

수종의 고산식물에 대한 항균활성 탐색

김현철*, 김종갑, 김도은¹⁾, 최고봉¹⁾, 권난희¹⁾, 송진영¹⁾, 김태근¹⁾, 송창길¹⁾, 정세호

제주특별자치도 세계유산·한라산연구원

¹⁾제주대학교 농학과

요 약

본 연구는 고산식물인 구상나무, 시로미, 섬매발톱나무 등을 이용하여 친환경 농자재로 개발하기 위한 기초자료를 제공하고자 수용성 추출액 농도에 따른 검은무늬병, 갈색잎마름병, 검은점무늬병 등 작물 병원균에 대해 생장을 조사하였다.

검정식물별에 따른 수용성 추출액 농도가 증가됨에 따라 작물 병원균 균사의 생장이 감소하는 경향을 보이나 공여체식물과 병원균의 종류에 따라 억제 정도차이를 보였다. 검은무늬병인 경우 구상나무, 시로미, 사스래나무에서 농도 증가에 따라 각각 $r = -0.972(p < 0.01)$, $r = -0.965(p < 0.01)$, $r = -0.687(p < 0.01)$ 로 역의 상관을 보였고 갈색잎마름병은 섬매발톱나무 $r = -0.963(p < 0.01)$, 사스래나무 $r = -0.956(p < 0.01)$, 시로미 $r = -0.844(p < 0.01)$, 구상나무 $r = -0.874(p < 0.01)$ 로 역의 상관을 보였다. 모마름병, 모잘록병, 역병, 잣빛곰팡이병도 농도가 증가함에 따라 각각 $r = -0.981 \sim -0.705(p < 0.01)$, $r = -0.977 \sim -0.707(p < 0.01)$, $r = -0.955 \sim -0.714(p < 0.01)$, $r = -0.932 \sim -0.850(p < 0.01)$ 로 역의 상관을 보였고 균핵병은 시로미, 구상나무, 섬매발톱나무에서 $r = -0.611 \sim -0.607(p < 0.01)$ 로 역의 상관을 보였다. 100% 처리구에서 균사의 생장억제 활성은 구상나무와 시로미인 경우 모마름병, 모잘록병, 역병, 균핵병에 대해 90%의 높은 억제율을 보이는 것으로 분석되었다. 항균활성을 보이는 수용체식물의 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 총 페놀 함량은 좀갈매나무 13.75mg/g, 시로미 11.01mg/g, 사스래나무 10.70mg/g, 구상나무 6.04mg/g, 섬매발톱나무 5.92mg/g 순으로 조사되었고 총 플라보노이드 함량은 좀갈매나무 12.93mg/g, 사스래나무 11.27mg/g, 시로미 10.31mg/g, 구상나무 3.71mg/g, 섬매발톱나무 7.46mg/g 순으로 조사되었다.

* 교신저자 ; 전화: 064-710-7572, e-mail: khc4078@korea.kr

서 론

최근 환경문제는 식량문제와 직접적으로 관련되어 전 세계적으로 시선이 집중되어 있는 가운데 국내에서도 농산물에 대한 농약 잔류 문제가 꾸준히 대두되어 문제시 되고 있다. 국내 농약 사용량은 1990년대 중반 1,205kg/km²로 OECD 회원국 중 일본에 이어 2위이며, OECD 평균 사용량 263 kg의 4.6배, 농약최소 사용국인 뉴질랜드(25kg)의 48배에 해당된다(김, 2011). 우리나라의 농약 과다 사용으로 인해 자연 환경 생태계 파괴, 지하수 오염, 농작물의 잔류 독성 및 해충의 저항성 출현 등 심각한 문제를 야기 되고 있는데 2006년에 이러한 문제로 관련된 농촌진흥청 민원 접수는 연간 2만 4천 여 건이 접수 되고 있으며 접수되지 않은 민원을 포함하면 연간 4만건 수준에 이렀다(농업과학기술원, 2006). 또한 농산물 수출시 농산물에 잔류된 농약으로 인한 통관 문제와 과채류 생식에 따른 친환경 농산물에 대한 국내·외 소비자들의 요구가 점차 커짐에 따라 식물 추출물을 활용한 작물 병해충 방제기술 수요가 최근 급격히 증가하고 있으며, 이를 위한 식물 추출물별 병해충 방제 기능성에 대한 연구도 여러 분야에서 진행되고 있다(Kwon 등, 1997; Kyung 등, 1999; Kim 등, 2009; Seo 등, 2011; Kim 등, 2013; Song 등, 2013). 이는 식물체로부터 유래한 병해충 방제 유용 물질은 화학합성농약의 개발에 비해 저투입개발이 가능하여 많은 연구자들은 항균활성 물질을 지닌 자생식물을 조사하고 이로부터 항균 활성 물질을 찾으려는 시도를 하였다(Park 등, 1986; Park 등, 1990; Hong 등, 1988). 그중 1988년 수박을 비롯하여 박과작물의 과일생산을 위협하는 수박 과실 썩음병균(*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*)에 대해 항균활성은 굴껍질과 붉나무(*Schlechtendalia chinensis*)이 강한 활성을 보였고(노와 최, 2015; 김과 최, 2015) 우리나라의 감자 생산에 약 10~90% 정도의 피해를 입히는 더듬이병 병원균(*Streptomyces scabies*)에 대해서도 녹비작물 추출액이 항균활성을 보인다(박 등, 2011). 또한 일황련, 황백나무, 지모 등의 추출물도 고추역병에 방제효과가 있다고 한다. 이처럼 모든 식물 추출액으로 항균력을 검정한 결과 거의 모든 식물에 활성물이 포함되어 있고 함유되어 있는 활성 물질은 식물의 분류학적 위치와 관련이 없이 서로 다른 활성을 보이며 시료의 품종, 채취시기 및 추출방법, 작물의 병원균 종류에 따라 활성이 다르다(Gillicer, 1947).

우리나라의 자생식물은 약 4,100여 분류군이 분포하고 있고 이중 제주지역에는 1,900여 분류군이 분포하고 있어 국내에서는 식물 중 다양성이 가장 풍부한 곳으로 알려져 있다(한라산연구소, 2007). 이중 한반도에 분포하는 고산식물은 51과 175속 269종 5아종 73변종 9품종으로 보고되고 있고 남한에서 가장 높은 한라산에는 박(1942)은 79종, 정(1989)은 81종(목본 17종, 초본 84종) 이(2000)는 180종, 김(2005)은 123종(목본 18종, 초본 105종)으로 학자마다 견해 차이를 보이거나 가장 높은 분포를 보인다. 이는 남한에서 가장 높은 한라산(1950m)에는 빙하기중 기후가 한랭해지면서 동북아시아로부터 유입된 식물 중 일부가 후빙기에 기온이 상승하면서 한랭한 피난처를 찾아 고지대로 이동하면서 정상일대에 격리 분포를 보이기 때문이다. 최근 기후변화에 따른 고산식물 자생지의 분포 급감과 자생식물을 이용한 산업화 연구가 진행됨에 따라 고산식물의 종보존을 위한 증식방법 도출과 유전자원확보, 새로운 소재 발굴에 따른 산업화연구 등이 진행되고 있다.

따라서 본 연구도 새로운 소재 발굴에 따른 산업화연구의 일환으로 세계유산·한라산연구원에서 증식방법이 도출된 고산식물을 대상으로 제주지역 농작물 재배시 발생하는 병원균에 대해 *in vitro*상에서 항균활성 측정하여 친환경 살균제 개발 시 기초자료로 제공하고자 실시하였다.

재료 및 방법

1. 시료채취 및 처리

검정식물(Test plants)의 선발은 아고산지역의 대표적인 수목으로 구상나무(*Abies koreana*), 시로미(*Empetrum nigrum* var. *asiaticum*), 섬매발톱나무(*Berberis amurensis* var. *quelpaertensis*), 좁갈매나무(*Rhamnus taquetii*), 사스래나무(*Betula ermani*)를 선정하였고 세계유산·한라산연구원에서 증식방법이 도출된 수종이다. 각각의 시료는 해발 1500m이상 지역인 한라산 영실 및 어리목지역에서 지상부를 채취하였고 채취된 시료는 3cm정도로 잘라 음건하여 사용하였다.

2. 수용성 추출액 준비

공여체식물의 수용성 추출액은 음지에서 건조시킨 전초를 분쇄하여 건중량 100g당 1,000ml의 증류수를 넣어 고온가압추출(Autoclave extraction)하였다. 이 여과된 추출액을 100% 임의로 정하여 증류수로 75%, 50%, 25%로 희석하였고 배지 제조 시 물 대신 수용성 추출액을 첨가하였으며 대조구는 24시간 전에 받아둔 증류수를 사용하였다.

3. 수용성 추출액에서의 항균실험

실험에 사용된 균은 검은무늬병(*Alternaria brassicae*), 갈색무늬병(*Rhizoctonia solani*), 모마름병(*Pythium graminicola*), 역병(*Phytophthora capsici*), 잣빛곰팡이병(*Botrytis cinerea*), 모잘록병(*Pythium ultimum*), 균핵병(*Sclerotinia sclerotiorum*), 검은점무늬병(*Diaporthe citri*)으로 한국농업미생물자원센터(KACC)에서 분양 받아 사용하였고 대조구의 배지는 증류수 900ml에 Potato dextrose agar 39g과 Agar 5g을 혼합하여 조성하였으며 실험구 배지는 증류수 대신 농도별 추출액을 넣어 사용하였다. 균주는 1주에서 2주 동안 배양한 후 동일한 사이즈를 얻기 위해 Cork borer(직경 8mm)를 이용하였으며 배지가 굳은 후 배양된 균주를 배지의 가운데에 접합 한 후 3~7일 동안 Colony diameter를 측정하였고 대조구에 대한 상대생장률(%)을 산출하였다.

4. 수용성 추출액에서의 총 페놀함량 분석

수용성 추출액의 총 페놀함량은 Prussian blue법(Graham, 1992)으로 3회

반복 측정하였고, 각각 시료의 수용성 추출액 100 μ l에 증류수 3ml, 0.01M FeCl₃/0.1N HCL 1ml, 0.016M K₃Fe(CN)₆ 1ml을 혼합하여 진탕한 후 실온에서 15분간 방치 후 stabilizer(H₂O : 1% gum arabic : 85% phosphoric acid = 3:1:1, v/v/v) 5ml를 첨가한 후 700nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀함량은 gallic acid를 이용하여 검량곡선을 작성하고 gallic acid에 대한 당량으로 환산하였다.

총 플라보노이드 함량은 동결 건조된 각 부위별 메탄올추출물 0.1 g에 Lister 등(1994)의 변형된 방법에 따라 3회 반복 측정하였고 각각 시료의 수용성추출액 100 μ l를 시험관에 취하고 3ml의 diethylene glycol을 가하여 잘 혼합하였다. 다시 여기에 1 N NaOH 300 μ l를 잘 혼합시켜 37℃의 water bath에서 1시간 동안 반응시킨 후 420nm에서 흡광도를 측정하였다. 공시험은 시료 용액 대신 증류수로 동일하게 처리하였으며, 표준곡선은 naringin(Sigma Co., St. Louis, MO, USA)을 이용하여 표준 검량곡선을 작성하고 이로부터 총 플라보노이드 함량을 구하였다.

결과 및 고찰

1. 수용성 추출액에 대한 항균활성

1) 검은무늬병(*Alternaria brassicae*)

검은무늬병은 *Alternaria*군에 의해 채소, 화훼, 과수, 약초 등의 많은 작물에 수량과 상품가치를 떨어뜨리고 고온, 다습한 여름과 가을철 비가 많을 때 주로 무와 배추 등에 암갈색 내지 흑색의 작은 원형 반점을 만들어 잎 전체가 황갈색으로 변하며 말라 죽는다. 그중 *Alternaria brassicae*는 무, 양배추, 배추, 갯의 잎, 줄기, 꼬투리에 발생하고 작물의 품질 저하를 가져온다. *Alternaria*군에 대해 현지 시판중인 14종의 친환경자제를 대상으로 군사생장 억제제를 조사한 결과 탄저스탑, 랜드세이버, 탑시드, 벨로퍼, KO팡, 닥터프란트는 5 mm 내외로 억제율을 보였고 이중 식물추출물 제제는 탄저스탑, 랜드세이버이다(이 등, 2011). 제주지역에 분포하는 구상나무, 시로미 등 5종의 고산식물에 대해 군사생장 억제에 대해 조사한 결과 시로미 100%처리구에서 대조구에 비해

85%의 균사생장 억제를 보였고 구상나무 65%, 섬매발톱나무 22%, 사스래나무 8%, 좁갈매나무 2% 순으로 억제되는 것으로 분석되었다. 농도도 증가에 따른 억제 경향은 구상나무 $r=-0.972(p<0.01)$, 시로미 $r=-0.965(p<0.01)$, 사스래나무 $r=-0.687(p<0.01)$ 는 감소하는 경향을 보이나 섬매발톱나무, 좁갈매나무는 농도 증가에 따른 억제의 경향을 보이지 않았다.

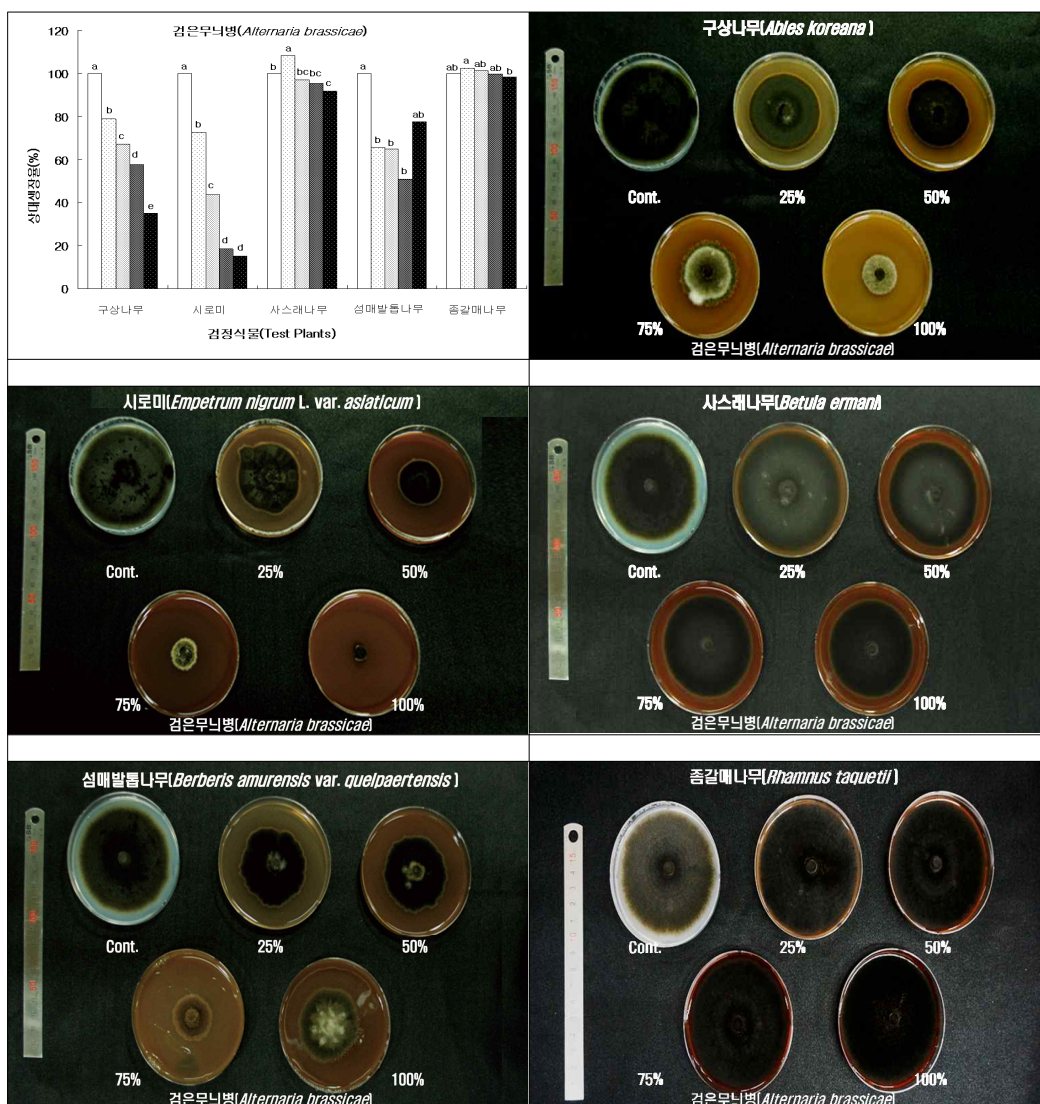


그림 1. 검은무늬병에 대한 항균활성

2) 갈색무늬병(*Rhizoctonia solani*)

해를 거듭할수록 국내의 골프인구가 차츰 증가하고 있는 추세이다. 국내의 골프장 그린에는 한지형 잔디인 Bentgrass, Fairway에는 난지형인 한국 잔디가 주로 식재되어 있는데 *Rhizoctonia solani*에 의한 피해가 나타나고 있다(KTRI, 2007). Large patch의 병원균에 감염되면 식물체내에 암모니아 축적되어 생장에 해를 미치는 등 방제에 대부분 차지하는 농약의 과다한 처리에도 불구하고 완전한 방제가 일어나지 않은 채 오히려 환경오염의 결과를 나타나게 된다(우 등, 2011). 따라서 골프장 잔디에서 갈색무늬병을 방제할 수 있는 화학적 방제 대체법 강구를 위하여 다양한 연구들이 수행되고 있는데 목초액과 같은 천연물 제제나 길항미생물을 이용한 생물적 방제, 저항성 품종의 개발 등이 시도되고 있다(Chai 등, 2001; Geon 등, 2005; Islam 등, 2009; Jung 등, 2008). 따라서 구상나무, 시로미 등 제주지역 고산식물 수용성 추출액에 따른 갈색무늬병 군사 생장을 조사한 결과 대조구에 비해 구상나무 80%, 시로미 71%, 섬매발톱나무 63%, 사스래나무 30%의 억제률을 보였고 좀갈매나무는 억제작용을 보이지 않는 것으로 분석되었다. 농도별 억제 경향은 섬매발톱나무 $r=-0.963(p<0.01)$, 사스래나무 $r=-0.956(p<0.01)$, 시로미 $r=-0.844(p<0.01)$, 구상나무 $r=-0.874(p<0.01)$ 순으로 농도가 증가함에 따라 순차적인 감소를 보이는 것으로 분석되었다. 이는 강 등(2013)은 약용식물인 송절(*Pinus densiflora* Sieb. et Zucc.)와 측백나무(*Thuja orientalis* L.)에 추출물에 대해 군사억제를 조사한 결과 송절 50.7%, 측백나무 45.2%의 군사생장 억제 보다 구상나무, 시로미, 섬매발톱나무의 추출액이 항균활성 높은 것으로 나타났다.

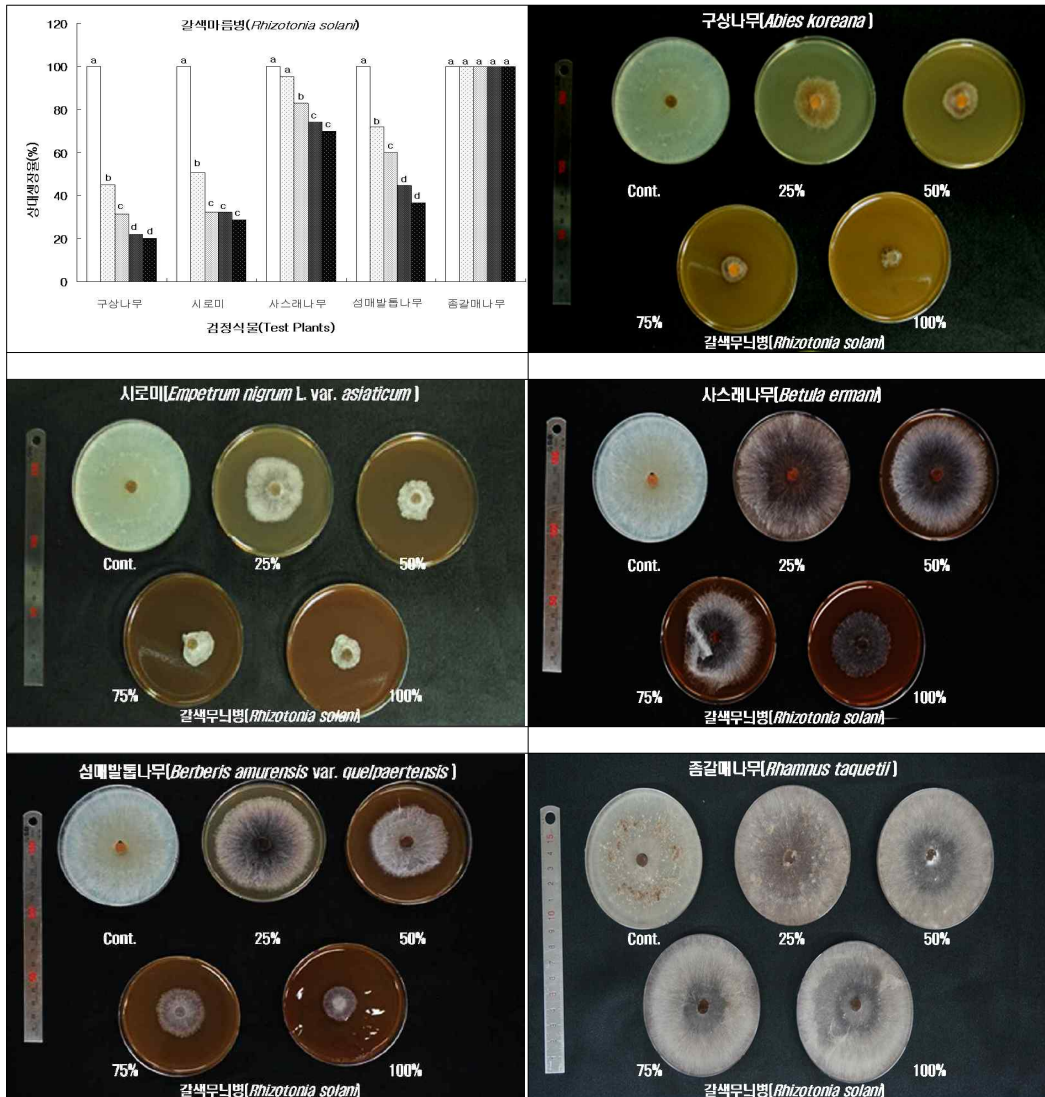


그림 2. 갈색무늬병에 대한 항균활성

3) 모마름병(*Pythium graminicola*)

Pythium spp.에 의해 화본과 작물인 잔디류에 발생하는 병에는 종자의 발아 전·후에 발생하는 모잘록병, 잎마름병, 관부썩음병, 뿌리썩음병 등이 있다. 이중 가장 문제가 되는 병은 *Pythium* spp.에 의해 발생하는 잎마름병의 일종인 피시움마름병(*Pythium blight*)으로 한지형 잔디가 있는 퍼팅 그린에 주로 발생하고 수매성으로 전파되어 방제가 쉽지 않다. 현재 골프장에서는 피시움마름병을 방제하기 위해 유기 합성 살균제를 이용한 화학적 방제와 경종적 방제가 주로 사용되고 있어 환경오염, 인축 독성, 저항성 병원균의 발생 등이 문제로 야기되고 있다(Nelson, 1997; Uddin와 Viji, 2002). 이러한 문제점을 보완하기 위해 친화적인 기술개발인 식물추출물, 길항미생물 등을 이용한 생물학적 방제 요소의 연구 개발이 이루어지고 있다(강 등, 2013). 따라서 본연구에서 잔디에 발생하는 모마름병의 원인균중 하나인 *Pythium graminicola*에 대한 항균활성을 탐색한 결과 검정식물 대부분이 *Pythium graminicola*에 대해 높은 항균 활성을 보였는데 구상나무, 시로미, 섬매발톱나무인 경우는 25% 처리구 이상부터 90%의 균사 억제율을 보였는데 이는 균사의 생장이 전혀 이루어지지 않는 것으로 나타났다(그림 3). 반면 사스레나무와 좀갈매나무는 25% 처리구에서 각각 51%, 21%의 억제율을 보이거나 100%처리구에서는 각각 90%, 84%의 억제율을 보이는 것으로 분석되었다. 또한 농도가 증가함에 따라 균사의 생장이 역의 상관($r=-0.981\sim-0.705(p<0.01)$)을 보이는 것으로 분석되었다.

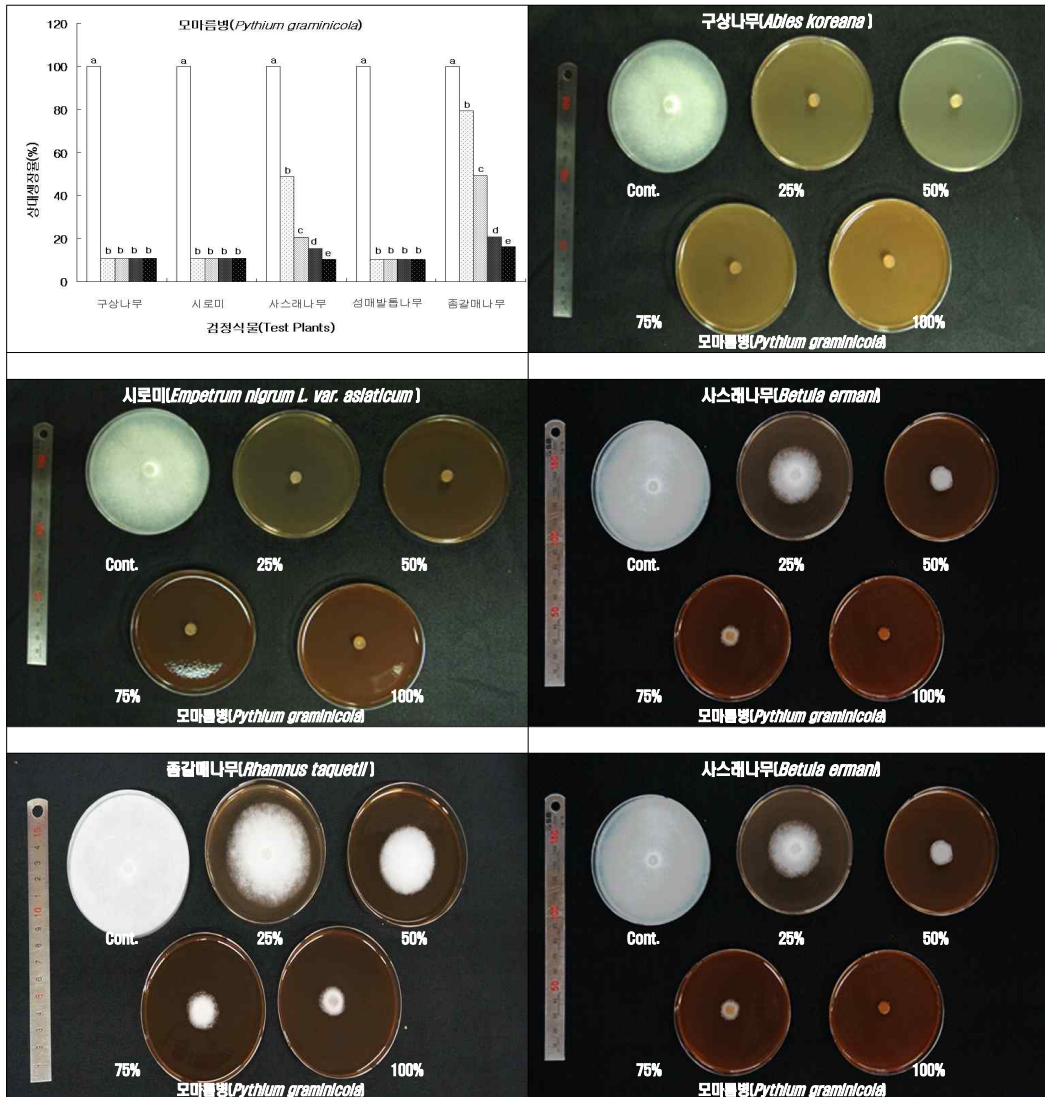


그림 3. 모마름병에 대한 항균활성

4) 모잘록병(*Pythium ultimum*)

모잘록병은 전 세계적으로 고추, 토마토, 오이, 호박 등 거의 모든 작물에 심각한 피해를 입히는 주요 병해이다. 이 병은 차고 수분이 많은 토양에서 많이 발생하는데 파종한 종자가 발아되기 전에 토양 내에서 썩거나, 종자가 발아하는 동안 또는 토양 표면으로 나온 후에 병원균의 공격을 받아서 뿌리나 줄기 부분이 물러 썩으면서 식물체가 지탱하지 못하고 쓰러지는 모잘록 증상을 나타낸다(Agrios, 2005). 모잘록병을 방제하기 위해서 적절한 토양 배수 및 관수 관리 등의 경종적 방법과 비닐 멀칭을 이용한 묘상의 태양열 소독방법, 그리고 살균제를 종자에 처리하거나 토양 소독에 이용하는 화학적 방법이 주로 사용되어왔다. 그러나 화학적 방제에 따른 환경오염, 생태계파괴 등으로 인해 최근 길항미생물, 식물 추출물 등을 이용한 환경친화적 방제가 주목 받으면서 많은 연구가 활발히 이루어지고 있다(Handelsman과 Stabb, 1996; Islam과 Faruq, 2012). 따라서 모잘록병 생물학적 방제를 위한 기초자료로 제공하고 자 고산식물의 수용성 추출액을 이용한 모잘록병균의 생육을 조사한 결과 구상나무와 시로미에서 25%처리구부터 균사의 생장이 이루어지지 않았고 섬매발톱나무, 사스래나무, 좀갈매나무는 대조구에 비해 각각 90%, 54%, 35%의 억제율을 보이는 것으로 분석되었다. 이중 섬매발톱나무는 대조구에 비해 25%처리구에서 22%, 50%처리구에서 85%억제율을 보이는 것으로 보아 50% 처리구부터 모잘록병 방제에 효과가 있을 것으로 판단된다. 또한 각시료별 농도가 증가됨에 따라 모잘록병 균사생장은 역의상관($r=-0.977\sim-0.707(p<0.01)$)을 보이는 것으로 분석되었다.

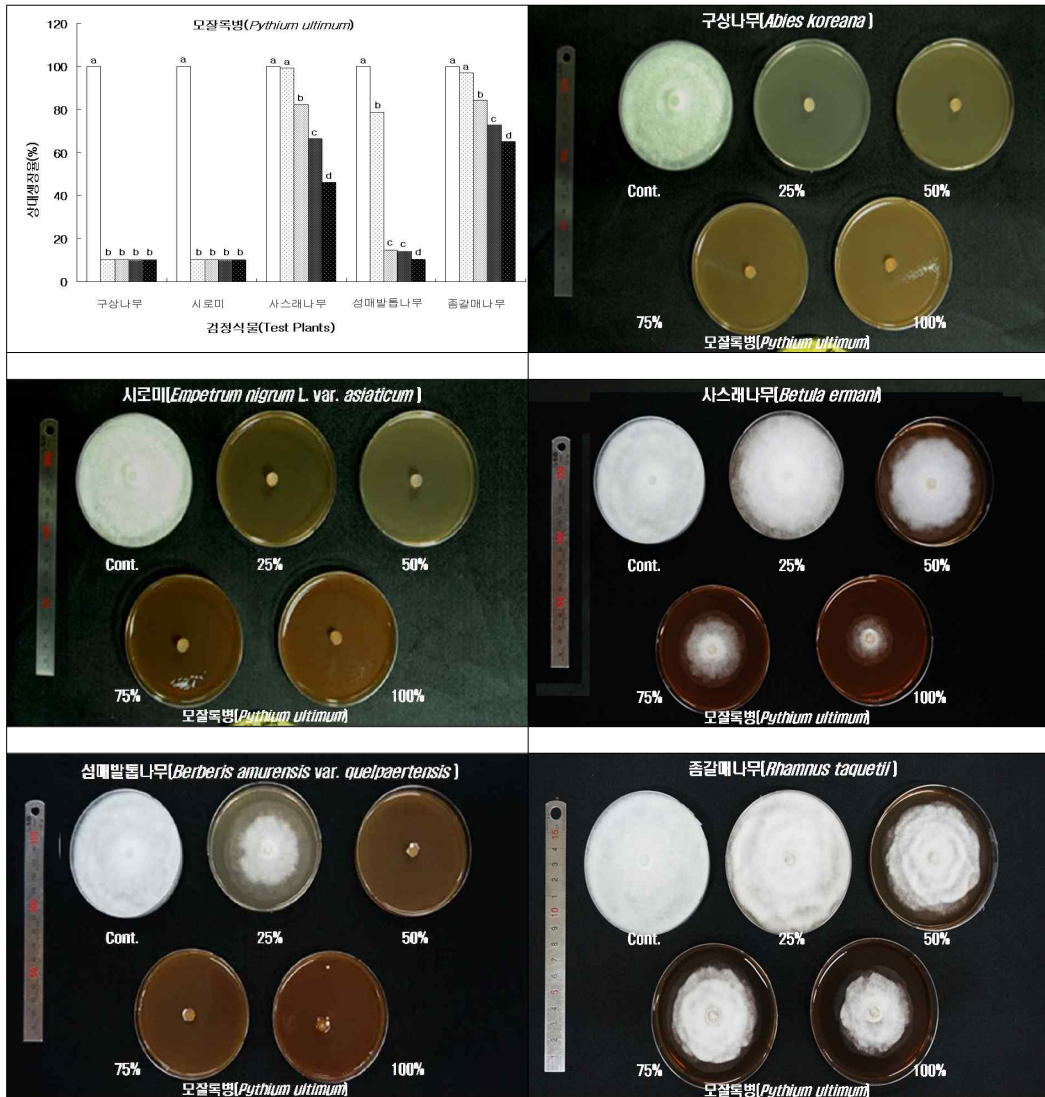


그림 4. 모잘록병에 대한 항균활성

5) 역병(*Phytophthora capsici*)

*Phytophthora capsici*는 고추의 생산량을 위협하는 중요한 병으로 매년 5% 이상 되는 발생주율을 보이고 고추 총 생산액이 1조 4500억원인 것을 감안하면 매년 고추 역병으로 인한 피해액은 최소한 7백억원에 가까울 것으로 추정하고 있으며 고추역병의 방제는 주로 유기합성 농약을 사용하여 수행되고 있다(Kim과 Park, 1988; Shin 등, 1999; Yin, 2007). 그러나 최근 고추역병에 대한 길항미생물을 이용한 미생물제제 개발에 대한 연구가 진행되고 있고 친환경농자재로 등록되어 있는 무기염류, 오일류, 식물추출물 등을 이용하여 역병 방제에 대한 효과를 조사되고 있다. 역병균에 대한 항균활성 분석결과 시로미와 구상나무는 100%처리구에서 대조구에 비해 90%억제율을 보이고 섬매발톱나무 70%, 사스래나무 58%, 좁갈매나무 11% 순으로 억제율을 보이는 것으로 분석되었다. 시료의 농도가 증가함에 따라 균사생장은 역의 상관($r=-0.955\sim-0.714(p<0.01)$)을 보이는 것으로 분석되었다(그림 4).

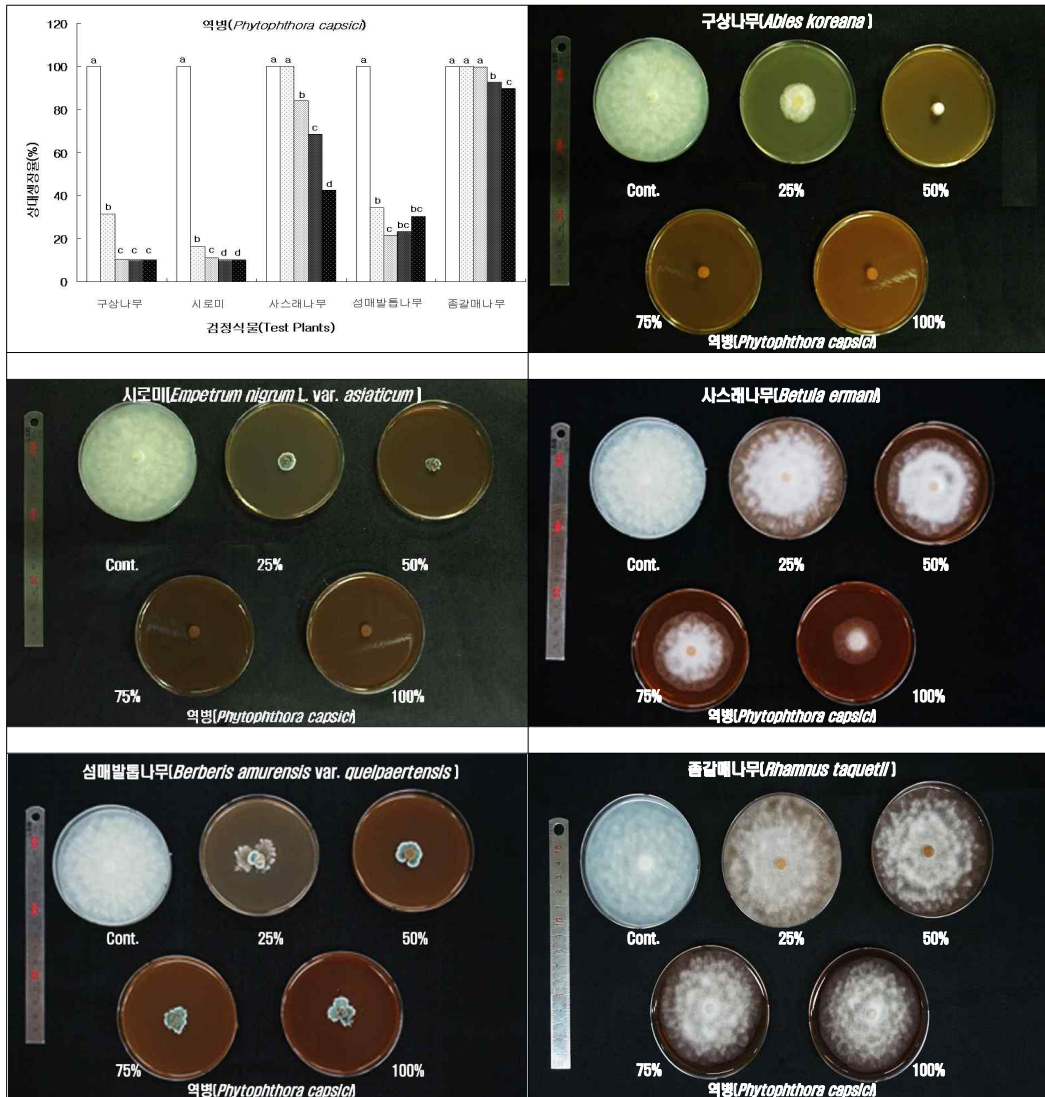


그림 5. 역병에 대한 항균활성

6) 잣빛곰팡이병(*Botrytis cinerea*)

잣빛 곰팡이병(*Botrytis cinerea*)은 오이, 토마토, 딸기 등의 여러 작물에서 발생하고 있으며 습도가 높은 온실에서 많이 발생하고 있다. 이 병해의 방제는 주로 화학농약에 의존해 왔으나 benzimidazole계와 dicarboximide계 살균제에 대한 저항성 균이 나타나 방제 효력이 저하되었다(Delp,1988). 국내에서는 Kim 등(1995)의 보고에 따르면 benzimidazole계 및 N-phenylcarbamate계 살균제에 다중 저항성인 잣빛 곰팡이 병이 출현하였다고 하였다. Choi 등(2006)은 in vitro 살균 활성인 포자 발아 억제효과와 균사생장 억제효과는 각각 in vivo 살균 활성의 예방효과와 치료효과와 관련이 있다. 따라서 본 실험 결과 대조구에 비해 시로미 59%, 섬매발톱나무 56%, 구상나무 38%, 사스래나무 16%, 좀갈매나무 10%의 억제율을 보이는 것으로 분석되었고 추출액 농도가 증가함에 따라 억제의 경향성을 역의 상관($r=-0.932\sim-0.850(p<0.01)$)을 보이거나 수중에 따라 억제율을 다르게 분석되었다.

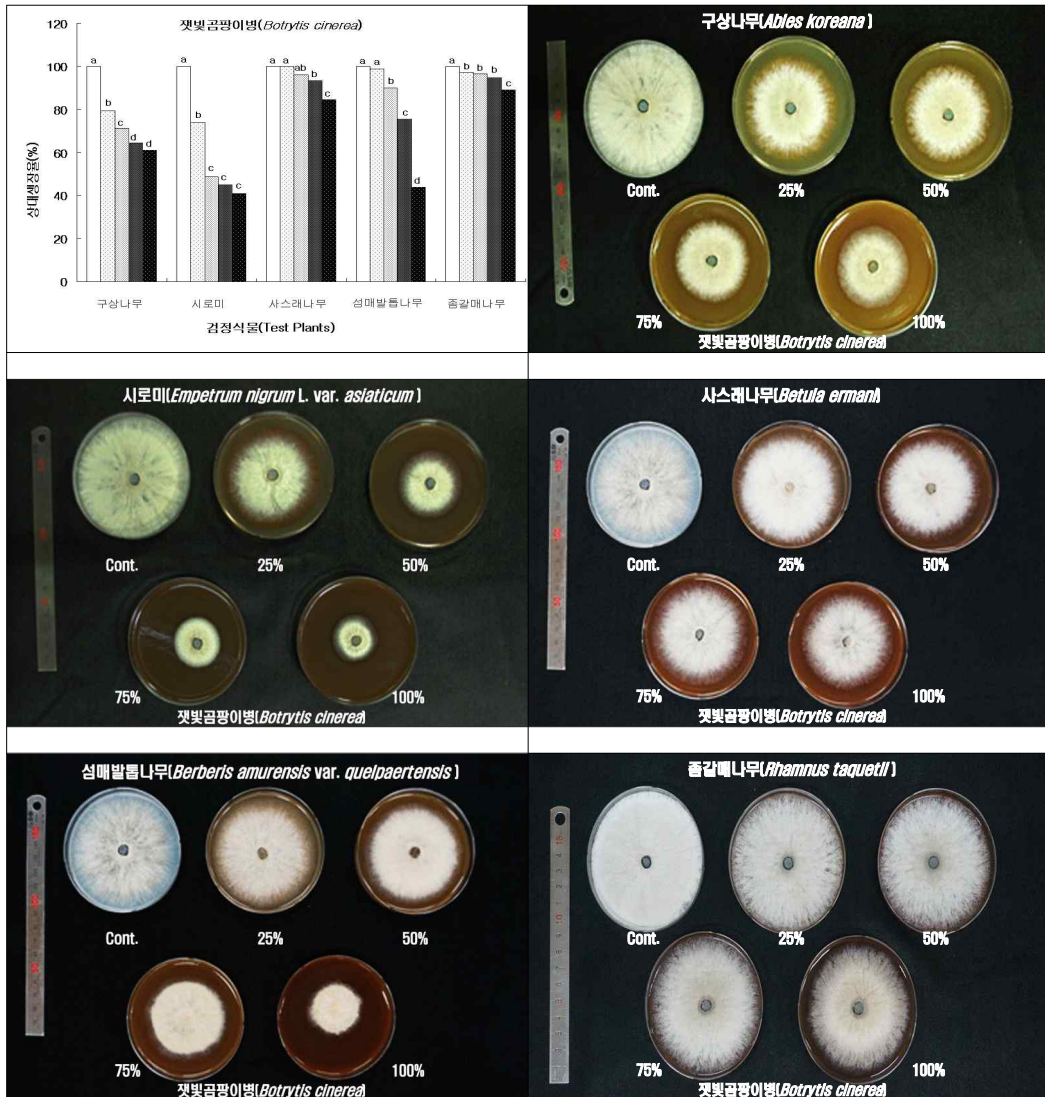


그림 6. 젯빛곰팡이에 대한 항균활성

7) 균핵병(*Sclerotinia sclerotiorum*)

미국, 유럽 등 상추를 생산하는 주요 국가에서는 상추 균핵병이 수량손실을 야기하는 중요한 병으로 알려져 있으며, 미국에서는 매년 1-75%의 작물손실을 일으키는 병으로 알려져 있다(Purdy, 1979). 국내에서 연중 생산되는 상추는 주로 시설내에서 재배되며, 연작과 늦가을부터 초봄에 이르는 겨울철의 저온다습한 시설내의 환경은 균핵병의 발생을 조장하여 농가에 경제적 피해를 주고 있다(Chang 과 Kim, 2003; Kim과 Cho, 2002). 균핵병 화학적 방제시 잔류농약, 환경오염 등의 발생으로 인해 최근 국내외적으로 생물학적 균핵병의 방제를 위해 관심이 높아지면서 길항세균을 이용한 방제효과에 대한 연구가 진행되었다(Kim 등, 2004; 황 등, 2006; 전 등, 2013). 따라서 균핵병 방제를 위한 기초자료로 제공하고자 고산식물의 수용성 추출액을 이용한 균핵병의 생육을 조사한 결과 시로미인 경우 50%처리구부터 균사 생장이 이루어지지 않았고 구상나무인 경우 75%처리구부터 이루어지지 않았다. 반면 좀갈매나무인 경우 대조구에 비해 100%처리구에서 2.3%로 매우 낮은 균사생장 억제가 이루어진 것으로 분석되었다. 농도 증가에 따른 균핵병 균사생장은 구상나무, 시로미, 섬매발톱나무는 유의확률 99%에서 $r=-0.926\sim-0.743$ 으로 분석되었고 사스래나무와 좀갈매나무는 유의확률 95%에서 $r=-0.611\sim-0.607$ 로 분석되어 역의 상관관계를 보이는 것으로 나타났다.

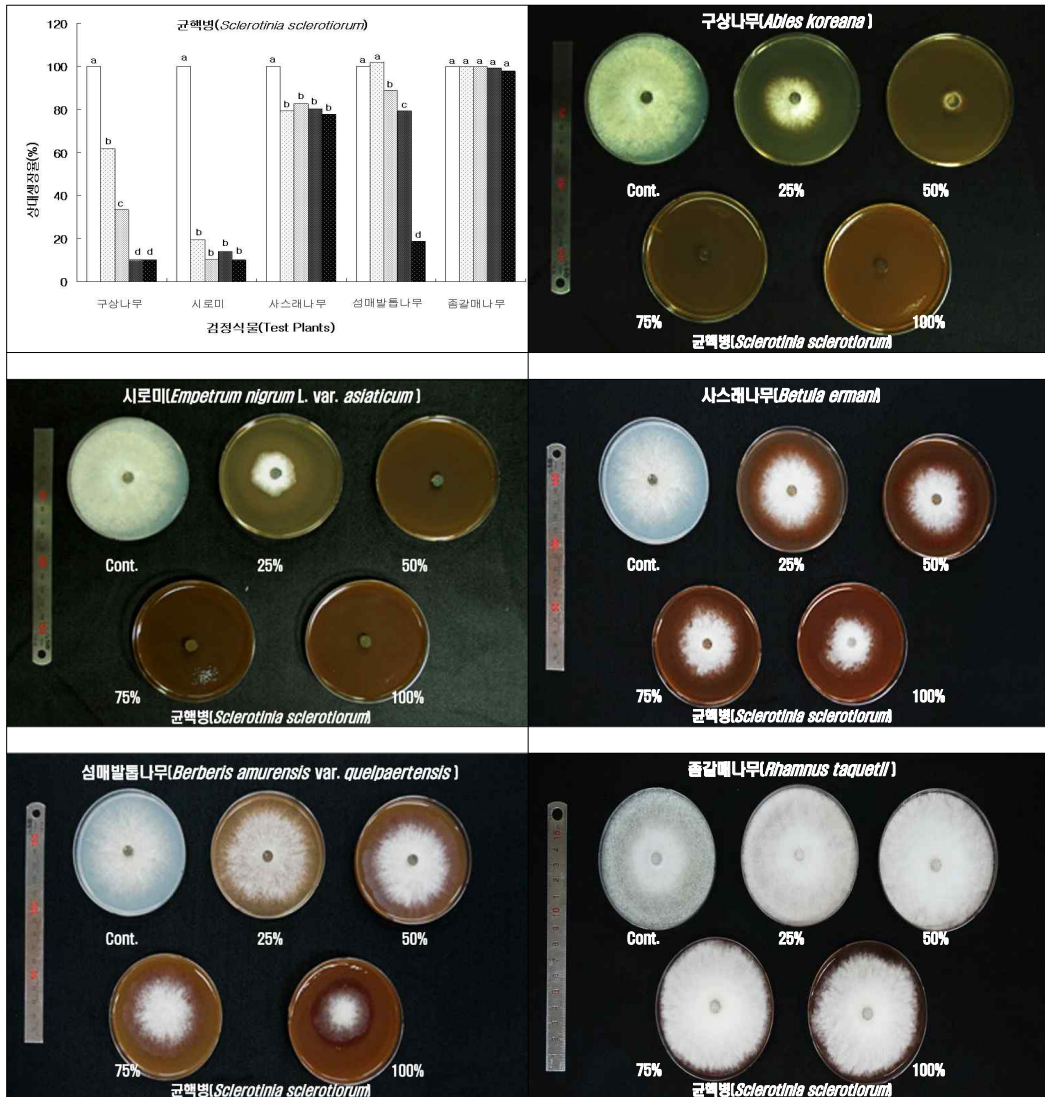


그림 7. 균핵병에 대한 항균활성

8) 검은점무늬병(*Diaporthe citri*)

감귤에서 검은점무늬병은 *Diaporthe citri*에 의해 발생하는 병으로 잎, 가지, 과실에 발생하고, 과실의 수량 및 과실표면에 흑점형, 니괴형, 누반형 등의 증상으로 과실의 품질에 관여된 상품성을 크게 떨어뜨려 감귤재배 농가의 경제적 피해를 주는 원인이 된다. 검은점무늬병은 무방제시 95%이상 발생이 되고 이를 방제하기 위해 화학농약 중 mancozeb를 사용하는데 mancozeb 유래된 농약은 감귤뿐만 아니라 과수 수출시 상대국의 농약잔류 허용기준에 의해 사용을 제한하거나 검출되어서는 안 되는 농약으로 분류되어 있다(Kim 등, 2005). 이를 보완하기 위해 최근 구리제는 기계유제와 혼용하여 보호 살균제로 친환경 감귤원에서 사용하고 있으나 감귤나무의 어린 새순 또는 과실에 구리제에 대한 약해가 발생하여 문제가 되고 있다(Hyun 등, 2005). 따라서 친환경 농자재의 개발을 위한 기초자료 제공으로 제주지역 고산식물의 수용성 추출액을 이용하여 균사의 생장 측정 한 결과 대조구에 비해 100% 처리구에서 시로미 76%, 구상나무 70%, 사스레나무 41%, 섬매발톱나무 16%, 좁갈매나무 14%의 억제율을 보이는 것으로 분석되었고 시로미, 구상나무, 사스레나무는 농도가 증가함에 따라 유의확률 99%에서 역의 상관($r=-0.937\sim-0.802$)을 보이는 것으로 분석되었다.

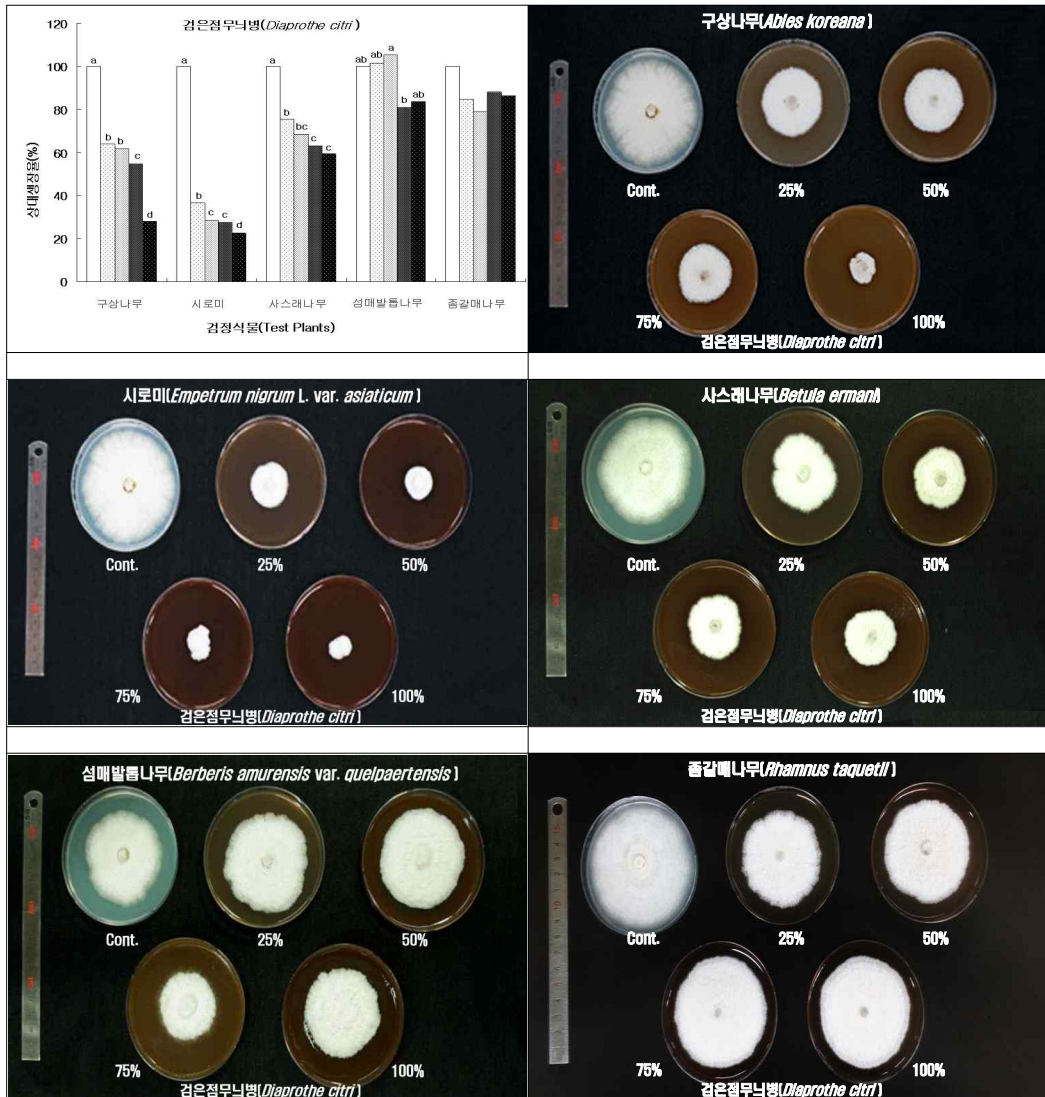


그림 8. 검은점무늬병에 대한 항균활성

2. 수용성 추출액의 총페놀 함량

식물에 존재하는 향균물질의 대부분은 alkaloid류, flavonoid류, terpenoid류, phenolic compound류, quinone류 및 volatile oil 등의 이차대사산물 또는 그 유도체인 것으로 알려져 있다(Mischer 등, 1980; 이와 신, 1991). Chung and Moon(2001)은 오이 용매별 분획추출물의 항균활성을 조사한 결과, methanol 추출물에서는 대부분 저해환을 형성하였으나 물과 butanol 희분에서는 항균활성을 전혀 나타내지 않는다고 보고하였으며, 겨자추출물을 이용한 Shim 등(1995)의 결과에서도 동일한 경향을 보였다. 이는 추출용매에 따라 항균성에 현저한 차이를 보이는 것으로서 항균 효과를 높이기 위해서는 각 소재에 따른 적합한 용매 선정이 중요하다고 본다. 식물체에 함유된 페놀성 물질이 항균활성을 나타낸다는 연구결과들(Clark, 1981; Kim 등, 2005) 이는 총 폴리페놀 함량과는 다소 다른 양상으로 플라보노이드 성분 축적은 과실의 생육과는 크게 상관이 없는 것으로 추측되었다(양과 부, 2013). 총페놀함량에서 상대적으로 높았던 장죽청장과 장형낙합 추출물이 항균활성에서도 다소 높은 것으로 나타남으로서 오이 품종별 추출물이 가지는 항균활성이 polyphenol성분과 관련성이 있을 것으로 판단되었다.

김 등(2005)는 총 페놀성 화합물의 함량은 목초액 농축물이 227.5 mg/g이었으며, 용매 분획별로는 에틸아세테이트 분획과 헥산 분획이 488.3 mg/g과 403.8 mg/g으로 높게 나타났으며 부탄올 및 수용성 분획은 각각 83.6 mg/g과 74.5 mg/g으로 수용성 추출액에 함유되어 있는 페놀성 화합물이 가장 적은 수치로 나타났다. 이는 식물체를 에탄올과 메탄올의 경우 열수 추출보다 많은 allelochemicals를 추출할 수 있지만, 본 연구에서는 안전성이나 이용성, 경제성 등을 고려하여 수용성 추출액을 추출하였다. 식물체에 함유된 페놀성 물질과 플라보노이드 물질에 의해 항균효과를 나타나고 항균활성은 총페놀, 총플라보노이드 함량과 상관관계는 있지만 실험병원균 종류에 따라 서로 다른 항균활성을 보인다(Clark 등, 1981; 고와 양, 2001). 따라서 각 시료별 수용성 추출액에 대한 총 페놀 함량을 분석한 결과 좀갈매나무 13.75mg/g, 시로미 11.01mg/g, 사스래나무 10.70mg/g, 구상나무 6.04mg/g, 섬매발톱나무 5.92mg/g 순으로 조사되었고 총 플라보노이드 함량은 좀갈매나무 12.93mg/g,

사스래나무 11.27mg/g, 시로미 10.31mg/g, 구상나무 3.71mg/g, 섬매발톱나무 7.46mg/g 순으로 조사되어 본 연구에 사용된 실험병원균의 항균활성과 검정 식물의 총 페놀, 총 플라보노이드 함량과는 상관관계가 없는 것으로 분석되었다(표 1).

표 1. 검정식물 총 페놀, 총 플라보노이드 함량 비교

	구상나무	시로미	사스래나무	섬매발톱 나무	좀갈매나무
총페놀 (mg/g)	6.04	11.01	10.7	5.92	13.75
총플라보노이드 (mg/g)	3.71	10.31	11.27	7.46	12.93

Screening of Antifungal Activities of the Aqueous Extracts of Alpine Plants

Hyoun-Chol Kim*, Jong-Kab Kim, Do-Eun Kim¹⁾, Go-Bong Choi¹⁾, Nan-Hei Gun¹⁾, Jin-Young Song¹⁾, Tea-Gun Kim¹⁾, Chang-Khil Song¹⁾

World Heritage and Mt. Hallasan Research Institute,
Jeju Special Self-Governing Province¹⁾ Major of plant Resources and
Environment, Cheju National University

ABSTRACT

The study researched antifungal activity on *Alternaria brassicae*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium graminicola*, *Phytophthora capsici* and so on according to concentration of water-soluble extract in order to provide basic data for developing natural agricultural resources by using native plants including *Abies koreana*, *Empetrum nigrum* var. *asiaticum*, *Berberis amurensis* var. *quelpaertensis*, *Rhamnus taquetii*, and *Betula ermani*.

It was generally decreased the mycelium growth of pathogens by concentration of the water extracts from test plant. But they analyzed differently inhibitory activity from the the kind of test plants, kind of pathogens. It was decreased mycelium growth of *Alternaria brassicae* by concentration of the water extracts from *Abies koreana*($r=-0.972$, $p<0.01$), *Empetrum nigrum* var. *asiaticum*($r=0.965$, $p<0.01$) and *Betula ermani*($r=-0.687$, $p<0.01$). Also, *Rhizoctonia solani* and *Berberis amurensis* var. *quelpaertensis*($r=-0.963$, $p<0.01$), *Rhizoctonia solani* and *Betula ermani*($r=-0.956$, $p<0.01$), *Rhizoctonia solani* and *Empetrum nigrum* var. *asiaticum*($r=-0.844$, $p<0.01$), *Rhizoctonia solani* and *Abies*

koreana($r=-0.874$, $p<0.01$) showed an inverse relationship.

It showed an inverse relationship on mycelium growth of *Pythium graminicola*($r=-0.981\sim-0.705$, $p<0.01$), *Pythium ultimum*($r=-0.977\sim-0.707$, $p<0.01$), *Phytophthora capsici*($r=-0.955\sim-0.714$, $p<0.01$), *Botrytis cinerea*($r=-0.932\sim-0.850$, $p<0.01$) by concentration of the water extracts from test plants and mycelium growth of *Sclerotinia sclerotiorum*($r=-0.611\sim-0.607$, $p<0.01$) by concentration of the water extracts from *Empetrum nigrum* var. *asiaticum*, *Abies koreana*, *Berberis amurensis* var. *quelpaertensis* 100% treatment of *Empetrum nigrum* var. *asiaticum* and *Abies koreana* inhibited *Pythium graminicola* 90%, *Pythium ultimum* 90%, *Phytophthora capsici* 90%, *Sclerotinia sclerotiorum* 90%. Inhibition rate of mycelial growth of pathogens analysed *Pythium graminicola* 90%, *Pythium ultimum* 90%, *Phytophthora capsici* 90%, *Sclerotinia sclerotiorum* 90% in 100% treatment of *Empetrum nigrum* var. *asiaticum*, *Abies koreana*. For total amount of content of phenol with antifungal activities, *Rhamnus taquetii* 13.75mg/g, *Empetrum nigrum* var. *asiaticum* 11.01mg/g, *Betula ermani* 10.70mg/g, *Abies koreana* 6.04mg/g, *Berberis amurensis* var. *quelpaertensis* 5.92mg/g and total amount of content of flavonoid, *Rhamnus taquetii* 12.93mg/g, *Betula ermani* 11.27mg/g, *Empetrum nigrum* var. *asiaticum* 10.31mg/g, *Abies koreana* 3.71mg/g, *Berberis amurensis* var. *quelpaertensis* 7.46mg/g analysed in order, respectively.

인용문헌

- Agrios, G. N. 2005. Plant diseases caused by fungi. 5th ed. Plant pathology. Elsevier Academic Press, Burlington, USA. 594 pp.
- Chang, S. W. and Kim, S. K. 2003. First report of *Sclerotinia* rot caused by *Sclerotinia sclerotiorum* on some vegetable crops in Korea. Plant Pathology J. 19:79-84.
- Choi, Y.H., H.T. Kim, J.C. Kim, K.S. Jang, K.Y. Cho, and G.J. Choi. 2006. In vitro antifungal activities of 13 *cinerea* to benzimidazole and N-phenylcarbamate fungicide. Korean J. Plant Pathol. 11: 146-150.
- Clark, A.M., El-Feraly, F.S. and Li, W.S., (1981) Antimicrobial activity of phenolic constituent of *Mangolina grandiflora* L. J. Pharm. Sci., 70: 951-952
- Delp, C.J. 1988. Fungicide resistance in North America. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minn., p133.
- fungicides against pepper anthracnose fungi. The Kor. J. of Pesticide Sci. 10:36-42.
- Gillicwr, K. 1947. The effect of plant extracts on the germination of the conidia of *Venturia inaequalis*. Ann. Appl. Biol. 34: 136-143.
- Graham, H. D. 1992. Modified prussian blue assay for total phenol compound. J. Agric. Food Chem. 40: 801-807.
- Handelsman, J. and Stabb, E. V. 1996. Biocontrol of soilborne plant pathogens. Plant Cell 8: 1855-1869.
- Hong Moo Gi, Young Ho Chung, and Jong Ok Hong. 1988. Development of Vegetable Fungicide for *Valsa ceratosperma*. Collected Papers for Farming (Crop Protection). 30(3): 24-30.
- Islam, M. T. and Faruq, A. N. 2012. Effect of some medicinal plant extracts

- on damping-off disease of winter vegetable. World Appl. Sci. J. 17: 1498-1503.
- J. Plant Res. 26(5): 645-651
- Kim, B.S., T.H. Lim, E.W. Park, and K.Y. Cho. 1995. Occurrence of multiple resistant isolate of *Botrytis*
- Kim, C. H. and Park, K. S. 1988. A predictive model of disease progression of red-pepper anthracnose. Korean J. Plant Pathol. 4: 325- 331.
- Kim, H. W., Lee, K. Y., Baek, J. W., Kim, H. J., Park, J. Y., Lee, J. W., Jung, S. J. and Moon, B. J. 2004. Isolation and identification of antagonistic bacterium active against *Sclerotinia sclerotiorum* causing sclerotinia rot on crisphead lettuce. Res. Plant Dis. 12:254-259. (In Korean)
- Kim, M. J., Shim, C. K., Kim, Y. K., Jee, H. J., Yun, J. C., Hong, S. J., Park, J. H., & Han, E. J. (2013). Insecticidal effect of organic materials of BT, neem, and matrine alone and its mixture against major insect pests of organic chinese cabbage. The Korean Journal of Pesticide Science, 17(3), 213-219.
- Kim, S. K., Jin, J. H., Lim, C. K., Hur, J. H., & Cho, S. Y. (2009). Evaluation of insecticidal efficacy of plant extracts against major insect pests. The Korean Journal of Pesticide Science, 13(3), 165-170.
- Kim, W. G. and Cho, W. D. 2002. Occurrence of *Sclerotinia* rot on composite vegetable crops and the causal *Sclerotinia* spp. Mycobiology 30: 41-46.
- Kwon, O. K., Lim, S. K., Seong, K. S., & Choi, B. R. (1997). Screening of pesticidal active compounds from various domestic wild plants. The Korean Journal of Environmental Agriculture, 16(4), 347-355.
- Kyung, S. H., & Yoon, Y. H. (1999). Insecticidal activity of native plant extracts against *Culix pipiens pallens* and *Musca domestica*. The Korean Journal of Pesticide Science, 3(1), 46-50.

- Mischer, L.A., Y.H. Park and D. Clark. 1980. Antimicrobial agents from higher plants, antimicrobial isoflavonoids and related substances from *Glycyrrhiza glabra* L. var. Typica. J. Nat. Prod. 43: 259-269.
- Nelson, E. 8. 1997. Biological control thrfgrass disease. Golf Course Management 60-69.
- Park Dong-Seong, Kohmoto Keisuke, Katayama Masato(1986) Isolation and Identification of Antifungal Fatty Acids from the Extract of Common Purslane (*Portulaca oleracea* L.). Journal of Korea Society of Plant Pathology. 2(2): 82-88.
- Park, J. H., K. Y. Ryu, H. J. Jee, B. M. Lee, and Paik Soo-Bong, Seok-Hyeon Kyeong. 1990. Research of Antagonistic Plants and Development of Application Technology for Control of Gray Mold Disease (II). Collected Papers on Agricultural Experimentations and Researches (Academic-Agricultural Industry Cooperation). 33: 29-134.
- Purdy, L. H. 1979. *Sclerotinia sclerotiorum* : History, diseases and symptomatology, host range, geographic distribution, and impact. Phytopathology 69: 875-880.
- Seo, M. J., Shin, H. S., Jo, S. H., Gawk, C. S., Kwon, H. R., Park, M. W., Kim, S. H., Cho, D. H., Yu, Y. M., & Youn, Y. N. (2011). Selection of environmental-friendly control agents for controlling the comstock mealybug [*Pseudococcus comstocki* (Kuwana), Pseudococcidae, Hemiptera]. The Korean Journal of Pesticide Science, 15(4), 479-484.
- Shim, K.H., K.I. Seo, K.S. Kang, J.S. Moon and H.C. Kim. 1995. Antimicrobial substance of distilled compounds from mustard seed. J. Korean Soc. Food. Nutr. 24: 948-955.
- Shin, H. J., Chen, Z. J., Hwang, J. M. and Lee, S. G. 1999. Comparison of pepper anthracnose pathogen from Korea and China. Plant Pathology J. 15: 323-329.
- Song, J. S., Lee, C. M., Lee, S. M., Lee, D. S., Choi, Y. H., & Lee, D. W.

- (2013). Insecticidal activity of 7 herbal extracts against black pine bast scale, *Matsucoccus thunbergianae*. The Korean Journal of Pesticide Science, 17(4), 411-418.
- Uddin, W. and Viji, G. 2002. Biological control of turfgrass disease. pp. 313-314. In: Gnanamanckam (ed.). Biological control of crop diseases. Marcel Dekker, Inc. Barsel, New.
- Yin, J. F., Zhang, W. H., Li, J. Q., Li, Y. H., Hou, H. L. and Zhou, X. Y. 2007. Screening and antagonistic mechanism of biocontrol agents against *Phytophthora* blight of pepper. *Acta Phytopathologica Sinica*. 37: 88-94.
- 강재영, 김대호, 이동구, 김인섭, 전민구, 이재득, 김익휘, 이상현. 2013. 잔디 병해 방제를 위한 약용식물의 향균작용 탐색. 한국잡초학회지. 2(1): 70~75.
- 강재영, 김대호, 이동구, 김인섭, 전민구, 이재득, 김익휘, 이상현. 2013. 잔디 병해 방제를 위한 약용식물의 향균작용 탐색. 한국잡초학회지. 2(1): 70~75.
- 고명수, 양종범. 2011. 청미래 덩굴 잎 추출물의 항산화 및 항균 활성, 한국식품영양과학회지. 18(5): 764-772.
- 김영권. 2011. 가지과 작물 대상의 친환경농자재 개발 동향. KIC News. 14(4): 19-28.
- 김영섭, 추호렬, 박정규, 이동운. 2005. 대미수출을 위한 병해충 방제 체계 적용 농약살포 단감원에서 수확한 단감의 잔류 농약량 조사. 한국토양비료학회. 9: 166-172.
- 김종수, 박승우, 함유식, 정수근, 이상한, 정신교, 2005, 목초액의 향균활성과 페놀화합물의 함량, 한국식품영양학회., 12(5): 470-475.
- 김찬수. 2005. 한라산 고산식물의 다양성. 한국토종연구회. pp. 29-48
- 김현우, 최용화. 2015. 오배자(*Schlechtendalia chinensis*)로부터 수박 과실썩음병 병원균(*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*)에 대한 향균 활성물질 탐색. 한국유기농학회. 23(2): 323-334.

- 노진택, 최용화. 2015. 수박 과실썩음병 병원균(*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*)에 대한 식물유래 항균 활성물질 탐색. 한국유기농학회. 23(1): 77-89.
- 농업과학기술원. 2006. 친환경농업연구. 농업과학연구사업연보. pp. 135-140.
- 박만규. 1942. 조선 고산식물 목록. 조선박물학회지. 9(33): 1-12.
- 박종인, 정희정, 배용희, 강권규, 노일섭. 2011. 녹비작물 추출물의 감자 더듬이 병균에 대한 항균력 검정. Korean J. Plant Res. 24(5): 622~627
- 이병완, 신동화. 1991. 식품 부패미생물의 증식을 억제하는 천연 항균성물질의 검색. 한국식품영양학회. 23: 200-204
- 이영노. 2000. 한국의 고산식물. 교학사.
- 이재은, 용영록, 권순배, 김병섭. 2011. 당근 유기재배를 위한 검은잎마름병과 검은무늬병 종자소독제 선발. 한국식물병리학회. 17(2): 148-154.
- 전봉관, 박수지, 김진원. 2013. 길항세균을 이용한 상추 균핵병의 생물학적 방제. 한국식물병리학회. 19(1): 12-20
- 한라산연구소. 2007. 한라산 데이터 북. 제주특별자치도 한라산연구소.
- 현재욱, 고상욱, 김동환, 한승갑, 김광식, 권혁모, 임한철. 2005. 친환경적 감귤 병 방제를 위한 구리제의 효율적 사용. 한국토양비료학회. 11(2): 115-121.
- 황지영, 심창기, 류경열, 최두희, 지형진. 2006. 상추 균핵병 생물적방제를 위한 *Brevibacillus brevis* B23과 *Bacillus stearothermophilus* B42의 선발. 한국식물병리학회. 12(3): 254-259.