



갯기름나물 시들음병 보고 및 방제약제 선발

권슬기^{1†} · 전창욱^{2‡} · 광연식^{1,2*}¹경상대학교 식물의학과, ²경상대학교 응용생명과학부·농업생명과학연구원First Report of Wilt Disease on *Peucedanum japonicum* and Selection of FungicidesSeul Ki Kwon^{1†}, Chang-Wook Jeon^{2‡}, Youn-Sig Kwak^{1,2*}¹Department of Plant Medicine, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea²Division of Applied Life Science (BK21 Plus), Institute of Agriculture & Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

(Received on January 2, 2020. Revised on January 30, 2020. Accepted on January 31, 2020)

Abstract *Peucedanum japonicum* is a subtropical annual plant belonging to the family Apiaceae. *P. japonicum* leaves and roots were used as home remedies, such as cough and neuralgia. *Fusarium solani* in *P. japonicum* has been described as a causal pathogen for the wilt disease. In Korea the pathogen has not yet been identified. Of the five selected fungicides, the control value of propaocarb hydrochloride and hymexazol exceeded 80%. The results suggest that these fungicides are appropriate for controlling Fusarium wilt in *P. japonicum* as chemical control agents.

Key words Fungicides, *Fusarium solani*, Fusarium wilt, *Peucedanum japonicum*

<< ORCID

Youn-Sig Kwak

<http://orcid.org/0000-0003-2139-1808>

서 론

아열대 식물인 갯기름나물(*Peucedanum japonicum*)은 Apiaceae에 속하는 종으로 일본 남부, 중국 및 대만에서 유래하였다. 갯기름나물은 잎이 많은 채소로 알려져 있으며, 일본의 오키나와에서는 기침을 치료하기 위한 약초로 사용되었다(Okinawa Prefectural institute of health and environment, 2001). 갯기름나물의 뿌리는 대만에서 추위와 신경통에 대한 민간 요법으로 사용되어 지고 있으며, 항 혈소판 응집과 같은 생물 활성 효능이 우수한 것으로 보고되었다(Chen et al., 1996). 최근에는 고유의 독특한 풍미와 향산화성, 함암, 항염, 항당뇨 효능 등이 높은 것으로 알려지면서

건강채소로서의 수요가 증가하여 재배면적도 증가하는 추세이다(Son et al., 2014). 특히 노지에서 이른봄부터 여름철까지 수확하여 쌈 채소로 이용하는 갯기름나물은 신소득원으로 전남 여수 금오도, 충남 태안 지역을 비롯한 일부 내륙에서 재배가 확대되고 있는 작물이다(Jung et al., 2014).

소면적 작물 중 하나인 갯기름나물은 대부분이 시설에서 재배가 이루어 지고 있으며, 시설재배의 재배 환경으로 인하여 병이 빈번하게 발생하고 있는 실정이다. 전 세계적으로 갯기름나물에 발생하는 주요 질병으로는 담자균문에 속하는 *Rhizoctonia solani*에 의해서 발생하는 모잘록병(Farr and Rossman, 2015)과 *Puccinia jogashimensis*에 의해서 발생하는 녹병이 있으며(Ko et al., 2015) 자낭균문에 속하는 *Erysiphe heraclei* (Choi et al., 2014)에 의해서 발생하는 흰가루병, *Alternaria* spp.에 의해서 발생하는 회색점무늬병이 있다(Jian et al., 2013).

경남 산청과 사천포장에서 갯기름나물을 정식하여 재배하

†These authors contributed equally to this work

‡Corresponding author

E-mail: kwak@gnu.ac.kr

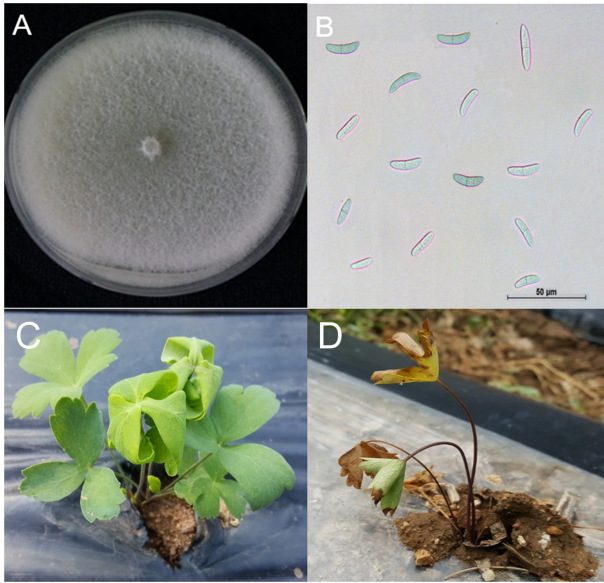


Fig. 1. Morphological characteristics of the causative pathogen and symptoms of the wilt disease. A: Seven-day-old mycelia of *Fusarium solani* on a potato dextrose agar, B: Microconidia of *F. solani*, C, D: Occurrence of Fusarium wilt in *Peucedanum japonicum*.

는 과정에서 어린 유묘기의 잎이 뒤틀리거나 말리는 현상이 나타났으며, 심할 경우에는 잎이 마르거나 고사에 이르는 현상이 나타났다. 두 포장에서 발생한 이러한 병징들이 *Fusarium solani*에 의해서 발생한다는 최초보고와 적합한 약제를 선발하여 방제의 기초자료를 제공하기 위하여 실험을 진행하였다.

재료 및 방법

병원균 순수 분리

실험포장에서 병징(Fig. 1C, D)을 보이는 갯기름나물을 실험실로 가져온 뒤, 병원균을 분리하기 위해서 순수 분리를 진행하였다. 순수 분리 방법은 병징을 보이는 부분에서 이병 조직과 건전 조직의 경계 부분을 5×5 mm로 잘라낸 뒤, NaOCl (1%)로 30초, 70% EtoH 1분 30초, 멸균수로 두 번 세척한 뒤, paper disk 위에서 30분 건조 시킨 후 건조된 이병 조직을 Water agar media (WA, Agar 20 g per L)에 4방향으로 치상 한 뒤, 27°C incubator에서 암조건으로 3일간 배양해주었다. 3일간의 배양 뒤 WA media에 자란 균사의 일부를 잘라내어 감자한천배지(PDA, Potato dextrose broth 24 g/L)에서 27°C incubator에서 암조건으로 5일간 배양하였다.

병원균 동정

병원균을 동정하기 위해서 진행한 방법은 형태학적 동정과 분자생물학적 동정을 진행하였다. 먼저 형태학적 동정은

1/5 PDA 배지에서 자라난 균사의 일부를 떼어 내어 광학 현미경(400 ×)로 *Fusarium* spp.의 큰 특징인 microconidia를 15개를 관찰하였다.

형태학적 동정을 뒷받침하는 근거로 분자생물학적 동정을 실시하였다. gDNA를 추출하는 방법인 cetyl-trimethyl ammonium bromide (CTAB) protocol (Porebski et al., 1997)를 사용하여 gDNA를 추출하였다. 추출된 DNA를 ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'), ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 프라이머를 사용하여 중합효소연쇄반응(Polymerase Chain Reaction, PCR)을 진행하였다. 중합효소연쇄반응의 조건으로는 Initiate denaturation 98°C 5분, denaturation 94°C 30초, annealing 54°C 30초, elongation 72°C 1분 30초, final extension 72°C 10분으로 진행하였다. PCR이 끝난 산물을 1% 아가로스겔에 20분간 전기영동을 한 뒤 band를 확인하였다. 확인된 band를 gel purification kit (Genl All, Daejeon, Korea)를 사용하여 gel purification을 진행하였다. Gel purification이 끝난 뒤 ligation을 진행하였으며, pGEM-T easy vector (Promega, USA)에 클로닝하여 항생제인 Ampicillin (100 µg/ml), X-Gal (40 µg/ml)를 사용하여 Vector가 삽입된 *E. coli*, strain DH5 α 선발하였다. 선발된 *E. coli*, strain DH5 α를 LB broth (Luria-Bertani broth, Difco LB broth 25 g/L)에 접종한 뒤 16시간 후 DokDo-prep plasmid Mini-prep Kit (ElpisBio, Korea)를 사용하여 플라스미드를 추출하였다. 추출된 플라스미드를 제한효소 *EcoRI*을 사용하여 vector에 유전자가 올바르게 삽입되었는지를 확인하였다(Bertea et al., 2005). 확인된 유전자를 분석하기 위해서 Macrogen (Seoul, Korea)에 위탁하였다. 분석된 유전자를 GeneBank database (NCBI)를 사용하여 확인하였으며, 계통수분석은 MEGA7을 사용하여 Neighbor-joining방법으로 분석을 진행하였다.

병원성 검정 실험을 위해서 분리한 병원균 중 표준균주를 실험 포장에 접종하였다. 접종원 제작은 *F. solani* F1 표준균주를 감자한천배지(PDA)에 치상 후, 27°C 조건으로 10일간 배양 하였다. 배양된 균총을 0.5 cm² 이하로 잘게 잘라 oat-meal 모래배지(oat-meal: 모래 = 1:9)에 접종 하였다. 접종 후 27°C 조건에서 14일간 배양하여 후막포자(Chlamydospore)을 형성 시킨 후 실험에 사용하였다. 제작된 접종원은 실험포장에서 하나의 식물체 당 5 g (3.2×10⁶ CFU/g)을 지체부에 접종 하였으며, 병원균 접종 5일 후 방제 약제를 처리하여 실험을 진행하였다.

정식과 포장 위치

갯기름나물을 정식한 포장은 두 곳으로, 하나는 경상남도 산청군 단성면 지리산로(35.277141, 127.947715)에 위치한 실험 포장1과 경남 사천시 사천읍 두량리(35.111058, 128.133542)에 위치한 실험 포장2에 갯기름나물을 정식하

Table 1. List of fungicides used for this study

Fungicides	Principal ingredient (%)	Efficacy test		Phytotoxicity test	
		Dilution	Treatment method	1X	2X
Amisulbrom FL	13.5	2,000 (1 L/m ²)	Low disease periods Pesticide was treated 2 times, interval 10 days Soil-drenching	2,000 (1 L/m ²)	1,000 (1 L/m ²)
Pyraclostrobin FL	11	1,000 (1 L/m ²)	"	1,000 (1 L/m ²)	500 (1 L/m ²)
Propamocarb-hydrochloride SL	66.5	500 (1 L/m ²)	"	500 (1 L/m ²)	250 (1 L/m ²)
Hymexazol SL	30	500 (1 L/m ²)	"	500 (1 L/m ²)	250 (1 L/m ²)
Carbendazim WP	60	1,000 (1 L/m ²)	"	1,000 (1 L/m ²)	500 (1 L/m ²)
Control	-	-	-	-	-

였다. 트랙터를 이용하여 경운 후 1 m×20 m로 12개의 두둑을 만든 다음 멀칭비닐(1.2 m×2 m)을 피복해주었다. 갯기름나물 모종은 두둑 당 30 cm 간격으로 1줄 재배를 하였으며, 재래종 갯기름나물 모종은 육묘장(경남 밀양시 부북면)에서 구입하여 사용하였다. 두둑과 두둑 사이에는 잡초 발생 억제제를 위해 검은색 부직포(0.8 m×20 m)를 피복하였다.

방제약제 선발

갯기름나물에 발생하는 시들음병 방제에 대한 약제를 선발하고자 살균제 5가지를 선발하여 실험을 진행하였다. 실험에 사용된 약제는 노균병을 방제하는 약제인 amisulbrom (13.5%) 액상수화제, 잿빛무늬병을 방제하는 약제인 pyraclostrobin (11%) 액상수화제, 질록병을 방제하는 약제인 propamocarb hydrochloride (66.5%) 액제, hymexazol (30%) 액제, 탄저병을 방제하는 약제인 carbendazim (60%) 수화제를 선발하여 실험을 진행하였다(Table 1).

약제 포장시험

선발된 5가지의 약제에 대해서 약효시험과 약해시험을 진행하였다. Amisulbrom 액상수화제(13.5%)에 대한 약효 시험은 2,000배(1 L/m²)로 희석하여 약효 시험을 진행하였으며, 약해 시험은 기준량인 2000배(1 L/m²)와 배량인 1,000배(1 L/m²)로 진행하였다. 다른 약제에 대한 약효시험으로는 pyraclostrobin 액상수화제(11%)는 1,000배(1 L/m²), propamocarb hydrochloride 액제(66.5%)는 500배(1 L/m²), Hymexazol 액제(30%)는 500배(1 L/m²), carbendazim 수화제(60%)는 1000배(1 L/m²)로 희석하여 약효 시험을 진행하였다. 다른 약제에 대한 약해 시험은 amisulbrom 액상수화제와 동일하게 기준량은 약효 시험과 동일하게 진행하였으며, 배량은 기준량의 2배에 해당하는 농도로 처리하여 실험을 진행하였다. 약효 시험을 조사하는 방법은 약제 처리 후 이병주율을

측정하였으며, 약해 시험은 외관상으로 나타나는 약해의 유무를 조사하였다. 먼저 약효 시험으로는 각 약제마다 처리구를 난괴법으로 설정하여 3반복으로 진행하였다. 무처리구를 포함한 5가지 약제에 대해서 2017년 7월 20일, 30일에 약제를 처리하였으며, 최종 약제 처리 후 10일이 지난 뒤에 처리 구당 30개체의 식물을 선정하여 이병주율을 조사하였다. 약해 시험을 조사하는 방법으로는 기준량과 배량 모두 약효 시험과 동일하게 난괴법으로 설정하였으며, 2017년 7월 30일에 처리 후 3, 5, 7일 간격으로 육안 상으로 나타나는 약해의 정도를 조사하였다. 5가지 약제를 사용하여 조사된 이병주율을 분석하는 방법으로는 DMRT (Duncas's Multiple Range Test)가 사용되었으며, 이병주율에 따른 방제가를 구하는 방법은 방제가(%)=(1 - 약제처리구의 병 발생률/무처리구의 병 발생률)×100로 방제가를 도출하였다.

통계분석

결과에 대한 통계 분석 방법으로는 분산분석(ANOVA) 방법을 사용하였다. ANOVA 분석을 통해 집단간의 평균들이 유의한 차이가 나타나게 되면 DMRT를 사용하여 집단간 유의차를 검정하였다.

결과 및 고찰

병원균의 균학적 특징 및 계통수 분석

순수 분리된 병원균의 배양적 특징으로는 감자한천배지상에서 일주일간 27°C 배양기에서 배양하여 관찰하였다. 총 3 균주의 형태학적 특징을 관찰한 결과, 균총의 생육으로는 45 mm/7일 이었으며, 균총의 형태로서는 상아색의 양모상으로 관찰되었다(Fig. 1A). 병원균을 광학현미경으로 관찰했을 때 *Fusarium* spp.의 큰 특징인 초승달 모양의 microconidia를 많이 형성하였으며, 특징으로는 하나 또는 두 개

Table 2. Comparison of morphological characteristics of a fungus obtained from *Peucedanum japonicum*.

Structure	Characteristics	
	F1 ^{a)}	<i>Fusarium solani</i> ^{b)}
Growth rate (mm/day)	7.5	9~10
Aerial mycelium (color)	White to pink	Usually rather sparse
Shape	1- or 2-celled, oval, ellipsoid to subcylindric	1- or 2-celled, oval, ellipsoid to subcylindric
Micro-conidia Size (µm)	24.6 × 5.0 (20.6~30 × 4.4~5.0)	10 × 3.5 (5~17 × 2.8~5.0)
Shape	Thick-walled, subcylindric, slightly curved, with a short and blunt apical and an indistinctly pedicellate basal cell	Thick-walled, subcylindric, slightly curved, with a short and blunt apical and an indistinctly pedicellate basal cell

^{a)}F1 indicated an isolate *F. solani* from the *Peucedanum japonicum*.

^{b)}*Fusarium solani* described by Gerlach and Nirenberg (1982).

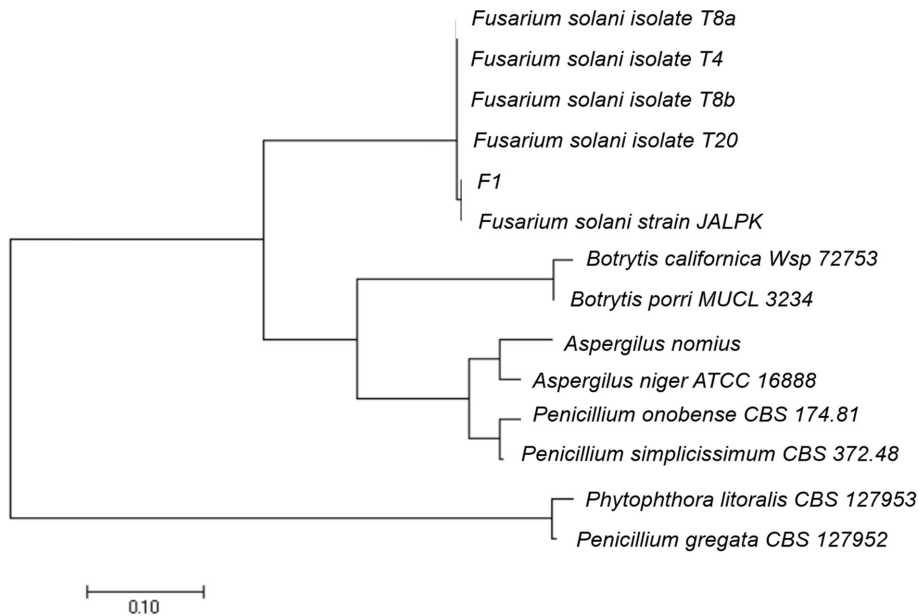


Fig. 2. Phylogenetic analysis using a neighbor-joining approach comparing the internal transcribed spacer region of *Fusarium solani* with that of other fungus retrieved from GenBank. F1 indicated an isolate *F. solani* from the *Peucedanum japonicum*.

의 격벽을 형성하였고, 길이는 20-30 µm로 측정되었다(Fig. 1B) (Table 2). 형태적 특징을 기초로, 병원균의 동정을 뒷받침하고자 진행한 3균주의 염기서열 분석으로는 ITS 1,4 영역을 사용하여 진행하였다. 분석된 3균주는 동일한 염기서열을 가지고 있어, 대표균주(F1)의 ITS 염기서열을 NCBI에서 blast search한 결과로는 *Fusarium solani*로 등록되어 있는 GenBank accession number KY914560.2, KX583233.1M, KY910884.1와 99%이상 일치하는 것으로 확인되었다. 이를 바탕으로 작성한 계통수 분석결과로는 *Fusarium solani*와 같은 계통군에 속하는 것을 확인하였으며, 다른 곰팡이인 *Botrytis* spp., *Aspergillus* spp.와는 다르게 그룹 지어지는 것을 확인하였다(Fig. 2). *Fusarium solani*에 의한 갯기름나물 시들음병은 한국뿐만 아니라 전세계에서도 보고 된 적이 없다. 따라서 진행한 연구결과인 균학적 특징과 ITS 염기서열

비교분석의 결과를 바탕으로 *Fusarium solani*에 의해 발생하는 갯기름나물 시들음병을 최초 보고 하고자 한다.

병 방제 효과

갯기름나물에서 발생하는 뿌리 시들음병에 대한 5가지 약제에 대한 약효 검증으로는 각 처리구당 이병주율과 그에 대한 방제가를 토대로 분석을 진행하였다. 산청지역에서의 시험 결과는 hymexazol 액제 처리 시 5.5%의 가장 낮은 이병주율을 보였으며 모든 약제 처리에서 무처리구의 이병주율인 38.9%에 비하여 값이 낮게 측정되었다(Fig. 3). Fig. 4와 같이 방제가(%)는 amisulbrom 액상수화제 71.4%, pyraclostrobin 액상수화제 65.7%, propamocarb hydrochloride 액제 83.0%, hymexazol 액제 85.8%, carbendazim 수화제 54.2%로 효과를 보였으며, 그 중 propamocarb hydrochloride

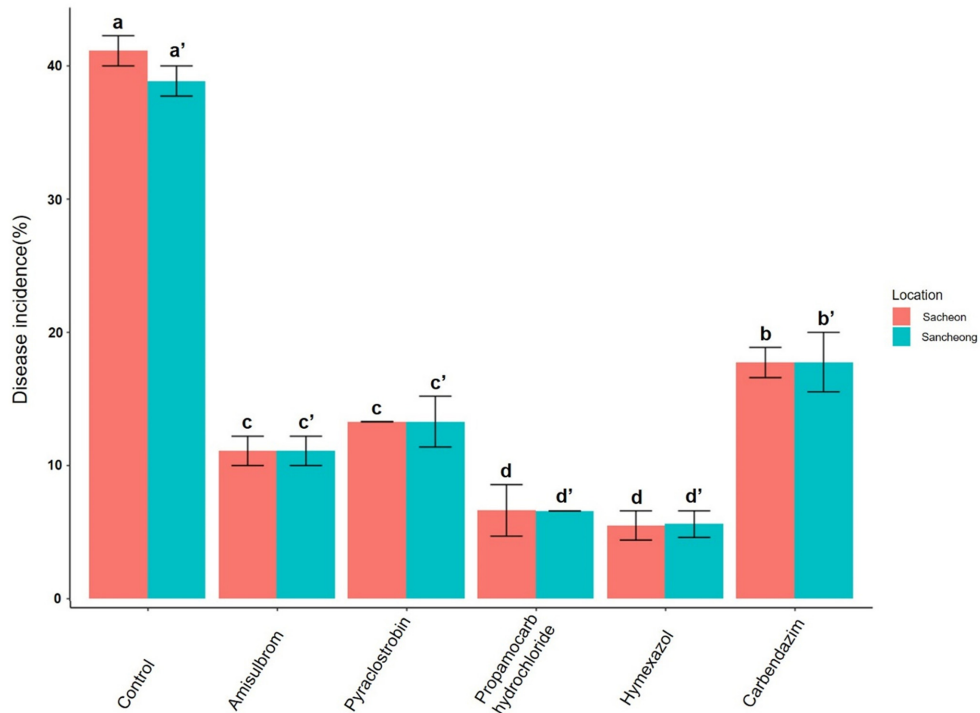


Fig. 3. Disease incidence of treated and control groups. Using DMRT analysis ($P < 0.05$) significant differences were evaluated among the groups. Letters represented ANONA value in each experimental treatment.

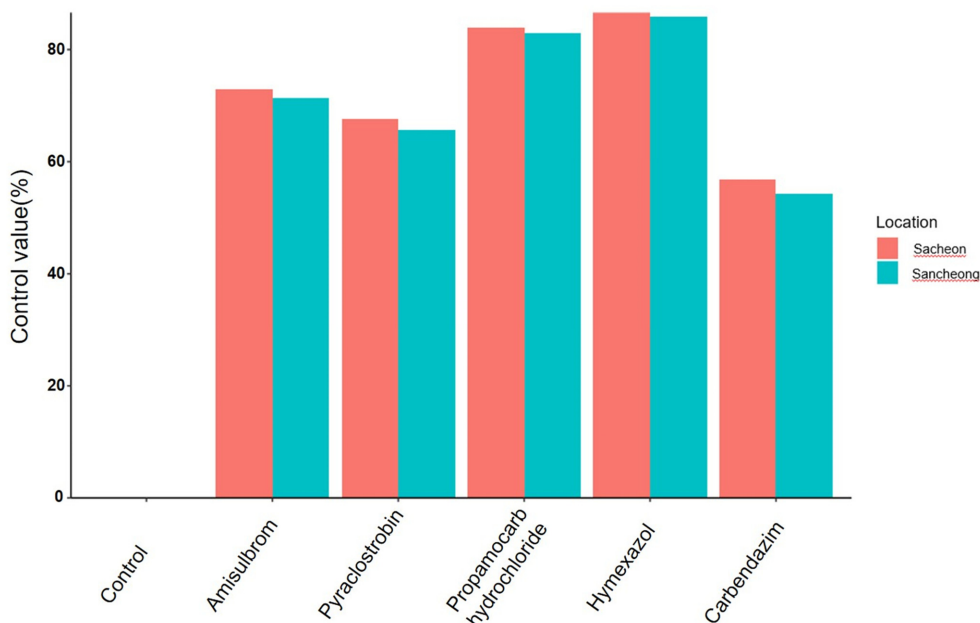


Fig. 4. Disease control value of the fungicides. Control value was calculated by following equation; Control value (%) = $(1 - \text{Diseased rate of fungicide treatment} / \text{Diseased rate of un-treatment control}) \times 100$.

액제와 hymexazo 액제가 각각 83.0%, 85.8% 이상의 높은 효과를 보였다. 산청에서의 약해 검증 결과로서는 5가지 약제에 대해서 모두 약해로 보이는 증상은 나타나지 않았다 (data not shown).

사천에서의 약효 검증 결과로서는 산청과 동일하게 이병 주율과 방제가를 측정하였다. 사천에서의 이병주율(%)은 amisulbrom 액상수화제 11.1%, pyraclostrobin 액상수화제 13.3%, propamocarb hydrochloride 액제 6.6%, hymexazol

액제 5.5%, carbendazim 수화제가 17.7%로 측정되었으며, 무처리구인 41.1%에 비하여 모두 낮게 측정되었다(Fig. 3). 무처리구와 비교하여 구한 방제가(%)로서는 amisulbrom 액상수화제 73.0%, pyraclostrobin 액상수화제 67.6%, propamocarb hydrochloride 액제 83.9%, hymexazol 액제 86.6%, carbendazim 수화제가 56.8%로 측정되었으며, 산청 약효 결과와 동일하게 propamocarb hydrochloride 액제, hymexazol 액제가 각각 83.9%, 86.6%로 높게 측정되었다. 사천의 약해 검증 결과로서는 5가지 약제에 대해서 모두 약해로 보이는 증상은 나타나지 않았다(data not shown). 산청과 사천지역의 갯기름나물 포장에서 모두 propamocarb hydrochloride 액제, hymexazol 액제가 무처리구에 비하여 방제가가 80% 이상으로 높게 측정되었으며, 약해로 보이는 증상이 나타나지 않았으므로 갯기름나물 포장에서 발생하는 Fusarium 시들음병을 방제하는 약제로서 사용하기가 적합하다.

상기 결과를 바탕으로 갯기름나물 시들음병 방제에 적합한 약제로서는 Propamocarb hydrochloride 액제와 hymexazol 액제가 방제가가 80% 이상으로 높게 나타났는데 이 이유로서는 두 가지 약제 모두 세포막의 sterol의 생합성을 저해하는 기작을 가지고 있다(Papavizas et al., 1978). 갯기름나물 시들음병의 원인균으로는 *Fusarium solani*에 의해서 발생하며, 세포막의 지방질 성분인 sterol을 저해하는 기작을 가진 약제로서 방제가 적합하다고 판단된다.

Literature Cited

- Bertea CM, Azzolin CM, Bossi S, Doglia G, Maffei ME, 2005. Identification of an *EcoRI* restriction site for a rapid and precise determination of β -asarone free *Acorus calamus* cytotypes. *Phytochemistry* 66(5):507-514.
- Chen IS, Chang CT, Sheen WS, Teng CM, Tsai IL, et al., 1996. Coumarins and antiplatelet aggregation constituents from formosan *Peucedanum japonicum*. *Phytochemistry* 41(2): 525-530.
- Choi IY, Hong SH, Cho SE, Park JH, Shin HD, 2014. First report of powdery mildew caused by *Erysiphe heraclei* on *Peucedanum japonicum* in Korea. *Plant Dis.* 99(1):161.
- Farr DF, Rossman AY, 2015. Fungal databases. Syst. Mycol. Microbiol. Lab., Online publication, ARS, USDA.
- Gerlach W, Nirenberg H, 1982. The genus *Fusarium*-a pictorial atlas. *Mitteilungen der Biologischen Bundesanstalt für Land-und Forstwirtschaft* 209:1-406.
- Jian XD, Cho HS, Paul NC, Lee HB, Yu SH, 2018. A novel *Alternaria* species isolated from *Peucedanum japonicum* in Korea. *Mycobiology* 42(1):12-16.
- Jung HK, Jung WS, Ahn BK, Kang BM, Yeo JH, et al., 2014. *Peucedanum japonicum* Thunberg leaf alleviates the symptoms of dextran sulfate sodium induced ulcerative colitis in mice. *Korean J. Plant Res.* 27(5):421-428.
- KO SJ, Kim HJ, Myung IS, Uhm MJ, Choi IY, 2015. Occurrence of rust on *Peucedanum japonicum* caused by *Puccinia jagashimensis* in Korea. *Res. Plant Dis.* 21(4):337-340.
- Okinawa Prefectural Institute of Health and Environment, 2001. Planning and information section, Okinawa, Japan.
- Papavizas GC, O'Neill NR, Lewis JA, 1978. Fungistatic activity of propyl-N-(γ -dimethylaminopropyl) carbamate on *Pythium* spp. and its reversal by sterols. *Phytopathology* 68:1667-1671.
- Porebski S, Grant Bailey L, Baum BR, 1997. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant Mol. Biol. Rep.* 15(1):8-15.
- Son HK, Kang ST, Lee JJ, 2014. Effects of *Peucedanum japonicum* Thunb. On lipid metabolism and antioxidative activities in rats fed high-fat/high-cholesterol diet. *Korean J. Food & Nutr.* 43(5):641-649.

갯기름나물 시들음병 보고 및 방제약제 선발

권슬기^{1*} · 전창욱^{2*} · 곽연식^{1,2*}

¹경상대학교 식물외과, ²경상대학교 응용생명과학부·농업생명과학연구원

요 약 갯기름나물은 아열대 기후대에서 자생하는 식물로 분류학적으로 미나리과에 속한다. 갯기름나물의 잎과 뿌리는 감기와 신경통의 약제로 사용되고 있다. 갯기름나물에 발생하는 시들음병원균으로 *Fusarium solani*가 알려져 있으나, 국내에서 시들음병과 병원균이 보고되지 않았다. 총 5가지의 살균제의 *Fusarium solani*에 의해 발생하는 갯기름나물의 시들음병의 방제가를 평가한 결과, Propaocarb hydrochloride와 hymexazol이 80%의 방제가를 나타내었다. 본 결과는 두가지 약제가 *Fusarium solani*에 의해 발생하는 갯기름나물의 시들음병 방제에 효과적인 방법임을 제시한다.

색인어 살균제, 푸자리움 솔라나이, 시들음병, 갯기름나물