

식물추출물의 식물병원성 곰팡이 포자에 대한 발아억제 활성

박상조^{1*}, 류영현², 배수곤², 서동환¹

¹경북농업기술원, ²경북농업기술원 유기농업연구소

Screening of Antifungal Activities of Plant Extracts against Phytopathogenic Fungi

Sang-jo Park^{1*}, Young Hyun Ryu², Soo Gon Bae² and Dong Hwan Seo¹

¹Gyeongbuk Agricultural Research and Extension Services, Daegu 41404, Korea

²Organic Agriculture Research Institute, Gyeongbuk Agricultural Research and Extension Services, Uiseong-gun 37339, Korea

Abstract - Plant extracts were screened for antifungal activity against major plant pathogens, *Botrytis* sp., *Collectotrichum* sp., *Alternaria* sp. and *Cylindrocarpon* sp. using 96-well microdilution method. Among the 662 methanol extracts from 401 plant species, 36 extracts showed complete inhibition of spore germination against at least one of four pathogenic fungi. Extracts of *Morus alba* twig and *Sophora flavescens* root showed minimum inhibition concentration (MIC) at 1,250 µg/ml against *Botrytis* sp.. Extracts of *Chloranthus japonicus* root showed MIC at 1,250 µg/ml against *Collectotrichum* sp.. Extracts of *Glycyrrhiza uralensis* aerial part, *Inula helenium* root and *Menispermum dauricum* root showed MIC between 625 and 1,250 µg/ml against *Alternaria* sp.. *G. uralensis* aerial part and *I. helenium* root showed MIC at 1,250 µg/ml against *Cylindrocarpon* sp.. Specifically, the extracts of *Agrimonia pilosa* root, *Angelica tenuissima* root, *Asarum sieboldii* root, *Campsis grandifolia* leaf and twig, *Cnidium officinale* root, *Dictamnus dasycarpus* root, *G. uralensis* aerial part, *I. helenium* root and *M. alba* twig completely inhibited spore germination at lower than 5,000 µg/ml against all of four pathogenic fungi. Two methanol extracts from *G. uralensis* aerial part and *M. alba* twig may be used as a candidate to develop into effective disease management materials in plant cultivation.

Key words - *Glycyrrhiza uralensis*, *In vitro* antifungal activity, *Morus alba*, Plant extract, Spore germination inhibition

서 언

식물에서 추출한 성분을 농작물의 병해충 관리에 활용하는 방법은 조추출물 상태, 비활성 성분을 일부 제거하여 활성을 높인 활성분획(추출물) 또는 활성 성분만을 순수하게 분리한 것을 그대로 또는 희석하여 처리하는 것 등이 될 수 있다. 이러한 식물추출물은 농작물의 병해충을 관리하는데 있어서 좋은 대안이 될 수 있는데, 일부 식물추출물은 다수의 식물병원균에 대한 방제효과와 화학농약에 근접한 방제력을 지니고 있고(Schilder *et al.*, 2002; Schmitt *et al.*, 2002), 합성농약이나 생물농약과의 혼용처리로 농약의 사용량을 줄일 수 있고(Bardin *et al.*, 2008;

Jeandet *et al.*, 2000), 또한 화학농약에 내성을 지닌 병해충에도 효과적인 방제용 원료가 될 수 있는 장점을 지니고 있다(Isman, 2006; Jacometti *et al.*, 2010; Schmitt and Seddon, 2005). 이러한 이유로 새로운 방제용 재료를 식물에서 찾으려는 노력(Choi *et al.*, 2006; Choi *et al.*, 2013; Kim *et al.*, 2008; Ryu *et al.*, 2010)을 많이 하여 왔지만 neem, pyrethrum, essential oil 등과 같은 소수의 식물을 제외하면 상업적으로 성공한 식물성 재료는 그리 많지 않은 실정이다. 식물성 재료를 병해충 관리의 재료로 활용하기 위해서는 자연적인 생산량이 많거나 재배 또는 생물공학적인 수단으로 인한 생산이 경제적으로 용이하여 원료를 지속적으로 공급할 수 있어야 하지만 대부분의 식물이 그렇지 못하기 때문이다(Isman, 2006; Jacobson, 1989).

*교신저자: szo@korea.kr

Tel. +82-53-320-0269

*Botrytis*는 딸기 등 96종의 식물에, *Colletotrichum*은 고추 등 149종의 식물에, 그리고 *Alternaria*는 사과 등 82종의 식물에 병해를 일으키는 기주범위가 넓고 주요 작물에 병해를 일으키는 식물병원균 종류이다(Cho *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2007; Korean Society of Plant Pathology, 2009). *Cylindrocarpon*은 4종의 식물에 병해를 일으키는 것으로 조사되었으며(Korean Society of Plant Pathology, 2009), 특히 주요 약용 작물인 인삼과 작약의 뿌리를 썩게 하여 많은 피해를 유발하는 병원균으로 알려져 있다(Choi *et al.*, 2004; Jang *et al.*, 2010; Lee, 2004).

따라서 본 연구에서는 이러한 병원균을 대상으로 농작물의 병해 방제에 활용 가능한 식물성 소재를 발굴하고자 하였으며, 위의 4종 식물병원성 곰팡이에 대한 식물추출물의 포자 발아 억제활성과 식물추출물의 제조에 필요한 원료의 확보 용이성을 검토하여 식물병해의 방제용 재료로 가능한 추출물을 선별하였다.

재료 및 방법

추출물 제조

연구에 사용한 추출물은 2004년부터 2008년까지 유기농업 연구소 유전자원보존포장과 국내 자생지에서 채집한 식물체에서 얻었다. 지상부 재료는 6월에서 8월 사이에, 지하부는 수확기에 채취하였고, 채취한 재료는 흙 등의 이물질을 제거한 후에 약 1 cm 길이로 잘라서 40°C에서 열풍건조기로 5일간 건조하였다. 건조한 재료 50 g을 유리용기에 넣고 잠길 정도로 추출용매(100% 메탄올)를 부어 상온에서 침지하였다. 침지 3일 후에 추출액을 여과지(Whatman No. 2, Sigma Aldrich, USA)로 여과하여 회수하였으며, 메탄올 추출을 3회 실시하여 모든 추출액을 1L 농축플라스크에 넣고 40°C에서 회전식 감압농축기(Eyela N1000, Japan)로 추출용매를 제거하여 완전히 건조하였다. 추출물은 DMSO (Sigma Aldrich, USA)에 녹여 저장액(100 mg/ml)을 만들고 상온에서 보관하면서 활성검정에 이용하였다.

곰팡이

항균활성 검정에 사용한 식물병원성 곰팡이는 잿빛곰팡이균(*Botrytis* sp.), 탄저병균(*Colletotrichum* sp.), 점무늬병균(*Alternaria* sp.) 및 검은뿌리썩음병균(*Cylindrocarpon* sp.)이었다. *Botrytis* sp.는 딸기에서, *Colletotrichum* sp.은 고추 열매에서, *Alternaria* sp.는 작약 잎에서, *Cylindrocarpon* sp.은

작약의 뿌리에서 채취한 각 균의 포자를 potato dextrose agar (PDA, Difco, USA) 배지에 접종하여 배지상의 균사 형태와 현미경학적 관찰로 순수 분리하였다. 순수 분리한 곰팡이는 지름 90 mm PDA 배지에서 계대배양하면서 활성검정에 사용하였다. 포자현탁액은 각각의 곰팡이를 25°C에서 2주간 배양한 다음 멸균증류수 5 ml를 배양접시에 넣고 L형 유리막대로 배지 표면을 가볍게 문질러서 분생포자를 회수하는 방법으로 준비하였다. 회수한 포자현탁액은 vortex mixer로 흔들어서 덩어리를 풀어 균질하게 한 다음 cheesecloth로 걸렀다. Hemocytometer를 이용하여 포자현탁액의 포자수를 측정하고 다음 멸균 증류수로 포자의 농도가 1×10^6 conidia/ml가 되도록 조정하였다.

항진균 활성 검정

추출물의 항진균 활성 검정은 96-well microtiter plate assay를 응용하여 실시하였다(Wedge and Kuhajek, 1998). 추출물은 미리 만들어 놓은 저장액(100 mg/ml)을 멸균증류수로 희석하여 최종 농도가 5000, 2500, 1250, 625, 313, 156, 78, 39 $\mu\text{g/ml}$ 가 되도록 100 μl 씩을 microplate well에 넣었고, 곰팡이의 포자현탁액은 포자농도가 10^5 conidia/ml가 되도록 potato dextrose broth (PDB, Difco, USA) 배지로 희석하여 100 μl 를 넣었다. 무처리하는 멸균증류수 100 μl 와 포자현탁액 100 μl 를 혼합처리하였다. 접종된 plate를 배양기에 넣고 25°C에서 배양한 다음 5일 후에 역상현미경(Nikon Eclipse TS100, Japan)으로 포자의 발아 정도를 측정하였다. 3반복으로 실시하였으며, 분생포자의 발아를 100% 억제한 추출물의 최소농도를 MIC (minimum inhibition concentration, $\mu\text{g/ml}$)로 하였다.

결과 및 고찰

식물병원성 곰팡이인 딸기잿빛곰팡이병균(*Botrytis* sp.), 고추탄저병균(*Colletotrichum* sp.), 작약점무늬병균(*Alternaria* sp.) 및 작약검은뿌리썩음병균(*Cylindrocarpon* sp.)을 대상으로 401종의 식물에서 얻은 추출물 662개(Table 1)의 항진균 활성을 측정하였다. 시험에 사용한 곰팡이 중에서 한 종류 이상에서 분생포자의 발아억제 활성을 보인 것은 창포의 뿌리(*Acorus calamus* var. *angustatus* root), 석창포의 지상부(*A. gramineus* aerial part)와 뿌리(*A. gramineus* root), 짚신나물의 뿌리(*Agrimonia pilosa* root), 산마늘의 뿌리(*Allium microdictyon* root), 마늘의 인경껍질(*A. scorodorpasum* var. *viviparum* bulb bark), 고본의 뿌리(*Angelica tenuissima* root), 쥐방울덩

Table 1. Plant names and parts extracted for antifungal activity against phytopathogenic fungi

Acer triflorum (leaf, twig), *Achillea alpina* (whole plant), *Achillea filipendulina* (root, aerial part), *Achyranthes japonica* (whole plant, root), *Aconitum jaluense* subsp. *jaluense* (root, aerial part), *Aconitum pseudolaeve* (root), *Acorus calamus* var. *angustatus* (root, aerial part), *Acorus gramineus* (root, aerial part), *Actinidia arguta* var. *arguta* (leaf), *Adenophora triphylla* var. *japonica* (root, whole plant), *Aesculus turbinata* (leaf, twig), *Agastache rugosa* (whole plant), *Agrimonia pilosa* (root, aerial part), *Akebia quinata* (leaf and twig), *Allium cepa* (bulb), *Allium fistulosum* (seed), *Allium microdictyon* (root), *Allium scorodorpasum* var. *viviparum* (bulb bark, bulb, root), *Allium senescens* var. *senescens* (whole plant), *Allium thunbergii* (root), *Allium tuberosum* (root, aerial part), *Alpinia officinarum* (root, aerial part), *Althaea rosea* (root, aerial part), *Amorphophalus konjac* (root, aerial part), *Anemarrhena asphodeloides* (root, aerial part), *Anemone nikoensis* (root, aerial part), *Anethum graveolense* (aerial part), *Angelica dahurica* (root, aerial part), *Angelica decursiva* (root), *Angelica gigas* (root), *Angelica sinensis* (aerial part), *Angelica tenuissima* (root, aerial part), *Aquilegia buergariana* var. *oxysepala* (whole plant), *Aralia cordata* var. *continentalis* (root, aerial part), *Aralia elata* (leaf, leaf and twig), *Arctium lappa* (root, aerial part), *Argusia sibirica* (root, aerial part), *Arisaema amurense* for. *serratum* (root, aerial part), *Aristolochia contorta* (root, aerial part), *Armoracia rusticana* (root, aerial part), *Artemisia argyi* (aerial part), *Artemisia capillaris* (root, aerial part), *Artemisia gmelini* (root, whole plant), *Artemisia keiskeana* (root, aerial part), *Artemisia montana* (root, aerial part), *Artemisia princeps* (root, aerial part), *Artemisia selengensis* (root, aerial part), *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* (root, aerial part), *Arundinaria munsuensis* (whole plant), *Asarum sieboldii* (root, aerial part), *Asparagus cochinchinensis* (root, aerial part), *Asparagus officinalis* (root, aerial part), *Aster glehni* (root, aerial part), *Aster koraiensis* (root, aerial part), *Aster maackii* (whole plant), *Aster scaber* (whole plant), *Aster tataricus* (whole plant), *Aster yomena* (root, aerial part), *Astilbe rubra* var. *rubra* (aerial part), *Astragalus membranaceus* var. *membranaceus* (root, aerial part), *Asyneuma japonicum* (root, aerial part), *Atractylodes ovata* (aerial part, root), *Belamcanda chinensis* (root, aerial part), *Berberis koreana* (leaf and twig), *Berberis koreana* (aerial part), *Betula platyphylla* var. *japonica* (leaf and twig), *Bidens tripartita* (leaf), *Boehmeria platanifolia* (root, aerial part), *Brassica napus* (root, seed, aerial part), *Broussonetia papyrifera* (leaf and twig), *Bupleurum falcatum* (aerial part, root), *Callicarpa dichotoma* (fruit, leaf, twig), *Caltha palustris* var. *palustris* (whole plant), *Campanula punctata* (whole plant), *Campanula takesimana* (whole plant), *Campsis grandiflora* (flower, leaf and twig), *Caragana sinica* (leaf and twig), *Cardiospermum halicacabum* (fruit, root, aerial part), *Carduus crispus* (whole plant), *Carpesium divaricatum* (root, aerial part), *Carpinus laxiflora* var. *laxiflora* (leaf, twig), *Carum carvi* (aerial part), *Caryopteris incana* (root, aerial part), *Catalpa ovata* (leaf and twig), *Cedrela sinensis* (leaf), *Celastrus orbiculatus* (leaf), *Celosia argentea* (seed, aerial part), *Cercidiphyllum japonicum* (leaf, twig), *Cercis chinensis* (leaf, leaf and twig), *Chaenomeles sinensis* (leaf), *Chaenomeles speciosa* (leaf), *Chamaecrista nomame* (root, aerial part), *Chelidonium majus* var. *asiaticum* (root, aerial part), *Chloranthus japonicus* (root, aerial part), *Ciochorium intybus* (root, aerial part), *Cirsium japonicum* var. *maackii* (root, aerial part), *Cirsium nipponicum* (aerial part), *Citrullus vulgaris* (skin), *Clematis apiifolia* (root, aerial part), *Clematis heracleifolia* (root, aerial part), *Clematis heracleifolia* var. *davidiana* (root, aerial part), *Clematis terniflora* var. *mandshurica* (root, aerial part), *Cleome spinosa* (whole plant), *Clerodendrum trichotomum* (leaf, twig), *Clinopodium chinense* var. *grandiflora* (whole plant), *Clinopodium micranthum* (root, aerial part), *Cnidium monnieri* (root, aerial part), *Cnidium officinale* (root, aerial part), *Codonopsis pilosula* (aerial part, root), *Convallaria keiskei* (root, aerial part), *Corchoropsis psilocarpa* (aerial part), *Coriandrum sativum* (whole plant), *Cornus alba* (leaf, twig), *Cornus controversa* (leaf and twig), *Cornus kousa* (leaf), *Corydalis ochotensis* (aerial part), *Corylopsis gotoana* var. *coreana* (leaf, twig), *Crataegus pinnatifida* for. *pinnatifida* (leaf, twig), *Cryptotaenia japonica* (root, aerial part), *Cucurbita moschata* (seed), *Cudrania tricuspidata* (leaf, twig), *Curcuma longa* (aerial part, root), *Cynanchum wilfordii* (root), *Datura stramonium* var. *chalybea* (root, seed, aerial part), *Dendranthema boreale* (root, aerial part), *Dendranthema indicum* (whole plant), *Dendranthema zawadskii* var. *latilobum* (root, aerial part), *Dendranthema zawadskii* var. *tenuisectum* (root), *Desmodium podocarpum* var. *oxyphyllum* (root, aerial part), *Deutzia crenata* for. *plena* (leaf, twig), *Dianthus chinensis* var. *chinensis* (whole plant), *Dianthus longicalyx* (aerial part), *Dicentra spectabilis* (root, aerial part), *Dictamnus dasycarpus* (root, aerial part), *Dioscorea batatas* (aerial part, aerial tuber, tuber, tuber bark), *Dioscorea tokoro* (root, aerial part), *Dracocephalum argunense* (root, aerial part), *Duchesnea indica* (root, aerial part), *Dystaenia takeshimana* (root, aerial part), *Elaeagnus multiflora* (leaf, twig), *Eleutherococcus gracilistylus* (leaf), *Eleutherococcus senticosus* (leaf, twig), *Eleutherococcus sessiliflorus* (leaf, twig), *Elsholtzia ciliata*

Table 1. Continued

(whole plant), *Epilobium hirsutum* (aerial part, whole plant), *Epimedium koreanum* (aerial part, root), *Equisetum hyemale* (aerial part), *Eucommia ulmoides* (leaf and twig), *Euonymus alatus* (leaf), *Euonymus alatus* for. *ciliatodentatus* (twig, leaf), *Euonymus hamiltonianus* var. *hamiltonianus* (leaf, twig), *Eupatorium japonicum* (root, aerial part), *Euphorbia heterophylla* (whole plant), *Euphorbia lathyris* (root, aerial part), *Euphorbia marginata* (root, aerial part), *Euphorbia pekinensis* (root, aerial part), *Fallopia ciliinervis* (root, aerial part), *Fallopia japonica* (root, aerial part), *Festuca glauca* (root, aerial part), *Ficus carica* (aerial part), *Filipendula formosa* (root), *Forsythia suspensa* (twig), *Forsythia viridissima* (leaf and twig), *Fragaria yezoensis* (whole plant), *Fraxinus mandshurica* (leaf, twig), *Fraxinus rhynchophylla* (leaf, twig), *Galium verum* var. *asiaticum* (root, aerial part), *Geranium sibiricum* (root, aerial part), *Geranium thunbergii* (aerial part), *Geum aleppicum* (root, aerial part), *Ginkgo biloba* (leaf, seed coat, seed), *Glechoma grandis* (whole plant), *Gleditsia japonica* (leaf), *Gleditsia sinensis* (leaf, twig), *Glycyrrhiza glabra* (leaf and twig), *Glycyrrhiza pallidiflora* (leaf and twig, root), *Glycyrrhiza uralensis* (aerial part), *Grewia parviflora* (leaf, twig), *Helianthus tuberosus* (root, aerial part), *Hemerocallis coreana* (root, aerial part), *Hemerocallis fulva* (root, aerial part), *Hemerocallis fulva* for. *kwanso* (root, aerial part), *Heracleum moellendorffii* (root, aerial part), *Hibiscus manihot* (root, seed, aerial part), *Hibiscus mutabilis* (root, whole plant), *Hieracium umbellatum* (root, aerial part), *Hosta longissima* (whole plant), *Houttuynia cordata* (whole plant), *Hovenia dulcis* (leaf), *Hylomecon vernalis* (whole plant), *Hyoscyamus niger* (whole plant), *Hypericum ascyron* (root, aerial part), *Hypericum patulum* (root, aerial part), *Hypericum perforatum* (root, aerial part), *Ilex serrata* (leaf, twig), *Ilex verticillata* 'Christmas cheer' (leaf), *Impatiens balsamina* (whole plant), *Inula britannica* var. *japonica* (whole plant), *Inula britannica* var. *linariifolia* (root, aerial part), *Inula helenium* (root, aerial part), *Iris ensata* var. *spontanea* (root, aerial part), *Iris lactea* var. *chinensis* (root, aerial part), *Iris setosa* (root, aerial part), *Isodon excisus* (aerial part), *Isodon inflexus* (root, aerial part), *Jasminum nudiflorum* (leaf and twig), *Kalopanax septemlobus* (leaf), *Kerria japonica* for. *pleniflora* (twig, leaf), *Kochia scoparia* (aerial part), *Koelreuteria paniculata* (leaf, twig), *Lactuca raddeana* (whole plant), *Lamium album* var. *barbatum* (root, aerial part), *Lathyrus davidii* (aerial part), *Ledebouriella seseloides* (root), *Leibnitzia anandria* (root, aerial part), *Leonurus japonicus* (aerial part, root), *Liatris spicata* (whole plant), *Ligustrum japonicum* var. *japonicum* (aerial part), *Ligustrum obtusifolium* (leaf), *Lilium hansonii* (root), *Lilium lancifolium* (flower, root, aerial part), *Linum usitatissimum* (seed, whole plant), *Liriodendron tulipifera* (leaf, twig), *Liriope spicata* (root, tuber, aerial part), *Lithospermum erythrorhizon* (root, aerial part), *Lonicera japonica* (leaf and twig, root), *Lonicera sempervirens* (root, aerial part), *Lotus corniculatus* var. *japonica* (whole plant), *Luffa cylindrica* (leaf), *Lychnis cognata* (whole plant), *Lycium chinense* (leaf and twig), *Lycoris squamigera* (root, aerial part), *Lysimachia barystachys* (root), *Lysimachia nummularia* (aerial part), *Lysimachia vulgaris* var. *davurica* (root, seed, aerial part), *Macleaya cordata* (whole plant), *Magnolia kobus* (fruit), *Magnolia liliiflora* (aerial part), *Magnolia obovata* (leaf, twig), *Malva verticillata* (root, aerial part), *Matricaria chamomilla* (aerial part), *Melia azedarach* (twig), *Melissa officinalis* (aerial part), *Menispermum dauricum* (root), *Mentha piperascens* (whole plant), *Mentha pulegium* (aerial part), *Mentha x piperita* (aerial part), *Metaplexis japonica* (aerial part, root), *Mirabilis jalapa* (root, aerial part), *Momordica charantia* (skin, seed, aerial part), *Monarda didyma* (aerial part), *Morus alba* (leaf, twig), *Mukdenia rossii* (root, aerial part), *Nepeta cataria* (aerial part), *Oenothera speciosa* (aerial part, root), *Ophiopogon japonicus* (root, aerial part), *Ophiopogon japonicus* 'Kyoto dwarf' (root, aerial part), *Oplopanax elatus* (aerial part), *Ostericum praeteritum* (root, aerial part), *Pachysandra terminalis* (root, aerial part), *Paeonia lactiflora* (root, aerial part), *Papaver amurense* (whole plant), *Passiflora caerulea* (leaf and twig), *Patrinia rupestris* (root, aerial part), *Patrinia scabiosaefolia* (root, aerial part), *Perilla frutescens* var. *acuta* (root, aerial part), *Perilla frutescens* var. *japonica* (whole plant), *Persicaria thunbergii* (whole plant), *Persicaria tinctoria* (aerial part, root), *Persicaria vulgaris* (whole plant), *Petasites japonicus* (whole plant), *Peucedamum japonicum* (root, aerial part), *Phalaris arundinacea* var. *picta* (whole plant), *Pharbitis nil* (seed, root), *Phellodendron amurense* (leaf, twig), *Philadelphus schrenkii* var. *schrenkii* (leaf, twig), *Phlomis tuberosa* (whole plant), *Phryma leptostachya* var. *asiatica* (root, aerial part), *Physalis alkekengi* var. *francheti* (root, aerial part), *Physostegia virginiana* 'Summer Snow' (whole plant), *Phytolacca americana* (root, seed, whole plant), *Pieris japonica* (leaf), *Pimpinella brachycarpa* (whole plant), *Pinellia ternata* (whole plant), *Pinellia tripartita* (aerial part), *Plantago asiatica* (root, aerial part), *Plantago lanceolata* (whole plant), *Platycodon grandiflorum* (root, aerial part), *Polygonatum odoratum* var. *pluriflorum* (root, aerial part), *Polygonatum odoratum* var. *pluriflorum* for. *variegatum* (root), *Polygonatum robustum* (root), *Polygonatum sibiricum* (root, aerial part), *Poncirus*

Table 1. Continued

trifoliata (seed, fruit), *Potentilla chinensis* var. *chinensis* (root, aerial part), *Potentilla cryptotaeniae* (root, aerial part), *Potentilla discolor* (root, aerial part), *Potentilla supina* (root, aerial part), *Prunella vulgaris* var. *lilacina* (whole plant), *Prunus glandulosa* for. *glandulosa* (leaf), *Prunus mume* for. *mume* (leaf, twig), *Prunus triloba* var. *truncata* (leaf, twig), *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum* (aerial part, root), *Pulsatilla koreana* (root), *Punica granatum* (leaf, aerial part), *Ranunculus japonicus* (whole plant), *Ranunculus tachiroei* (whole plant), *Rehmannia glutinosa* (root, aerial part), *Rhaponticum uniflorum* (root), *Rheum undulatum* (root, aerial part), *Rhododendron mucronulatum* var. *mucronulatum* (leaf, aerial part), *Rhodotypos scandens* (leaf), *Rhus javanica* (leaf and twig), *Rhus verniciflua* (leaf, twig), *Ricinus communis* (root, seed, aerial part), *Rohdea japonica* (root), *Rosa rugosa* var. *rugosa* (leaf, twig), *Rosmarinus officinalis* (aerial part), *Rubus coreanus* (leaf and twig), *Rubus crataegifolius* (leaf), *Rudbeckia laciniata* (root, aerial part), *Rumex acetosella* (root, aerial part), *Rumex crispus* (root, aerial part), *Rumex longifolius* (root, aerial part), *Ruta graveolens* (root, aerial part), *Salvia greggii* (aerial part), *Salvia officinalis* (aerial part), *Salvia plebeia* (root, aerial part), *Sambucus sieboldiana* var. *pendula* (leaf, twig), *Sanguisorba minor* (aerial part), *Sanguisorba officinalis* (root, aerial part), *Sanicula chinensis* (root, aerial part), *Saponaria officinalis* (seed, aerial part, root), *Sasa borealis* 'Aureostriata' (root), *Saururus chinensis* (whole plant), *Schisandra chinensis* (leaf and twig, root, fruit), *Scilla scilloides* (whole plant), *Scirpus radicans* (root, aerial part), *Scrophularia buergeriana* (root, aerial part), *Scrophularia kakudensis* (aerial part, root), *Scrophularia koraiensis* (root, aerial part), *Scutellaria baicalensis* (root, aerial part), *Scutellaria strigillosa* (root, aerial part), *Sedum kamschaticum* (root, aerial part), *Sedum middendorffianum* (root, aerial part), *Sedum polytrichoides* (whole plant), *Sedum sarmentosum* (root, aerial part), *Sedum takesimense* (root, aerial part), *Selaginella tamariscina* (aerial part), *Senna occidentalis* (leaf and twig), *Senna tora* (root, aerial part), *Serratula coronata* var. *insularis* for. *insularis* (aerial part), *Sesamum indicum* (flower), *Sigesbeckia glabrescens* (root), *Silene armeria* (root, aerial part), *Silene firma* (root, aerial part), *Silene repens* (whole plant), *Solanum lyratum* (root, aerial part), *Solanum melongena* var. *pumilio* (fruit, root), *Solanum nigrum* var. *nigrum* (fruit, root, aerial part), *Sophora flavescens* (root, seed, aerial part), *Sophora japonica* (leaf, twig), *Sorbaria sorbifolia* var. *stellipila* (twig, leaf), *Sorbus commixta* (leaf, twig), *Sparganium erectum* (aerial part), *Spiraea blumei* (leaf, twig), *Spiraea salicifolia* (leaf, twig), *Stachys japonica* (whole plant), *Staphylea bumalda* (leaf), *Styrax japonicus* (leaf, twig), *Symphytum officinale* (root, aerial part), *Syneilesis palmata* (aerial part, root), *Synurus deltoides* (root, aerial part), *Tanacetum cinerariifolium* (whole plant), *Taraxacum hallaisanense* (root, aerial part), *Tephrosia kirilowii* (whole plant), *Thalictrum aquilegifolium* var. *sibiricum* (root, whole plant), *Thladiantha dubia* (leaf and twig), *Thymus citriodorus* (aerial part), *Thymus quinquecostatus* (aerial part), *Trachelospermum asiaticum* var. *asiaticum* (root, aerial part), *Tradescantia reflexa* (root, aerial part), *Tritonia crocosmaeflora* (root, aerial part), *Typhonium giganteum* (root, aerial part), *Ulmus davidiana* var. *japonica* (leaf, twig), *Vaccaria segetalis* (whole plant), *Valeriana dageletiana* (whole plant), *Velariana fauriei* (root), *Veratrum oxysepalum* (root, aerial part), *Veronica linariifolia* for. *linariifolia* (flower, aerial part), *Veronicastrum sibiricum* (whole plant, root), *Viburnum dilatatum* (leaf, twig), *Viburnum opulus* for. *hydrangeoides* (twig, leaf), *Viburnum opulus* var. *calvescens* (leaf, twig), *Viola papilionacea* (whole plant), *Vitis coignetiae* (leaf), *Weigela subsessilis* (leaf), *Xanthium strumarium* (root, aerial part), *Zanthoxylum piperitum* (leaf, leaf and twig), *Zanthoxylum schinifolium* (leaf, seed), *Zingiber officinale* (root, aerial part), *Zizania latifolia* (aerial part), *Zizyphus jujuba* var. *jujuba* (leaf).

굴의 뿌리(*Aristolochia contorta* root), 죽도리풀의 뿌리 (*Asarum sieboldii* root), 삼주의 뿌리(*Atractylodes ovata* root), 매자나무의 잎줄기(*Berberis koreana* leaf and twig), 능 소화의 잎가지(*Campsis grandiflora* leaf and twig), 홀아비꽃 대의 뿌리(*Chlorathus japonicus* root), 천궁의 뿌리(*Cnidium officinale* root), 백선의 뿌리(*Dictamnus dasycarpus* root), 삼 지구엽초의 뿌리(*Epimedium koreanum* root), 유럽감초의 잎 줄기(*Glycyrrhiza glabra* leaf and twig), 감초의 지상부(*G. uralensis* aerial part), 목향의 뿌리(*Inula helenium* root), 캐

모마일의 지상부(*Matricaria chamomilla* aerial part), 새모래 덩굴의 뿌리(*Menispermum dauricum* root), 베르가모트의 지 상부(*Monarda didyma* aerial part), 뽕나무의 가지(*Morus alba* twig), 소엽맥문동의 지상부(*Ophiopogon japonicus* aerial part)와 뿌리(*O. japonicus* root), 왜란의 지상부(*O. japonicus* 'Kyoto dwarf' aerial part)와 뿌리(*O. japonicus* 'Kyoto dwarf' root), 수호초의 지상부(*Pachysandra terminalis* aerial part) 와 뿌리(*P. terminalis* root), 대황의 지상부(*Rheum undulatum* aerial part)와 뿌리(*R. undulatum* root), 황금의 뿌리(*Scutellaria*

Table 2. Antifungal activity of methanol extracts of plants against phytopathogenic fungi

Scientific name	Part extracted ^z	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
		B ^y	C	A	Cy
<i>Acorus calamus</i> var. <i>angustatus</i>	R	5000	5000	- ^x	-
<i>Acorus gramineus</i>	R	-	5000	-	5000
	AP	-	-	5000	5000
<i>Agrimonia pilosa</i>	R	2500	5000	5000	5000
<i>Allium microdictyon</i>	R	-	-	2500	-
<i>Allium scorodorpasum</i> var. <i>viviparum</i>	BB	-	-	5000	-
<i>Angelica tenuissima</i>	R	5000	2500	2500	2500
<i>Aristolochia contorta</i>	R	-	-	5000	-
<i>Asarum sieboldii</i>	R	5000	5000	5000	5000
<i>Atractylodes ovata</i>	R	-	5000	5000	2500
<i>Berberis koreana</i>	LT	-	-	-	5000
<i>Campsis grandiflora</i>	LT	5000	5000	5000	5000
<i>Chloranthus japonicus</i>	R	-	1250	5000	5000
<i>Cnidium officinale</i>	R	5000	5000	5000	5000
<i>Dictamnus dasycarpus</i>	R	5000	5000	5000	5000
<i>Epimedium koreanum</i>	R	-	-	5000	-
<i>Glycyrrhiza glabra</i>	LT	2500	2500	-	5000
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	AP	2500	2500	625	1250
<i>Inula helenium</i>	R	5000	2500	5000	1250
<i>Matricaria chamomilla</i>	AP	5000	-	-	-
<i>Menispermum dauricum</i>	R	-	-	1250	2500
<i>Monarda didyma</i>	AP	5000	-	-	-
<i>Morus alba</i>	T	1250	5000	1250	5000
<i>Ophiopogon japonicus</i>	R	5000	-	-	-
	AP	5000	-	-	-
<i>Ophiopogon japonicus</i> ‘Kyoto dwarf’	R	5000	-	-	-
	AP	2500	-	-	-
<i>Pachysandra terminalis</i>	R	2500	-	5000	2500
	AP	5000	-	5000	5000
<i>Rheum undulatum</i>	R	-	-	5000	5000
	AP	-	5000	-	5000
<i>Scutellaria baicalensis</i>	R	5000	5000	-	-
<i>Sophora flavescens</i>	R	1250	-	-	5000
<i>Thalictrum aquilegifolium</i> var. <i>sibiricum</i>	R	-	-	2500	-
<i>Thymus citriodorus</i>	AP	2500	-	-	-
<i>Thymus quinquecostatus</i>	AP	5000	-	-	-

^zAP, aerial part; BB, bulb bark; LT, leaf and twig; R, root.

^yB, *Botrytis* sp.; C, *Colletotrichum* sp.; A, *Alternaria* sp.; Cy, *Cylindrocarpon* sp.

^xno active.

baicalensis root), 고삼의 뿌리(*Sophora flavescens* root), 꿩의다리의 뿌리(*Thalictrum aquilegifolium* var. *sibiricum* root), 타임의 지상부(*Thymus citriodorus* aerial part) 및 백리향의 지상부(*Thymus quinquecostatus* aerial part) 추출물 36종이었다(Table 2).

딸기잰빛곰팡이병균(*Botrytis* sp.)의 포자발아를 가장 낮은 농도에서 억제한 추출물은 뽕나무의 가지와 고삼의 뿌리 추출물이었으며, 1,250 $\mu\text{g/ml}$ 에서 100% 억제활성을 보여 주었다. 고삼과 동일 속인 *S. alopecuroides*의 추출물이 *Pythium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Botrytis*, *Phytophthora* 및 *Exserohilum*

의 균사 신장을 억제하는 활성이 있다는 보고(Li *et al.*, 2006)가 있어서 고삼의 추출물은 살충(Dou *et al.*, 2010; Kim *et al.*, 2009) 뿐만이 아니라 넓은 범위의 식물병원균의 억제에 활용 가능성이 있을 것으로 판단된다. 고추탄저병균(*Colletotrichum* sp.)의 포자발아억제에 가장 강한 추출물은 홀아비꽃대의 뿌리 추출물이었으며, 1,250 µg/ml에서 완전히 억제하였다. 홀아비꽃대의 뿌리 추출물은 벼도열병 등의 방제에도 효과가 있는 것으로 보고된 바 있다(Park *et al.*, 2004). 작약점무늬병균(*Alternaria* sp.) 포자발아에 가장 강한 억제활성을 나타낸 추출물은 감초의 지상부로, 625 µg/ml에서 포자의 발아를 100% 억제하였다. 새도래덩굴의 뿌리와 뽕나무의 가지 추출물은 1,250 µg/ml에서 *Alternaria* sp.의 포자발아를 억제하였다. 작약검은뿌리썩음병균(*Cylindrocarpon* sp.)에 대하여 가장 강한 억제활성을 나타낸 추출물은 감초의 지상부와 목향의 뿌리였으며, 이 들은 모두 1,250 µg/ml에서 포자발아를 완전히 억제하였다 (Table 2).

이 검정에서 사용한 추출물 시료 중에서 지상부와 지하부 모두에서 항균활성을 나타낸 것은 석창포, 소엽맥문동, 왜란, 수호초 및 대항이었다. 소엽맥문동, 왜란 및 수호초는 추출 부위에 따라 약간의 억제활성 농도의 차이는 있었으나 지하부와 지상부가 동일한 항균범위를 보여 주었고, 석창포와 대항은 추출 부위에 따라 곰팡이 포자의 발아억제 반응에 차이를 보여 주었다. 짚신나물, 고본, 족도리풀, 일천궁, 백선 및 목향의 뿌리, 능소화의 잎가지, 감초의 지상부, 뽕나무의 가지 추출물은 식물의 지상부 조직에서 발병하는 3종류의 식물병원균(*Botrytis* sp., *Colletotrichum* sp., *Alternaria* sp.)과 뿌리에 발병하는 식물병원균(*Cylindrocarpon* sp.)의 포자발아를 모두 억제하는 항균활성을 보여 주어 이들 추출물의 항균범위가 넓은 것으로 나타났다. 반면에 매자나무의 잎과 줄기에서 얻은 추출물은 뿌리에 발병하는 균(*Cylindrocarpon* sp.)의 포자발아 억제에만 활성이 있었고, 창포, 산마늘, 마늘, 쥐방울덩굴, 삼지구엽초, 소엽맥문동, 왜란, 평의다리, 타입 및 백리향의 추출물은 지상부 조직에 발병하는 균에만 포자발아 억제활성을 보여주었다.

이 시험의 결과로 보면, 감초, 뽕나무 등의 몇몇 식물체는 약용 등의 주요 이용부위를 제외한 부산물을 식물 병해의 생물적 관리의 재료로 활용함으로써 이용가치를 증대할 수 있을 것으로 판단된다. 감초는 triterpene saponins, flavonoids, isoflavonoids 및 glycyrrhizic acid 등을 함유하고 있고, 항염증, 항바이러스, 항균, 항산화 및 항암 등의 약리활성을 발휘하며(Nassiri and Hosseinzadeh, 2008), 식품의 보존관련 위해미생물의 억제 효

과가 있는 것으로 보고되어 있을 뿐만 아니라(Kim *et al.*, 2006), 지상부 추출물은 625~2500 mg/L에서 식물병원균에 대한 항균활성을 보여 주고 있어서(Table 2) 뿌리와 지상부를 모두 이용할 수 있어 활용가치가 큰 작물이라 판단된다. 감초와 같이 생약용 감초로 쓰이고 있는 유럽감초(*Glycyrrhiza glabra*) (KFDA, 2010) 지상부 추출물의 *Botrytis* sp., *Colletotrichum* sp.와 *Cylindrocarpon* sp.에 대한 항균활성을 식물병 방제의 소재로 활용함으로써 식물체 지상부 부산물의 이용성을 증대시킬 수 있으리라 판단된다. Rollinger *et al.* (2006)에 의하여 뿌리껍질에서 사과와 감의 검은별무늬병균(*Venturia inaequalis*)에 항균효과가 있는 화합물이 분리된 바 있는 뽕나무에서도 이번 연구에 사용한 4종류의 식물성 병원균에 대하여 항균활성을 가지는 성분의 추출이 가능한 것으로 보이고 있어서 누에 사육이나 가지 치기에서 나오는 뽕나무의 가지를 추출물 재료로 활용한다면 식물병 관리용 추출물로 재활용이 가능할 것으로 여겨진다. 탄저병 억제활성 성분이 확인된 족도리풀(Lee *et al.*, 2005)을 비롯한 고본, 천궁, 짚신나물, 백선 및 목향은 한약재로 이용되는 뿌리 조직에서 시험한 곰팡이에 대한 항균 성분이 추출되는 것으로 나타나서 위의 6종 식물체의 뿌리는 생약과 식물 병해의 생물적 관리의 소재로 검출할 수 있을 것으로 판단된다.

식물체 부산물을 재활용하여 추출물의 제조에 필요한 원료의 생산비 절감 측면에서 보면, 이 연구에서 공시한 4종의 식물 병원성 곰팡이에 대한 포자발아억제 활성을 보여주고 있는 감초와 뽕나무가 식물병 방제의 식물추출물의 원료로 활용 가능성이 비교적 큰 것으로 나타났다.

적 요

401종의 식물에서 얻은 메탄올 추출물 662개를 식물 병원성 곰팡이[딸기잿빛곰팡이병균(*Botrytis* sp.), 고추탄저병균(*Colletotrichum* sp.), 작약점무늬병균(*Alternaria* sp.) 및 작약검은뿌리썩음병균(*Cylindrocarpon* sp.)]에 대한 분생포자의 발아억제 활성을 microdilution assay로 측정하였다. 검정에 사용한 추출물 중에서 36종의 추출물이 1종 이상의 곰팡이에 대하여 억제활성을 보였다. 짚신나물, 고본, 족도리풀, 일천궁, 백선 및 목향의 뿌리, 능소화의 잎가지, 감초의 지상부, 뽕나무의 가지 추출물은 식물의 지상부 조직에서 발병하는 균(*Botrytis* sp., *Colletotrichum* sp. 그리고 *Alternaria* sp.)과 뿌리에 발병하는 균(*Cylindrocarpon* sp.)의 포자발아를 모두 억제하는 항균활성을 보여 주어 이들 추출물의 항균범위가 넓은 것으로 나

타났다. 각각의 곰팡이 대한 추출물의 억제활성을 보면, 뽕나무의 가지와 고삼의 뿌리 추출물은 1,250 mg/L에서 딸기잿빛곰팡이병균의 포자발아를 완전히 억제하였다. 고추탄저병균의 포자발아억제에 가장 강한 추출물은 홀아비꽃대의 뿌리였으며, 1,250 μ g/ml에서 완전히 억제하였다. 작약점무늬병균에 가장 강한 억제활성을 나타낸 추출물은 감초의 지상부였으며, 625 μ g/ml에서 포자의 발아를 100% 억제하였고, 새모래덩굴의 뿌리와 뽕나무 가지 추출물은 1,250 μ g/ml에서 억제하였다. 작약검은뿌리썩음병균에 가장 강한 억제활성을 나타낸 추출물은 감초의 지상부와 목향의 뿌리였으며, 1,250 μ g/ml에서 포자발아를 억제하였다.

References

- Bardin, M., J. Fargues and P.C. Nicot. 2008. Compatibility between biopesticides used to control grey mould, powdery mildew and whitefly on tomato. *Biological Control* 46: 476-483.
- Cho, H.S., Y.H. Jeon, G.R. Do, D.H. Cho and Y.H. Yu. 2008. Mycological characteristics of *Botrytis cinerea* causing gray mold on ginseng in Korea. *J. Ginseng Res.* 32:26-32 (in Korean).
- Choi, I.J., H.H. Kwon, H.H. Lee, H.G. Son, S.K. Hong, J.W. Kang and Y.S. Park. 2013. Evaluation of insecticidal activity of plant extracts against the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) on vegetable plant. *Korean J. Plant Res.* 26:019-025 (in Korean).
- Choi, S., K.S. Park, K.J. Kim and J.C. Kim. 2004. Occurrence and control of black root rot of peony (*Paeonia lactiflora*) on continuous cropping. *Res. Plant Dis.* 10:268-271 (in Korean).
- Choi, G.J., J.C. Kim, K.S. Jang, H.K. Lim, I.K. Park, S.C. Shin and K.Y. Cho. 2006. *In vivo* antifungal activities of 67 plant fruit extracts against six plant pathogenic fungi. *J. Microbiol. Biotechnol.* 16:491-495.
- Dou, W., J. Wang, C. Tan, Y. Wei and D. Wang. 2010. Effect of matrine on the control of locust in desert grassland. *Pratacultural Sci.* 27:153-156.
- Isman, M.B. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annu. Rev. Entomol.* 51:45-66.
- Jacobson, M. 1989. Botanical Pesticides. In *Insecticides of Plant Origin*. Arnason, J., et al. ACS Symposium Series. American Chemical Society. Washington, DC., USA. pp. 1-10.
- Jacometti, M.A., S.D. Wratten and M. Walter. 2010. Alternatives to synthetic fungicides for *Botrytis cinerea* management in vineyards. *Australian J. Grape and Wine Research* 16:154-172.
- Jang, C.S., J.H. Lim, M.W. Seo, J.Y. Song and H.G. Kim. 2010. Direct detection of *Cylindrocarpon destructans*, root rot pathogen of ginseng by nested PCR from soil samples. *Mycobiology* 38:33-38.
- Jeandet, P., M. Adrian, A.C. Breuil, M. Sbaghi, S. Debord, R. Bessis, L.A. Weston and R. Harmon. 2000. Chemical induction of phytoalexin synthesis in grapevines: Application to the control of grey mould in the vineyard. *Acta Horticulturae* 528:591-596.
- KFDA. 2010. http://herbmed.kfda.go.kr/herb/sub02/db_search.jsp (in Korean).
- Kim, B.S., H.S. Jang, C.S. Choi, J.S. Kim, G.S. Kwon, I.S. Kwun, K.H. Son and H.Y. Sohn. 2008. Antifungal activity of *Zanthoxylum schinifolium* against *Fusarium graminearum*, a barley powdery mildew fungus. *J. Life Sci.* 18:974-979 (in Korean).
- Kim, J.T., S.Y. Park, W. Choi, Y.H. Lee and H.T. Kim. 2008. Characterization of *Colletotrichum* isolates causing Anthracnose of pepper in Korea. *Plant Pathol. J.* 24:17-23.
- Kim, S.K., J.H. Jin, C.K. Lim, J.H. Hur and S. Cho. 2009. Evaluation of insecticidal efficacy of plant extracts against major insect pests. *Kor. J. Pestic. Sci.* 13:165-170 (in Korean).
- Kim, S.J., J.Y. Shin, Y.M. Park, K.M. Chung, J.H. Lee and D.H. Kweon. 2006. Investigation of antimicrobial activity and stability of ethanol extracts of licorice root (*Glycyrrhiza glabra*). *Kor. J. Food Sci. Technol.* 38:241-248 (in Korean).
- Korean Society of Plant Pathology. 2009. List of plant diseases in Korea (5th edition).
- Lee, D.H., D.H. Kim, Y.A. Jeon, J.Y. Uhm and S.B. Hong. 2007. Molecular and cultural characterization of *Colletotrichum* spp. causing bitter rot of apples in Korea. *Plant Pathol. J.* 23:37-44.
- Lee, J.Y., S.S. Moon and B.K. Hwang. 2005. Isolation and antifungal activity of kakuol, a propiophenone derivative from *Asarum sieboldii* rhizome. *Pest Management Sci.* 61:821-825.
- Lee, S.G. 2004. *Fusarium* species associated with ginseng (*Panax ginseng*) and their role in the root-rot of ginseng plant. *Res. Plant Dis.* 10:248-259 (in Korean).
- Li, D., L. Zhou, J. Wang, X. Li, J. Tang and M. Xie. 2006. Inhibitory effects of *Sophora alopecuroides* extract to pathogens

- on cucumber and tomato. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* 26:558-563.
- Nassiri, A.M. and H. Hosseinzadeh. 2008. Review of pharmacological effects of *Glycyrrhiza* sp. and its bioactive compounds. *Phytother. Res.* 22:709-724.
- Park, M.R., H.Y. Kim, G.J. Choi, S.W. Lee, K.S. Jang, J.S. Kim, K.S. Hong, N.J. Park, K.Y. Cho and J.C. Kim. 2004. Biological activity of shizukanols isolated from *Chloranthus japonicus* roots. *Kor. J. Pesticide Sci.* 8:338-346 (in Korean).
- Rollinger, J.M., R. Spitaler, M. Menz, K. Marschall, R. Zelger, E. P. Ellmerer, P. Schneider and H. Stuppner. 2006. *Venturia inaequalis* - inhibiting Diels-Alder adducts from Morus root bark. *J. Agric. Food Chem.* 54:8432-8436.
- Ryu, H.Y., S.M. Ahn, Y.K. Shin and H.Y. Sohn. 2010. Antimicrobial and hemolytic activity of oriental medicinal herbs. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 38:190-197 (in Korean).
- Schilder, A.M.C., J.M. Gillett, R.W. Sysak and J.C. Wise. 2002. Evaluation of environmentally friendly products for control of fungal diseases of grapes. Proceedings of the 10th international conference on cultivation technique and phytopathological problems in organic fruit-growing and viticulture (Foko: Weinsberg, Germany). pp. 163-167.
- Schmitt, A. and B. Seddon. 2005. Biocontrol of plant pathogens with microbial BCAs and plant extracts - advantages and disadvantages of single and combined use. *Modern Fungicides and Antifungal Compounds IV.* pp. 205-225.
- Schmitt, A., S. Kunz, S. Nandi, B. Seddon and A. Ernst. 2002. Use of *Reynoutria sachalinensis* plant extracts, clay preparations and *Brevibacillus brevis* against fungal diseases of grape berries. Proceedings of the 10th International Conference on Cultivation Technique and Phytopathological Problems in Organic Fruit-growing and Viticulture (Foko: Weinsberg, Germany). pp. 146-151.
- Wedge, D.E. and J.M. Kuhajek. A microbioassay for fungicide discovery. 1998. *SAAS Bull Biochem Biotech* 11:1-7.

(Received 21 February 2017 ; Revised 21 March 2017 ; Accepted 3 April 2017)