

마늘 추출물의 벼 키다리병에 대한 종자소독 효과

성창근¹ · 최지호²

The disinfective effect of garlic extract against Bakanae Disease

Sung, Chang-Keun¹ · Choi, Ji-Ho²

ABSTRACT

Bakanae Disease is an abnormal plant growth caused by *Gibberella fujikuroi*. The infected plants several inches taller than normal plants in seedbed and field. To control bakanae disease, we made a seed disinfectant from garlic extract. And we isolated allicin(C₆H₁₀OS₂) from garlic extract and the content was 0.62%.

In order to develop efftive seed disinfectant from Garlic extract, we compared it with three seed disinfectants(benomyl, prochloraz, fludioxonil). Prochloraz, fludioxonil and Garlic wettable powder controlled Bakanae disease of rice very well, while benomyl did not suppress the disease enough. Water temperature was turned to be an important factor for controlling the disease by treating seed disinfectants. It was confirmed that the seed disinfectant from garlic extract can be used as non-toxic agricultural medicines.

Keywords : Bakanae disease, antifungal activity, garlic, allicin, GC-MS, HPLC

¹ 충남대학교 농업생명과학대학 식품공학과(Department of Food Science & Technology, College of Agriculture and Life Sciences, Chungnam Nat'l Univ., Daejeon 305-764, Korea)

² 충남대학교 대학원(Department of Food Science & Technology, Graduate School, Chungnam Nat'l Univ., Daejeon 305-764, Korea)

교신저자 : 성창근(E-mail : kchsung@cnu.ac.kr, Tel : 042-821-6722)

I. 서 론

벼 키다리병(*Gibberella fujikuroi*)은 전국으로 발생되고 있으며 이 병이 감염되면 벼가 도장되며, 심하면 육묘기에 말라죽기도 한다(김, 1981). 벼 키다리병에 감염된 묘를 이앙할 경우 분담후기까지 생육에 영향을 미쳐 수량 감소와 쌀의 품질을 저하시킨다.(김, 1981; 성 등, 1983; 1984, 차 등, 1983). 또한, 벼 키다리병은 주로 종자로 전염되며 소독된 장자일지라도 완전방제가 어렵고(오 등, 1983; 이 등, 1983), 상토의 종류나 육묘방법(성 등, 1984, 인 등, 1985) 등에 따라서도 발병 정도에 차이가 있었다.

키다리병 방제에 효과가 우수한 침투이행성 종자소독제가 개발되면서 벼 키다리병은 크게 문제가 되지 않았다. 그러나 최근에 벼 종자 출아처리가 벼 키다리병원균의 발육에 적합한 28~30°C에서 수행됨에 따라 벼 키다리병 발생에 유리하게 되고, 또한 벼 수확시 콤바인의 탈곡회전수 증가로 인하여 생긴 상처 때문에 종자전염이 증가하고 있다(인 등, 1985).

따라서 최근 육성된 일부 양질다수성 품종에서 종자소독을 했음에도 불구하고 벼 키다리병 발생이 많아지고 있어 이에 대한 방제대책이 시급히 요구되고 있다.

마늘(*Allium sativum*)의 주성분 alliin은 nonprotein sulfur amino acid 일종이며 마늘조직 파쇄시 alliinase에 의해서 allicin으로 분해되어 diallyl disulfide와 함께 마늘의 독특한 냄새를 낸다(Brondnitz와 Pascale, 1971; Angewante, 1992; Virtanen 1955). 최근에는 마늘의 allicin이 -SH group효소의 저해인자를 작용하는 항미생물 활성물질이라고 했다(Johnson와 Vaughn, 1969).

본 연구는 우리나라에서 재배 또는 이용되고

있는 마늘로부터 벼 키다리병원균에 항균활성을 보이는 활성물질을 분리, 동정하여 항균범위가 넓고 안정성이 있는 종자소독제를 개발하고자 실시하였다.

II. 재료 및 방법

2.1. 마늘 종자소독제 제제화 및 접종방법

마늘 절편 200g을 물에 1:10(w/v)로 섞어 50°C에서 24시간 처리하여 여액을 감압 농축, 동결 건조시켜 조추출물을 얻었다. 이 조추출물을 경농경주기술연구소에 의뢰하여 30% 주성분의 수화제를 만들었다.

병원균인 *Gibberella fujikuroi* 은 농업과학기술원에서 분양받아 접종원(cornmeal 15g, sand 485g, 물 120mL)에 병원균을 이식하여 32°C의 항온기에서 5일간 배양하였다. 토양 접종 방법은 접종원과 육묘상토를 1:30 비율로 혼합하여 상토를 만들고 벼 육묘상자에 채운 후 마늘을 주성분으로 제제화 종자소독제를 1.0%로 희석하여 약액의 온도가 30°C가 되게 하여 24시간 동안 볍씨를 소독하였다. 그 밖의 벼 재배법은 농촌진흥청 농사시험연구조사기준(1995)에 준하여 실시하였다.

2.2. HPLC를 이용한 마늘의 항균물질 정량분석

항균활성을 나타내는 마늘이 함유하는 항균물질을 정량분석하기 위하여 HPLC를 이용하였다. 건조 분쇄된 마늘 2g에 2mL HCl(0.1N)과 acetonitrile (10mL)을 혼합한 후 2시간동안 정치시키고 여과지(Whatman No.42)로 여과하여 건조과정을 거친후 80% 메틸알콜 10mL로 건조된 물질을 용해하여 0.45 μ m syringe filter로 여과시킨 용액을 HPLC에 주입하였다. HPLC의 분석조건은 고정

상은 YMC AM-303 column(ODS, 4.6×250mm)을 사용하였으며, 이동상은 0.018M ammonium acetate에 98% water, 2% glacial acetic acid을 용매 A로 하고, 0.018M ammonium acetate에 68% water, 25% methanol, 5% butanol과 2% glacial acetic acid를 용매 B로하여 추출물과 표준물질(a) 0.0~1.0min isocratic at 10% B, (b) 1.0~21.0min linear gradient from 10 to 25% B, (c) 21.0~36.0min linear gradient from 25 to 45% B, (d) 36.0~56.0min linear gradient from 45 to 100% B, (e) 50.0~50.15min flow increased to 1.20mL/min, (f) 82.0~82.15min linear gradient from 100 to 10% B, (g) 92.0~92.15min flow decreased to 1.00mL/min, (h) at 99.0min sample loop rinsed and gradient repeated와 같은 조건에서 분석하였다. 용매의 유속은 1.0mL/min, injection volume는 20 μ L이었으며 UV detector의 파장은 254nm, 감도는 0.05로 조절하였다. 표준물질을 MeOH에 용해시켜 0.1~25 μ L/mL 범위의 표준용액을 조제하여 위의 조건에서 HPLC 분석을 실시하고 peak area로부터 검량선을 작성하였다. 추출물과 표준물질의 retention time 비교는 표준물질을 단독으로 분석한 것과 표준물질을 혼합하여 분석한 것을 이용하였다.

2.3. 종자소독제에 의한 벼 키다리병 방제 효과

벼 종자소독제로 등록되어 있는 약제중 농가에 서 많이 사용하고 있는 benomyl, prochloraz, Fludioxonil 3종을 선정하였다(Table 2). 시험품종은 벼 키다리병에 이병성인 그루벼를 선정하여 병원균을 접종한 종자와 무접종한 종자를 구분하여 사용하였다. 소독당시 수온은 약 32 \pm 2 $^{\circ}$ C로 조절하였고 종자소독제별로 표준량을 24시간동안 처리하였다(Table 2). 마늘로 제조한 종자소독제

또한 동일한 조건으로 처리하였다.

각 종자소독제별로 처리된 볍씨는 5월6일에 상자당 130g씩, 6반복으로 파종한 후 30~32 $^{\circ}$ C의 출아상에서 2일간 출아시킨 다음 못자리에 치상하여 30일간 육묘한 후, 벼 키다리병 발병 개체수를 육묘상자별로 전체 개체를 조사하였다. 또한 종자소독제별 벼 키다리병 방제효과와 지속기간을 구명하기 위하여 못자리에 30일간 육묘 후 이앙하였다. 이앙 후 30일에 구(10m²)당 벼 키다리병 발병주율을 조사하였다.

2.4. 벼 종자소독시 수온, 소독시간 및 약량이 벼 키다리병 방제에 미치는 영향

시험품종은 벼 키다리병에 이병성 품종인 그루벼를 사용하였다. 마늘로 제조한 종자소독제 농도는 1%로 희석하여 사용하였고, 종자 소독시 수온은 10, 15, 20, 25, 30 및 35 $^{\circ}$ C로 조절하여 24시간동안 침지 처리하였다. 약액에 침지한 종자를 5월 15일에 벼 육묘상자당 130g씩, 6반복으로 파종하였고, 30일 후 육묘상자당 벼 키다리병 발병 개체수를 조사하였다.

또한 벼 키다리병 소독방법을 개선하기 위하여 마늘 종자소독제를 1.0%와 2.0%로 희석하여 이들 온도가 15 $^{\circ}$ C가 되도록 하여 소독시간을 각각 12, 24, 36, 48시간 처리하였다. 또한, 30 $^{\circ}$ C에서 1.0%로 24시간 소독 처리와 침종 후 5일에 15 $^{\circ}$ C의 온도에서 1.0%로 24시간 종자소독을 하였다. 소독한 볍씨는 5월 6일에 상자당 130g씩, 6반복으로 파종하여 30일간 육묘하였다. 종자소독제별 벼 키다리병 방제효과와 지속기간을 구명하기 위하여 못자리 육묘 후 30일에 벼 키다리병 발병 개체수를 상자별로 전 식물체를 조사하였으며, 또한, 이앙 후 30일에 구(10m²)당 발생한 벼 키다리병 발병주율을 조사하였다.

III. 결과 및 고찰

3.1. 마늘 항균활성물질의 분석

마늘 추출물을 column chromatography를 이용하여 45개의 분획을 얻었으며 TLC로 분석한 결과 allicin과 같은 위치에 있는 spot(frc.13~24)이 관찰 되었다.

항균력 검정결과에서 보는 바와 같이 13~24(F-3) 분획에서만 공시 병원균에 대해 항균활성을 나타내었다(Table 1).

F-3 분획에서는 TLC로 전개한 결과 allicin(Rf치 0.45)이 검출되었고, F-1 분획과 F-2, F-4 분획에서는 검출되지 않았다(Fig. 1).

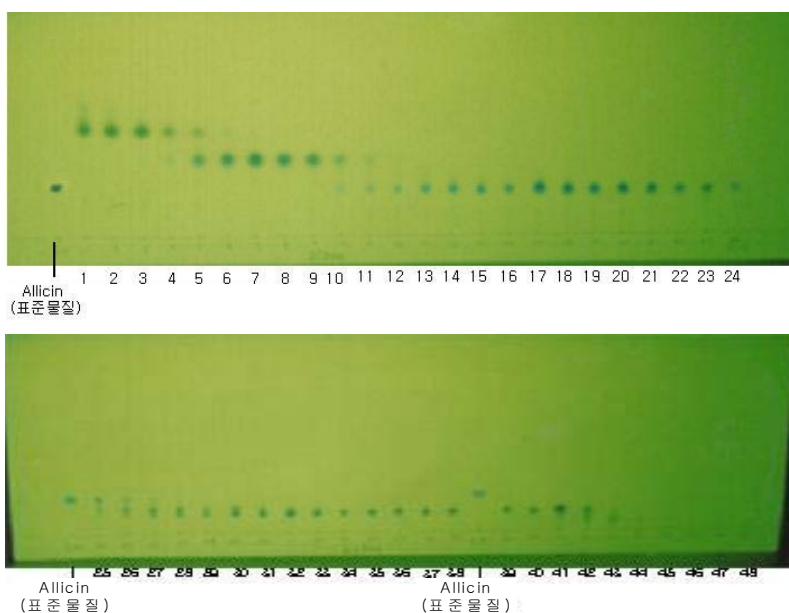


Fig. 1. TLC chromatogram of the crude extract of *Allium sativum*. (frc. no. 13~24 are antifungal active area).

Table 1. Antifungal activity of fractions separated through column with garlic extracts

Column fraction	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	
	pathogen diameter(mm)	inhibitory percentage(%)
1~4 fraction(F-1)	14	6.7%
5~12 fraction(F-2)	14	6.7%
13~24 fraction(F-3)	5	66.6%
25~45 fraction(F-4)	14	6.7%
control	15	-

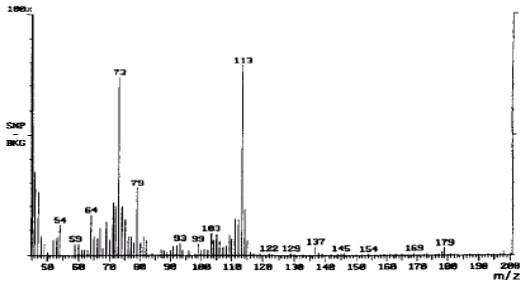


Fig. 2. GC-MS spectrum of antibiotic compound isolated from F-3 fraction of *Allium sativum*.

MS로 분석한 결과 allicin($C_6H_{10}OS_2$)으로 확인 동정되었고(Fig. 2) HPLC로 정량한 결과 allicin은 retention time 7.85에서 나타났으며, 그 함유량은 0.62%로 검출되었다(Fig. 3).

마늘 중에 allicin은 0.3~0.4% 존재하며 곰팡이 및 그람양성균과 그람음성균의 성장에 항균작용이 있다(20, 21)고 했는데 본 연구에서도 공시병원균(*Gibberellia fujikuroi*)에 대하여 같은 경향으로 allicin이 항균작용을 나타내는 것으로 판단되었다(Fig. 4)

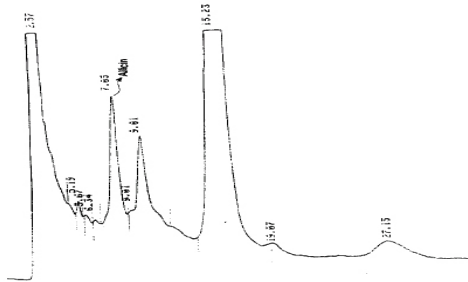


Fig. 3. HPLC chromatogram of the crude extract of *Allium sativum*.

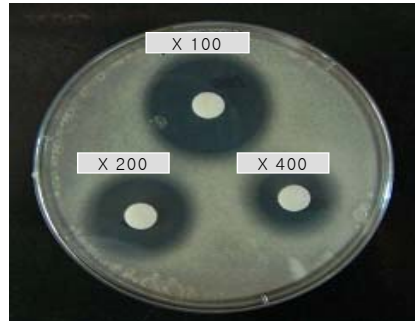


Fig. 4. Antifungal activity of garlic wettable powder.

Table 2. Effects of seed disinfectants on suppression of bakanae disease

Seed disinfectant	Inoculation			Non-inoculation	
	No. of infected plants per seeding box ^{a)}	Control efficacy (%) ^{b)}	Percent of infected hills per 10m ^{2c)}	No. of infected plants per seeding box ^{a)}	Control efficacy (%) ^{b)}
Benomyl	5,138	0	30.4	32	79.6
Prochloraz	16	99.6	3.2	3	98.1
Fludioxonil	15	99.6	2.3	4	97.5
Garlic Wettable Power	618	87.5	10.5	27	81.7
Untreated check	5,138	-	46.2	157	-

^{a)c)} Investigated at 30 days after seeding and 30 days after transplanting, respectively

^{b)} Calculated based on (No. of infected plants in untreated check - No. of infected plants in chemical treatment plot) × 100

3.2. 종자소독제의 방제효과 검증

최근들어 친환경 수도작 농가들의 일반화학농약의 기피현상에 따른 농약대체물질로서 마늘로부터 분리한 allicin을 유효성분으로 하여 종자소독제를 제조하여 일반화학농약과의 효과를 비교 실험하였다. 시험품종은 벼 키다리병에 이병성 품종인 그루벼를 사용하였고, 벼 키다리병균을 접종한 경우와 무접종한 경우로 나누어 수온 32±2℃에서 종자소독제별로 표준량을 처리한 결과를 Table 2에 제시하였다.

벼 키다리병균을 접종한 벼 종자를 과중하고 30일에 종자소독제별 방제효과를 조사한 결과 prochloraz, fludioxonil에서는 99% 이상의 높은 방제효과를 보인 반면에 benomyl 처리구에서는 키다리병이 100% 발병되었다. 한편 마늘 종자소독제는 87% 이상의 비교적 높은 방제효과를 나타내었다.

또한 이양후 30일에 조사한 발생주율은 benomyl, prochloraz, fludioxonil, 마늘 종자소독제 처리구에서 각각 30.4, 3.2, 2.3, 10.5%가 발생하였다.

무접종에서도 종자소독제 prochloraz, fludioxonil 처리구에서의 키다리병 방제효과는 97% 이상이었고, benomyl 처리구에서는 79.6%의 낮은 방제효과를 보였다. 마늘 종자소독제에서는 81.7%의 방제가로서 prochloraz, fludioxonil 처리구 보다 는 효과가 미흡하지만 무독성 종자처리제로서의 만족할 만한 방제효과가 관찰되었다.

3.3. 마늘 종자소독제의 수온에 따른 벼 키다리병의 방제 효과

벼 종자의 수분흡수는 온도와 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있다(오 등, 1983). 벼 종자소독은 침종과 동시에 이루어지기 때문에 수온이 높을수록 벼 키다리병 방제 약제의 흡수량도 높

아 방제효과가 상승될 것으로 사료되어 종자소독 상시 수온이 벼 키다리병 방제효과에 미치는 영향을 검토하였다. 종자소독 후 30일간 육묘한 다음 육묘상자당 벼 키다리병이 발병된 개체수를 조사하였다.

종자소독 할 때 수온에 따른 벼 키다리병 방제 효과는 수온이 상승됨에 따라 뚜렷하게 증가하는 경향을 보였다. 벼 키다리병에 발병된 식물체의 육묘상자당 발생 개체수는 무소독에서 137본인 반면에 수온 10℃부터 5℃ 상승함에 따라 53, 51, 32, 16, 7, 3본으로 점차 줄어드는 경향이였다 (Table 3). 방제효과면에서는 10℃에서 61%에 불과하였으나, 30~35℃에서 91~95%의 방제효과를 보여 종자소독시 수온이 높을수록 벼 키다리병 방제효과가 뚜렷하게 향상되는 결과를 보였다. 일부 종자소독제는 사용시 수온을 10~30℃로 할 것을 추천하고 있고, 일부 종자소독제는 사용시

Table 3. Effects of water temperature on occurrence of bakanae disease in experiments carried out sterilize rice seeds

Water temperature of seed-disinfection(℃) ^{a)}	No. of infected plants per seedling box ^{b)}	Control efficacy (%)
10	53±4.7	61
15	51±3.9	63
20	32±5.1	77
25	16±2.9	82
30	7±1.1	91
35	3±0.7	95
Non-disinfection	137±13.1	-

^{a)}Seed disinfection was conducted by soaking rice seeds in the suspension of Garlic wettable powder (1%) for 24 hrs

^{b)}No. of infected plants was investigated at 30 days after seeding

약액의 온도가 고려되지 않고 사용되고 있다(농약공업협회, 2003).

결론적으로 벼 키다리병의 방제효과를 높이기 위해서는 마늘 종자소독제를 사용할 때 수온을 고려하는 것이 매우 중요할 것으로 판단된다.

3.4. 마늘 종자소독제의 종자소독 온도, 시간 및 약량에 의한 벼 키다리병 방제 효과

벼 종자소독시 수온을 30℃로 유지하면 벼 키다리병 방제효과가 좋으나 농가에서 소독액의 온도를 30℃로 24시간을 유지하기가 어려운 점을 감안하여 농가에서 실용적으로 사용할 수 있는 소독방법을 구명하기 위해서 소독액의 온도와 소독시간 및 약량을 달리하여 벼 키다리병 방제효과를 검토한 결과를 Table 4에 제시하였다.

벼 종자과중 후 30일에서는 표준처리인 30℃

-24시간-1.0% 처리에서는 벼 키다리병에 걸린 발병주가 육묘상자당 6분만 발생하였으나 소독온도를 15℃로 한 경우에는 소독시간 및 약량에 관계없이 52~119분이 발생하였다. 종자소독제처리농도가 높고 종자 소독시간이 길어짐에 따라 발병이 적어졌으나 그 차이는 크지 않아 어느 방법도 실용적인 방제법이 될 수 없었다. 따라서 벼 키다리병 발생을 억제하기 위해서는 소독온도가 중요한 요인으로 작용한 것으로 여겨진다.

IV. 적 요

마늘의 주요 항균성분은 allicin이며, allicin을 유효물질로 한 마늘 종자소독제를 제조하였다. 마늘 종자소독제 중의 allicin 함량은 약 0.62%

Table 4. Influences of water temperature, soaking period and chemical dosage on the occurrence of bakanae disease in experiment carried out to sterilize rice seeds with Garlic wettable powder

Treatment (Tem., °C/time/dosage,ppm)	Disease incidence	
	No. of infected plants per seedling box at 30 days after seeding	Percent of infected hills per 10m ² at 30days after transplanting
15℃-12 hrs - 2.0	52±5.1	7.8±0.7
15℃-12 hrs - 1.0	59±7.8	7.6±1.2
15℃-24 hrs - 2.0	53±4.0	5.3±0.5
15℃-24 hrs - 1.0	65±10.0	7.4±1.1
15℃-36 hrs - 2.0	55±4.9	5.4±0.4
15℃-36 hrs - 1.0	52±5.7	5.6±0.9
15℃-48 hrs - 2.0	88±11.0	8.7±1.7
15℃-48 hrs - 1.0	119±15.3	10.9±2.1
15℃-24 hrs - 1.0 (Disinfection at 5 days after seed soaking)	45±3.6	4.5±0.2
30℃-24 hrs - 1.0	6±1.8	2.0±0.09

였으며 키다리병균 *Gibberella fujikuroi*에 대하여 1% 농도에서 가장 강한 방제가를 나타내었다.

마늘 종자소독제를 이용한 벼 키다리병의 방제가는 병원균을 접종한 처리구에서는 87.5%, 접종하지 않은 처리구에서는 81.7%의 방제가를 나타내었다. 이는 대조약제인 prochloraz, fludioxonil 처리구 보다는 효과가 미흡하지만 친환경 종자처리제로서의 만족할 만한 방제효과라고 사료된다.

마늘 종자소독제의 수온에 따른 키다리병의 방제효과에 관한 실험에서는 수온 30~35℃에서 91~95%의 방제효과를 보인 반면 온도가 낮아질수록 방제가가 떨어지는 현상을 볼 수 있었다. 따라서, 마늘 종자소독제를 이용하여 처리할 때에는 온도를 고려하는 것이 가장 중요하다고 판단된다.

마늘 종자소독제의 처리시 수온과 약량에 따른 키다리병 방제효과에 관한 실험에서는 종자소독제의 처리농도가 높고 종자소독시간이 길어짐에 따라 발병이 적어졌으나 그 차이는 크지 않아 어느 방법도 실용적인 방제법이 될 수 없었다.

마늘을 이용한 종자소독제는 다른 소독제와 같이 소량으로 대량의 볍씨를 소독할 수 있는 장점이 있어 실용화 가능성은 매우 크다고 사료되며, 앞으로 연구가 계속 되어야 할 것으로 사료된다.

참고문헌

- 김장규(1981) 벼 키다리병의 발생생태에 관한 연구. 한국식물보호학회지 20(3) : 146~150
- 농약공업협회(2003). 농약사용지침서. p.950
- 농촌진흥청(1995) 농사시험연구조사기준. p.603
- 성재모, 양성식, 이은중, 박종성(1983) 벼 키다리병원균인 *Fusarium moniliforme*의 균주특성에 의한 Strain분류. 한국균학회지 11(4) : 169~175.
- 성재모, 양성식, 이은중(1984) *Fusarium moniliforme*의 Strain별 육묘상과 본답에서 병 발생과 피해 해석에 관한 실험. 한국균학회지 12(2) : 65~73
- 양성식, 조의규, 김완규, 이은중, 성재모(1985) 벼 키다리병 저항성 검정 및 모입고병 발생원인에 관한 연구. 농업기술연구원 시험연구보고서 p. 221~226
- 오용비, 김상수, 심이성(1983) 상자육묘시 키다리병 약제처리방법에 따른 약효구명시험. 호남 작물시험장 시험연구보고서 p.534~545.
- 이경희, 윤용대, 박석홍(1983) 상자육묘시 키다리병 효과 구명시험. 작물시험장 시험연구보고서 (수도편) p.299~303.
- 인무성, 이수찬, 정계영(1985) 벼 키다리병의 발생생태 시험. 충남농촌진흥원 시험연구보고서 p.282~285.
- 차광홍, 박공열, 이재휴(1983) 벼 키다리병의 발생소장과 방제에 관한 실험. 전남농촌진흥원 시험연구보고서 p.633~641.
- A. I. Virtanen, *Phytochemistry*, 4, 207(1955).
- B. Eric, *Angewante, Chemie. a journal of the Gesellschaft Deutscher chemikar*, 31. 1135 (1992).
- C. R. Powell and W.H. Ko, *Ann. Phytopath. Soc. Japan*. 52. 817(1986).
- M. G. Johnson and R.H. Vaughn, *Apple. Microbial*, 17, 903(1969).
- M. H. Brondnitz and J. V. Pascale, *Agric. Food Chem*. 19. 269(1971).