

녹비작물 추출물의 감자 더듬이병균에 대한 항균력 검정

박종인, 정희정, 배용희¹, 강권규², 노일섭*순천대학교 원예학과, ¹고흥군 농업기술센터, ²한경대학교 원예학과**Antimicrobial Activity against Potato Common Scab (*Streptomyces scabiei*) of Green Manure Crop Extracts****Jong In Park, Hee Jeong Jung, Yong Hui Bae¹, Kwon Kyo Kang² and Ill Sup Nou***

Department of Horticulture, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

¹Agricultural Technology & Extension Center, Goheung 548-802, Korea²Department of Horticulture, Hankyong National University, Ansong 456-749, Korea

Abstract - This study was designed to investigate the possible role of 10 green manure crop extracts in antimicrobial activity against potato common scab (*Streptomyces scabiei*). Ten green manure crops were extracted with hexane, ether, ethylacetate, methanol and water. The DPPH radical scavenging activity of ether, methanol and water was higher than those of hexane and ethylacetate fractions. The fractions of methanol, ethylacetate, ether and water showed antimicrobial activity against *Streptomyces scabiei* from the concentration of 0.25 mg/mL. Methanol fraction of Sorghum showed the highest antimicrobial activity against this microorganism. This result suggests the sorghum extract was the best as good green manure crop with antimicrobial activity against *Streptomyces scabiei*.

Key words - Potato, Green manure crops, *Streptomyces scabiei*, Antimicrobials

서 언

감자 더듬이병(*Streptomyces scabies*)은 토양 및 종자로 전염되며, 괴경의 품질을 크게 떨어뜨리는 심각한 병해로써 우리나라와 같이 경지면적이 제한되어 연작이 이루어지는 감자 재배지에 많이 발생한다. 특히 봄과 가을에 걸쳐 감자의 연작재배가 이루어지는 남부 2기작 재배지대 및 제주도 지역에서 발병율이 높은 것으로 보고되었다(Park *et al.*, 2005; Hahm *et al.*, 1999; Hahm, 2000). 우리나라의 감자 더듬이병 피해율은 약 10~90% 정도의 피해를 입고 있는 것으로 나타나고 있으며, 주산지 토양조건 및 재배 시기 등에 따라 차이가 있는 것으로 보고되고 있다(Park *et al.*, 2002; Song and Kang, 2000).

더듬이병 발병에 관여하는 요인들로는 토양온도, 토양 pH, 토양의 무기원소, 괴경내 무기원소, 토양수분의 이온활성도, 토양의 통기성, 연작, 토양수분등 다양한 요인들이

관여하고 있는 것으로 알려져 있다(Mizuno and Yoshida, 1994; Simmoms and Keliing, 1987; Lambert and Manzer, 1991; Mizuno *et al.*, 1995; Kim, 2000; Carr, 1989). 더듬이병 방제를 위하여 다양한 연구들이 수행되었다. 관수에 의한 토양수분 조절, 양파, 콩, 옥수수 등으로 윤작하거나 휴경을 통한 작부체계 변경 등의 방법이 더듬이병의 방제에 효과적이라고 보고하였다. 또한 더듬이병에 감염된 토양에 유향을 살포함으로써 토양산도를 조절하거나, 또는 Mancozeb, 스트렙토마이신 황산염 옥시테트라사이클린을 씨감자에 처리하였을 때 더듬이병 방제에 효과가 있다고 보고하였다(Lapwood and Hering, 1970; Rich, 1983; Mizuno and Yoshida, 1994; Park *et al.*, 2002; Yiem *et al.*, 1990).

녹비작물이란 토양개량, 작물의 생육촉진 및 양분공급 등을 목적으로 재배하는 작물로 퇴비처럼 발효시키지 않고 재배된 신선한 식물체를 토양에 갈아엎어 투입하는 작물로서 양질의 유기물을 얻을 수 있고 미생물의 먹이가 많으며

*교신저자(E-mail) : nis@sunchon.ac.kr

로 토양 유효미생물의 증식이 활발하여 토양개량 효과가 크다. 또한, 녹비만으로도 토양개량, 작물의 생육촉진, 양분공급, 토양 유실방지 및 토양 물리성 개량효과가 있으며, 자연경관 보전 등의 많은 장점을 가진다(Seo *et al.*, 1998; Vaughan & Evanylo, 1998; Smith *et al.*, 1987, Cho *et al.*, 2010). 또한 각종 재배작물들의 연작장해를 경감시켜 주는 데 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

녹비작물로서는 헤어리베치, 자운영, 클로버, 알팔파, 네마장황 등 다양한 품종들이 현재 시판되고 있다. 이들 중 헤어리베치는 비료 공급 효과가 가장 크며, 전국 어느 지역에서나 재배가 가능하여 친환경농업에 유리한 녹비작물로 각광 받고 있다. 헤어리베치는 콩과식물로서 다른 두과 녹비작물에 비해 10 g kg⁻¹ 이상의 높은 질소 고정능을 갖고 있으며 C/N율이 15 미만으로 낮아 토양에 환원되면 8주 만에 75~80%가 분해되어 후작물에 양분공급이 가능하여 질소공급을 위한 녹비작물로 중요시되고 있으며, 토양개량, 미생물 번식 증가, 토양수분의 조절, 잡초 발생의 억제, 토양 침식 경감, 대기정화 등 여러 가지 기능을 갖고 있다(Seo *et al.*, 1998; Vaughan and Evanylo, 1998; Smiet *et al.*, 1987).

따라서, 본 연구는 시판되고 있는 10종의 녹비작물 추출물을 이용하여 감자 더듬이병균(*Streptomyces scabiei*)에 대한 항균력을 검정함으로써 친환경적인 방법으로 감자 더듬이병 경감을 위한 녹비작물 선발의 기초자료로 활용하고자 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 사용 균주

본 실험에 사용된 녹비작물은 수단그라스(Sundangrass, *Sorghum bicolor*), 헤어리베치(Hairy vetch, *Vicia villosa*), 호맥(Rye, *Secale cereale*), 이탈리아인 라이그라스(Italian ryegrass, *Lolium multiflorum*), 자운영(Chinese milkvetch, *Astragalus sinicus*), 크림슨 클로버(Crimson clover, *Trifolium incarnatum*), 크린솔고(Keurin solgo), 네마장황(Showy rattlebox, *Crotalaria spectabilis*), 네마장황(Sunn hemp, *Crotalaria juncea*), 하우스 솔고(Sorghum, *Sorghum bicolor*) 총 10가지 품종의 종자를 주식회사 캡스로부터 구입하여 2010년 03월 29일에 순천대학교 포장에 파종한 후 6월 20일에 수확하여 시료로 사용하였다. 실험

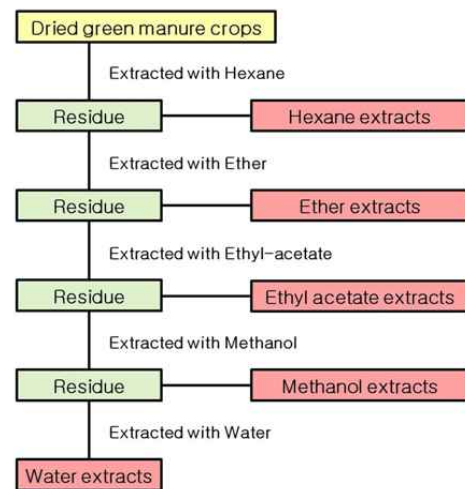


Fig. 1. Extraction procedure of green manure crops by using various solvents.

함에 사용된 더듬이병균(*Streptomyces scabiei*)은 농촌진흥청으로부터 분양받아 사용하였다.

다용매 연속 추출

각각의 녹비작물 건조시료 10 g을 Fig. 1과 같이 accelerated solvent extractor(ASE100, Dionex, USA)에 의한 용매별 분획으로 hexane, ether, ethylacetate, methanol 및 water로 연속 추출하여 추출물을 얻었다. 분획물은 농축하여 실험 시료로 사용하였다.

DPPH radical 소거활성 측정

각 시료의 전자공여능 측정은 Blois(1958)의 방법에 준하여 각 추출물의 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)에 대한 수소공여 효과로 측정하였다. 즉, 일정 농도의 시료 2 ml에 2×10⁻⁴M DPPH용액(dissolved in 99% methanol) 1 ml를 첨가하고, vortex mixing하여 37°C에서 30분간 반응시켰다. 이 반응액을 흡수분광광도계를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하여 전자공여능(electron donating ability, EDA%)으로 환산하여 나타내었다.

$$EDA(\%) = (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}} \times 100$$

A_{control} : 음성대조구(분획 미첨가)의 흡광도

A_{sample} : 실험구(분획 첨가)의 흡광도

추출 용매별 항균력 및 최소저해농도 측정

항균성 시험용 평판배지는 각각의 생육배지로 멸균된 기

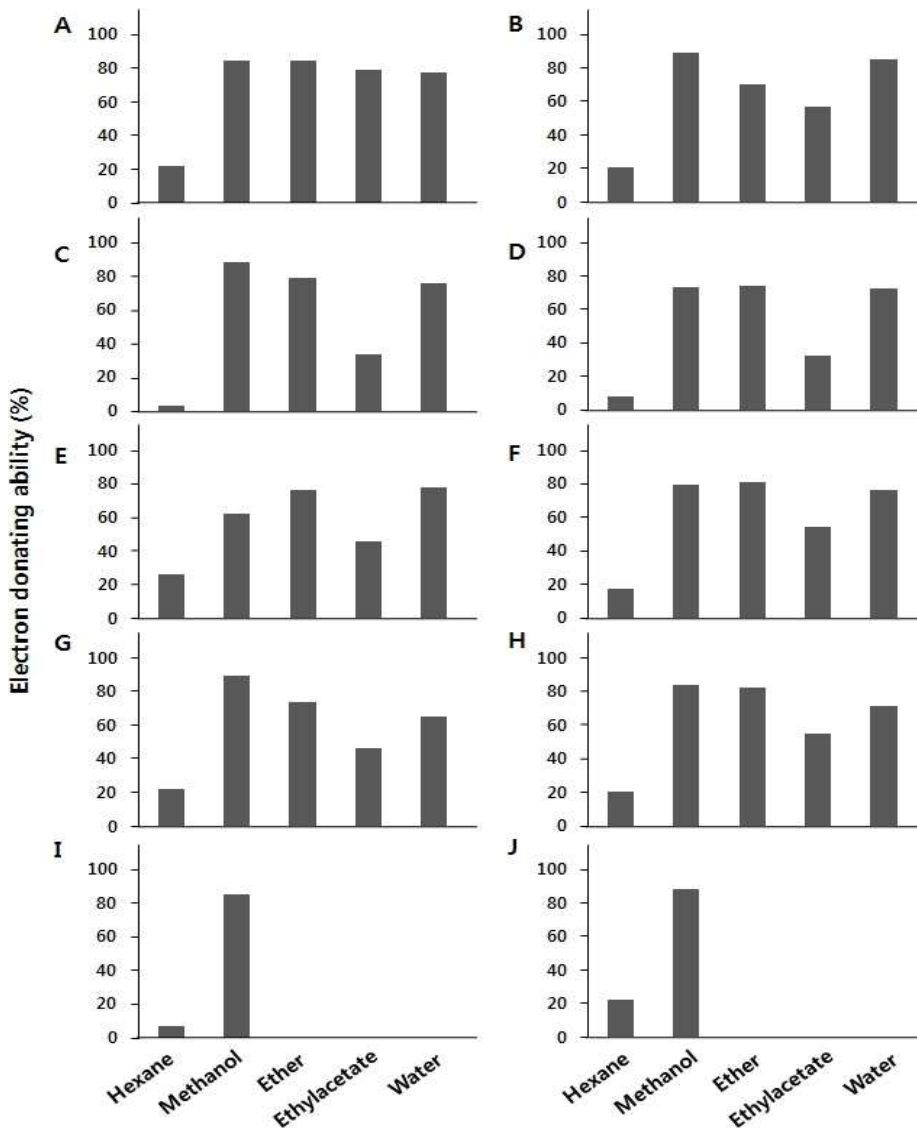


Fig. 2. Percentage of electron donating ability of green manure extracts by using hexane, methanol, ether, ethylacetate, and water (A; Sundangrass, B; Hairy vetch, C; Rye, D; Italian ryegrass, E; Crimson clover, F; Keurin solgo, G; Sunn hemp, H; Sorghum, I; Chinese milkvetch, J; Showy rattlebox).

층용 배지를 petri dish에 15 ml씩 분주하여 응고 시키고 증축용 배지를 각각 5 ml씩 시험관에 분주하여 멸균한 후 45°C 수욕상에서 보관하면서 각종 시험균액(멸균식염수로 균 현탁액을 만들어 균 농도를 660 nm에서 흡광도가 0.3 이 되게 한 균현탁액) 0.1 mL를 무균적으로 첨가, 잘 혼합하여 기층용 배지 위에 분주한 뒤 고르게 응고시켜 이중의 균 접종 평판배지를 만들어 사용하였다. 추출된 항균성 물질의 항균력 검색은 한천배지 확산법으로 측정하였다. 추출물의 최소저해농도(Minimum Inhibitory Concentration, MIC) 측정은 액체배지 희석법으로 측정하였는데, 추출물의

농도를 0, 0.1, 0.25, 0.5, 1.0 mg/ml이 되도록 조절한 액체배지를 준비하여 균 현탁액을 각각 0.1 ml씩 접종한 다음 30°C에서 20시간 배양 후 흡광도(660 nm)를 측정하였다.

결과 및 고찰

DPPH radical 소거활성 측정

전자공여능은 phenolic acid와 flavonoids 및 기타 phenol 성 물질에 대한 항산화의 지표로서 환원력이 큰 물질일수록 전자공여능이 높다(Kang *et al.*, 1995; Xu *et al.*,

2011). 특히 DPPH free radical 소거법은 항산화 물질의 전자공여능으로 인해 방향족 화합물 및 방향족 아민류에 의해 환원되어 자색이 탈색에 의해 나타내는 정도를 지표로 하여 항산화능을 측정하는 방법으로서 실험 방법이 간단하여 시료의 항산화 활성을 측정하는 방법으로 많이 이용되고 있다(Choi *et al.*, 2003; Jung *et al.*, 2004).

10종의 녹비작물에 대하여 hexane, ether, ethylacetate, methanol 및 water 용매를 이용한 추출물의 DPPH free radical 소거능을 Fig. 2에 나타내었다. 추출 용매별 DPPH free radical 소거능은 ether, methanol 및 water 추출물에서 소거능이 높게 나타났으며, ethylacetate 추출물에서는 소거능이 낮게 나타났다. 그러나 hexane 추출물에서는 소거능이 거의 나타나지 않았다.

녹비작물별 DPPH free radical 소거능은 water 추출물에서는 헤어리베치(85%), 크립손 클로버(78%), 수단그라스(77%) 등의 순으로, methanol 추출물에서는 헤어리베치(89%) 및 네마장황(89%), 호맥(88%) 및 네마황(88%), 자운영(85%) 등의 순으로, ether 추출물에서는 수단그라스(84%), 하우스솔고(82%), 크린솔고(81%) 등의 순으로 높게 나타났다. 또한 ethylacetate 추출물에서는 수단그라스(79%), 헤어리베치(57%), 하우스솔고(55%) 등의 순으로 나타났다(Fig. 2).

감자 더듬이병에 대한 항균력 검정

일반적으로 항산화 활성이 높은 추출물은 다양한 균에 대하여 항균활성을 나타낸다(Kim *et al.*, 2011; Seo *et al.*, 2008). 따라서 추출 용매별 DPPH free radical 소거능이 가장 높은 methanol 추출물을 이용하여 감자 더듬이병균(*Streptomyces scabiei*)에 대한 항균력을 검정하였다. 항균력은 Disc diffusion assay 방법으로 0 mg/mL 및 1 mg/mL의 농도로 처리하여 실험한 결과 1 mg/mL의 농도로 처리된 녹비작물 모두에서 항균력을 나타내었다(Fig. 3).

감자 더듬이병에 대한 최소저해농도

녹비작물들의 methanol 추출물이 감자 더듬이병균(*Streptomyces scabiei*)에 대하여 1 mg/mL의 농도에서 항균활성을 나타내었다(Fig. 3). 또한 hexane, ether, ethylacetate, methanol 및 water 용매를 이용한 녹비작물 추출물에 대하여 더듬이병균(*Streptomyces scabiei*)의 최소저해농도를 측정하였다. 그 결과, 감자 더듬이병균

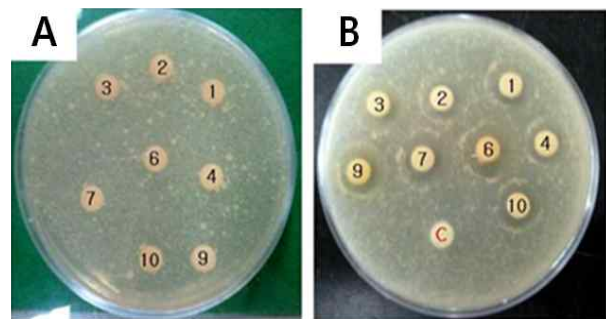


Fig. 3. The inhibitory zone against *Streptomyces scabiei* of methanol extracts obtained from various green manure crops. A; control, B; 1 mg/mL (1; Sundangrass, 2; Hairy vetch, 3; Rye, 4; Italian ryegrass, 6; Crimson clover, 7; Keurin solgo, 9; Sunn hemp, 10; Sorghum, C; control).

(*Streptomyces scabiei*)에 대한 항균활성은 methanol, ethylacetate, ether 및 water 용매를 이용한 모든 녹비작물 추출물의 0.25 mg/mL 농도에서부터 강한 항균활성을 보이기 시작하여 농도를 높일수록 높은 항균활성을 나타내었다. 그러나, hexane 용매를 이용한 모든 녹비작물 품종에서는 항균활성을 나타내지 않았다(Fig. 4). 이것은 Fig. 2의 결과와 같이 녹비작물에 대한 hexane 추출물의 DPPH free radical 소거능이 없기 때문이라고 생각되었다.

녹비작물 품종별 항균활성은 크린솔고, 크립손 클로버, 호맥, 네마장황, 헤어리베치, 수단그라스에서는 methanol 및 ethylacetate 용매 추출물에서 높게 나타났다(Fig. 4A, C, D, E, H, J). 이탈리아인 그라스와 하우스솔고는 methanol과 ether 용매 추출물에서 높은 항균활성을 나타내었다(Fig. 4B, F). 그리고, 네마황, 자운영은 methanol 용매 추출물에서 항균활성을 나타내었다(Fig. 4G, I). 특히, methanol 용매를 이용한 하우스솔고 추출물은 감자 더듬이병균에 대하여 다른 녹비작물 보다 더 높은 항균활성을 나타내었다(Fig. 4F).

이상의 결과들로부터 hexane, ether, ethylacetate, methanol 및 water 용매를 이용한 녹비작물 추출물에 대한 항산화 활성과 감자 더듬이병균(*Streptomyces scabiei*)에 대한 항균력은 methanol 및 ether 추출물에서 비례하고 있음을 나타내었으며, 항산화 활성과 항균효과의 결과가 모두 우수하게 나타났다. 특히 methanol 용매를 이용한 하우스솔고 녹비작물은 감자 더듬이병균(*Streptomyces scabiei*)에 대한 항균력이 가장 우수하였다. 따라서 감자 더듬이병 경감을 위한 녹비작물의 이용은 유용하며, 특히

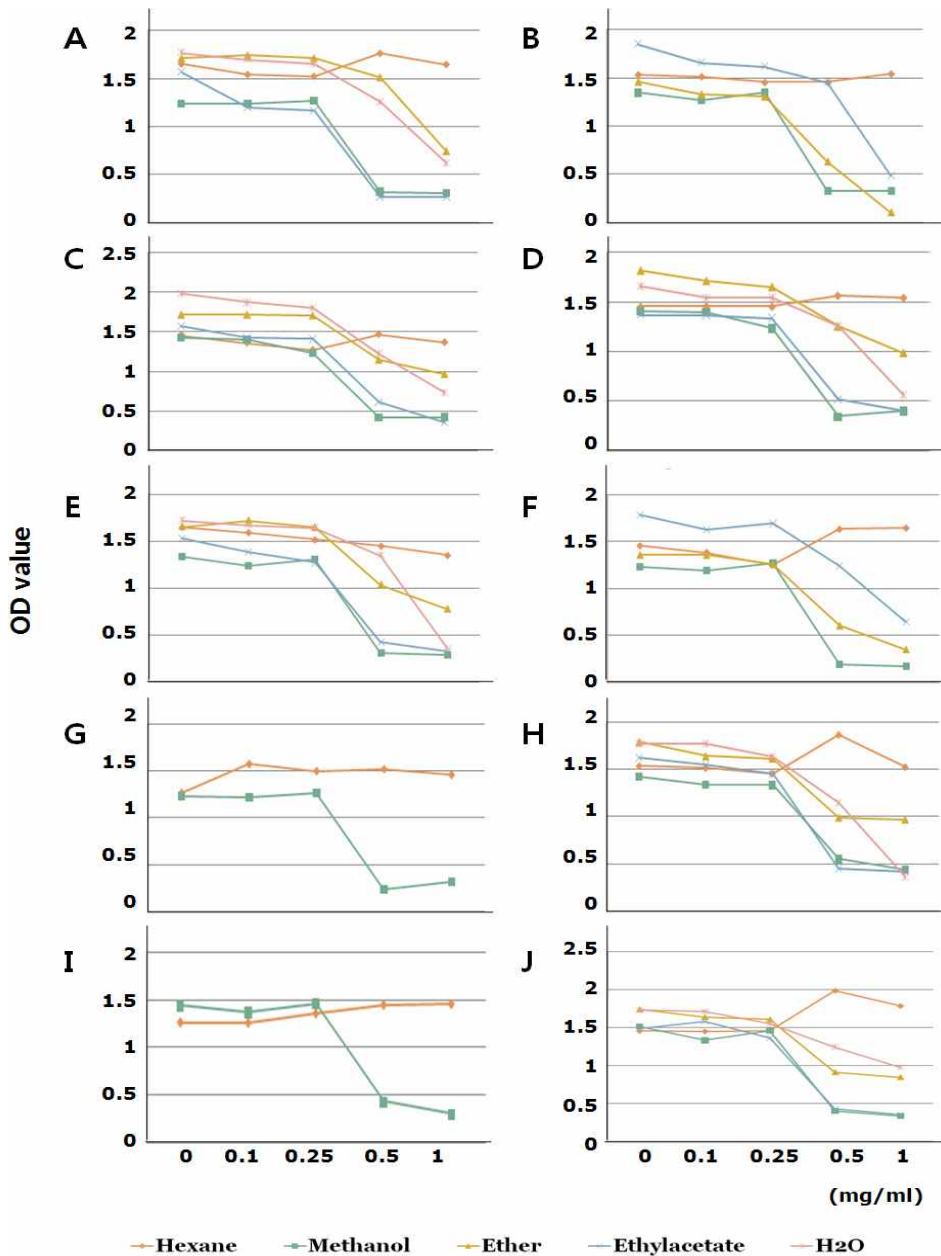


Fig. 4. Antifungal activity of green manure crop extracts against *Streptomyces scabiei* (A; Keurin solgo, B; Italian ryegrass, C; Crimson clover, D; Rye, E; Sunn hemp, F; Sorghum, G; Showy rattlebox, H; Hairy vetch, I; Chinese milkvetch, J; Sundangrass).

하우스솔고의 이용은 감자 더벥이병 경감을 위한 최적의 녹비작물로 생각되었다.

적 요

본 연구는 시판되고 있는 10종의 녹비작물로부터 추출한 추출물을 이용하여 감자 더벥이병균(*Streptomyces scabiei*)

에 대한 항균활성을 검정함으로써 감자 더벥이병 경감을 위한 녹비작물 선발의 기초자료로 활용하고자 하였다. 10종의 녹비작물에 대하여 hexane, ether, ethylacetate, methanol 및 water로 순차적으로 용매분획을 하였다. 그 결과 DPPH free radical 소거능은 ether, methanol 및 water 추출물에서 소거능이 높게 나타났다. 감자 더벥이병균(*Streptomyces scabiei*)에 대한 항균활성은 methanol,

ethylacetate, ether 및 water 용매를 이용한 모든 녹비작물 추출물의 0.25 mg/mL 농도에서부터 높은 항균활성을 나타내었다. 특히, methanol 용매를 이용한 하우스솔고 추출물은 감자 더랭이병균에 대하여 다른 녹비작물 보다 더 높은 항균력을 나타내었다. 이상의 결과들로부터 하우스솔고의 이용은 감자 더랭이병 경감을 위한 최적의 녹비작물로 생각되었다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 어젠다 연구사업(과제번호: PJ007358)의 지원에 의하여 수행하였습니다.

인용문헌

- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26:1199-1744.
- Carr-Mkv. 1989. Potato quality control with irrigation. *Water and Irrigation Rev.* 9(3):28-29.
- Cho, H.S., W.T. Jeon, K.Y. Seong, M.T. Kim, J.K. Lee, C.G. Kim and K.H. Jeong. 2010. Evaluation of legume green manure crops for spring-sowing in the central regions of Korea. *Korean J. Crop Sci.* 55(4):333-338.
- Choi, C.H., E.S. Song, J.S. Kim and M.H. Kang. 2003. Antioxidative activities of *Castanea crenata* Flos. metanol extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35:1216-1220.
- Hahm, Y.L., J.K. Choi, C.K. Lim and H.T. Lim. 1999. Outbreak and management of major bacterial disease in Korea. *Proceeding of the First Kangwon International Potato Symposium. Perspective in the Potato Industry toward 21st Century.* pp. 31-41.
- Hahm, Y.L. 2000. Development of integrated control methods potato common scab. N.A.A.E.S. RDA. pp. 1-81.
- Jung, S.J., J.H. Lee, H.N. Song, N.S. Seong, S.E. Lee and N.I. Baek. 2004. Screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 47:135-140.
- Kang, Y.H., Y.K. Park, S.R. Oh and K.D. Moon. 1995. Studies on the physiological functionality of ine needle and mugwort extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* 27:978-984.
- Kim, J.Y., W.J. Yoon, E.Y. Yim, S.Y. Park, Y.J. Kim and G.P. Song. 2011. Antioxidative and antimicrobial activities of *Castanopsis cuspidata* var. *sieboldii* extracts. *Korean J. Plant Res.* 24(2):200-207.
- Kim, S.Y. 2000. Distribution systems for seed potato production stabilization tech. *Korean Potato Research Soc.* p. 55-75.
- Lambert, D.H. and F.E. Manzer. 1991. Relationship of calcium to potato scab. *Phytopathology* 81:632-636.
- Lapwood, D.H. and T.F. Hering. 1970. Soil moisture and the infection of young potato tubers by *Streptomyces scabies* (common scab). *Potato Res.* 13:296-304.
- Mizuno, N. and H. Yoshida. 1994. Relationship between soil pH exchange acidity and potato scab. *Japanese J. Soil Sci. Plant Nutr.* 65:27-33.
- Mizuno, N., H. Yoshida and K. Yamamoto. 1995. Effect of ionic strength and fertilization method on the occurrence of potato scab. *Japanese J. Soil Sci. Plant Nutr.* 66:639-645.
- Park, Y.B., M.S. Yiem and J.L. Cho. 2002. Development of intergrated control system on potato common scab (*Streptomyces scabies*) of 'Dejima' potatoes. *J. Korean Soc. Hort. Sci.* 43(6):710-715.
- Park, Y.E., H.M. Cho, J.S. Kim, J.Y. Yi and J.H. Cho. 2005. Evaluation of common scab (*Streptomyces scabies*) resistance of potato germplasm. *Korean J. Breed.* 37(5):275-281.
- Rich, A.E. 1983. *Potato disease.* Academic Press. pp. 14-18.
- Seo, J.H., H.J. Lee., I.B. Huh and S.J. Kim. 1998. Effect of hairy vetch (*Vicia villosa* Roth) green manure on maize growth and nitrogen uptake. *RDA. J. Agro-Envir. Sci.* 40(1):62-68.
- Smith, M.S., W.W. Frye and J.J. Varco. 1987. Legume winter cover crops. *Adv. Soil Sci.* 7:95-139.
- Song, C.K. and B.K. Kang. 2000. Effect of soil mulching after green manual crops on control of common scab and yield characteristics of fall potato. *Korean J. Organic Agri.* 8:99-109.
- Vaughan, D.J. and G.K. Evanylo. 1998. Corn response to cover crop species, spring desiccation time, and residue managemnet. *Agron. J.* 90: 536-544.
- Xu, M.L., L. Wang and M.H. Wang. 2011. The Antioxidant and anticancer effects of MeOH extract of *Liriodendron tulipifera*. *Korean J. Plant Res.* 24(1):23-29.
- Yiem, M.S., S.Y. Kim, J.G. Kim and Y.H. Choi. 1990. Studies on the control and the ecology of potato common scab. *RDA. HES Experiment Research Rep.* pp. 324-339.

(접수일 2011.9.5; 수정일 2011.9.21; 채택일 2011.9.26)