

토양 및 식물체로부터 분리한 *Fusarium*속 균주들의 생물활성

박중협 · 김진철* · 최경자 · 김홍태 · 홍경식 · 송철 · 김진석 · 김정규¹ · 조광연

한국화학연구소 농약활성연구팀, ¹고려대학교 응용생명환경화학과

요약 : 토양 및 식물체 시료로부터 분리한 총 70개의 *Fusarium*속 균주를 감자 즙액배지와 쌀 고체배지에 배양한 다음 살균, 살충 및 제초활성 등의 생물활성을 조사하였다. 액체배지 시료들 중 한 가지 이상의 식물병에 대하여 80% 이상의 방제가를 보이는 것은 8개 시료였으며, 이 중 *Fusarium* sp. FO-80균주는 여섯 가지 병 중 벼·도열병, 밀·붉은녹병 및 보리·흰가루병 등 세 가지 식물병에 대하여 95% 이상의 높은 방제가를 나타내어 가장 항균활성이 높은 것으로 나타났다. 고체배지 시료에서는 21개의 시료가 80% 이상의 방제효과를 보였고, 이 중 가장 강한 항균활성을 보이는 *F. equiseti* FO-68균주는 벼·도열병, 토마토·역병 및 밀·붉은녹병에 대하여 95% 이상의 높은 방제효과를 보였다. 살충 활성 실험결과 한 가지 이상의 곤충 및 응애에 대하여 80% 이상 살충효과를 보이는 것은 액체배지 시료 2개와 고체배지 시료 1개였다. *F. oxysporum* FO-61균주와 *Fusarium* sp. FO-80균주의 액체배지 시료는 복숭아혹진딧물과 배추좀나방에 대하여 각각 80% 이상의 살충효과를 나타내었고, *Fusarium* sp. FO-510균주의 고체배지 시료는 복숭아혹진딧물에 대하여 80%의 살충활성을 보였다. 그러나 액체배지와 고체배지 시료 모두 발잡초에 대한 뚜렷한 활성은 보이지 않았다. 그리고 좀 개구리밥을 이용한 생물검정 결과 3개의 액체배지 시료가 배양액 1.25% 이하의 농도에서 70%의 제초활성을 보였고, 고체배지 시료 중에는 9개의 시료가 좀개구리밥 생장에 강한 억제 효과를 보였다. 한편, 여러 가지 생물활성에 대하여 상관관계를 조사한 결과 고체배지 시료와 액체배지 시료 모두 좀개구리밥에 대한 제초활성과 항균활성 간에는 상관관계가 있는 것으로 나타났다. (2000년 7월 10일 접수, 2000년 9월 15일 수리)

Key words : *Fusarium*, antifungal activity, insecticidal activity, herbicidal activity, duckweed bioassay.

서론

직·간접적으로 막대한 피해를 끼치는 식물병의 방제를 위하여 유기합성 농약을 널리 사용하고 있으나 계속적이고 광범위한 사용으로 인하여 환경오염, 저항성 출현, 인축독성 등의 많은 문제가 야기되었다 (Ames, 1979; Staub와 Sozzi, 1984; Vesonder와 Golinski, 1989).

이러한 유기합성 농약의 문제를 극복하기 위하여 환경과 조화를 이루는 방제 수단으로 저항성 품종, 경종적 방제, 생물학적 방제, 천연물 농약 등이 이용되고 있다. 특히 천연물 농약은 그 활성 성분 자체뿐 아니라 그 골격을 이용하여 새로운 합성 농약을 만들 수 있기 때문에 이 분야의 연구는 널리 수행되고 있다 (Baker, 1983; Bernardinni 등, 1975; Katz와 Demain, 1977; Kim 등, 1999; Lange 등, 1993; Porter와 Fox, 1993; Powel와 Jutsum, 1993; Seo 등, 1996). 유기 합성 주도의 신물질 연구는 선도 화합물의 부족으로 한계 상황에 처해있는 실정이며 현재 주도적으로 우위를 차지하는 농약의 대부분이 미생물에서 유래한 화합물이다.

미생물은 곰팡이의 경우 150만종이 있을 것으로 추정하지만 이제까지 알려진 곰팡이는 70,000종 (4.7%)에 지나지 않으며 95.3%는 숨겨져 있는 것으로 생각되고, 세균의 경우는 300만종이 있을 것으로 추정되며 그 중 이제까지 알려진 종은 4,000여종으로 단지 0.1%에 지나지 않는 실정이다 (Porter와 Fox, 1993). 따라서 아직 분리하지 않은 미

생물을 찾아내어 자원화 할 때 그 부가가치는 매우 크다고 할 수 있다. 식물병 방제를 위한 미생물의 이용은 크게 미생물 자체를 이용하는 방법, 미생물 발효에 의해 생산되는 대사물질을 이용하는 방법과 새로운 살균제 합성을 위한 선도 화합물로 미생물 대사물질을 이용하는 방법 등으로 다양하다.

*Fusarium*속 균은 부생균 또는 식물병원균으로 세계적으로 널리 분포되어 있으며, 뿌리 썩음병과 시들음병, 모잘록병 등을 일으키기도 한다. 또한 *Fusarium*속 균주들은 색소, 항생물질, 진균독소 및 식물 유해물질 등의 많은 이차대사 산물을 생성하는 균으로 보고되고 있다 (Burmeister와 Plattner, 1987; Caldwell 등, 1970; Dekker, 1963; Kim과 Lee, 1994; Kurtz와 Mirocha, 1978; Neish 등, 1982; Steyn과 Wessels, 1979; Seo 등, 1996). 잘 알려져 있는 이차대사 산물로 색소로는 *F. oxysporum*이 생성하는 bostrycoidin 등이 있고, 항생물질로 equisetin, enniatins 및 cyclosporin A와 D 등이 널리 알려져 있다. 또한 진균독소로 zearalenones trichothecenes, fumonisins 등이 널리 알려져 있으며, 식물유해물질로 fusaric acid 등이 보고되어 있다 (Vesonder와 Golinski, 1989).

본 실험에서는 *Fusarium*속 균주로부터 활성이 우수한 신규 생리활성 물질을 분리하기 위하여 다양한 시료로부터 총 70개의 *Fusarium*속 균주를 분리하였다. 분리한 균주들의 액체배양 및 고체배양 후에 얻어진 배양체를 이용하여 항균활성, 살충활성, 발잡초에 대한 제초활성 및 좀개구리밥에 대한 제초활성 등을 조사하여 활성이 우수한 균주를 선별하였다. 그리고 각각의 배지 시료에서 생물활성간의 상

*연락저자

관관계를 조사하였다.

재료 및 방법

균주의 분리 및 저장

총 70개의 *Fusarium*속 균주 중 26개의 균주는 토양에서 분리하였으며 나머지 44개의 균주는 채소, 화훼류, 과수류 등 식물조직에서 1990년에 분리하였다 (표 1). 균들의 분리는 *Fusarium*속 균의 선택배지인 Nash and Snyder medium (15.0 g peptone, 20.0 g agar, 1.0 g KH_2PO_4 , 0.5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1.0 g pentachloronitrobenzene, 1.0 liter distilled water)를 이용하여 균분리를 실시하였다. 분리한 균들은 다시 감자한천배지 (potato dextrose agar; Becton and Dickinson Co., Sparks, Maryland, USA)상에서 단 균사 분리를 실시하였으며, 분리한 70개의 균주들은 감자한천사면배지에 배양한 다음 실험에 사용하였다. 또한 균주의 장기간 보관을 위해 감자한천배지에서 7일 동안 배양된 균주 선단부를 떼어내 멸균한 6% dimethyl sulfoxide (DMSO) 용액에 넣은 다음 -70°C 에서 보관하였다.

균 배양 및 배양체 추출

분리한 70개 균주들의 여러 가지 생물활성을 조사하기 위하여 액체배양 및 고체배양을 실시하였다. 액체배양의 경우 멸균한 200 ml 감자즙액배지 (potato dextrose broth;

Becton and Dickinson Co.)에 감자한천배지에서 자라고 있는 균주의 선단부위를 cork borer (지름 8 mm)로 떼어낸 조각 4개씩을 접종한 다음 25°C , 150 rpm으로 10일간 진탕 배양하였다. 배양액을 $10,000 \times \text{g}$ 에서 15분간 원심 분리한 후 상층액을 취하여 액체배지 시료로 사용하였다. 고체배양의 경우에는 멸균한 쌀배지 200 g에 균사를 포함하고 있는 한천조각 (지름 8 mm)을 4개씩 넣어 접종한 다음 25°C 에서 28일간 정체 배양하였다. 배양 후 600 ml의 methanol을 가하여 잘 마쇄한 후 30분간 진탕한 다음 Whatman No. 2 (Whatman International Ltd., Maidstone, England) 여과지를 이용하여 여과하였다. 여과액을 감압농축한 후 다시 고체시료 10 g 당 DMSO 1 ml 비율로 완전히 용해한 DMSO용액을 생물활성을 위한 고체시료로 사용하였다.

In-vivo 항균활성 검정

항균활성 능력이 있는 균주를 선별하기 위해 벼·도열병, 벼·잎집무늬마름병, 토마토·잿빛곰팡이병, 토마토·역병, 밀·붉은녹병 및 보리·흰가루병 등의 6가지 식물병에 대하여 70개 *Fusarium*속 균주의 액체배양 시료 및 고체배양 시료의 in-vivo 항균활성검정을 실시하였다. 액체배양 시료는 균 배양 상층액 원액 30 ml에 Tween 20을 $250 \mu\text{g}/\text{ml}$ 수준으로 첨가한 후 처리하였고, 고체배지 시료는 Tween 20을 $250 \mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 함유하고 있는 용액 29.7 ml에 DMSO 고체배지 추출액을 0.3 ml 첨가한 후 엽면 살포

Table 1. *Fusarium* isolates obtained from soil and plants

Isolate	Source	Isolate	Source	Isolate	Source
FO-58	Soil	FO-85	Melon	FO-357	Tulip
FO-59	Soil	FO-86	Soil	FO-358	Spinach
FO-60	Radish	FO-101	Soil	FO-359	Soil
FO-61	Radish	FO-102	Soil	FO-360	Sesame
FO-62	Asparagus	FO-103	Soil	FO-361	Soil
FO-63	Asparagus	FO-104	Soil	FO-363	Soil
FO-64	Melon	FO-105	Soil	FO-365	Soil
FO-65	Cucumber	FO-107	Soil	FO-501	Gladiolus
FO-66	Tulip	FO-108	Soil	FO-502	Gladiolus
FO-67	Gladiolus	FO-109	Soil	FO-503	Soil
FO-68	Egg plant	FO-139	Gladiolus	FO-504	Soil
FO-70	Tomato	FO-147	Soil	FO-505	Gourd
FO-71	Tomato	FO-151	Radish	FO-506	Korean fir
FO-73	Tomato	FO-213	Soil	FO-507	Korean fir
FO-74	Cucumber	FO-214	Cucumber	FO-508	Strawberry
FO-75	Cucumber	FO-216	Soil	FO-509	Peanut
FO-76	Cucumber	FO-217	Soil	FO-510	Arrow head
FO-77	Cucumber	FO-219	Soil	FO-511	Strawberry
FO-78	Potato	FO-220	Soil	FO-512	Rice
FO-79	Cucumber	FO-221	Peanut	FO-513	Red pepper
FO-80	Carnation	FO-352	Soil	FO-514	Arrow head
FO-81	Soil	FO-354	Gladiolus	FO-515	Decan grass
FO-82	Soil	FO-355	Gladiolus		
FO-83	Carnation	FO-356	Orchid		

하였다 (Kim 등, 1999). 벼 (*Oryza sativa*), 토마토 (*Lycopersicon esculentum*), 보리 (*Hordeum sativum*) 및 밀 (*Triticum aestivum*)을 지름 4.5 cm 플라스틱 포트에 원예용 상토 또는 수도용 상토를 70% 정도 담고 온실(25±5°C)에서 1주에서 3주정도 키웠다.

벼·도열병은 2엽기 유묘에 *Magnaporthe grisea* 포자현탁액 (5×10⁵ 포자/ml)을 분무하여 접종한 후 25°C 습실상에서 하루동안 발병을 유도한 다음, 25°C 항온실에 두었다. 벼·잎집무늬마름병은 3엽기 유묘에 *Thanatephorus cucumeris*가 7일 동안 배양된 배지 (밀기울 90 g, 왕겨 15 g, 증류수 100 ml)를 접종하고 25°C 습실상에서 4일간 처리한 다음, 25°C 항온실에서 4일간 배양하였다. 토마토·역병은 2엽기 토마토 유묘에 *Phytophthora infestans*의 유주자낭 현탁액 (10⁵ 유주자낭/ml)에서 나출된 유주자낭 현탁액을 분무, 접종한 후 20°C 습실상에서 발병을 유도하였다.

한편, 토마토·잿빛곰팡이병은 토마토 2엽기 유묘에 *Botrytis cinerea* 포자 현탁액 (10⁶ 포자/ml)을 처리 한 후 습실상에서 발병시켰다. 밀·붉은녹병은 1엽기 유묘에 활물 기생균인 *Puccinia recondita*의 포자를 Tween 20 용액 (250 µg/ml)에 0.67 g 포자/ℓ 수준으로 현탁한 후 포자 현탁액을 분무처리하여 하루동안 20°C 습실상에서 발병을 유도한 후 항온실로 옮겨 배양하였다. 마지막으로 보리·흰가루병은 보리 유묘 1엽기에 숙주식물에서 계대 배양된 *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* 포자를 접종하고 20°C 항온실에서 발병시켰다. 대조구로는 1%의 DMSO를 혼합하고 있는 Tween 20 용액 (250 µg/ml) 30 ml을 사용하였다. 벼·도열병, 밀·붉은녹병, 보리·흰가루병은 7일 후 벼·잎집무늬마름병은 8일 후에, 그리고 토마토·잿빛곰팡이병과 토마토·역병은 각각 3일과 4일 후에 병반면적율을 조사하였다.

In-vivo 살충활성 검정

액체배지 시료는 원심분리한 상층액 원액을 사용하였으며, 고체배지 시료는 DMSO 고체배지 추출액을 Triton X-100 (t-octylphenoxypolyethoxyethanol; Sigma Chemical Co., St. Louis, USA)에 1% 농도로 희석하여 처리하였다. 벼멸구(*Nilaparvata lugens*) 활성검정은 3~5 cm 정도 자란 벼 유묘 4엽을 탈지면으로 말고 수분을 공급한 지름 4 cm, 길이 15 cm 시험관 내부에 일정한 높이로 말아 넣고, 벼멸구 3령 약충을 각 시험관 당 20마리 씩 접종한 후 소형 분무기로 분무하여 25°C 항온실에서 보관하였다. 배추좀나방 (*Plutella xylostella*)의 경우에는 이식 후 4주 경과한 양배추 잎을 지름 3.5 cm 크기의 disk로 잘라 준비된 약액에 약 30초간 침지하고 후드 내에서 건조하였다. 이것을 지름 5.5 cm 페트리디쉬에 넣고 배추좀나방 3령 유충을 10마리 씩 접종하였다 (Kim 등, 1990).

담배겨세미나방 (*Spodoptera litura*)의 경우 4주 경과한 양배추 잎을 지름 4.5 cm 크기로 잘라 침지한 후 6 cm 페트리디쉬에 넣고 담배겨세미나방 3령 유충 10마리 씩 접종하였다 (Park 등, 1992). 북승아혹진딧물 (*Myzus persicae*)의 경우 이식 후 3주 경과한 담배잎을 지름 4.5 cm 크기의 disk로 잘라 약액침지 후 성충을 10마리 씩 접종하였다

(Ahn 등, 1989). 점박이용애 (*Tetranychus urticae*)에 대한 실험은 파종 후 약 3주가 경과한 강낭콩 잎을 지름 3.5 cm 크기로 자른 후에 지름 6 cm 페트리디쉬에 탈지면을 알맞은 크기로 자르고 증류수로 축축히 적신다음 준비된 잎을 놓고, 점박이용애 성충 30 마리를 접종하였다 (Kim 등, 1994). 약액처리 후 24시간과 48시간 두 차례에 걸쳐 살충율을 조사하였다.

In-vivo 제초활성 검정

표면적 350 cm² 사각포트에 풍건 마쇄한 발토양을 일정량씩 담고 파종구를 만들어 준비된 잡초종자를 파종 후 복토 (0.5~1.0 cm)하였다. 잡초종자는 종류별로 휴면타파 및 보관방법이 다르지만 모두 발아력이 90% 이상인 것을 사용하였다. 수수 (*Sorghum bidentice*), 들피 (*Echinochloa crusgalli*), 개밀 (*Agropyron smithii*), 바랭이 (*Digitaria sanguinalis*), 미국개기장 (*Panicum decompositum*) 등 화본과 5종과 까마중 (*Solanum nigrum*), 자귀풀 (*Aeschynomene indica*), 어저귀 (*Abutilon theophrasti*), 도꼬마리 (*Xanthium strumarium*), 메꽃 (*Calystegia japonica*) 등 광엽 5종을 포함하여 총 10가지 잡초를 사용하였다. 파종 10일 후에 액체배지 시료는 액체배양체 상층액의 원액 14 ml에 Tween 20을 1,000 µg/ml 수준으로 첨가한 다음 엽면 살포하였고, 고체배지 시료는 DMSO 추출액을 Tween 20 용액 (1,000 µg/ml)에 최종 농도 1%가 되도록 처리 후 온실 (25±5°C)에서 14일 동안 식물체를 키운 다음 제초활성을 달관 조사하였다 (Faust, 1985).

좀개구리밥을 이용한 제초활성 검정

24-well plate (Corning Co., New York, USA)의 각 well에 시료를 포함한 Hutner 배지 (400 mg K₂HPO₄, 200 mg KOH, 500 mg EDTA, 200 mg NH₄NO₃, 354 mg Ca(NO₃)₂·4H₂O, 500 mg MgSO₄·7H₂O, 24.9 mg FeSO₄·7H₂O, 17.9 mg MnCl₂·4H₂O, 65.9 mg ZnSO₄·7H₂O, 3.95 mg CuSO₄·5H₂O, 25.2 mg Na₂MoO₄·2H₂O, 14.2 mg H₃BO₃, 0.2 mg Co(NO₃)₂·6H₂O, 1.0 liter distilled water)를 2 ml 씩 4반복으로 가한 다음 계대 배양한 좀개구리밥 1개씩을 치상하였다. 액체배지 시료는 액체배지 상층액의 최종농도 5%가 되도록 처리하였고, 고체배지 시료의 경우에는 DMSO 추출액의 최종농도 0.32%가 되도록 처리하였다. 시료처리 후 30°C 항온실에서 5일간 배양한 다음 결과를 관찰하였다.

생물활성간의 상관관계

실험에 사용한 *Fusarium*속 균주들의 액체배지 시료와 고체배지 시료에 대하여 항균활성, 살충활성, 발제초활성 및 좀개구리밥에 대한 제초활성 등에 대하여 생물활성간의 상관관계를 조사하였다. 항균활성, 살충활성 또는 발제초활성에서 식물병, 해충 및 초종에 대한 각각의 방제가를 0%는 0, 1%~20%는 1, 21%~40%는 2, 41%~60%는 3, 61%~80%는 4, 81%~100%는 5로 환산한 후 모두 합산해 나온 값을 각각의 균주의 대상 생물활성에 대한 활성 값으로 하였다. 이렇게 하여 얻어진 활성 값을 Microsoft Excell

Table 2. Liquid cultures of *Fusarium* isolates showing potent controlling activities against six plant diseases^{a)}

Isolate	Control Value (%) ^{b)}						
	RCB ^{c)}	RSB	TGM	TLB	WLR	BPM	
FO-59		0	0	0	0	80	0
FO-62	0	0	0	0	86	0	
FO-76	0	0	0	0	96	0	
FO-80		95	28	0	0	100	98
FO-359	95	0	21	0	0	0	
FO-363	0	0	0	0	100	0	
FO-514	86	0	21	0	97	0	
FO-515	16	28	0	0	80	0	

^{a)}The plant seedlings were inoculated with spores or mycelial suspensions of the test organisms 1 day after the liquid culture supernatants of 70 *Fusarium* isolates were sprayed to run-off on the leaves.

^{b)}Control value (%) = $100 \times \{ \text{disease severity of untreated plants} - \text{disease severity of treated plants} \} \div \text{disease severity of untreated plants}$

^{c)}RCB, rice blast; RSB, rice sheath blight; TGM, tomato grey mold; TLB, tomato late blight; BPM, barley powdery mildew; WLR, wheat leaf rust.

(Microsoft Co., USA) 통계 프로그램을 이용하여 생물활성 상호간의 상관관계를 조사하였다.

결과 및 고찰

In-vivo 항균활성

70개의 *Fusarium*속 균주의 액체배지 시료와 고체배지 시료의 *in-vivo* 항균활성을 조사한 결과 액체배지 시료에서는 6가지 식물병 중 한가지 병 이상에 대하여 80% 이상의 방제효과를 나타낸 것은 총 70개의 균주 중 8개 균주였으며, 이 중 5개 균주는 90% 이상의 높은 방제효과를 나타내었다 (표 2). 벼·도열병에 대해서는 3가지 시료가 80% 이상의 효과를 보였고, 밀·붉은녹병에는 7개 시료, 보리·흰가루병은 1개 시료가 80% 이상의 방제효과를 나타내었다. 그러나 벼·잎집무늬마름병, 토마토·잿빛곰팡이병 및 토마토·역병에 대하여 80% 이상의 방제효과를 보이는 시료는 없었다. 카네이션에서 분리한 균주번호 *Fusarium* sp. FO-80 균주는 벼·도열병, 밀·붉은녹병 및 보리·흰가루병 등 3가지 식물병에 대해 95% 이상의 높은 방제효과를 나타내었고, 벼풀에서 분리한 *Fusarium* sp. FO-514 균주는 벼·도열병과 밀·붉은녹병 각각에 대해 86%와 97%의 방제효과를 나타내었다.

고체배지 시료에서는 총 21개의 시료가 80% 이상의 방제효과를 나타내었고, 이 중 90% 이상의 방제효과를 나타낸 것은 11개 시료였다 (표 3). 벼·도열병에 대해서는 11개 시료, 벼·잎집무늬마름병은 3개 시료, 밀·붉은녹병은 8개 시료, 그리고 토마토·역병과 보리·흰가루병은 각각 2개 씩의 시료가 80% 이상의 방제효과를 나타내었다. 그러나 토마토·잿빛곰팡이병에 대하여 뚜렷한 효과를 보이는 시료는 없었다. 가지에서 분리한 *F. equiseti* FO-68 균주는 벼·도열병, 토마토·역병 및 밀·붉은녹병 등 세가지 식물병에 대해 95% 이상의 높은 방제효과를 나타내었다. 벼풀에서 분리한 *Fusarium* sp. FO-510 균주는 벼·도열병과

밀·붉은녹병에 대하여 70% 이상의 방제효과를 보였고, 또한 토마토·역병과 보리·흰가루병에 대해서는 각각 95%와 83%의 방제효과를 보여 항균활성이 매우 높은 것으로 나타났다. 액체배지 시료에서도 3가지 식물병에 대하여 95% 이상의 높은 방제효과를 보인 *Fusarium* sp. FO-80 균주는 고체배지 시료에서도 밀·붉은녹병과 보리·흰가루병에 대해 각각 95%와 83%의 효과를 보여 액체배지와 고체배지 모두에서 항균활성물질을 생성하는 것으로 나타났다.

In-vivo 살충활성

5가지 해충에 대하여 *in-vivo* 살충활성검정을 실시한 결과 액체배지 시료의 경우 2개 시료가 80% 이상의 방제효과를 보였다 (표 4). 무에서 분리한 균주번호 *F. oxysporum* FO-61은 복숭아혹진딧물에 대해 80%의 방제효과를 나타내었고, *Fusarium* sp. FO-80 균주는 배추좀나방에 대해서 90%의 살충효과를 보였다. *Fusarium* sp. FO-80 균주는 액체배지와 고체배지 시료에서의 높은 항균활성 효과와 더불어 액체배지 시료의 살충활성 검정에서도 높은 활성을 가지고 있었다. 그리고 고체배지 시료에서는 벼풀에서 분리한 *Fusarium* sp. FO-510 균주가 복숭아혹진딧물에 대해 80%의 살충활성을 보였다. 살균활성과 비교하여 높은 활성을 보이는 시료 수는 대체로 적었으나, 액체배양에서 2개 균주를, 고체배양에서는 1개의 살충활성이 있는 균주를 선발할 수 있었다.

제초활성

*Fusarium*속 70개 균주의 액체배지 시료와 고체배지 시료의 화분과 5종과 광엽 5종의 잡초를 이용한 *in-vivo* 제초활성 검정에서는 뚜렷한 활성을 보이는 시료는 액체배지와 고체배지 시료 모두 찾아볼 수 없었다. 몇몇 처리구에서는 약제처리 초기에 잎의 황백화 현상 등을 일시적으로 보이기도 하였으나 다시 식물체가 회복되는 현상을 관찰할 수 있었다. 다만, 카네이션에서 분리한 *Fusarium* sp. FO-80

Table 3. Solid cultures of *Fusarium* isolates showing potent controlling activities against six plant diseases^{a)}

Isolate	Control Value (%) ^{b)}					
	RCB ^{c)}	RSB	TGM	TLB	WLR	BPM
FO-61	16	0	21	0	90	16
FO-64	0	0	7	0	80	0
FO-65	0	0	21	20	85	50
FO-68	95	14	21	100	100	33
FO-75	0	100	0	0	3	0
FO-80	13	28	7	0	98	83
FO-86	5	100	7	0	20	0
FO-101	82	0	0	0	20	0
FO-103	80	10	15	0	0	50
FO-104	90	0	7	0	0	41
FO-107	80	15	15	0	20	0
FO-139	0	100	0	0	6	0
FO-213	90	0	0	0	20	0
FO-214	83	0	0	0	0	41
FO-217	80	0	0	0	0	16
FO-352	83	0	7	0	33	0
FO-355	96	0	0	0	53	50
FO-365	86	0	0	0	80	0
FO-508	63	0	0	0	83	0
FO-510	75	0	0	95	73	83
FO-511	25	0	0	0	93	0

^{a)}The plant seedlings were inoculated with spores or mycelial suspensions of the test organisms 1 day after the extracts of rice solid cultures of 70 *Fusarium* isolates were treated onto the leaves.

^{b)}Control value (%) = 100 × {disease severity of untreated plants - disease severity of treated plants} ÷ disease severity of untreated plants.

^{c)}RCB, rice blast; RSB, rice sheath blight; TGM, tomato grey mold; TLB, tomato late blight; BPM, barley powdery mildew; WLR, wheat leaf rust.

균주의 액체배지 시료는 수수와 바랭이에 각각 30%, 까마중에 20%, 자귀풀에 35%, 어저귀에 20% 및 도꼬마리에 대해서도 40%의 제초활성을 보였다.

한편 좁개구리밥을 이용한 제초활성 검정결과 액체배지 시료에서는 액체 배양액 1.25% 수준에서 3개 시료가 70% 이상의 방제효과를 나타내었다 (표 5). *Fusarium* sp. FO-80

균주와 *F. oxysporum* FO-104 균주는 1.25% 수준에서 좁개구리밥의 생장을 70% 억제하였으며, *Fusarium* sp. FO-514 균주는 배양액 0.623% 농도에서 70%의 생장억제 효과를 보였다. 그리고 고체배지 시료에서는 DMSO 추출액 0.32% 수준에서 9개 균주가 70% 이상으로 좁개구리밥의 생장을 억제하였다. 특히 땅콩에서 분리한 *Fusarium* sp. FO-509

Table 4. Liquid and solid cultures of *Fusarium* isolates showing potent insecticidal activities against 5 arthropod pests^{a)}

Isolate	Medium	Mortality (%)				
		BPH ^{b)}	GPA	DBM	TCW	TSSM
FO-61	Liquid medium	0	80	0	0	3
FO-80	"	0	30	90	0	10
FO-510	Solid medium	0	80	0	0	0

^{a)}The arthropod pests were treated with the liquid culture supernatants or the extracts of rice solid cultures of 70 *Fusarium* isolates by foliar spray or leaf-dipping.

^{b)}BPH, brown planthopper; GPA, green peach aphid; DBM, diamondback moth; TCW, tobacco cutworm; TSSM, two-spotted spider mite.

균주와 가지에서 분리한 *F. equiseti* FO-68 균주는 각각 DMSO 추출용액 0.006%와 0.001%의 아주 낮은 농도에서 70% 이상의 좁개구리밥에 대한 생장억제 활성을 보여 제초활성이 큰 것으로 나타났다.

Table 5. Liquid and solid cultures of *Fusarium* isolates showing potent herbicidal activities against duckweed^{a)}

Isolate	Medium	EC ₇₀ value (%) ^{b)}
FO-80	Liquid medium	1.250 ^{c)}
FO-104	"	1.250
FO-514	"	0.623
FO-66	Solid medium	0.320 ^{d)}
FO-68	"	0.001
FO-78	"	0.056
FO-101	"	0.056
FO-102	"	0.100
FO-103	"	0.100
FO-354	"	0.100
FO-509	"	0.006
FO-510	"	0.010

^{a)}Each duckweed was floated on Hutner's medium after treating with liquid culture supernatants or the extracts of rice solid cultures of 70 *Fusarium* isolates.

^{b)}70% inhibitory concentration of duckweed growth.

^{c)}% concentration of the liquid culture supernatants of *Fusarium* isolates in Hutner's medium.

^{d)}% concentration of DMSO solutions of the methanol extracts of rice solid cultures of *Fusarium* isolates.

생물활성간의 상관관계

액체배지 시료와 고체배지 시료 각각의 생물활성간의 상관관계를 통계적으로 조사하였다. 그 결과 좁개구리밥에 대한 제초활성과 항균활성간에는 액체배지 시료와 고체배지 시료 모두 상관관계가 있었으나 다른 생물활성간에는 상관관계가 없는 것으로 나타났다. 즉, 액체배지 시료에서의 좁개구리밥을 이용한 제초활성과 항균활성간에는 상관관계수 r 값이 0.559로 1% 수준에서 r 의 유의한계 값인 0.302보다 커 매우 높은 상관관계가 있는 것으로 나타났으며, 고체배지 시료의 경우에도 상관관계수 r 값이 0.3872로 1% 수준에서 유의한계 값보다 커서 좁개구리밥에 대한 제초활성과 항균활성 사이에 상관관계가 있는 것으로 나타났다. 하지만 대상 미생물 및 배양조건이 달라지면 두 가지 생물활성간의 상관관계는 달라질 수도 있는 것으로 사료된다.

한편, 실험결과 *Fusarium* sp. FO-80 균주의 액체배지 시료는 항균활성 뿐만 아니라 배추좀나방에 대한 살충효과 및 밭 제초에 대한 제초활성도 보였다. 또한 *Fusarium* sp. FO-510 균주의 고체배지 시료는 높은 항균활성과 더불어 복숭아혹진딧물에 대한 살충활성도 보였다. 이와 같은 여러 가지 활성이 하나의 물질에 의한 것인지 아니면 두 개 이상의 물질에 의한 것인지는 물질분리에 대한 연구 후에 정

확히 알 수 있겠지만 *Fusarium*속 균주가 생성하는 물질들 중에 이와 같이 다양한 활성을 보이는 균주는 많이 보고되고 있다. 가장 대표적인 물질은 enniatins으로 enniatin A, A₁, A₂, B, B₁, B₂, B₃, B₄와 C 등이 알려져 있는데 이들은 항균활성과 더불어 살충활성 및 제초활성 등도 가지고 있는 것으로 보고되어 있다 (Audhya 와 Rushell, 1974; Blais 등, 1992; Burmeister 와 Plattner, 1987; Pressman, 1976; Shemyakin 등, 1969; Strongman 등, 1988; Visconti 등, 1992).

이상의 실험 결과 토양 및 다양한 식물체로부터 분리한 70개의 *Fusarium*속 균주들의 생물활성 검정을 통하여 항균활성, 살충활성 및 좁개구리밥에 대한 제초활성이 우수한 균주들을 선별할 수 있었다. 현재 이들 균주들로부터 활성 물질을 분리하고 동정하는 연구를 계속 진행하고 있으며, 신물질이면서 활성이 우수한 물질일 경우 직접 이용하거나, 아니면 선도물질로서 이용 가능성을 조사할 예정이다.

인용문헌

- Ahn, Y. J., G. H. Kim, and S. Y. Choi (1989) Joint toxic of insecticide mixtures to the cypermethrin and pirimicarb selected strains of green peach aphid (*Myzys persicae* sulzer). Kor. J. Appl. Entomol. 28(1): 32~36.
- Ames, B. N. (1979) Identifying environmental chemicals causing mutations and cancer. Science 204:587~593.
- Audhya, T. K. and D. W. Rushell (1974) Production of enniatins by *Fusarium sambucinum*: selection of high-yield condition from liquid surface cultures. J. Gen. Microbiol. 82:205~210.
- Baker, C. J., J. R. Stavelly, C. A. Thomas, M. Sasser and J. S. MacFall (1983) Inhibitory effect of *Bacillus subtilis* on *Uromyces phaseoli* and on development of rust pustules on bean leaves. Phytopathology 73:1148~1152.
- Bernardinni, M., A. Carilli, G. Pacioni and B. Saturbono (1975) Isolation of beauvericin from *Paecilomyces fomeso-roseus*. Phytochemistry 14:1865.
- Blais, L. A., J. W. ApSimon, B. L. Black, R. Greenhalgh and J. D. Miller (1992) Isolation and characterization of enniatins from *Fusarium avenaceum* DAOM 196490. Can. J. Chem. 70:1281~1287.
- Burmeister, H. R. and R. D. Plattner (1987) Enniatin production by *Fusarium tricinctum* and its affect on germinating wheat seeds. Phytopathology 77: 1483~1487.
- Caldwell, R. W., J. Tuite, M. Stob and R. Baldwin (1970) Zearalenone production by *Fusarium* species. Appl. Microbiol. 20:31~34.
- Dekker, J. (1963) Antibiotics in the control of plant

- diseases. *Ann. Rev. Microbiol.* 17:243~262.
- Faust, W. (1985) Important weeds of the world (Scientific and Common Names, and WSSA/WSSJ Approved Computer Codes), The Agrochemical Division of Bayer AG, Leverkusen, Federal Republic of Germany.
- Katz, E. and A. Demain (1977) The peptide antibiotics of *Bacillus*: chemistry, biogenesis and possible functions. *Bacteriol. Rev.* 41:449~475.
- Kim, G. H., Y. S. Seo, J. H. Lee and K. Y. Cho (1990) Development of fenvalerate resistance of the diamondback moth, *Plutella xylostella* Linne (Lepidoptera: Yponomeutidae) and its cross resistance. *Kor. J. Appl. Entomol.* 29(3):194~200.
- Kim, G. H., C. Song, N. J. Park and K. Y. Cho (1994) Inheritance of resistance in dicofol-selected strain of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae), and its cross resistance. *Kor. J. Appl. Entomol.* 33(4):230~236.
- Kim, H.-J., J.-C. Kim, B. S. Kim, H. K. Kim and K. Y. Cho (1999) Antibiotic and phytotoxic activities of ophiobolins from *Helminthosporium* species. *Plant Pathol. J.* 15(1):14~20.
- Kim, J.-C. and Y.-W. Lee (1994) Sambutoxin, a new mycotoxin produced by toxic *Fusarium* isolates obtained from rotted potato tubers. *Appl. Environ. Microbiol.* 60:4380~4306.
- Kurtz, H. Z. and C. J. Mirocha (1978) Zearalenone (F-2) induced estrogenic syndrome in swine. pp.256-268, *In Mycotoxic Fungi, Mycotoxins, Mycotoxicoses: An Encyclopedic Handbook*. Vol. 2 (ed. T. D. Wyllie and L. G. Morehouse), Marcel Dekker Inc., New York, USA.
- Lange, L., J. Breinholt, F. W. Rasmussen and R. I. Nielsen (1993) Microbial fungicides-the natural choice. *Pestic. Sci.* 39:155~160.
- Neish, G. A., E. R. Fornworth and H. Cohen (1982) Zearalenone and trichothecenes production by some *Fusarium* species associated with Canadian strains. *Can. J. Plant Pathol.* 4:191~194.
- Park, N. J., K. S. Jang, J. R. Cho and K. Y. Cho (1992) Effects of RH 5849, an ecdysone agonist, against feeding and growth of tobacco cutworm (*Spodoptera litura* Fabricius) larvae. *Kor. J. Appl. Entomol.* 31(4):475~479.
- Porter, N. and F. M. Fox (1993) Diversity of microbial products-discovery and application. *Pestic. Sci.* 39:161~168.
- Powel, K. A. and A. R. Jutsum (1993) Technical and commercial aspects of biocontrol products. *Pestic. Sci.* 37:315~321.
- Pressman, B. C. (1976) Biocontrol applications of ionophores. *Ann. Rev. Biochem.* 45:191~194.
- Seo, Y.-S., J.-C. Kim, B. S. Kim, Y.-W. Lee and K. Y. Cho (1996) Isolation and identification of antifungal substances produced by *Fusarium* sp. BAY-1. *Kor. J. Plant Pathol.* 12(1):72~79.
- Shemyakin, M. M., Y. A. Ovchinnikov, V. T. Ivanov, V. K. Antonov, E. I. Vinogradova, A. M. Shrob, G. G. Malenkov, A. Evstratov, Z. A. Laine, E. I. Melnik and L. D. Ryabova (1969) Cyclodepsipeptides as chemical tool for studying ionic transport through membranes. *J. Membr. Biol.* 1:402~430.
- Staub, T. and D. Sozzi (1984) Fungicide resistance: a continuing challenge. *Plant Dis.* 68:1026~1031.
- Steyn, P. S. and P. L. Wessels (1979) Pigments from *Fusarium moniliforme* Sheldon. *Tetrahedron* 35:1551~1555.
- Strongman, D. B., G. M. Strunz, P. Giguere, C. M. Yu and L. Calhoun (1988) Enniatins from *Fusarium avenaceum* isolated from balsam fir foliage and their toxicity to spruce budworm larvae, *Choristoneura fumiferana* (Chem.). *J. Chem. Ecol.* 14:753~764.
- Vesonder, R. F. and P. Golinski (1989) Metabolites of *Fusarium*. pp 1-39, *In Fusarium-mycotoxins, taxonomy and pathogenicity* (ed. J. Chelkowski), Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.
- Visconti, A., L. A. Blais, J. W. ApSimon, R. Greenhalgh and J. Miller (1992) Production of enniatins by *Fusarium acuminatum* and *Fusarium compactum* in liquid culture: isolation and characterization of three new enniatins, B₂, B₃, and B₄. *J. Agric. Food Chem.* 40:1076~1082.

Biological activities of *Fusarium* isolates from soil and plants

Joong-Hyeop Park, Jin-Cheol Kim*, Gyung Ja Choi, Heung Tae Kim, Kyung-Sik Hong, Cheol Song, Jin-Seog Kim, Jeong-Gyu Kim¹ and Kwang Yun Cho (Screening Division, Korea Research Institute of Chemical Technology, Yusong P.O. Box 107, Korea, ¹Department of Agricultural Chemistry, Korea University, Seoul 136-701, Korea)

Abstract : In order to select potent bioactive isolates, 70 *Fusarium* isolates obtained from soil and 21 plant species were screened by antifungal, insecticidal, herbicidal, and duckweed bioassays after culturing in potato dextrose broth and rice solid media. Eight (11.4%) of the 70 liquid broth cultures showed disease-controlling activities more than 80% against at least one of the 6 plant diseases tested. *Fusarium* sp. FO-68 isolate exhibited the most potent antifungal activity; it controlled rice blast, wheat leaf rust, and barley powdery mildew with control values more than 95%. Out of 70 solid cultures, 21 (30.0%) controlled at least one plant disease more than 80% and *F. equiseti* FO-68 isolate showed disease-controlling activities more than 95% against 3 plant diseases such as rice blast, tomato late blight, and wheat leaf rust. As for the insecticidal activities, 2 liquid and 1 solid cultures showed potent insecticidal activities against pest insects more than 80%. Liquid cultures of *F. oxysporum* FO-61 and *Fusarium* sp. FO-80 isolates exhibited insecticidal activities more than 80% against green peach aphid and diamondback moth, respectively. The solid culture of *Fusarium* sp. FO-510 isolate had 80% insecticidal activity against green peach aphid. However, none of liquid and solid cultures of the 70 *Fusarium* isolates showed potent herbicidal activities against 10 upland weeds. As the results of duckweed assay, 3 liquid cultures showed 70% growth inhibitory activity at concentrations less than 1.25% of culture supernatants and 9 solid cultures had a potent inhibitory activity against duckweed growth. On the other hand, there was a significant correlation between antifungal activities and herbicidal activities against duckweed of both liquid and solid cultures of the 70 *Fusarium* isolates.

*Corresponding author (Fax : +82-42-861-4913, E-mail : kjinc@pado.kRICT.re.kr)