

*Fusarium graminearum*이 생산하는 몇가지 물질의 분리정제 및 항균 활성

김병섭* · 김건우 · 이종규 · 이인원¹ · 조광연
한국화학연구소 스크리닝안전성센터, ¹서울대학교 농생물학과

Isolation and Purification of Several Substances Produced by *Fusarium graminearum* and Their Antimicrobial Activities

Byung Sup Kim*, Kun Woo Kim, Jong Kyu Lee, Yin Won Lee¹ and Kwang Yun Cho
Screening & Toxicology Center, Korea Research Institute of Chemical Technology,
Taejon 305-606, Korea

¹Department of Agricultural Biology, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

ABSTRACT : A *Fusarium graminearum* isolate was obtained from the phylloplane of a tomato plant. Antifungal substances were isolated from the *F. graminearum* isolate grown on potato dextrose agar (PDA) by using chloroform extraction and subsequent separation methods including silica gel flash column chromatography, thin layer chromatography, gel filtration, and high performance liquid chromatography (HPLC). The final HPLC gave five active fractions. Of these substances, the antifungal activities of the fraction 1 (F402) was examined in this study. Twenty-two phytopathogenic fungi were grown on PDA with the substance and their growth was examined to evaluate the antifungal activity of the substance. The substance completely inhibited the growth of *Pyricularia oryzae*, *Cochliobolus miyabeanus*, and *Alternaria solani* at the concentration of 50 µg/ml, whereas it slightly inhibited the growth of *Phytophthora* spp., *Cladosporium fulvum*, *Fusarium* spp., and *Corynespora cassicola* at the same concentration. In contrast, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani*, and *Sclerotinia sclerotiorum* showed normal growth at any concentrations of the substance examined. Minimum inhibitory concentrations of the substance to *Streptococcus pyogenes*, *S. faecium*, and *Staphylococcus aureus* were 12.5, 50, and 25-50 µg/ml, respectively. The substance had no inhibitory effect on the growth of *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella aerogenes*, and *Enterobacter cloacae* even at the concentration of 100 µg/ml. When the substance was sprayed directly to plants, the substance effectively controlled rice blast, rice brown spot, and barley powdery mildew with more than 80% disease control value. However, the substance had low disease control values against rice sheath blight, cucumber gray mold, tomato late blight, and wheat leaf rust.

Key words : *Fusarium graminearum*, antifungal and antibacterial substances, phytopathogenic fungi.

Fusarium spp.는 부생균으로 또는 채소 작물의 시들음병과 식량 작물에 여러 가지 병을 일으키는 식물 병원 진균으로 널리 존재한다. 이 균이 생산하는 대사산물은 색소, hormone, mycotoxins, phytotoxins, antibiotics 등이 알려져 있다(2, 5~8, 10, 11, 13, 17, 18). *Fusarium* spp.가 분비하는 mycotoxin으로는 T-2, deoxynivalenol, diacetoxyscirpenol, nivalenol, fusare-

non-X을 포함하는 trichothecenes계와 zearalenone 등이 알려져 있으며 이들은 인축에 내장 기관의 출혈, 성 성숙전 증후군 등을 일으키는 독성이 있다(6, 12, 17). 이 곰팡이는 균독소 뿐 아니라 식물 hormone, 항세균 및 항진균 작용과 같은 유용한 생리 활성물질을 분비한다. Visconti 등(18)은 *Fusarium moniliforme*에서 분리한 색소가 Gram 양성 세균에 항균 활성을 나타낸다고 보고하였고, Ellestad 등(5)은 미동정된 *Fusarium* sp.로부터 *Tetrahymena pyriformis*에 활성을

*Corresponding author.

보이는 6개의 새로운 terpenoids를 보고하였으며, Mokhtar 등(10, 11)은 *Fusarium solani*에서 분리한 fusarubin과 관련된 색소들이 세균, 효모 및 진균에 폭 넓은 항균활성을 나타냄을 보고하였으며, 최근 Evidente 등(6)은 *F. semitectum*으로부터 *Geotrichum candidum*에 강한 활성을 보이는 α -pyrones인 fusapyrone과 deoxyfusapyrone을 보고하였다. 이밖에도 다양한 종류의 항생물질들이 보고된 바 있다(2, 8, 17, 18).

지금까지 병해충 및 잡초의 방제를 위하여 널리 사용되어온 유기합성 농약은 계속적이며 광범위한 사용으로 인하여 환경오염, 저항성 출현 및 인축독성 등의 많은 문제를 야기하여 왔다(1, 4, 16). 유기합성 농약의 이러한 계속적인 사용에 의한 문제를 극복하기 위하여 환경과 조화를 이루는 방제 수단으로 저항성 품종의 이용, 경종적 방제, 생물적 방제, 천연물 농약 등이 이용되고 있다(3, 9, 14, 15). 미생물을 이용한 식물병의 방제 방법은 미생물 자체를 이용하는 방법, 생화학 적 발효에 의하여 얻어지는 대사 산물을 농약으로 이용하는 방법 및 미생물에 의하여 생산된 물질을 새로운 유기합성 농약의 선도 물질로써 이용하는 방법 등이 있다(9, 14).

본 실험은 새로운 살균제 개발을 위한 선도 물질을 미생물에서 찾기 위하여 토양 및 다양한 분리원으로부터 항균활성을 가진 길항균을 탐색하던 중 *F. graminearum* 균주가 벼 도열병에 강한 항균활성을 나타냄을 발견하여 이 균이 생산하는 항균물질을 분리하고 그 생물 활성을 조사하여 그 결과를 보고한다.

재료 및 방법

공시 균주의 분리. 본 실험에 사용한 균주는 토마토 잎과 줄기에서 분리하였다. 토마토의 잎과 줄기를 살균 증류수에 넣어 1시간 씻어 낸 물을 streptomycin 100 μ m/ml이 첨가된 감자 한천배지(PDA)가 분주된 petri plate상에 0.1 ml 도말하여 25°C 배양기에서 7일간 배양한 후 자라 나온 진균의 균총을 다른 PDA에 옮겨서 배양하였다.

항균활성을 나타내는 균주의 선발 및 동정. 분리된 균주의 항균활성은 다음과 같이 조사하였다. Petri plate내에 분주된 PDA 위에 멸균된 membrane filter paper(직경 25 mm, pore size 0.45 μ m/ml)를 놓고 그 위에 진균의 균사조각(직경 8 mm)을 접종하여 25°C 배양기에서 3~5일간 배양한 후 membrane filter paper를 제거하고 그 중앙에 PDA에서 배양한 벼 도열병균(*Pyricularia oryzae*) 균사조각(직경 8 mm)을 접종하여

배양한 후 대조구와 비교하여 균사 생장을 현저히 억제하는 균주를 예비로 선발하였으며, 그중 활성이 월등한 균주를 재차 선발하였다. 선발된 균주의 항균활성 범위를 조사하기 위하여 벼 도열병균의 8종류의 진균에 대한 항균활성을 위와 같은 방법으로 조사하여 대조구에 대한 균사 생장 억제율을 구하였다. 균주의 동정은 Nelson 등의 *Fusarium* 분류체계(5)에 따라 현미경적 관찰 및 배양적 특성을 조사하였다.

항균물질의 추출 및 분리정제. 항균활성을 나타내는 균주를 PDA에 접종하여 25°C에서 10일간 배양한 균체 및 배지 150 ml을 동량의 chloroform으로 추출한 다음, 여과지(Whatman No. 2)를 사용하여 여과하였다. 이 추출 및 여과 조작을 2회 반복하여 얻은 추출여액을 40°C 감압하에서 농축하여 chloroform을 제거하였다.

항균물질의 분리정제 중 silica gel flash column chromatography는 조추출물을 소량의 methanol에 용해시켜 column(silica gel 60, 230~400 mesh, 180×25 mm, Merck)의 상단에 주입한 후, CHCl₃-MeOH(10:1)을 혼합 용매계로 하여 압축 공기로 가압하면서 10 ml씩 분획하였다. 진술한 용매계를 전개용매로 한 thin layer chromatography(TLC, silica gel 60 F254, layer thickness 0.2 mm, Merck)분석을 통해 근접한 R_f를 보이는 분획들을 모아 샘플 검정을 하여 활성 분획을 찾았다. Spot의 검출에는 254 nm와 365 nm의 UV short wave 및 70% 황산용액을 발색시약으로 사용하였다. 활성분획들은 다시 ethyl acetate(EtOAc)-toluene(1:1)을 전개 용매로한 silica gel flash column chromatography(silica gel 60, 230~400 mesh, 200×10 mm, Merck) 및 Sephadex LH-20 column chromatography(330×16 mm, Pharmacia)를 하여 fraction I, II로 나누었다. 용출 분획한 시료는 분취용 HPLC(high performance liquid chromatography)를 이용하여 정제하였다. 활성분획 I의 정제에는 MeOH-H₂O(80:20)의 용매계를, 활성분획 II의 경우에는 MeOH을 70%에서부터 90%까지 증가시킨 linear gradient 용출법을 적용하였다. 유속 9 ml/min로 용출·분리된 각 화합물의 peak는 programmable wavelength detector(Spectra 200, Spectra-Physics)를 사용하여 UV 254nm에서 검출하였으며, 활성분획 I로부터 compound 1을, 활성분획 II로부터 compound 2-5를 분리하였다(Fig. 1, 2).

항균물질의 활성조사. 활성 물질의 살균 활성 검정은 paper disc법을 이용하였는데, 직경 8 mm paper disc(Toyo Roshi Kaisha, Ltd. Japan)에 소량의 methyl alcohol에 녹인 sample을 50 μ l씩 분주하고 용매를 건

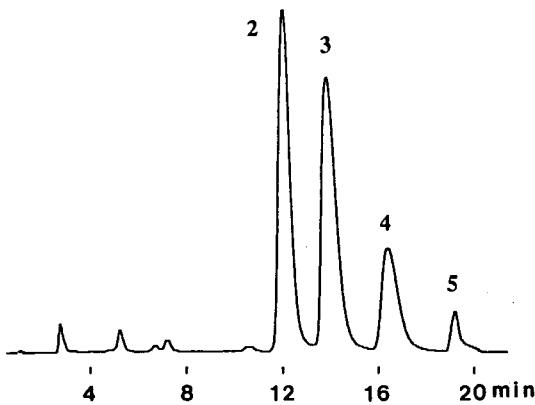


Fig. 1. HPLC profile of the active fraction I. Solvent : MeOH/water (8 : 2), Column : μ Bondapak C₁₈ (19×150 mm), Flow rate : 9 ml/min, Detection : UV 254 nm.

조시킨 후, *P. oryzae*의 포자 현탁액을 섞어서 plate에 분주하여 굳힌 PDA에 올려놓고 25°C 배양기에서 3일간 배양한 후 형성된 clear zone의 직경을 조사하였다.

SiO₂ plate(Silica gel 60,254S, 0.5 mm thickness, Merck)에 sample을 spotting한 후 전개용매가 든 전개조에서 전개시킨 후, 활성부위를 조사하기 위하여 항균물질을 조사하였던 방법과 마찬가지로 *P. oryzae*가 접종된 PDA를 TLC plate상에 피복시킨 후 25°C 배양기에서 3일간 배양하여 형성된 clear zone을 확인하였다. Preparative HPLC로 분리 정제된 항균물질의 식물병원진균 및 장내 세균에 대한 활성을 조사하였는데, 식물병원진균에 대한 활성은 이 물질을 methyl alcohol에 용해시키고 PDA 배지에 각 농도로 넣어서 굳힌 후 병원균을 접종하여 대조구에 대한 억제율을 구하였으며, *Streptococcus pyogenes* 308A의 10개 균주에 대한 활성 조사는 최소억제농도(MIC, minimum inhibitory concentration)를 구하였으며, 7개 식물병에 대한 방제 효과는 1~2엽기 식물체를 이용한 유도점정 방법으로 200 μ g/ml의 농도로 조제된 약제를 식물체에 살포하고 1일간 풍건한 후 각 병원균을 접종하여 대조구에 대한 방제가를 산출하였다.

결과 및 고찰

항균활성을 나타내는 균주 및 항균활성. 분리된 56균주의 곰팡이들 중 *Fusarium*속으로 보이는 한 균주(F1)가 *P. oryzae*에 대한 항균활성이 가장 높게 나타났다. 몇 가지 식물병원진균에 대한 항균물질 생산

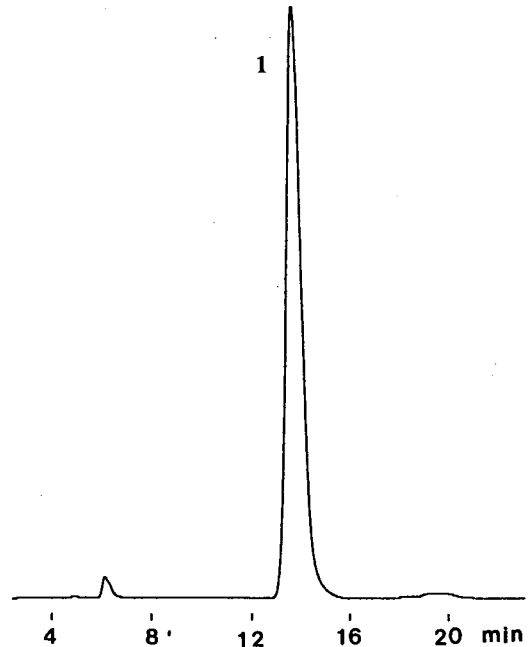


Fig. 2. HPLC profile of the active fraction II. Solvent : MeOH 70~90% linear gradients, Column : μ Bondapak C₁₈ (19×150 mm), Flow rate : 9 ml/min, Detection : UV 254 nm.

여부를 조사한 결과 이 균주는 *P. oryzae*의 균사 생장을 70% 억제하였고, 벼 잎집무늬마름병균(*Rhizoctonia solani*)은 억제하지 못하였으며, 고추 탄저병균(*Colletotrichum gloeosporioides*)과 역병균(*Phytophthora capsici*)은 각각 24.4, 48.5% 억제하였으며, 무 위황병균(*Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*)은 54.9%의 억제를 보였고, 나머지 병원균에서는 60% 이상의 균사 생장을 억제하였다(Table 1).

항균활성을 나타내는 *F. graminearum*의 동정. 이 균은 PDA에서 10일 배양하였을 때 균총의 직경이 7 cm 미만의 생장을 보였고, 흰색 혹은 orange색의 기증균사를 형성하였으며, 균사의 색은 carmine red였다. 현미경으로 관찰하였을 때 많은 대형 분생포자가 형성됨을 관찰할 수 있었고, 그 크기는 55~75 μ m이었으며, 3~7 중격막이 있었다. 대형 분생포자의 형태는 휘어짐이 적은 비교적 곧은 모양이었다. 이 균은 오랫동안 배양하였을 때 균사 및 대형 분생포자에서 후막포자도 형성하였다. 따라서 Nelson 등의 *Fusarium* 분류체계(5)에 따라 본 균을 *F. graminearum*으로 동정하였다.

항균물질의 생산 및 분리정제. *F. graminearum* F1의 균체 및 배지를 chloroform으로 추출하여 획득된

Table 1. Antifungal spectra of an isolate (isolate F1) of *Fusarium graminearum* isolated from a tomato plant by membrane filter sandwich method^a

Fungi	Mycelial growth inhibition (%) ^b
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	24.4
<i>Cochliobolus miyabeanus</i>	73.6
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>raphani</i>	54.9
<i>Alternaria brassicae</i>	64.2
<i>Pyricularia oryzae</i>	70.0
<i>Rhizoctonia solani</i>	0.0
<i>Pythium ultimum</i>	78.2
<i>Phytophthora capsici</i>	48.5
<i>Phytophthora infestans</i>	65.5

^a After pre-incubation of the test antagonist *Fusarium graminearum* on membrane filter on PDA for 3~5 days, plant pathogenic fungi were inoculated on the PDA with the membrane bounded fungal mycelium excluded. Fungal growth inhibition of plant pathogens was inspected at 7 days after inoculation.

^b Mycelial growth inhibition (%) =

$$100 \times \left[\frac{\text{untreated control growth (mm)} - \text{treated growth (mm)}}{\text{untreated control growth (mm)}} \right]$$

조추출물은 paper disc법에 의한 생물검정에서 항균활성을 나타냈으며, CHCl₃-MeOH(10 : 1)를 전개 용매계로 하여 TLC한 plate를 사용한 검정 결과, R_f치 0.25~0.52의 범위에 걸친 생육저지대가 관찰되었다. 조추출물 200 mg을 TLC에서 사용한 용매계를 이용한 silica gel flash column chromatography법에 의해 10 ml씩 분획하였을 때 4~7번 분획에서 활성이 확인되어 이 활성분획을 농축하여 얻어진 44.6 mg을 EtOAc-toluene (1 : 1)을 용출용매계로한 silica gel flash column chromatography를 행하여 5 ml씩 분획하여 생물검정한 결과, 4~15번 분획에서 활성이 나타났다. 획득된 28.5 mg의 활성물질의 정제는 Sephadex LH-20 column을 사용한 gel filtration법을 적용하였으며 methanol을 용매로 3 ml씩 분획하였다. 그 결과, 12~15번 분획으로부터 활성분획 I을 20.5 mg, 16~19번 분획에서 활성분획 II를 5 mg 얻었다. 활성분획 I 및 II의 HPLC 분석에 의한 검토 결과, C₁₈ 역상 column의 적용으로 이들 분획의 효율을 높일 수 있게 되어 최종적으로 preparative HPLC에 의한 정제를 하였다. 활성분획 I에 대해서는 역상 preparative column(10 μm, μBondapak, 150×19 mm, Millipore Waters)에 MeOH-H₂O(80 : 20)의 용매계를 유속 9 ml/min로 용출·분획하였으며 (Fig. 1), 활성분획 II에 있어서는 앞에서와 동일 조건

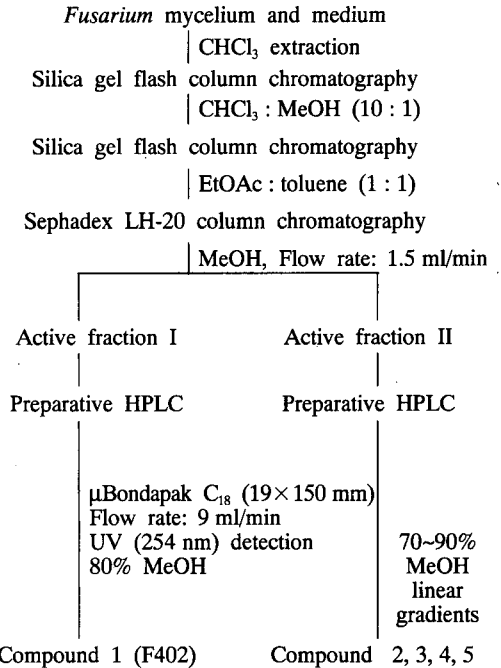


Fig. 3. Isolation procedure of antimicrobial compounds from *Fusarium graminearum*.

으로 linear gradient법을 적용하여 MeOH을 70%에서부터 90%까지 증가시켜 각 peak를 분리하였다(Fig. 2). 활성분획 I의 HPLC 스펙트럼에서 가장 높은 peak가 나타난 화합물(화합물 1, F402)은 94%의 높은 peak 면적비를 가진 것으로 나타났으며 retention time (Rt)은 13.8 min이었다. 활성분획 II의 경우는 4개의 peak 성분으로 분리되었으며, 화합물 2(Rt : 11.9 min), 3(Rt : 13.8 min), 4(Rt : 16.3 min), 5(Rt : 19.1 min)의 존재비는 peak 면적비로부터 38 : 39 : 16 : 4로 산출되었다. 활성분획 I 및 II의 각 분획을 농축하여 획득된 화합물 1(F402), 2, 3, 4, 5는 각각 4.2, 5.6, 5.6, 1.7, 1.4 mg이었다(Fig. 3).

항균활성 및 병방제. HPLC를 통하여 얻은 5개의 화합물들은 paper disc법을 이용한 검정 결과, 활성의 고저의 차는 있었으나 이들 모두에서 항균활성이 나타났다. 그중 1번(F402) 화합물이 벼도열병균(*P. oryzae*)에 대한 활성에 있어서 가장 크게 나타났다. *P. oryzae*의 21개 식물병원 곰팡이에 대한 살균활성 범위를 조사한 결과, 이 화합물은 50 μg/ml에서도 *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*은 전혀 억제하지 못하였으며, *Phytophthora* spp., *Cladosporium fulvum*, *Fusarium* spp., *Corynespora cas-*

*sicola*는 어느 정도의 활성이 있었지만 낮게 나타났고, *P. oryzae*, *Cochliobolus miyabeanus*, *Alternaria solani*는 50 µg/ml에서 100% 억제하여 활성이 높게 나타났다(Table 2). F402의 장내세균에 대한 활성을 MIC로

Table 2. Antifungal spectra of F402 from *Fusarium graminearum* F1

Fungus	Mycelial growth inhibition (%)			
	Concentrations (µg/ml)			
	0.4	2	10	50
<i>Pyricularia oryzae</i>	0.0	48.8	100	100
<i>Botrytis cinerea</i>	0.0	29.7	46.1	86.6
<i>Phytophthora capsici</i>	3.6	7.1	10.7	14.8
<i>P. cactorum</i>	0.0	2.1	19.8	25.2
<i>Pestalotia</i> sp.	8.3	10.7	51.7	71.6
<i>Penicillium</i> sp.	0.0	0.0	45.9	65.2
<i>Collectotrichum coccodes</i>	3.2	23.0	48.4	81.7
<i>C. atrmentaria</i>	12.7	33.1	53.4	59.5
<i>C. lagenariae</i>	7.9	46.4	69.7	85.5
<i>C. gloeosporioides</i>	25.5	51.5	82.0	94.1
<i>Cochliobolus miyabeanus</i>	5.5	42.0	73.5	82.1
<i>Dothiorella mali</i>	43.5	51.8	76.7	100
<i>Corynespora cassicola</i>	70.6	86.8	93.1	94.8
<i>Cuvularia lunata</i>	4.0	7.6	29.3	46.2
<i>Alternaria solani</i>	43.1	65.8	70.8	96.6
<i>Cladosporium fulvum</i>	65.3	79.2	87.2	100
<i>Fusarium moniliforme</i>	23.5	23.5	29.4	29.4
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	0.0	0.0	14.9	37.8
<i>Pythium ultimum</i>	0.0	6.6	24.6	60.7
<i>Rhizoctonia solani</i>	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	0.0	0.0	0.0	0.0

비교할 때 *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus faecium*에 대하여는 대조 항생제인 norfloxacin보다는 높았으나, kanamycin 및 streptomycin과 비슷한 정도였고, *Streptococcus aureus*는 25~50 µg/ml으로 나타났으며, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella aerogenes*, *Enterobacter cloacae*에서는 100 µg/ml 이상으로 활성이 나타나지 않았다(Table 3). 또 1~2엽기 각 기주식물에 F402를 200 µg/ml 농도로 살포한 후 병원균을 접종하여 방제효과를 조사한 결과, 벼도열병, 벼깨씨무늬마름병, 보리흰가루병에 대하여 80% 이상의 방제효과를 나타냈으며, 벼잎집무늬마름병, 오이갯빛곰팡이병, 토마토역병, 밀녹병에 대하여는 방제효과가 낮게 나타났다(Table 4).

미생물을 이용한 식물병의 방제 방법은 미생물 자체를 직접 또는 제형화하여 이용하는 방법, *Streptomyces* spp.가 분비하는 항균물질로 blasticidin, kasugamycin, validamycin, polyoxin, mildiomicin 등과 같이 생화학적 농약으로 발효에 의하여 얻어지는 대사산물을 이용하는 방법, 새로운 유기합성 농약의 lead 화합물로서 미생물에 의하여 생산된 물질을 이용하는 방법이 있다(9, 14). 따라서 분리된 항균물질은 구조 해석을 통하여 새로운 살균제 및 의약품 항생제 개발을 위한 lead 화합물로 이용할 뿐 아니라 대사물질 자체를 이용하는 것을 검토해 보아야 할 것으로 생각된다.

본 실험에서 분리한 항균물질은 CHCl₃-MeOH(10 : 1)의 전개 용매계를 이용한 TLC에서 R_f치가 0.25~0.52의 범위에서 활성을 나타냈고, 이 분획을 더욱 분리 정제하여 HPLC를 한 결과 5개의 활성물질로 나누어졌는데, 이러한 활성물질의 구체적인 화학구조 해석

Table 3. Comparison of minimum inhibitory concentration of antibiotic materials for several bacteria on nutrient agar medium

Bacterial species	Strain	MIC ^a (µg/ml)			
		F402 ^b	Kanamycin	Streptomycin	Norfloxacin
<i>Streptococcus pyogenes</i>	308A	12.5	12.5	3.1	12.5
<i>S. pyogenes</i>	77A	12.5	25.0	25.0	1.6
<i>S. faecium</i>	MD8b	25.0	25.0	50.0	1.6
<i>Staphylococcus aureus</i>	SG511	25.0	0.8	0.8	0.4
<i>St. aureus</i>	285	50.0	0.4	25.0	1.6
<i>St. aureus</i>	503	25.0	0.4	25.0	1.6
<i>Escherichia coli</i>	078	>100	0.8	1.6	0.01
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9027	>100	12.5	12.5	0.8
<i>Salmonella typhimurium</i>	-	>100	1.6	3.1	0.05
<i>Klebsiella aerogenes</i>	1522E	>100	1.6	1.6	0.05
<i>Enterobacter cloacae</i>	1321E	>100	0.8	0.8	0.01

^a MIC : Minimum inhibition concentration.

^b The major component of the fraction 1 of *Fusarium graminearum* F1.

Table 4. Disease control effect of F402 from *Fusarium graminearum* against several plant diseases^a

Disease	Pathogen	Control value (%) ^b
Rice blast disease	<i>Pyricularia oryzae</i>	97
Rice sheath blight	<i>Rhizoctonia solani</i>	5
Rice brown spot	<i>Cochliobolus miyabeanus</i>	100
Cucumber gray mold	<i>Botrytis cinerea</i>	25
Tomato late blight	<i>Phytophthora infestans</i>	26
Barley powdery mildew	<i>Erysiphe graminis</i>	80
Wheat leaf rust	<i>Puccinia recondita</i>	0

^a One- or two-leaf stage plants were inoculated with each pathogen at 1 day after spray of F402 (200 µg/ml).

^b Control value (%) =

$$100 \times \left[\frac{\text{untreated plant disease (\%)} - \text{treated plant disease (\%)}}{\text{untreated plant disease (\%)}} \right]$$

이 필요하며 이러한 물질의 구체적 이용을 위한 연구가 더욱 수행되어야 할 것이다.

요 약

토마토의 엽권에서 분리한 *Fusarium graminearum* 이 분리하는 물질은 벼 도열병균(*Pyricularia oryzae*) 외 여러 종의 식물병원 진균에 대한 항균활성을 나타내었으며, 이러한 활성물질을 PDA에서 본 균을 배양한 후 chloroform으로 추출하여 분리정제 하였다. HPLC에 의하여 5종류의 활성물질을 분획하였으며, 그중 1번(F402) 화합물을 벼 도열병균(*P. oryzae*)을 포함한 22개 식물 병원 진균에 대하여 살균 활성범위를 조사한 결과, 이 화합물은 50 µg/ml 농도에서 *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*은 전혀 억제하지 못하였으며, *Phytophthora* spp., *Cladosporium fulvum*, *Fusarium* spp., *Corynespora cassicola*에는 어느 정도의 활성이 있었지만 낮게 나타났고, *P. oryzae*, *Cochliobolus miyabeanus*, *Alternaria solani*는 100% 억제하여 활성이 높게 나타났다. 또한 장내 세균에 대한 활성을 MIC로 비교할 때 *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus faecium*에 대하여는 각각 12.5, 25 µg/ml였고 *Staphylococcus aureus*는 25~50 µg/ml으로 나타났으며, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella aerogenes*, *Enterobacter cloacae*에서는 100 µg/ml 이상으로 활성이 나타나지 않았다. F402를 200 µg/ml의 농도로 직접 살포한 식물체에서의 방제효과는 벼도열병, 벼 깨씨무늬병, 보리 흰가루병에 대하여는 80% 이상이었으나, 벼 잎집무늬마

름병, 오이 잿빛곰팡이병, 토마토 역병, 밀 녹병에서는 낮았다.

참고문헌

- Ames, B. N. 1979. Identifying environmental chemicals causing mutations and cancer. *Science* 204 : 587-593.
- Arsenault, G. P. 1968. Fungal metabolites-III' (Quinones from *Fusarium solani* D₂ purple and structure of (+)-solaniol²). *Tetrahedron* 24 : 4745-4749.
- Becker, J. O. 1993. Control of soil-borne pathogens with living bacteria and fungi: Status and outlook. *Pestic. Sci.* 37 : 355-363.
- Delp, C. J. 1988. *Fungicide resistance in North America*. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minn., 133pp.
- Ellestad, G. A., Evans, R. H. and Kunstmann, M. P. 1969. Some new terpenoid metabolites from an unidentified *Fusarium* species. *Tetrahedron* 25 : 1323-1334.
- Evidente, A., Conti, L., Altomare, C. Bottlino, A. Sindona, G., Segre, A. L. and Logrieco, A. 1994. Fusapyrone and deoxyfusapyrone, two antifungal α -pyrones from *Fusarium semitectum*. *Natural Toxins* 2 : 4-13.
- Fischer, H. P. and Bellus, D. 1983. Phytotoxicants from microorganisms and related compounds. *Pestic. Sci.* 14 : 334-340.
- Kjær, D., Kjær, A. and Pedersen, C. 1971. Bikaverin and norbikaverin, benzoxanthetrione pigments of *Gibberella fujikuroi*. *J. Chem. Soc.* 431 : 2792-2797.
- Lange, L., Breinholt, J., Rasmussen, F. W. and Nielsen, R. I. 1993. Microbial fungicides-The natural choice. *Pestic. Sci.* 39 : 155-160.
- Mokhtar, S. A., Nancy, N. G. and Llody, E. M. 1979. New antibiotic pigments related to fusarubin from *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. I. Fermentation, isolation, and antimicrobial activities. *J. Antibiotics* 32 : 679-684.
- Nancy, N. G. and Mokhtar, S. A. 1979. New antibiotic pigments related to fusarubin from *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. II. Structure elucidations. *J. Antibiotics* 32 : 685-688.
- Nelson, P. E., Toussoun, T. A. and Marasas, W. F. O. 1983. *Fusarium species- an illustrated manual for identification*. The Pennsylvania State University Press, 193pp.
- Pieter, S. S. and Philippus, L. W. 1979. Pigments from *Fusarium moniliforme* Sheldon. *Tetrahedron* 35 : 1551-1555.

14. Porter, N. and Fox, F. M. 1993. Diversity of microbial products-Discovery and application. *Pestic. Sci.* 39 : 161-168.
15. Powell, K. A. and Jutsum, A. R. 1993. Technical and commercial aspects of biocontrol products. *Pestic. Sci.* 37 : 315-321.
16. Staub, T. and Sozzi, D. 1984. Fungicide resistance: A continuing challenge. *Plant Dis.* 68 : 1026-1031.
17. Vesonder, R. F. and Golinski, P. 1989. Metabolites of *Fusarium*. In : *Fusarium-mycotoxins, taxonomy and pathogenicity*, ed. by J. Chelkowski, pp. 1-39. Amsterdam, Elsevier.
18. Visconti, A., Surico, G., Iacobellis, N. S. and Botalico, A. 1983. Produzione di pigmenti da parte di isolati di *Fusarium moniliforme* Sheld. da cereali in Italia e loro attivita antibatterica. *Phytopath. Medit.* 22