



## ORIGINAL ARTICLES

## 충북지역 복분자 시들음병 원인 규명 및 방제효과 비교

김상혁<sup>1,2</sup> · 박경미<sup>1</sup> · 김한별<sup>1</sup> · 이보영<sup>1</sup> · 박정일<sup>1</sup> · 박찬순<sup>1</sup> · 류경열<sup>1</sup> · 김성철<sup>2\*</sup><sup>1</sup>청주시농업기술센터 연구개발과, <sup>2</sup>충남대학교 농업생명과학대학 농화학과Identification of the Causal Agent and Comparison of Control Effects for *Fusarium* Wilt of Korean Blackberry (*Rubus coreanus*) in Chungbuk, KoreaSang Hyeok Kim<sup>1,2</sup>, Kyung-mi Park<sup>1</sup>, Han-byeol Kim<sup>1</sup>, Bo-young Lee<sup>1</sup>, Jung Il Park<sup>1</sup>,  
Chan Soon Park<sup>1</sup>, Kyoung-yul Ryu<sup>1</sup>, and Sung Chul Kim<sup>2\*</sup><sup>1</sup>Division of Research and Development, Cheongju Agricultural Technology Center<sup>2</sup>Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture and Life Sciences, Chungnam National University

(Received on November 25, 2025. Revised on December 16, 2025. Accepted on December 17, 2025)

**Abstract** *Fusarium* wilt symptoms were recently observed in *Rubus coreanus* cultivation fields in Cheongju, Korea. This study was aimed to isolate and identify the causal pathogen of wilt disease and to evaluate the inhibitory effects of beneficial microorganisms and a chemical fungicide on pathogen growth. The pathogen isolated from wilt symptom plants was identified as *Fusarium oxysporum* species complex (FOSC) based on morphological and genetic characters. Pathogenicity was confirmed through artificial inoculation of *R. coreanus*, which resulted in typical wilt symptoms. Antifungal activity was assessed using beneficial microorganisms (*Bacillus amyloliquefaciens*, *B. velezensis*, and *B. valismotis*), or the fungicide Fluazinam, and a combined treatment of *B. amyloliquefaciens* with Fluazinam. Mycelial growth inhibition by beneficial microbes ranged from 7.8% to 58.5%, with *B. velezensis* exhibiting the strongest effect. Fluazinam, applied at double, standard, and half the recommended concentrations, suppressed mycelial growth by 72.4% to 85.8%, indicating that the inhibitory effect was nearly consistent across all tested concentrations. The combined treatment of *B. amyloliquefaciens* and fluazinam demonstrated the most effective mycelial growth inhibition.

**Keywords:** Beneficial microorganisms, Biological control, *Fusarium* wilt, *Fusarium oxysporum*, *Rubus coreanus*

## 서론

복분자(*Rubus coreanus*)는 장미과(Rosaceae)에 속하는 다년생 덩굴성 식물로, 동아시아 지역에 자생하며 국내에서는 기능성 식품 및 약용 소재로 활용되고 있다(Kwon et al., 2006). 복분자는 5~6월경 개화한 후 7~8월에 성숙한 열매를 맺는다(RDA, 2018). 열매에는 페놀 화합물, 안토시아닌 등 다양한 생리활성 물질이 함유되어 기능성 식품 원료로 주목 받고 있다(Jin et al., 2016).

2019년부터 충청북도 청주시 낭성면 복분자 재배지에서는

원인 불명의 시들음 증상과 고사 현상이 매년 발생하고 있다. 1년생 묘목의 삼목 후 재배 1년차에는 정상 생육을 보이던 식물체가 2년차부터 시들음 증상과 함께 생산량이 급감하고, 지상부가 갈변하며 고사한다. 지하부에서는 물관 갈변, 부패, 잔뿌리 소실 등의 병징이 확인되었으며, 이는 시들음병의 전형적인 증상으로, 특히 생산량이 가장 많아야 할 4년차에 고사가 심각해 농가의 피해가 증가하고 있다(Cho et al., 2009).

전라북도 고창 지역에서는 *Fusarium cugenangense*에 의한 복분자 시들음병이 최근에 보고된 바 있으나(Kim et al., 2021), 해당 병에 대한 연구는 미비한 실정이다. 특히 *Fusarium* 속 병원균은 토양 내에서 생존력이 높고, 식물체 내로 침입 후 수분과 양분의 이동을 방해하여 급격한 고사를 유발하는

\*Corresponding author

E-mail: sckim@cnu.ac.kr

것으로 알려져 있어 지속적인 영농활동과 농업환경 보전을 위해서는 조기 진단과 효과적인 방제전략이 필요하다(Gordon, 2017).

작물 병해에 대한 화학농약 방제는 지속적인 사용으로 인한 환경부담과 병원균의 내성 발생으로 인해 사용이 제한적이므로, 유용 미생물을 이용한 생물학적 방제가 대안으로 주목받고 있다(Bardin et al., 2015). 생물학적 방제는 병원균의 생장 및 감염을 억제하는 길항미생물을 활용함으로써, 병 발생을 효과적으로 감소시키고 농약 사용량을 줄여 토양 생태계와 인체에 미치는 부작용을 최소화할 수 있다(Lahlali et al., 2022). 특히 *Bacillus* spp.와 같은 길항성 세균은 다양한 작물에서 항균물질 생산 및 근권 경쟁을 통해 *Fusarium*속 병원균을 억제하는 효과가 보고되고 있다(Zhang et al., 2023).

*B. amyloliquefaciens*는 iturin, fengycin, surfactin 등 Cyclic lipopeptides (CLPs)생산과 Induced systemic resistance (ISR) 유도를 통해 *Fusarium*속의 균사 생장 및 분생포자 발아를 억제하는 것으로 알려져 있으며(Chowdhury et al., 2015), *B. velezensis*는 lipopeptide-polyketide 등 다중 2차 대사물과 ISR 유도를 통해 광범위한 항진균 활성을 보이는 것으로 보고되어 왔다(Fan et al., 2018). 또한 *B. vallismortis*는 배양여과물 유래 항진균 성분을 통해 *Fusarium*속 등 식물병원성 진균의 생장을 억제하는 것으로 보고되었다(Zhao et al., 2010).

이에 본 연구에서는 청주지역 복분자 재배지에서 발생하는 시들음병의 원인균을 분리·동정하고, 병원성을 검증하며, 길항미생물을 이용한 생물학적 방제 가능성을 평가함으로써 복분자 시들음병의 과학적 진단과 친환경적 방제 전략 수립을 위한 기초자료를 마련하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 복분자 시들음 증상 발생 조사 및 균 분리

2023년 3월, 청주지역의 정식 후 2년이 경과된 복분자 재배지에서 시들음 증상을 보이는 식물체를 채집하여 병원균 분리를 위해, 갈변된 뿌리의 이병 조직과 건전 조직의 경계 부위를 약 10 mm 길이로 절단하였다. 절단한 시료는 70% 에탄올에 1분간 침지하고, 1% 차아염소산나트륨(NaOCl) 용액에 30초간 처리한 후 멸균 증류수로 세척하여 Water agar (WA)에 치상하였다. 그리고 25°C 항온기에서 7일간 배양 후 이병 조직에서 자라난 균사의 선단부를 절취하여 Potato dextrose agar (PDA)에 옮겨 순수배양하여 총 4개의 균주를 분리하였으며, 4°C에서 보관하며 실험에 사용하였다.

### 병원균 균학적 특성 조사 및 동정

분리된 병원균의 균학적 특성을 조사하기 위해 PDA 배지에서 배양한 균사를 Carnation leaf agar (CLA)에 접종하여

25°C 항온기에 14일간 배양한 후, 광학현미경으로 분생포자 및 후막포자의 형태와 크기를 관찰하여 분석하였다. 균사의 생장 온도 반응을 조사하기 위해 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C에서 각각 7일간 배양한 후 균사의 생장 정도를 비교하였다(Kim et al., 2008).

분자생물학적 동정을 위해 Internal transcribed spacer (ITS) 영역과 Translation elongation factor 1-alpha (TEF-1 $\alpha$ ) 유전자 영역을 증폭하여 염기서열 분석을 실시하였고, 본 연구에서 획득한 염기서열은 시들음병 원인 균명을 위한 동정 목적으로 활용하였으며, NCBI GenBank 데이터베이스를 이용한 BLAST 분석을 통해 동정을 수행하였다. 계통수 분석은 MEGA7 프로그램을 이용하여 neighbor-joining 방법으로 작성하였다(Choi et al., 2019a; Choi et al., 2019b).

### 병원성 검증

분리한 병원균을 PDA에서 배양한 뒤 멸균 증류수 5.0 mL로 포자를 회수하여  $1.0 \times 10^6$  spores/mL의 현탁액을 조제한 뒤, 조직배양으로 생산된 복분자(*Rubus coreanus*) 유묘(한국농업기술진흥원, 2024)의 뿌리를 병원균 포자현탁액에 10분간 침지한 후 지름 20 cm × 높이 20 cm의 포트에 상토를 채워 정식하였다. 대조구는 멸균수에 동일한 방법으로 침지하여 정식하였다. 정식 후 포트는 온실(25°C)에 배치하고 1일 1회 관수하되, 외부 기온에 따라 수분 공급량을 조절하였다. 접종 4주차부터 시들음 증상을 관찰하였고 7주차에 청주 지역 복분자에서 관찰된 시들음 증상과 같은 유형의 병징 발생 여부와 초장을 조사하였다. 발병 개체의 갈변 뿌리에서 병원균을 앞서 기술한 방법으로 재분리 하였다.

### 대치배양을 통한 복분자 시들음병원균 생육 억제 효과(단독 처리)

분리된 병원균에 대한 유용미생물 및 살균제의 균사 생육 억제 효과를 비교하기 위해 농촌진흥청 국립농업과학원 씨앗은행(Korean Agricultural Culture Collection; KACC)에서 분양받은 *B. amyloliquefaciens* (KACC 91830), *B. velezensis* (KACC10112), *B. valismortis* (KACC12149) 3종의 유용미생물을 Nutrient agar (NA) 배지에 배양하여 25°C에서 48시간 순수배양하여 4°C에서 보관하며 실험에 사용하였고, 살균제는 복분자 잿빛곰팡이병에 등록된 Fluazinam (a.i. 50%, 수화제)을 사용하였으며, 이는 신규로 보고된 복분자 시들음병(*Fusarium cugenangense*)에 대해 현재 등록된 방제 약제가 없어, 농약 등록 이전 단계에서 약제의 기초적인 균사 생육 억제 효과를 검토하기 위한 목적에서 시험 약제로 선정하였다.

유용미생물의 단독처리의 병원균 균사 생육 억제 능력을 확인하기 위해 NA 배지에서 배양된 각 유용미생물을 직경 4 mm 루프로 채취하여 PDA 배지의 중앙에 배치하고 분리한

병원균 균사원(직경 5 mm)을 양 옆에 대치 배치하여 25°C 항온기에서 7일간 배양한 후 배지 중앙에 병원균만 단독 배치하여 동일 조건에서 배양한 무처리구의 균사 생육 길이를 비교하여 균사 억제 능력을 평가하였다.

살균제 단독 처리 효과는 PDA 배지를 약 50°C로 식힌 다음 Fluazinam을 복분자에 등록된 안전사용기준 농도(0.5 g/L), 2배 농도(1.0 g/L), 그리고 1/2배 농도(0.25 g/L)로 희석하여 제조한 후, 앞에서 언급한 것과 동일한 방법으로 대치 배양한 후 무처리구의 균사 생육 길이를 비교하여 균사 생육 억제 능력을 평가하였다.

### 시들음병 방제를 위한 병용처리용 유용미생물 선발

본 연구에서는 Fluazinam과 유용미생물의 병용처리에 적합한 균주를 선발하기 위해, Fluazinam이 *Bacillus* 균주 3종의 생장에 미치는 영향을 확인하였다. 이를 위해 Fluazinam을 안전사용기준 농도(0.5 g/L)와 1/2 농도(0.25 g/L)로 첨가한 액상 PDA 배지를 준비한 후, 배지가 고화되기 전에 *Bacillus* 균주 현탁액을 혼합하여 최종 미생물 농도가 약  $1.0 \times 10^6$  CFU/mL이 되도록 조절하였다. 혼합된 배지는 즉시 90 mm 페트리디시에 분주하여 고화시켰으며, 고화된 배지에서의 *Bacillus* 균주 콜로니 형성 여부를 병용 적합성 판단 기준으로 설정하였다.

### 대치배양을 통한 복분자 시들음병원균 생육 억제 효과(병용처리)

유용미생물과 살균제의 병용처리 시 병원균 균사 생육 억제 능력을 확인하기 위해 Fluazinam의 안전사용기준 농도(0.5 g/L)와 1/2 농도(0.25 g/L)를 각각 첨가한 PDA 배지를 준비한 후, 배지가 고화되기 전에 유용미생물 현탁액을 배지에 혼합하여 최종 미생물 농도가 약  $1.0 \times 10^6$  CFU/mL이 되도록 조절하였다. 혼합된 배지는 즉시 90 mm 페트리디시에 분주하여 고화시켰으며, 이후 병용처리용 배지로 사용하였다. 이후 배지 중앙에 병원균을 접종하고, 동일한 방법으로 균사 생육 억제 능력을 평가하였다. 모든 처리구는 3반복으로 수행하였으며 균사 생육 억제율은 다음 식에 따라 계산하였다.

$$\text{균사생육억제율(\%)} = \frac{D_c - D_t}{D_c} \times 100$$

여기서  $D_c$ 는 대조구의 균사 생육 길이,  $D_t$ 는 처리구의 균사 생육 길이이다.

### 시들음병 방제 시험

유용미생물 처리에 따른 발병 억제 효과 평가를 위해 분리한 병원균을 PDA 배지에서 25°C, 7일간 배양 배양한 뒤 멸균 증류수 5.0 mL로 포자를 회수하여  $1.0 \times 10^6$  spores/mL의 병원균 포자현탁액을 조제하였고, *B. amyloliquefaciens*는 NA 배지에서 25°C, 48시간 배양 후 멸균증류수로 회수하여

$1.0 \times 10^6$  CFU/mL 로 희석하여 유용미생물 현탁액을 준비하였다. 조직배양으로 생산된 복분자(*Rubus coreanus*) 묘묘(한국농업기술진흥원, 2024)를 각 병원균 포자현탁액과 유용미생물 현탁액에 10분간 침지한 뒤 포트(지름 20 cm × 높이 20 cm)에 정식하였다.

처리구는 ① 무처리, ② 병원균(FOSC) 단독 접종, ③ 유용미생물(*B. amyloliquefaciens*) 침지 후 병원균을 침지, ④ 병원균 침지 후 유용미생물 침지, ⑤ 유용미생물 단독 침지의 각 3반복으로 구성하였다. 이 후 25°C 온실에서 1일 1회 관수로 유지하며 정식 7주차에 시들음 병징 발생 여부 조사와 초장 길이를 측정하였다. 초장은 각 식물체에서 정상적으로 발달한 대표 줄기를 대상으로 길이를 측정 후 평균 값을 산출하여 처리구 간 차이를 비교하였다.

### 통계처리

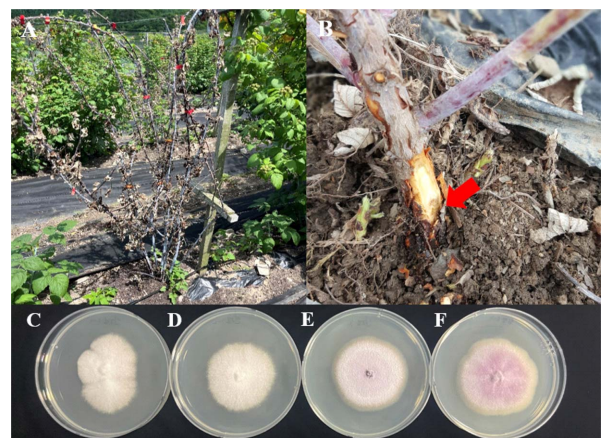
FOSC 분리균주마다 존재하는 기저 생장력 차이는 블록 요인으로 보정하고, 그 상태에서 처리 간 차이는 블록을 포함한 이원분산분석으로 평가하였다. 사후검정은 Duncan의 다중검정방법(Duncan's multiple range test)을 사용하였으며 유의수준은 0.05로 하였다.

한편, 포트 실험에서 측정된 식물 생육 지표는 식물 개체를 실험단위로 하여 처리 요인만을 고정효과로 설정한 일원분산분석(one-way ANOVA)을 실시하였다. 처리구 간 평균 비교는 Duncan의 다중검정을 통해 처리 효과의 경향을 비교하였다.

## 결과 및 고찰

### 복분자 시들음 병원균 분리

Fig. 1에서 나타난 바와 같이 복분자 시들음병 이병주에서는



**Fig. 1.** Blackberries infected with wilt disease (A) Symptom of brown discoloration(B; red arrow) observed on the blackberry stem near the soil line and the causal agent: (C) Inkyung 1-1, (D) Inkyung 1-2, (E) Inkyung 3, and (F) Inkyung 5-2.

지상부의 시들음 증상과 함께 잎의 황화가 관찰되었으며, 줄기 내부 조직에서는 갈변 증상이 확인되었다. 해당 병든 부위로부터 분리한 균주는 PDA 배지에서 초기에는 백색의 균총을 형성하였으나, 배양이 진행됨에 따라 균총 중앙부가 연한 자홍색에서 담갈색으로 변화하였고, 배지 이면에는 황갈색 색소가 확산되는 특징을 보였다(Fig. 1).

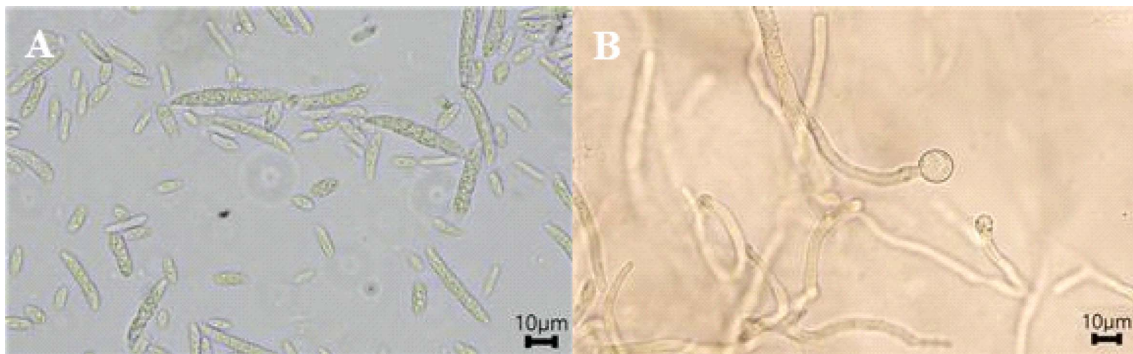
**병원균 균학적 특성 조사 및 동정**

복분자 뿌리에서 분리한 병원균의 균학적 특성을 조사하기 위하여 PDA 배지에서 배양한 균사 선단을 CLA 배지에 접종 배양하여 포자 형성을 유도하였다. 병원균은 CLA 배지 상에서 분생포자가 왕성하게 형성되었으며, 다양한 형태적 특

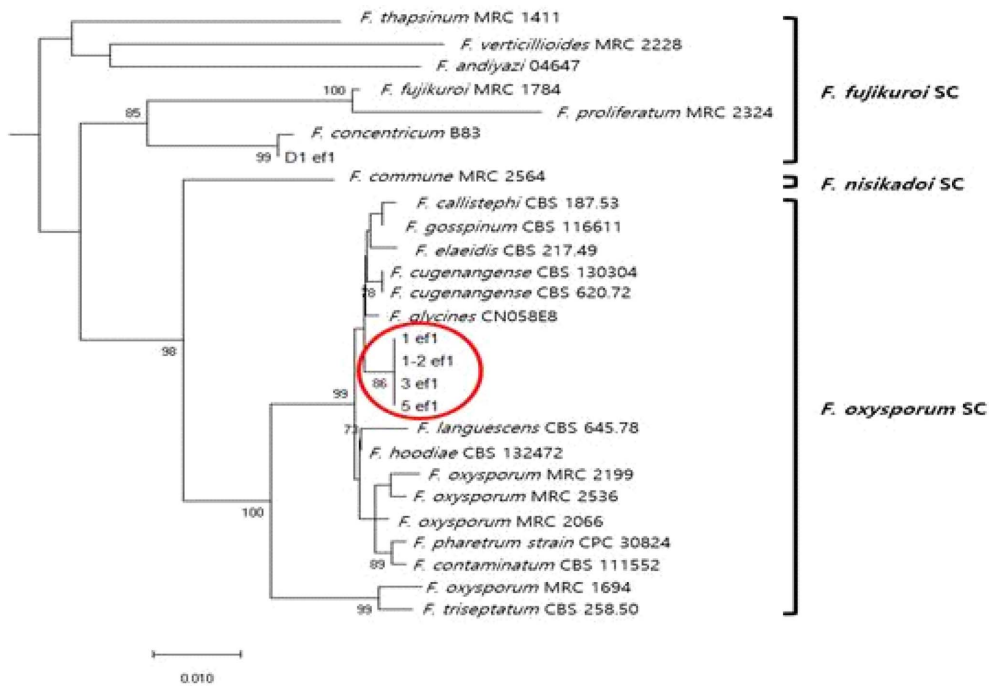
성을 확인하였다.

소형 분생포자의 형태는 난형 또는 타원형으로, 평균 길이는 3.5~20.1  $\mu\text{m}$ , 폭은 1.3~ 3.9  $\mu\text{m}$  였으며, 1개의 격막 또는 무격막 형태로 확인되었다. 대형 분생포자 대부분 3개의 격막을 가지는 곡형 내지 갈고리형으로, 평균 길이는 16.1~45.6  $\mu\text{m}$  폭은 2.5~4.0  $\mu\text{m}$ 였다(Fig. 2A). 후막포자는 구형에서 난형으로 균사 사이 혹은 끝에 형성되어 위치하였으며 평균 길이는 4.9~11.5  $\mu\text{m}$  폭은 4.5~11.2  $\mu\text{m}$ 로 측정되었다(Fig. 2B). 본 분리균의 소·대형 분생포자 및 후막포자 형질은 *Fusarium Laboratory Manual*에 제시된 *F. oxysporum*의 표준 형질과 일치하였다(Leslie and Summerell, 2006).

균사의 생장온도 반응을 분석한 결과, 15°C에서 생장이



**Fig. 2.** Morphological characteristics of macroconidia chlamydospores of the pathogen isolated from the diseased blackberry stem: (A) Microconidia and macroconidia. (B) Chlamydospores. Samples were observed under a light microscope at 40× magnification.



**Fig. 3.** Phylogenetic analysis of the TEF-1 $\alpha$  gene from isolated pathogens. Bootstrap support values (1,000 replicates) are shown at nodes with  $\geq 70\%$ .

미미하였고 20~30°C 구간에서 균사 생장이 활발히 이루어졌다. 최적 성장 온도는 25°C로 확인되었으며, 35°C에서는 생장이 저해되었다(Fig. 3). 이러한 결과는 *F. oxysporum*의 최적 성장 온도가 25~30°C 범위이며, 35°C 이상에서는 생장이 저하된다는 Gordon and Martyn (1997)의 결과와 일치하였다.

분자생물학적 동정을 위하여 분리균의 ribosomal DNA ITS 영역과 TEF-1 $\alpha$  유전자 영역을 증폭하여 염기서열 분석을 수행하였다. 분석 결과, ITS와 TEF-1 $\alpha$  유전자 모두에서 NCBI GenBank 데이터베이스의 *F. oxysporum* 균주와 99% 이상의 상동성을 보였다. 대표 균주의 TEF-1 $\alpha$  서열로 MEGA7 (Neighbor-Joining) 계통분석을 수행한 결과, 분리주는 *F. oxysporum* species complex (FOSC) 내부에 배치되었다(Fig. 3). 이상의 형태·생리·분자 근거를 종합하여 본 분리균을 *F. oxysporum* species complex (FOSC)로 동정하였다(Fig. 3).

한편, Kim et al. (2021)에 의해 전북 고창 지역에서 보고된 복분자 시들음병의 원인균 *Fusarium cugenangense* 역시 FOSC에 속하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서 관찰된 병징은 관부 갈변과 지상부 위조 및 고사로 이어지는 시들음병의 전형적인 증상으로, 고창 지역에서 보고된 병징과 일치하였다. 다만 본 연구는 분리균의 분류·동정을 목적으로 수행되었으므로, 세부 계통 구분이나 종 수준 비교를 위한 추가 유전자 분석은 수행하지 않았다.

### 병원성 검정

복분자 묘묘에 병원균 현탁액에 침지처리 하여 병징 여부로 병원성을 확인한 결과, 접종 4주 차부터 시들음 증상이 발현되었고 7주 차에는 전형적 시들음 증상과 생육 저하가 뚜렷해졌다(Fig. 5). 반면, 대조구는 시들음 증상이 관찰되지 않았으며, 병원균 처리구의 초장은 대조구 대비 79%로 감소하였다. 발병 개체의 갈변된 뿌리에서 병원균을 재분리하여 배양형·분생자 형질의 동일성을 확인함으로써 코호의 원칙을 충족하여 본 병원균이 복분자 시들음병의 원인균임을 입증하였다.



Fig. 4. Phylogenetic analysis of the TEF-1 $\alpha$  gene from isolated pathogens. Bootstrap support values (1,000 replicates) are shown at nodes with  $\geq 70\%$ .

### 시들음병 방제를 위한 병용처리용 유용미생물 선발

Fluazinam의 두 농도(1 $\times$ , 1/2 $\times$ )가 유용미생물 생장에 미치는 영향을 확인한 결과, *B. velezensis*와 *B. amyloliquefaciens*는 두 농도 모두에서 콜로니가 형성되어 약제 존재하에서도 생장이 유지되었다. 반면 *B. valismotis*는 Fluazinam의 두 농도(1 $\times$ , 1/2 $\times$ )에서 성장하지 않아 Fluazinam에 대한 감수성이 높은 것으로 판단되었다. 이러한 결과를 바탕으로 Fluazinam 처리 환경에서도 생장이 유지되는 *B. velezensis*와 *B. amyloliquefaciens*를 시들음병 방제를 위한 병용처리용 유용미생물로 선발하였다.

### 대치배양을 통한 복분자 시들음병원균 생육 억제 효과

복분자 시들음병원균인 FOSC에 대한 유용미생물의 균사 생육 억제 효과를 PDA 배지에서 평가한 결과, *B. velezensis*는  $33.79 \pm 8.55\%$ , *B. amyloliquefaciens*는  $26.08 \pm 2.66\%$ , *B. valismotis*는  $21.85 \pm 7.99\%$ 로 균사 생육 억제 효과가 있었으나 처리 간 억제율의 차이는 유의하지 않았다(ANOVA,  $P > 0.05$ ; Table 1). 이러한 결과는 배지 조건에서의 직접적인 균사 생육 억제 효과만으로는 특정 균주의 우수성을 구분하기 어렵다는 점을 의미한다. 본 연구에서 수행한 균사 생육 억제 시험은 배지 조건에서 이루어진 *in vitro* 실험으로, 유용미생물 간 직접적인 항균 효과를 비교하기 위한 기초 평가에 해당한다. 따라서 본 결과만으로 실제 재배 환경에서의 방제 효

Table 1. Inhibition percentage of mycelial growth of pathogen by beneficial microorganisms. Values are mean  $\pm$  SE. In RCBD-ANOVA (block = isolate), no significant treatment effect was detected ( $P > 0.05$ )

Isolate	<i>B. amyloliquefaciens</i> <sup>b)</sup>	<i>B. velezensis</i>	<i>B. valismotis</i>
Inkyung1-1	$26.18^a \pm 2.44$	$21.74 \pm 0.00$	$12.88 \pm 2.68$
Inkyung1-2	$20.83 \pm 0.61$	$22.71 \pm 3.58$	$8.33 \pm 5.89$
Inkyung3	$33.38 \pm 10.74$	$58.43 \pm 1.54$	$44.28 \pm 0.12$
Inkyung5-2	$23.91 \pm 1.54$	$32.27 \pm 4.38$	$21.91 \pm 6.27$
Average $\pm$ SE	$26.08 \pm 2.66b$	$33.79 \pm 8.55a$	$21.85 \pm 7.99c$

<sup>a)</sup>Inhibition percentage = {(Control mycelial growth length - inhibition mycelial growth length) / Control mycelial growth length}  $\times$  100

<sup>b)</sup>*B. amyloliquefaciens*, *B. velezensis*, *B. valismotis* were obtained from KACC, RDA

**Table 2.** Inhibition percentage of mycelial growth of pathogen by fluazinam fungicide. Values are mean  $\pm$  SE

Isolate	Fluazinam concentration (g/mL)		
	2 $\times$	1 $\times$ <sup>b)</sup>	1/2 $\times$
Inkyung1-1	84.03 <sup>a)</sup> $\pm$ 0.59	82.35 $\pm$ 1.19	79.83 $\pm$ 0.00
Inkyung1-2	81.63 $\pm$ 0.00	76.54 $\pm$ 1.44	72.45 $\pm$ 0.72
Inkyung3	85.82 $\pm$ 1.06	85.07 $\pm$ 2.11	84.33 $\pm$ 0.53
Inkyung5-2	83.33 $\pm$ 1.24	82.46 $\pm$ 0.00	81.58 $\pm$ 0.62
Average $\pm$ SE	83.71 $\pm$ 0.87a	81.60 $\pm$ 1.80a	79.55 $\pm$ 2.54b

<sup>a)</sup>Inhibition percentage = {(Control mycelial growth length – inhibition mycelial growth length) / Control mycelial growth length}  $\times$  100

<sup>b)</sup>The 1 $\times$  concentration of fluazinam represents the registered application rate for the control of gray mold on *Rubus coreanus* in Korea. The 1/2 $\times$  treatment indicates a one-half dilution relative to this registered application rate, whereas the 2 $\times$  treatment indicates a two-fold increase relative to the registered application rate.

**Table 3.** Inhibition percentage of mycelial growth of pathogen by combination treatment of fluazinam and microorganisms

Isolate	<i>B. vel.</i> + Fluazinam(1 $\times$ ) <sup>b)</sup>	<i>B. vel.</i> + Fluazinam(1/2 $\times$ )	<i>B. amyl.</i> + Fluazinam(1 $\times$ )	<i>B. amyl.</i> + Fluazinam(1/2 $\times$ )
Inkyung1-1	84.87 <sup>a)</sup> $\pm$ 0.00	84.03 $\pm$ 0.59	85.71 $\pm$ 0.59	84.87 $\pm$ 1.19
Inkyung1-2	78.57 $\pm$ 0.72	77.55 $\pm$ 0.00	80.61 $\pm$ 0.72	77.55 $\pm$ 0.00
Inkyung3	89.55 $\pm$ 0.00	86.57 $\pm$ 1.06	88.06 $\pm$ 0.00	87.31 $\pm$ 0.53
Inkyung5-2	83.33 $\pm$ 0.62	82.46 $\pm$ 1.24	85.09 $\pm$ 0.62	83.33 $\pm$ 0.62
Average $\pm$ SE	84.10 $\pm$ 2.26a	82.70 $\pm$ 1.90b	84.90 $\pm$ 1.56a	83.27 $\pm$ 2.07b

<sup>a)</sup>Inhibition percentage = {(Control mycelial growth length – inhibition mycelial growth length) / Control mycelial growth length}  $\times$  100

<sup>b)</sup>The 1 $\times$  concentration of fluazinam represents the registered application rate for the control of gray mold on *Rubus coreanus* in Korea. The 1/2 $\times$  treatment indicates a one-half dilution relative to this registered application rate, whereas the 2 $\times$  treatment indicates a two-fold increase relative to the registered application rate.

과를 판단하기에는 한계가 있다. 실제 포트 또는 포장 조건에서는 병원균-유용미생물-식물 간 상호작용, 근권 정착 여부, 환경 요인 등이 복합적으로 작용할 수 있으므로, 본 연구에서 확인된 결과를 실제 적용으로 확장하기 위해서는 *in vivo* 조건에서의 추가적인 검증이 필요할 것으로 판단된다.

Fluazinam 농도에 따른 억제율은 2배(83.71  $\pm$  0.87%)와 표준량(81.60  $\pm$  1.80%)이 유사한 수준이었고, 1/2배(79.55  $\pm$  2.54%)는 낮은 경향을 보였다(Table 2). 그러나 차이가 2-4%p 수준으로 약제 감량의 환경·경제적 이점을 평가하려면, 복분자 시들음병 대상의 현장 적용 연구와 처리 방법 최적화가 추가로 필요하다.

유용미생물과 Fluazinam을 병용했을 때, 표준처리구가 1/2배 처리구보다 높은 방제 효과를 보였다. *B. amyloliquefaciens* + Fluazinam (1 $\times$ )은 84.90  $\pm$  1.56%, *B. velezensis* + Fluazinam (1 $\times$ )은 84.10  $\pm$  2.26%였으며, 1/2배 처리구에서는 각각 83.27  $\pm$  2.07%, 82.65  $\pm$  1.90%로 나타났다. 즉, 농도를 절반으로 낮추면 방제율이 대략 1.5-2.0%p 정도 감소하는 경향을 보여, 표준량 병용이 방제효과가 높지만 같은 농도에서 두 유용미생물 간 차이는 크지 않아 유용미생물의 종류보다 처리 농도가 방제에 더 큰 영향이 있음을 확인하였다(Table 3).

Fluazinam 단독처리와 Fluazinam과 유용미생물 병용처리의

효과를 비교한 결과, 단독 1/2배 처리구만 방제율이 유의하게 낮았고( $p < 0.05$ ), 이를 제외한 나머지 Fluazinam 단독 처리와 병용 처리 간 비교에서는 유의한 차이가 나타나지 않았다( $p > 0.05$ ). 따라서 본 실험 범위에서는 동일 농도 내에서 병용 처리와 단독 처리 간의 효과 차이가 통계적으로 명확하지 않았다. 다만 평균값에서는 병용 처리가 단독 처리보다 같거나 다소 높은 경향을 보였다. 이러한 경향은 화학적 방제와 생물학적 제제가 서로 다른 작용기작을 가질 가능성과, 약제 감량 후 유용미생물로 보완하는 방안의 적용 가능성을 시사한다(He et al., 2023; Ma et al., 2013).

평균값 기준으로 볼 때, 병용처리(Fluazinam 1/2 $\times$  + 유용미생물)의 방제율은 표준량 단독처리(1 $\times$ )와 큰 차이가 관찰되지 않았다. 이는 유용미생물을 병용하면 약제 사용량을 줄이면서도 방제 수준을 유지할 가능성을 시사한다(He et al., 2023; Ma et al., 2013; Pocasangre et al., 2021). 본 결과를 바탕으로 다양한 포장 조건에서 현장 적용 효과를 높이는 추가 연구가 필요할 것이다.

#### 시들음병 방제 시험

유용미생물 단독 처리구와 무처리구에서는 시들음 증상이 발생하지 않았고, 유묘의 생육이 양호하게 유지되었다. 처리구

**Table 4.** Effect of pathogen and beneficial microbes on shoot length (cm) of Korean black raspberry

Treatment	Shoot length (cm)
Control	<sup>a</sup> 55.33 ± 3.28ab
Pathogen only	43.33 ± 9.82b
Beneficial microbes only	65.33 ± 4.91a
Pathogen first, followed by beneficial microbes	65.00 ± 4.51a
Beneficial microbes first, followed by pathogen	66.00 ± 4.16a

\*Values are means ± standard error (SE) (n = 3). Duncan's multiple range test was used for descriptive comparison of treatment means.

간 초장은 평균값에서 차이를 보였으며, 일원분산분석(one-way ANOVA) 결과 유의수준 10%에서 처리 효과의 경향이 관찰되었다(F=2.84, P=0.082). 병원균 단독 접종 처리구의 평균 초장은 43.33 ± 9.82cm로 가장 낮게 나타나 무처리구(55.33 cm)에 비해 생육이 저해되는 경향을 보였다. 이는 병원균 감염에 따른 뿌리 기능 저하와 양분 흡수 장애로 인해 식물 생육이 전반적으로 저해되었기 때문으로 해석된다. 반면, 유용미생물 접종 처리구(65.33 ± 4.91 cm)와 병원균과 유용균의 병용 처리구(65.00 ± 4.51~66.00 ± 4.16 cm)는 병원균 단독 접종 처리구에 비해 상대적으로 높은 초장을 나타내는 경향을 보였다. Duncan의 다중검정 결과에서도 병원균 단독 접종 처리구는 낮은 초장 수준을 나타내는 양상을 보인 반면, 유용미생물 처리 및 병용 처리구는 서로 유사한 초장 수준을 보였다(Table 4). 이러한 결과는 유용미생물이 병원균의 증식을 억제하거나 식물 생육을 촉진하는 생리활성 물질을 분비함으로써 병원균에 의한 생육 저해를 부분적으로 완화했을 가능성을 시사한다. 특히 병용 처리구에서 초장이 유용미생물 단독 처리구와 유사한 수준을 나타낸 점은, 유용미생물이 병원균 존재 하에서도 식물 생육을 유지하는 데 기여할 가능성을 보여준다. 다만 개체 간 생육 편차로 인해 유의수준 5%에서는 통계적 유의성이 확인되지 않았으나, 유용미생물 처리구에서 일관되게 높은 평균 초장이 관찰된 점은 향후 유용미생물의 활용 가능성을 시사하는 경향적 결과로 해석될 수 있다.

뿌리 생육 특성에서는 처리 간 뚜렷한 정량적 차이는 확인되지 않았으나, 병원균 접종구에서는 일부 갈변된 뿌리가 관찰된 반면, 무처리구 및 유용미생물 처리구에서는 갈변이 상대적으로 적고 백색을 유지하는 뿌리가 주로 관찰되었다(Fig. 5). 다만 본 시험은 상토 조건에서 수행되어 병원균 접종 처리구에서도 식물체의 고사나 명확한 발병 증상이 유도되지 않았으며, 이에 따라 발병주수 또는 발병지수와 같은 정량적 병 발생 지표를 적용하는 데에는 한계가 있어 관찰 결과로 기술하였다. 또한 갈변이 확인된 뿌리 조직으로부터 병원균을 재분리하였으며, 이를 통해 Koch의 원칙(Koch's postulates)을 충족함을 확인하였다.

**Fig. 5.** Root comparison after pathogen inoculation: (A) control roots and (B) pathogen inoculated roots.

기존의 유용미생물을 이용한 병해 방제 연구에서는 병 발생이 안정적으로 유도되는 조건에서 발병주수, 발병지수 또는 방제율을 산출하여 처리 효과를 정량적으로 평가하는 경우가 많았다(Bardin et al., 2015). 그러나 여러 연구에서 *in vitro* 근사 생육 억제율과 포트 또는 포장 조건에서의 실제 방제 효과 간에는 반드시 일대일 대응 관계가 성립하지 않는 것으로 보고되었으며, 실제 방제 효과는 균주의 근권 정착성, 환경 적응성, 식물 생육 촉진 및 유도저항성 유발 능력 등 복합적인 요인에 의해 결정된다고 알려져 있다(Compant et al., 2005; Lugtenberg and Kamilova, 2009).

이러한 점을 종합해 볼 때, 본 연구에서 관찰된 뿌리 변색 양상과 생육 반응은 유용미생물의 방제 가능성을 시사하는 초기 지표로 해석될 수 있으나, 실제 방제 효과를 명확히 검증하기 위해서는 병 발생 정도를 정량화할 수 있는 조건에서 추가 실험이 필요할 것으로 판단된다. 향후 연구에서는 발병지수 설정이 가능한 시험 조건에서 *in vitro* 억제율과 포트 및 포장 조건에서의 방제 효과 간의 관계를 보다 체계적으로 검증함으로써, 유용미생물의 실질적인 방제 활용 가능성을 평가할 필요가 있을 것이다.

종합적으로, 본 결과는 유용미생물 처리 시 복분자 유묘의 초기 생육을 개선하고 시들음병 발병을 억제하는 잠재적 효과가 있음을 시사하지만, 효과의 범위와 안정성 확인을 위해 반복과 처리 조건을 확대한 후속 연구가 필요하다.

## 감사의 글

분리한 병원균의 TEF-1 $\alpha$  분석을 지원해주신 국립농업과학원 관계자들에게 감사드립니다.

## Author Information and Contributions

Sang Hyeok Kim, Department of Agricultural Chemistry, Chungnam National University, Master Student, <https://orcid.org/0009-0003-4180-7441>

Kyung-mi Park, Division of Research and Development, Cheongju Agricultural Technology Center, Researcher

Han-byeol Kim, Division of Research and Development, Cheongju Agricultural Technology Center, Researcher

Lee Bo-young, Division of Research and Development, Cheongju Agricultural Technology Center, Researcher

Jung Il Park, Division of Research and Development, Cheongju Agricultural Technology Center, Researcher

Chan Soon Park, Division of Research and Development, Cheongju Agricultural Technology Center, Researcher

Kyoung Yul Ryu, Division of Research and Development, Cheongju Agricultural Technology Center, Doctor of Philosophy, <https://orcid.org/0000-0003-2136-0147>

Sung Chul Kim, Department of Agricultural Chemistry, Chungnam National University, Professor, <https://orcid.org/0000-0002-2521-6516>

Sang Hyeok Kim: Writing, Data analysis, Visualization, Editing, Investigation

Kyung-mi Park: Project administration, Draft Review

Han-byeol Kim: Draft review, Investigation

Lee Bo-young: Draft review, Investigation

Jung Il Park: Resources

Chan Soon Park: Methodology

Kyoung Yul Ryu: Supervision, Draft review

Sung Chul Kim: Supervision, Draft review

## 이해상충관계

저자는 본 논문과 관련하여 이해 상충이 없음을 명시한다.

## Literature Cited

Bailey KL, Lazarovits G, 2003. Suppressing soil-borne diseases

with residue management and organic amendments. *Soil Tillage Res.* 72(2):169-180.

Bardin M, Ajouz S, Comby M, Lopez-Ferber M, et al., 2015. Is the efficacy of biological control against plant diseases likely to be more durable than that of chemical pesticides? *Front. Plant Sci.* 6:566.

Cho SH, Choi SW, Lee HR, Lee JY, Choi YS, 2009. Changes in chemical properties of soil with cultivation period of *Rubus coreanus*. *Korean J. Plant Res.* 22(5):483-488. (In Korean)

Choi JH, Nah JY, Jin HS, Lim SB, et al., 2019a. Identification and chemotype profiling of *Fusarium* species in Korean oat. *Res. Plant Dis.* 25(4):157-163. (In Korean)

Choi JH, Nah JY, Jin HS, Lim SB, et al., 2019b. Occurrence of *Fusarium* species in Korean sorghum grains. *Res. Plant Dis.* 25(4):213-219. (In Korean)

Chowdhury SP, Hartmann A, Gao X, Borriss R, 2015. Biocontrol mechanism by root-associated *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 – a review. *Front. Microbiol.* 6:780.

Compant S, Duffy B, Nowak J, Clément C, Barka EA. 2005. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. *Appl Environ Microbiol* 71:4951-4959.

Fan B, Wang C, Song X, Ding X, Wu L, Wu H, Gao X, Borriss R, 2018. *Bacillus velezensis* FZB42 in 2018: The Gram-positive model strain for plant growth promotion and biocontrol. *Front. Microbiol.* 9:2491.

Gordon TR, Martyn RD, 1997. The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 35:111-128.

Gordon TR, 2017. *Fusarium oxysporum* and the *Fusarium* wilt syndrome. *Annu. Rev. Phytopathol.* 55:23-39.

He X, Ma Y, Qi C, Chen Y, et al., 2023. Synergistic effects of *Bacillus amyloliquefaciens* SDTB009 and difenoconazole on mycelial growth inhibition. *Plant Dis.* 107(6):1561-1569.

Jin DH, Seong JH, Lee YG, Kim DS, Chung HS, Kim HS, 2016. Antioxidant activity and effective compounds of black raspberry (*Rubus coreanus* Miquel) extracted by different solvents. *J. Korean Oil Chem. Soc.* 33(3):474-482.

Kim JY, Hong SS, Lee JG, Lee HJ, et al., 2008. Occurrence of *Fusarium* wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* and cultivar susceptibility on lettuce. *Res. Plant Dis.* 14(2):79-84. (In Korean)

Kim WG, Choi HW, Park GS, Cho WD, 2021. *Fusarium* wilt of Korean blackberry caused by *Fusarium cugenangense*. *Res. Plant Dis.* 27(4):187-191. (In Korean)

Kwon KY, Cha WS, Kim DC, Shin HJ, et al., 2006. Studies on the useful components and their application of bokbunja (*Rubus coreanus* Miq.). *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 21(6):405-409. (In Korean)

Lahlali R, Ezrari S, Radouane N, Kenfaoui J, et al., 2022. Biological control of plant pathogens: A global perspective. *Microorganisms* 10(3):596.

Leslie JF, Summerell BA, 2006. *The Fusarium laboratory manual*. Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK. pp.93-103.

- Lugtenberg B, Kamilova F. 2009. Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annu Rev Microbiol* 63:541-556.
- Ma Y, Kang Y, Shen H, Zhu X, et al., 2013. Combined application of *Bacillus subtilis* NJ-18 with fungicides for control of sharp eyespot of wheat. *Crop Prot.* 52:52-59.
- Pocasangre LE, Perdomo R, Cedeño L, Pérez M, et al., 2021. Application of *Bacillus subtilis* maintained control of Black Sigatoka while reducing chemical fungicide by 25%. *Crop Prot.* 146:105648.
- Rural Development Administration, 2018. New resource crops. 4th ed. Technology Dissemination Division, RDA, Jeonju, Korea. (In Korean)
- Zhang N, Wang D, Liu Y, Li S, et al., 2023. Biocontrol mechanisms of *Bacillus*: Improving the efficiency of green agriculture. *Microb. Biotechnol.* 16(7):1301-1314.
- Zhao Z, Wang Q, Wang K, Kemp B, Liu C, Gu Y, 2010. Study of the antifungal activity of *Bacillus vallismortis* ZZ185 in vitro and identification of its antifungal components. *Bioresour. Technol.* 101:292-297.

## 충북지역 복분자 시들음병 원인 규명 및 방제효과 비교

김상혁<sup>1,2</sup> · 박경미<sup>1</sup> · 김한별<sup>1</sup> · 이보영<sup>1</sup> · 박정일<sup>1</sup> · 박찬순<sup>1</sup> · 류경열<sup>1</sup> · 김성철<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>청주시농업기술센터 연구개발과, <sup>2</sup>충남대학교 농업생명과학대학 농화학과

**요약** 본 연구는 청주지역 복분자(*Rubus coreanus*)에서 발생한 시들음병의 원인균을 규명하고 생물학적 방제 가능성을 평가하고자 수행되었다. 병징이 나타난 복분자 뿌리에서 분리한 병원균은 균학적·분자적 분석 결과 *Fusarium oxysporum* species complex으로 동정되었으며, 복분자 유묘 접종을 통해 코흐의 원칙을 충족하여 병원성을 확인하였다. 실내 검정에서는 *Bacillus* 속 3종과 살균제 Fluazinam의 단독 처리 및 *B. amyloliquefaciens*와 Fluazinam 병용 처리에 대한 균사 생육 억제 효과를 조사하였으며, 포트 실험에서는 *B. amyloliquefaciens*와 Fluazinam 처리의 방제 효과를 검정하였다. 유용미생물 단독 처리구에서는 시들음 증상이 나타나지 않았으나, 일부 생육 촉진 효과가 혼재되어 방제 효과의 명확한 판정에는 한계가 있었다. 이상의 결과는 *in vitro*와 *in planta*조건에서 효과 차이가 있음을 보여주며, 복분자 시들음병의 생물학적 방제 가능성을 제시하였으나 현장 적용을 위해 추가적인 검증과 최적화 연구가 필요함을 시사한다.

**색인어:** 복분자, 시들음병, 유용미생물, 생물적 방제