

### III-5

#### 인삼(*Panax ginseng*)에 공생하는 내생균의 분리 및 동정

충북대학교 : 조남수, 권용필, 유제민, 엄유리, 정찬문, 이이\*

#### Isolation and Identification of Endophytic bacteria from *Panax ginseng* root

Department of Industrial Plant Science & Technology, Chungbuk National University

Namsu Jo, Yongpil Gwon, Jemin Yu, Yurry Um, Chan-moon Chung, and Yi Lee\*

#### 실험목적

본 연구는 인삼에 공생하는 내생균(endophytic bacteria)의 다양성을 검정하기 위하여 수행하였다.

#### 재료 및 방법

##### ○ 실험재료 및 실험방법

금산시장에서 구입한 6 년근 인삼을 멸균수로 세척한 후 70% ethanol과 4% NaClO로 표  
면살균하였다. 표면살균 된 인삼을 멸균된 칼을 이용하여 절단하고 횡단면을 1/10 TSA  
agar(BACTO, BD) 배지에 수차례 찍은 후 37℃ 인큐베이터에서 24 시간 평판배양하였  
다.

배양된 배지에서 자란 미생물을 형태와 색깔로 구분하여 계대배양하였다. 배양된 세포로  
부터 solGent purification bead를 사용하여 Bacterial DNA를 추출하였다.

Universal primer 인 27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')와 1492R (5'-GGT  
TACCTTGTTACGACTT-3')을 이용하여 95℃에서 15 분간 pre-denaturation, 95℃에서  
20 초간 denaturation, 50℃에서 40 초간 annealing, 72℃에서 1 분 30 초간 extension 조  
건으로 29 cycle 증폭한 후 72℃에서 5 분간 final extension을 수행하였다. 분석된 염기  
서열을 NCBI(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>)의 BLAST program 중 nucleotide blast 로  
유사한 염기서열을 검색하였다.

.....  
주저자 연락처: 이 이 E-mail : leeyi22@cbnu.ac.kr Tel : 043-261-3373

## 실험결과 (Results)

- 인삼 2 개의 뿌리에서 12 개의 서로 다른 모양과 색의 colony를 분리하여 16s rRNA 염기서열을 결정하였고 그 결과 5 개의 종이 분리되었으며 PGEB01, PGEB02, PGEB03, PGEB04, PGEB05 로 명명하였다.
- 5 개 종의 염기서열을 이용한 BLAST 검색을 통하여 PGEB01은 *Pseudomonas marginalis*로 썩음병이나 무름병을 일으키는 원인균으로 밝혀졌으며 PGEB02은 *Pseudomonas koreensis* strain SSG6로써 고점도 다당류를 생산한다는 보고가 있었다. PGEB03은 유류분해 근권세균인 *Rhodococcus* sp. LKE-021로 동정되었다. 또한 PGEB04은 phenanthrene 분해균주 *Microbacterium oxydans* strain L2로 분석되었다. 그리고 PGEB05은 식물의 뿌리혹 병해에 대해 길항능을 가지는 *Variovorax* 속 세균으로 동정하였다.

Table 1. Similarity values of 16s rRNA sequence retrieved from the endophytic bacteria of *Panax ginseng* roots

Isolates	Nearest relative	Accession number	Similarity(%)
PGEB01	<i>Pseudomonas marginalis</i>	AY071916	98
PGEB02	<i>Pseudomonas koreensis</i> strain SSG6	HM367600.1	98
PGEB03	<i>Rhodococcus</i> sp. LKE-021	GU944775.1	95
PGEB04	<i>Microbacterium oxydans</i> strain L2	GQ923776.1	98
PGEB05	<i>Variovorax</i> sp. J1	GQ249078.1	96



Fig. 1. The characteristics of colonies which were isolated from *Panax ginseng* root on 1/10 tryptic soy agar (TSA) medium.