

영지 노랑병 방제에 효과적인 살균제의 선발

최경자* · 이종규¹ · 우성희 · 조광연

한국화학연구소 스크리닝연구부, ¹강원대학교 삼림자원보호학과

Selection of Effective Fungicides Against *Xylogone sphaerospora*, a Fungal Pathogen of Cultivated Mushroom, *Ganoderma lucidum*

Gyung Ja Choi*, Jong-Kyu Lee¹, Sung Hee Woo and Kwang Yun Cho

Agrochemicals Screening Division, Korea Research Institute of Chemical Technology, Taejeon 305-600, Korea

¹Department of Forest Resources Protection, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

ABSTRACT: A fungal disease of the cultivated mushroom, *Ganoderma lucidum*, caused by *Xylogone sphaerospora* was epidemic throughout all cultivation areas in Korea which caused a lot of yield losses in the mushroom production. For controlling the disease, the screening of effective fungicides against the pathogenic fungus were conducted. Thirty seven commercially available fungicides were tested for their inhibitory activities on potato dextrose agar media supplemented with these fungicides at various concentrations. Twenty one fungicides significantly inhibited mycelial growth of the pathogen, *Xylogone sphaerospora*, but 16 fungicides had no inhibitory effect. Among these 21 fungicides, 17 fungicides also inhibited mycelial growth of *Ganoderma lucidum* as well, but imazalil, procymidone, triforine, and vinclozolin had no inhibitory effects. However, vinclozolin showed no inhibitory effect on mycelial growth of the mushroom even at the concentration of 50 µg/ml. According to the result of *in vitro* bioassay, vinclozolin was selected for further *in vivo* tests to investigate the preventive effects on the pathogen. Logs for *Ganoderma lucidum* cultivation were dipped into the 500 µg/ml vinclozolin solution for 2 hours, and then the pathogen was inoculated. After two month-cultivation of the mushroom, over 90% of logs treated with vinclozolin without pathogen inoculation produced fruiting bodies. However, fruiting bodies were not produced from the logs inoculated with the pathogen, but not treated with vinclozolin. Fifty seven percent of logs which were pre-treated with vinclozolin and then inoculated with the pathogen produced fruiting bodies. Based on the results, vinclozolin is effective for the control of yellow disease of the *Ganoderma lucidum* caused by *Xylogone sphaerospora*.

Key words: fungicide screening, *Ganoderma lucidum*, vinclozolin, *Xylogone sphaerospora*, yellow disease.

동양에서 영지(*Ganoderma lucidum*)는 오랜 옛날부터 불로초라 불렸으며 각종 질병에 유효한 성분이 많이 함유되어 있는 약용부식으로 알려져 왔다(1,12). 그리고 최근에는 약용으로 뿐만 아니라 건강음료의 주원료로도 이용되기 때문에 대량으로 소비되고 있으며 앞으로 이 시장은 더욱 확대 될 전망이다(2). 국내에서는 1980년대 중반부터 하우스 내에서 인공적으로 영지를 재배하기 시작하여 재배면적과 생산량이 매년 늘어나고 있다(3,6). 그러나, 1980년대 후반부터 강화, 신탄진 등지의 영지 재배하우스 내에서 발생하기 시작한 영지 노랑병은 매년 발생이 늘어나고 있으며, 병 발생이 전국적으로 확산되고 있고 강화, 신탄진, 옥천 등에서는 병이 심하게 진전되어 폐농하는 사태가 종종 발생하고 있다(3). 따라서 이 병은 영지재배시에 중요한 제한적 요인이 되고 있어 막

대한 경제적 손실을 입히고 있다.

영지재배시에 발생하는 병해로는 *Trichoderma* sp.에 의한 푸른곰팡이병이 유일한 병으로 알려져 있었으나, 1996년 이 등(6)은 영지 노랑병에 감염된 영지로부터 병원균을 분리하고 이 균의 완전세대를 자낭균인 *Xylogone sphaerospora*로 동정하였으며, *X. sphaerospora*에 의한 영지 노랑병을 처음으로 보고하였다. 원래 *X. sphaerospora*는 스웨덴에서 소나무(*Pinus sylvestris*), 가문비나무(*Picea* sp.), 자작나무(*Betula* sp.) 등의 나무부스러기 토막에서 분리된 적이 있으며, 또한 오스트레일리아에서 페프용 목재로 사용되는 여러 다른 종류의 수목에서 분리되어 1969년에 처음으로 보고되면서 명명되었으나(14), 영지 재배시에 문제가 되는 병원균으로는 처음 보고였다.

따라서 영지 노랑병을 효과적으로 방제하기 위하여는 병원균의 생리, 생태와 발병생태 등에 대한 연구를 바탕

*Corresponding author.

으로 하는 종합적 방제가 요구되지만, 현재 이 병이 영지 재배지역에서 전국적으로 발생하여 많은 피해를 주고 있고, 더욱 넓은 면적으로 확산되고 있는 상황이므로 병해의 확산저지를 위해서는 우선 방제효과가 빠르게 나타나는 화학적 방제방법을 강구하는 것이 필요하다고 생각되어진다. 현재 우리 나라에서는 영지 및 느타리버섯 재배 시에 발생하는 푸른곰팡이병의 방제를 위하여 benzimidazole계 살균제인 thiabendazole(상품명: 판마시)이 등록되어 1994년에는 2,299 kg(유효성분: 1,379 kg)이 사용되었다(3). 그 외에도 양송이 마이코곤병을 방제하기 위하여 prochloraz manganese complex(상품명: 스포르곤)가 등록되어 사용되고 있다. 그러나 *X. sphaerospora*균의 생장을 억제하는 화합물이나 영지 노랑병을 방제하는 살균제는 전혀 보고된 바 없다.

따라서, 본 실험에서는 영지 노랑병 방제에 효과적인 살균제를 선발하기 위하여 이미 개발된 여러 살균제를 이용하여 이들이 함유된 배지상에서 영지 노랑병균의 군사생장 억제효과를 조사하였다. 이중 가장 효과적인 약제를 선발하여 직접 버섯 재배사에서 원목을 이용한 풋트실험을 수행하였다.

재료 및 방법

사용 군주. 영지 노랑병의 전형적인 병징을 나타내는 영지 원목으로부터 분리한 영지 노랑병균(*Xylogone sphaerospora*)을 사용하였으며(6), 영지(*Ganoderma lucidum*)는 버섯종균회사인 중앙농산으로부터 분양받은 불로1호를 실험에 사용하였다.

사용 살균제. 군사생장 억제효과실험에서 사용한 기존 살균제 37종의 일반명과 계열명은 Table 1과 같으며, 각 살균제의 원제를 농약회사로부터 분양 받아 실험에 사용하였다. 포장효과검정을 위한 원목풋트실험에는 vinclozolin 50% 수화제를 사용하였다.

군사생장 억제효과. 영지 노랑병 방제에 효과적인 살균제를 선발하기 위하여 영지 노랑병균(*X. sphaerospora*)과 영지(*G. lucidum*)에 대하여 살균제 37종의 군사생장 억제효과를 약제가 함유된 배지상에서 조사하였다. 멸균하여 식힌 감자한천배지에 아세톤에 용해시킨 약제를 첨가하여 약제평판배지(직경: 9 cm)를 만들었으며 약제배지의 최종농도는 2, 10, 50, 250 µg/ml로 하였다. 이때 아세トン은 1% 이내로 첨가하였다. 약제가 첨가된 배지 중앙에 감자한천배지에서 배양한 두 균의 균총선단부위에서 떼어낸 균총원판(직경: 9 mm)을 올려놓고, 25°C 항온기에서 영지 노랑병균과 영지를 각각 3일, 9일 동안 배양한 후에 균총의 직경을 조사하였다. 모든 실험은 3반복으로 실시하였고 약제에 의한 군사생장 억제율은 다음과 같이 계산하였다. IC₅₀은 살균제 농도를 자연

log로 환산하여 군사생장 억제율에 대한 회귀직선으로부터 구하였다.

$$\text{생장억제율}(\%) =$$

$$\frac{\text{무처리구의 균총직경(mm)} - \text{처리구의 균총직경(mm)}}{\text{무처리구의 균총직경(mm)}} \times 100$$

접종원의 준비. 참나무 텁밥, 잡목 텁밥, 미강 등을 부피비로 같은 양씩 넣고 습도가 약 65% 되도록 물을 넣고 잘 섞는다. 이것을 2L 삼각플라스크에 넣고 멸균하였으며 16시간 후에 다시 한번 멸균하였다. 이 텁밥배지에 감자한천배지에서 순수배양한 영지 노랑병균의 군사조각을 접종하고 25~27°C의 항온기에서 21일 동안 배양하여 군사가 충분히 생장하도록 하였으며, 이 군사체를 blender로 잘게 부수어 원목 풋트시험에 사용하였다.

영지원목 풋트실험. Vinclozolin(돌란, 50% WP, 한국삼공)을 500 µg/ml 용액으로 조제한 후, 영지군사를 활착시킨 참나무원목(직경 25~30 cm, 높이 20 cm)을 약제용액에 2시간 동안 침지한 후 꺼내어 약 2일간 풍건시켜 약제처리하였다. 접종원의 준비에서와 같이 준비한 접종원 50 ml씩을 약제처리한 영지원목풋트 위에 얇게 펴서 접종한 후, 비닐로 싸서 습도(상대습도 >95%)와 온도(25~28°C)를 유지하며 영지재배사에서 영지 노랑병을 발생시켰다. 약 10일 후에는 비닐을 제거하고 원목 풋트 위에 멸균시킨 모래를 약 1 cm 두께로 고르게 덮었다. 모래를 덮은 이후에는 영지재배법과 같은 방법으로 가습하면서 영지를 재배하였다(12). 약 2개월 후에 약제 처리구, 약제 무처리구 그리고 무접종구 각각의 영지원목 풋트로부터 영지가 형성된 원목풋트수를 조사하였다. 실험은 각 처리당 3반복, 각 반복당 10개씩의 관측으로 완전임의배치법으로 실시하였다.

결 과

군사생장 억제효과. 기존 살균제 37종은 영지와 영지 노랑병균에 대한 IC₅₀에 따라 크게 4 그룹으로 분류되었는데 영지와 병원균 모두에 억제효과가 낮은 살균제(그룹 I), 두 균 모두의 군사생장을 크게 억제하는 살균제(그룹 II), 영지 노랑병균보다 오히려 영지의 군사생육을 더 억제하는 살균제(그룹 III), 그리고 영지보다 영지 노랑병균에 대하여 억제효과가 높은 살균제(그룹 IV) 등이었다(Table 2). 영지와 영지 노랑병균 모두에 억제효과가 낮은 그룹 I 살균제는 fthalide, mepronil, diethofencarb, pencycuron, metalaxyl 등 5종이었으며, 그룹 II에 속하는 살균제는 nuarimol, captafol, mancozeb, fluazinam, triadimefon, triflumizole, dichlofluanid, prochloraz, propineb, dithianon, PCNB, chlorothalonil, iprodione, benomyl, flusilazole, trichlamide 그리고

Table 1. Various agrochemicals used in bioassay to select effective chemical compounds for the control of yellow disease of *Ganoderma lucidum* caused by *Xylogone sphaerospora*

Agrochemicals	Groups
Benomyl	Benzimidazole
Blasticidin-S	Antibiotics
Capttafol	N-Trihalomethylthio
Captan	N-Trihalomethylthio
Chlorothalonil	
Dichlofuanid	N-Trihalomethylthio
Diethofencarb	Phenyl carbamate
Dimethomorph	
Dithianon	
Ferimzone	
Fluazinam	2,6-Dinitroaniline
Flusilazole	Azole
Flutolanil	Carboximide
Folpet	N-Trihalomethylthio
Fosetyl-Al	
Fthalide	
IBP (Iprobenfos)	Organophosphate ester
Imazalil	Azole
Iprodione	Dicarboximide
Isoprothiolane	
Mancozeb	Dithiocarbamate
Mepronil	Carboxamide
Metalaxyl	Phenylamide
Nuarimol	Pyrimidinyl carbinol
PCNB (Quintozen)	Aromatic hydrocarbon derivative
Pencycuron	
Polyoxin B	Antibiotics
Prochloraz	Azole
Procymidone	Dicarboximide
Propineb	Alkylenebis (dithiocarbamate)
Thiophanate-methyl	Benzimidazole
Triadimefon	Azole
Trichlamide	
Triflumizole	Azole
Triforine	Azole
Validamycin	Antibiotics
Vinclozolin	Dicarboximide

thiophanate-methyl 등 17종으로 전체 실험한 살균제 중 약 45%가 이 그룹에 포함되었다. 그리고 영지 노랑병균 보다 오히려 영지의 생장을 더 크게 저해하여 영지 노랑병 방제를 위해서는 사용될 수 없는 살균제인 그룹 III에는 polyoxin B, isoprothiolane, validamycin, folpet, blasticidin-S, captan, dimethomorph, IBP, ferimzone, flutolanil, fosetyl-Al 등 11종이 포함되었다. 그리고 그룹 IV에 속하는 vinclozolin, triforine, procymidone, imazalil 등은 영지보다 병원균에 대해 더욱 높은 억제효과를 나타내었다.

영지원목 풋트실험. 영지를 활착시킨 참나무 원목에 vinclozolin을 처리한 후 영지가 발이된 원목 풋트수를 조

Table 2. The 50% inhibitory concentration of various agrochemicals in the mycelial growth of *Ganoderma lucidum* and *Xylogone sphaerospora*, a fungal pathogen of cultivated mushroom, *G. lucidum*

Agrochemicals	IC ₅₀ (μg/ml)	
	<i>X. sphaerospora</i>	<i>G. lucidum</i>
Fthalide	>250	>250
Mepronil	154.2	31.5
Diethofencarb	>250	43.7
Pencycuron	>250	>250
Metalaxyl	>250	29.6
Nuarimol	1.0	2.6
Capttafol	2.2	2.0
Mancozeb	14.8	13.6
Fluazinam	1.7	<2
Triadimefon	1.5	2.9
Triflumizole	7.9	1.3
Dichlofuanid	7.9	1.4
Prochloraz	<2	1.4
Propineb	10.3	9.3
Dithianon	17.8	9.5
PCNB	1.7	1.4
Chlorothalonil	3.0	15.6
Iprodione	1.1	9.1
Benomyl	<2	4.6
Flusilazole	<2	<2
Trichlamide	5.2	1.3
Thiophanate-methyl	2.9	3.6
Polyoxin B	>250	7.8
Isoprothiolane	51.5	23.5
Validamycin	>250	24.7
Folpet	17.6	2.2
Blasticidin-S	26.5	1.4
Captan	20.3	1.6
Dimethomorph	106.4	1.6
IBP	34.4	15.7
Ferimzone	58.7	3.5
Flutolanil	13.2	1.5
Fosetyl-Al	62.8	12.5
Vinclozolin	1.3	>250
Triforine	26.1	>250
Procymidone	2.1	>250
Imazalil	1.2	20.9

사한 결과, 약제 침지처리구에서는 원목풋트 중 57%에서 영지 자실체가 형성되었다(Fig. 1). 그러나 약제 무처리구에서는 노랑병이 발생하여 영지 자실체가 전혀 형성되지 않았다. 약제 무처리구에서는 재배 초기에 버섯대가 발이되기 시작하여도 점차 영지 노랑병균의 무성세대인 살색의 포자가 덮이며 영지 노랑병의 전형적인 특징인 연녹색을 나타내면서 생장이 중지되고 점차 원목풋트 전체가 썩어 들어갔다. 또한 약제를 침지처리하고 병원균을 접종하지 않은 처리구에서는 90% 이상 영지 자실체

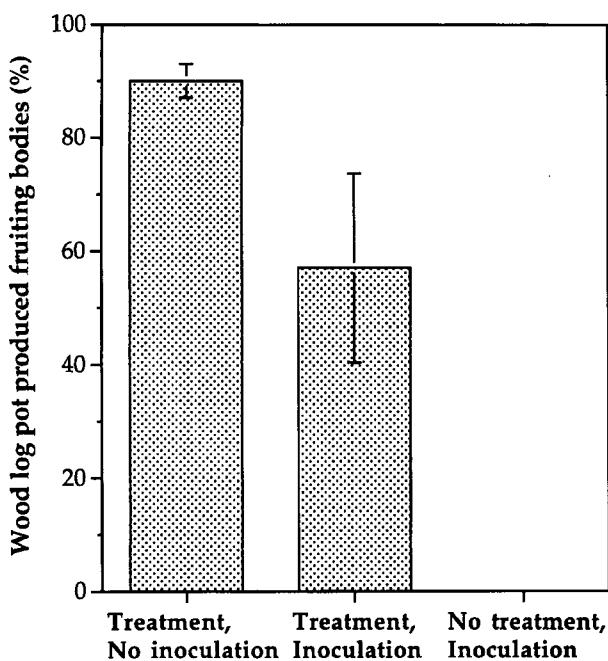


Fig. 1. Comparision of fruiting bodies production of Reishi mushroom on wood log pot 2 months after cultivation in the mushroom cultivation house. The bars are standard errors of the means.

가 형성되었다.

고 찰

영지 노랑병에 효과적인 방제약제의 선발기준은 영지와 영지 노랑병균이 모두 진균에 속하므로 자낭균류에 속하는 영지 노랑병균의 균사생장은 강하게 억제하지만 담자균류에 속하는 영지의 균사생장에는 영향을 거의 미치지 않는 선택적 살균활성을 나타내는 약제여야 한다. 기존 살균제 37종 중 그룹 IV에 속하는 vinclozolin, procymidone, triforine, imazalil는 영지 노랑병균의 균사생장을 선택적으로 억제하였으므로 영지 노랑병 방제약제로 사용이 가능하리라 생각된다(Table 1). 이들 중에 특히 vinclozolin은 250 µg/ml 농도에서도 영지의 균사생장은 거의 억제하지 않았으며 2~10 µg/ml 처리구에서는 오히려 균사생장이 다소 증가하는 경향을 보였다. 그러나, 실험한 살균제 중 약 30%를 차지하는 그룹 III에 속하는 polyoxin B, validamycin, blasticidin-S와 같은 살균제는 영지 노랑병균보다 오히려 영지의 생장을 더욱 효과적으로 억제하였으므로 만일 이들 약제를 영지 노랑병 방제를 위해 사용한다면 영지재배에 치명적인 피해를 입히리라 생각된다.

Vinclozolin은 1975년 독일 BASF사에서 개발한 살균제로 여러 그룹의 진균에 대하여 항균활성을 보이나 특히 잿빛곰팡이병균(gray mold fungi)에 대하여 우수한

방제효과를 나타낸다(7, 10, 11). Vinclozolin은 균사를 부풀리거나 파괴하여 죽이며, 포자발아보다는 균사생장을 더 효과적으로 억제한다고 알려져 있다(4, 8, 9). 그러나 vinclozolin이 영지 노랑병균인 *X. sphaerospora*에 대하여 억제효과를 나타내는지에 대한 연구결과는 보고된 바 없다. Vinclozolin의 영지 노랑병에 대한 간이포장실험 결과, 약제 무처리구에서는 영지가 전혀 형성되지 않았으나 약제 침지처리시에는 영지재배 원목중 약 60%에서 영지버섯이 형성되었으므로 500 µg/ml vinclozolin의 침지처리에 의한 영지 노랑병의 방제효과는 인정되었다.

진균에 대한 살균제의 작용메카니즘은 다양하므로(5) 균사생장 억제효과 실험에서 vinclozolin이 영지의 균사생육은 억제하지 않았을 지라도 자실체 형성을 억제할 가능성은 충분히 있다. 따라서 영지 노랑병을 방제하기 위하여 사용되는 약제가 영지의 균사생장은 억제하지 않는다 할지라도 버섯의 형성을 억제한다면 사용되어 질 수 없다. 그러나, 원목포트 실험결과 병원균을 접종하지 않은 vinclozolin 처리구의 약 90% 이상의 원목에서 약제 무처리구처럼 영지가 형성되었다. 그러므로 vinclozolin은 영지 노랑병균의 균사생육 뿐만 아니라 자실체의 형성에 대해서도 억제효과가 없는 것으로 생각되었고 원목포트실험에서 우수한 방제효과를 나타내므로 포장에서 영지 노랑병 방제를 위하여 사용될 수 있으리라 생각된다. 또한 이 약제를 처리하는 방법, 즉 침지, 살포 등과 처리시간 등에 대한 세부적인 연구가 진행된다면 억제효과를 더욱 높일 수 있으리라 생각된다.

그러나 영지 재배시에 문제가 되는 병원진균을 화학적으로 방제할 때에는 병원균의 약제 저항성 발현, 버섯내 약제의 잔류 등 여러 문제점이 발생할 수 있으므로 환경 조절에 의한 경증적 방제를 바탕으로 하여 화학적 방제를 적시적소에 적용하는 종합적 방제방법이 필요하다고 생각되며 앞으로 이 병원균의 생리 및 생태 등에 대한 연구가 더 수행되어야 할 것이다(13).

요 약

영지 노랑병은 영지버섯 재배시에 전국적으로 발생하여 큰 피해를 주고 있다. 이 영지 노랑병을 방제하기 위한 약제를 선발하기 위하여 균사생장 억제실험을 수행한 결과, 기존 살균제 37종 중에 21종의 살균제가 약제배지에서 영지노랑병균(*Xylogone sphaerospora*)의 균사생육을 크게 억제하였다. 이들 중 imazalil, procymidone, triforine, vinclozolin은 영지의 생장에도 영향이 적었으나 나머지 17종은 영지의 생장 또한 크게 억제하였다. 특히 vinclozolin은 50 µg/ml에서도 영지의 생장에는 거의 영향이 없으면서도 영지 노랑병균에 대하여는 IC_{50} 이 1.3 µg/ml로 높은 균사생장 억제효과를 보였다. 약제첨가배

지 실험에서 억제효과가 가장 우수한 vinclozolin을 선발하여 약제를 침지처리하고 병원균을 접종하여 발병시킨 후 버섯의 빌이율을 조사하였는데, 약제무처리구에서는 버섯이 전혀 빌이되지 않았으나 약제처리구에서는 57%의 원목포트에서 버섯이 빌이되었다. 그러므로 vinclozolin은 원목포트실험에서도 우수한 방제효과를 나타냄을 알 수 있었다.

참고문헌

- Buchanan, P. K., Shieu, R. and Moncalvo, J. M. 1994. *Ganoderma*; Systematics, Phytopathology and Pharmacology. 5th International mycological congress.
- 차동열, 유창현, 김광포. 1989. 최신 버섯 재배기술 450pp. 사단법인 농진회.
- 조광연, 이종규, 김병섭, 최경자. 1995. 영지버섯 노랑병(가칭) 방제에 관한 연구(I). 79pp. 과학기술처.
- Hisada, Y. and Kawase, Y. 1977. Morphological studies on antifungal action of N-(3', 5'-dichlorophenyl)-1, 2-dimethylcyclopropane-1, 2-dicarboximide on *Botrytis cinerea*. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan.* 43 : 151-158.
- Koller, W. 1992. Target Sites of Fungicide Action. 328pp. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Lee, J. K., Choi, G. J., Cho, K. Y., Oh, S. J. and Park, J. S. 1996. *Xylogone sphaerospora*, a new fungal pathogen of cultivated *Ganoderma lucidum*. *Kor. J. Mycol.* 24 : 246-254.
- Leroux, P. and Fritz, R. 1984. Antifungal activity of dicarboximides and aromatic hydrocarbons and resistance to these fungicides. In: *Mode of Action of Antifungal Agents*, ed. by A. P. J. Trinci and J. F. Ryley, pp. 207-237, Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Lorenz, G. 1988. Dicarboximide fungicides: History of resistance development and monitoring methods. In: *Fungicide Resistance in North America*, ed. by C. J. Delp, pp. 45-51, APS Press, St. Paul, Minnesota.
- Pappas, A. C. and Fisher, D. J. 1979. A comparison of the mechanisms of action of vinclozolin, procymidone, iprodione, and prochloraz against *Botrytis cinerea*. *Pestic. Sci.* 10 : 239-246.
- Pommer, E.-H. and Lorenz, G. 1995. Dicarboximide fungicides. In: *Modern Selective Fungicides: Properties, Applications, and Mechanisms of Action*, pp. 99-118, Gustav Fisher Verlag, Jena.
- Pommer, E.-H. and Mangold, E. 1975. Vinclozolin (BAS 352F), ein neuwirkstoff zur bekämpfung von *Botrytis cinerea*. *Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent* 40 : 713-722.
- 신범수. 1985. 최신 버섯 재배기술과 경영-영지, 느타리, 펭이, 만가다, 표고, 목이, 양송이]. pp. 41-109. 오성출판사.
- Sinden, J. W. 1971. Ecological control of pathogens and weed-molds in mushroom culture. *Annu. Rev. Phytopathol.* 9 : 411-432.
- Von Arx, J. A. and Nilsson, T. 1969. *Xylogone sphaerospora*, a new ascomycetes from stored pulp and chips. *Svensk Botanisk Tidskrift* 63(3) : 345-348.

(Received September 9, 1998)