고 최근에 밝혀진 *S. nivalis*에 대해 길항력을 갖는 *Bacillus*속 23균주와 방선균 1종을 분리하였다.
- 나. 저온(18~20°C)에서 생육이 왕성하고, 국내 연구결과 인삼뿌리썩음병원성이 강한 것으로 보고된 *C. destructans*을 효과적으로 방제할 수 있는 길항균주로 *Bacillus*속에 속하는 8균주(BYK1473, 1474, 1480, 1439, 1490, 1492, 1404, GH1-13)를 확보하였다. 특히 BYK1473과 1439는 공시한 5종의 인삼병원균에 대한 길항력이 큰 것으로 확인되었다.
- 다. 토양 희석액을 배지에 접종하여 배양하였을 때 성장속도가 느리고, 군사생장을 하며 1개월 이후에 나선형으로 배열된 포자를 형성하는 방선균 BK185는 30°C에서 배양하면 토양고유의 향을 생산하였다. 공시한 5종의 인삼병원균에 대한 군사생장 억제력이 강하여 대치배양시 군사생장속도가 빠른 *S. sclerotiorum*도 효과적으로 억제하였다.

## (시험 2) 길항균 분류·동정 및 미생물제형화

- 가. 방선균 BK185는 16S rRNA유전자분석을 이용한 유전적 유연관계를 조사한 결과 *Streptomyces sporoclivatus* 와 *S. antimycoticus*와 유사한 것으로 확인하였으며, 정확한 동정을 위해 생화학적 분해능과 항균물질생산 관여 유전자 분석기법인 PKS(Type-1 polyketide synthase)와 NRPS(Non-ribosomal polypeptide synthetase)을 이용하여 생합성유전자를 검출하여 상동성을 확인한 결과 geldanamycin을 생합성하는 유전자를 보유한 방선균과 94%의 상동성을 보여 *S. geldanamycininus* BK185로 동정하였다.
- 나. 기능성퇴비 제조시 방선균 BK185를 첨가하기 위해 필요한 포자생산을 위해 고체배지와 액체배지에서 배양한 결과 액체배지에서는 배양기간이 30일 이상으로 길고, 수확량이 적어 경제성이 없었다. 그러나 감자추출액에 무기영양원을 첨가한 고체배지에서는 배양 10일 후에  $\text{mL}$  당  $3 \times 10^8$ 포자수를 수확할 수 있어 대량배양이 가능하였고, 기존의 발효조를 이용한 배양방법에 비해 시설투자비와 운영비가 적게 소요되어 경제성이 높았다.
- 다. 수확한 포자는 보호제로 탈지분유에 현탁한 후 동결건조하여  $\text{g}$ 당  $10^{10}$ 포자수로 원제를 생산하였다. 생산한 원제는 등겨, 제올라이트, 키틴질을 혼합한 증량재에  $10^6$ 포자수/ $\text{g}$ 으로 조정된 후 펠렛성형기로 입제를 생산하였다.

## (시험 3) 퇴비 발효 및 미생물첨가 유기질비료(AMOF) 제조

- 가. 본 연구에 사용한 우분은 인삼재배농가에서 관행적으로 인삼예정지에 사용하고 있는 것으로 화학적 성분을 조사한 결과 pH 8.6, 탄질을 20.5이고, 총 질소함량 0.8%이었다. 인삼뿌리썩음병 방제용 기능성퇴비제조를 위해 우분에 콩짚을 섞어 준비한 퇴비는 낙엽이나 볏짚을 섞은 퇴비에 비해 발효속도가 빠르고, 퇴적 후 20일부터 55일까지 온도가  $60^\circ\text{C}$ 이상으로 유지되었다. 퇴적 80일 부터는  $48^\circ\text{C}$ 이하로 유지되어 후발효가 진행되었다.
- 나. 퇴적 120일 후 후발효가 끝난 퇴비는 pH가 6.9이고, 화학적 비료성분으로 N(1.98%), P(0.14%), K(2.17%)이었다. 퇴비 부숙단계별 방선균BK185의 정착력을 조사한 결과 완전발효시킨 퇴비에서 방선균 BK185의 포자발아율이 90%로 미숙퇴비에서의 발아율 20%보다 높아 발효시킨 퇴비에 방선균 BK185를 접종하여 토양에 살포하면 인삼토양병 방제효과가 증진될 것으로 예견되었다.
- 다. 발효시킨 퇴비에 방선균BK185를 첨가한 미생물퇴비(AMOF: antagonistic micro-organism added organic fertilizer)를 인삼뿌리썩음병으로 피해를 본 토양에 살포한 결과 병원균의 생장을 효과적으로 억제하였으며, 인삼뿌리썩음병원균(*C. destructans*, *F. solani*)을 접종한 토양에 AMOF를  $3.3\text{m}^2$  당  $1\text{kg}$ 씩 혼화처리한 결과 병방제효과가 91%로 높게 확인되었다.

#### (시험 4) 유기농 묘삼생산을 위한 기능성 인공상토 시험

- 가. 양직모밭에서는 5월 말에 모잘록병이 발생하여 6회 이상 방제약제를 살포하고, 생육상황에 따라 2회 정도 추비를 하였으나 미생물퇴비를 사용한 상자재배에서는 출현율이 양직모밭보다 6% 높았으며, 모잘록병은 장마철이 지난 8월 말에 발생하여 약제방제 2회로 종삼을 수확하였다.
- 나. 피트모스와 펄라이트를 1:1로 혼합한 상토에서 재배한 묘삼은 비료성분이 부족하여 생육이 불량하였으나 AMOF를 첨가한 상토에서 재배한 묘삼은 생육중기에 가시적으로 생육이 촉진된 것이 확인되었다. 각 처리구별 생육중기 묘소질을 조사한 결과 배축길이 10.5cm, 뿌리생체중 0.36g, 지상부생체중 0.40g으로 양직묘 보다 생육이 촉진되었으며, 수확한 묘삼의 평균 무게는 AMOF첨가상토 0.83g로 양직묘의 0.64g보다 품질이 향상되었으며, 주근장도 18cm이상 인 개체가 60%이상이었다.

#### (시험 5) 미생물퇴비 인삼포장시험

- 가. 인삼뿌리썩음병방제를 위한 미생물퇴비의 살포량을 정량화하기 위해 야적하여 준비한 AMOF를 수분함량 20% 이하로 건조시킨 다음 압출식 펠렛기로 펠렛퇴비를 생산하였다.
- 나. 3년근 인삼이 자라고있는 농가포장과 시판퇴비를 살포한 인삼밭에서 발병율이 각각 23.2%, 15.4%로 높았으나 미생물퇴비를 살포한 시험구의 발병율은 10.8%로 낮았으며, 잔뿌리손상에 의한 생리장해주 발생률도 낮았다.
- 다. 미생물퇴비를 살포한 인삼밭의 주당 뿌리무게는 40.5g으로 농가 인삼밭 26.6g과 시판퇴비를 살포한 인삼밭 28.6g보다 수량이 증가하였다.

### 5. 인용문헌

- Albiach, R., Canet, R., Pomares, F., Ingelmo, F. (2000) Microbial biomass content and enzymatic activities after application of organic amendments to a horticultural soil. *Bioresour. Technol.* 75, 43-48.
- Anukool, U., W. H. Gaze, and E. M. Wellington (2004) *In situ* monitoring of streptothricin production by *Streptomyces rochei* F20 in soil and rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:5222-5228.
- Badr EL-Din, S.M.S, Attia, M., Abo-Sedera, S.A. (2000) Field assessment of composts produced by highly effective cellulolytic microorganisms. *Biol. Fertil. Soils.* 32, 35-40.
- Bailey, K.L., Lazarovits, G.(2003) Suppressing soil-borne diseases with residue management and organic amendments. *Soil Tillage Res.* 72, 169-180.
- Bonanomi, G., V. Antignani, M. Capodilupo and F. Scala (2010) "Identifying the characteristics of organic soil amendments that suppress soilborne plant diseases." *Soil Biology and Biochemistry* 42(2): 136-144.

- Burroughs, N. J., P. Marsh, and E. M. Wellington (2000) Mathematical analysis of growth and interaction dynamics of *streptomycetes* and a bacteriophage in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:3868-3877.
- Chet, I. and R. Baker (1980). Induction of suppressiveness to *Rhizoctonia solani* in soil. *Phytopathology* 70, 994-998.
- Chung Y. R., S. H. Ohh, H. S. Chung (1989). Antagonistic activity of *Streptomyces* species against *Fusarium solani* causing ginseng root rot. *Kor. Jour. Microbiol.* vol 27, No.1, 56-62.
- Cho, D. H., Ahn, I. P., Yu, Y. H., Ohh, S. H. and Lee, H. S. (1995) Effect of incubation period, temperature and pH on mycelia growth of *Cylindrocarpon destructans* (Zinssm.) Scholten causing root-rot of ginseng. *Korean J. Ginseng Sci.* 2:181-187.
- Drury, C.F., Stone, J.A., Findlay, W.I. (1991) Microbial biomass and soil structure associated with corn, grass and legumes. *Soil Sci. Soc. of Amer. J.* 55, 805-811.
- El-Tarabily KA. (2008) Promotion of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plant growth by rhizosphere competent 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase-producing *Streptomyces* actinomycetes. *Plant*.
- Franzluebber, A.J., Hons, F.M., Zuberer, D.A. (1995) Soil organic carbon, microbial biomass and mineralisable carbon and nitrogen in sorghum. *Soil Sci. Soc. of Amer. J.* 59, 460-466.
- Guo, R., X. Liu, S. Li and Z. Miao (2009) In vitro inhibition of fungal root-rot pathogens of *Panax notoginseng* by rhizobacteria. *Plant Pathol. J.* 25(1):70-76.
- Hoitink Haj, Boehm Mj, (1999) Biocontrol within the context of soil microbial communities: A substrate-dependent phenomenon. *Annual Review of Phytopathology* 37, 427-46.
- Jang, C.-S., J. Lee, S. Kim, J. Song, S. Yoo and H. Kim (2005) Specific detection of root rot pathogen, *Cylindrocarpon destructans*, using nested PCR from ginseng seedlings. *Res. Plant Dis.* 11(1):48-55.
- Jang, Y.L. and Y.H. Kim (2011) Biocontrol efficacies of *Bacillus* species against *Cylindrocarpon destructans* causing ginseng root rot. *Plant Pathol. J.* 27(4): 333-341.
- Janvier, C., F. Villeneuve, C. Alabouvette, V. Edel-Hermann, T. Mateille and C. Steinberg (2007) "Soil health through soil disease suppression: Which strategy from descriptors to indicators?" *Soil Biology & Biochemistry* 39(1): 1-23.
- Kamalakaran, A., Mohan, L., Kavitha, K., Harish, S., Radjacomare, R., Nakkeeran, S., Parthiban, V K., Angayarkanni, T. (2003) Enhancing resistance to stem

- stolon rot of pepper mint (*Mentha piperita* L.) using biocontrol agents. Acta Phytopathol. Hun. 38, 293-305.
- Kim sung il, Haet nim, Lee kwang jae, 2014, The effect of *Streptomyces* BK185 added compost on root-rot control and growth enhancement of ginseng. the 3<sup>rd</sup> korea-japan joint symposium, B-23, p116.
- Lee, S.-G. (2004) *Fusarium* species associated with ginseng (*Panax ginseng*) and their role in the root-rot of ginseng plant. Res. Plant Dis. 10(4):248-259.
- Lundquist, E. J., Scow, K. M., Jackson, L. E., Uesugi, S. L., and C. R. Johnson (1999) Rapid response of soil microbial communities from conventional, low input, and organic farming systems to a wet/dry cycle. Soil Biol. Biochem. 31, 1661-1675.
- Magdoff, F., and H. van Es. (2001) *Building Soils for Better Crops*. 2nd ed. Sustainable Agriculture Network. Beltsville, MD. [www.sare.org/publications/soils.htm](http://www.sare.org/publications/soils.htm).
- Manteca, A., R. Alvarez, N. Salazar, P. Yagüe, and J. Sanchez (2008) Mycelium differentiation and antibiotic production in submerged cultures of *Streptomyces coelicolor*. Appl. Environ. Microbiol. 74:3877-3886.
- Noling, J. W. (2002) The practical realities of alternatives to methyl bromide: Concluding remarks. Phytopathology 92:1373-1375.
- Novella, I. S., C. Barbes, and J. Sanchez (1992) Sporulation of *Streptomyces antibioticus* ETHZ 7451 in submerged culture. Can. J. Microbiol. 38:769-773.
- Ramamoorthy, V., Viswanathan, R., Raguchander, T., Prakasam, V., Samiyappan, R. (2001) Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. Crop Prot. 20, 1-11.
- Tang J.C., Shibata A, Zhou Q, Katayama A. (2007): Effect of temperature on reaction rate and microbial community in composting of cattle manure with rice straw. J. Biosci Bio eng. 104(4):321-8.
- Wang, Z., D. L. Crawford, A. L. Pometto, and F. Rafii (1989) Survival and effects of wild-type, mutant, and recombinant *Streptomyces* in a soil ecosystem. Can. J. Microbiol. 35:535-543.
- Wellington, E. M., N. Cresswell, and V. A. Saunders (1990) Growth and survival of *streptomycete* inoculants and extent of plasmid transfer in sterile and nonsterile soil. Appl. Environ. Microbiol. 56:1413-1419.
- Whipps, J. M. (2001) Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. J. Exper. Botany 52, 487-511.
- Williams, S. T. (1978) *Streptomyces* in the soil ecosystem, p. 137-144. In M. Mordarski, W. Kuryłowicz, and J. Jeljaszewicz (ed.), *Nocardia and*

Streptomyces. Fischer Verlag, New York, NY.

Yoo SJ, Cho JW, Jo JS, Yu SH. (1996) Effect of physical and chemical factors on the formation and germination of chlamydospore of *Cylindrocarpon destructans* causing root rot of *Panax ginseng*. Korean J Plant Pathol, 12:422-7.

Yu, L. P., Z. Jiang, Y. X. Wang, Y. H. Zhang, and J. Li (2011) Screening of two biocontrol strains of *Bacillus subtilis* against ginseng soil-borne disease and their antifungal activities. Plant Diseases and Pests 2(2):16-18.

## 6. 연구결과 활용

연도(연차)	활용구분	제 목
2014(3년)	영농활용	길항미생물을 이용한 인삼뿌리병방제용 퇴비제조(자체)
	"	인공상토를 활용한 종삼 상자재배기술(자체)
	학술발표	The effect of Streptomyces BK185 added compost on root-rot control and growth enhancement of ginseng(한국식물병리학회)
2012(1년)	학술논문	인삼뿌리썩음병에 길항력이 있는 Bacillus균의 분리 동정 및 특성조사(농약과학회지, vol.16,No.4 357~363)

## 7. 연구원 편성

구분	소속	직급	성명	수행업무	참여년도		
					'12	'13	'14
과제책임자	강원도원 인삼약초연구소	농업연구관	김성일	과제 총괄	○	○	○
세부책임자	인삼약초연구소	농업연구관	김성일	세부주관 수행	○	○	○
공동연구자	인삼약초연구소	농업연구사	모영문	통계분석	○	○	○
	인삼약초연구소	"	조운상	자료수집	○	○	○
	인삼약초연구소	"	정햇님	포장결과조사	○	○	○
	인삼약초연구소	"	이광재	행정업무지원	○	○	○
	인삼약초연구소	기계운영서기	이상규	농기계운영	○	○	○
	인삼약초연구소	운전서기	윤석원	포장관리	○	○	○