

우리 나라 골프장 잔디에서 분리한 Metalaxyl 저항성 *Pythium* spp.의 발생

김진원* · 박은우¹

서울시립대학교 환경원예학과, ¹서울대학교 농업생명과학대학 응용생물화학부

Occurrence of Metalaxyl-Resistant Isolates of *Pythium* spp. Isolated from Turfgrasses of Golf Courses in Korea

Jin-Won Kim* and Eun Woo Park¹

Department of Environmental Horticulture, The University of Seoul, Seoul 130-743, Korea
Division of Applied Biology and Chemistry, College of Agriculture and Life Sciences,
Seoul National University, Suwon 441-744, Korea
(Received August 5, 2002)

ABSTRACT: Of 125 isolates collected from 35 golf courses, sensitivity of 44 isolates of *Pythium* species to metalaxyl was determined on corn meal agar with various concentrations of metalaxyl (0.1, 1.0, 10.0, 50.0, 100.0, and 250.0 $\mu\text{g a. i./ml}$). The isolates were able to be categorized into the sensitive and resistant groups based on hyphal growth measured in terms of colony diameters on the medium with 1.0 and 10.0 $\mu\text{g a. i./ml}$. When compared with hyphal growth on the medium without metalaxyl, hyphal growth of the sensitive group which included 31 isolates was inhibited by 66-98% on the medium with 1.0 $\mu\text{g a. i./ml}$, whereas that of the resistant group which included 13 isolates grew well and the hyphal growth was inhibited only by 6-26%. When 10.0 $\mu\text{g a. i./ml}$ of metalaxyl was included in the medium, hyphal growth of the sensitive and resistant groups was inhibited by 82-99% and 27-47%, respectively. Occurrence of metalaxyl-resistant isolates of *Pythium* spp. not only from turfgrasses on golf courses but also from other crops was observed for the first time in Korea. Metalaxyl-resistant isolates occurred most frequently in *P. graminicola*. Control effects of metalaxyl were determined by applying metalaxyl after and before inoculation of 4 and 3 isolates of sensitive and resistant isolates of *P. graminicola*, respectively, to creeping bentgrass in pots. The minimum concentration of metalaxyl to control metalaxyl-sensitive isolates was 6.25 $\mu\text{g a. i./ml}$, whereas the disease caused by the metalaxyl-resistant isolates could not be controlled with 12.50 $\mu\text{g a. i./ml}$ of metalaxyl. The disease was controlled more effectively by an application of metalaxyl prior to inoculation than after occurrence of the disease.

KEYWORDS: Golf courses, Metalaxyl-resistant, *Pythium* spp., Turfgrasses

골프장에서 잔디류에 발생하는 *Pythium* 병의 방제는 주로 살균제를 이용하여 왔는데 초기에는 inorganic mercury가 사용되었으며(Monteith and Gahl, 1932), 1950년대에는 organic mercury, organic cadmium, captan, dichlone, cycloheximide 등이 사용되었고(Smith *et al.*, 1989), 1960년대에는 chloroneb(Littrell *et al.*, 1969; Wells, 1969)와 benzimidazol계 농약인 benomyl, thiophanate-methyl 그리고 thiophanate-ethyl(Joyner and Couch, 1976)이 사용되었다. 그러나 무기 또는 유기수은계통의 농약들은 인체 유해성으로 사용이 급격히 감소되었고, benomyl과 같은 benzimidazol계 농약의 사용은 *Pythium* spp.에 길항력을 나타내는 토양미생물에 영향을 주어 오히려 *Pythium* blight병의 증가현상을 유발한다는 보고도 있어(Warren *et al.*, 1976) 사용상에 문제가 있었다. 1970년대 이후 난균류에 선택적인 효과를 나타내는 metalaxyl, etridiazol,

fosetyl-Al, propamocarb 그리고 pyroxychlor와 같은 약제의 개발로 현재에는 이들 약제가 전세계 골프장에서 *Pythium* 성 병 방제를 위해 널리 사용되고 있다(Ashbaugh and Larsen, 1984; Lucas, 1983; Sanders *et al.*, 1978; 反保 등, 1987; Windham and Spencer, 1981). 이 중에서도 가장 많이 사용되고 있는 약제가 metalaxyl제이다.

Metalaxyl[Ridomil; [Methyl-N(2-methoxyacetyl)-N-(2,6-xylyl)-D, L]]은 1977년 Ciba Geigy에 의해 개발된 acyl-alanine계 침투이행성 살균제로 난균류 특히, 노균병목 병원균에 선택적이고 효과적인 살균력을 나타낸다(Cohen and Coffey, 1986). 우리 나라에서도 경엽살포, 종자도포 그리고 토양관주 처리용으로 단제 및 혼합제가 노균병, 역병 및 질록병약으로 등록되어 있다(농약공업협회, 1997).

Metalaxyl제는 연용으로 인한 내성균의 유발이 빠르게 나타나 1981년에 이스라엘의 시설재배 내 오이에 발생한 노균병균(*Pseudoperonospora cubensis*)에서 처음으로 저항성 균이 보고(Katan and Bashi, 1981)된 이후 세계 여

*Corresponding author <E-mail: jwkim@uoscc.uos.ac.kr>

러 나라에서 난균류에 대해 저항성 균의 출현이 보고되어 있다(Georgopoulos and Grigoriu, 1981; Ham *et al.*, 1991; Sanders, 1984). 우리 나라에서도 고추와 감자에서 분리한 *Phytophthora* spp.가 metalaxyl 저항성을 나타냈다는 연구결과가 보고된 바 있다(최 등, 1992; 오·김, 1992).

외국의 경우 골프장의 잔디에 발생한 *Pythium*성 병반에서 분리한 *Pythium* sp.가 이미 metalaxyl에 저항성을 나타낸다는 보고가 있다(—谷 등, 1991; Sanders, 1984). 그러나 국내에서는 잔디뿐만 아니라 타 작물에서도 metalaxyl

에 저항성을 나타내는 *Pythium* spp.에 관한 보고는 아직 없다.

우리 나라 골프장에서의 metalaxyl 및 그 혼합제의 사용은 1990년 이후부터 골프장의 농약사용상의 규제에 의하여 사용량이 줄어들다가 1995년도 잔디용으로 고시가 되면서 그 사용량이 다시 증가하고 있다(양, 1997). 이처럼 metalaxyl의 사용량과 사용골프장의 수가 앞으로도 증가한다고 볼 때 metalaxyl의 연용으로 인한 metalaxyl 저항성 *Pythium* spp.의 출현이 우려된다.

Table 1. Forty-four isolates of *Pythium* spp. used to determine sensitivity to metalaxyl

Isolate No.	<i>Pythium</i> species	Host	Golf course (C. C.)	Collection date
P1	<i>P. vanterpoolii</i>	<i>Agrotis palustris</i>	88	March 1990
P2	<i>P. graminicola</i>	<i>A. palustris</i>	Anyang	June 1991
P3	Ht-F ^z	<i>A. palustris</i>	Nambu	May 1992
P4	<i>P. catenulatum</i>	<i>Zoysia japonica</i>	Ulsan	May 1992
P6	<i>P. catenulatum</i>	<i>A. palustris</i>	Anyang	September 1992
P8-3	<i>P. catenulatum</i>	<i>A. palustris</i>	Keyoungde	June 1993
P9-3	<i>P. torulosum</i>	<i>A. palustris</i>	Taegu	June 1993
P12-4	<i>P. catenulatum</i>	<i>A. palustris</i>	Tekwang	July 1993
P14-1	<i>P. graminicola</i>	<i>A. palustris</i>	Hanyang	July 1993
P15-1	<i>P. catenulatum</i>	<i>A. palustris</i>	Newkorea	July 1993
P16-1	<i>P. graminicola</i>	<i>A. palustris</i>	Kihung	July 1993
P18-1	<i>P. catenulatum</i>	<i>A. palustris</i>	Dogo	July 1993
P19-2	<i>P. graminicola</i>	<i>A. palustris</i>	Changwon	July 1993
P20-1	<i>P. catenulatum</i>	<i>A. palustris</i>	Yangju	July 1993
P21-2	<i>P. graminicola</i>	<i>A. palustris</i>	Royal	July 1993
P22-1	<i>P. catenulatum</i>	<i>A. palustris</i>	Plaza	August 1993
P23-1	<i>P. graminicola</i>	<i>A. palustris</i>	Woojeinghills	August 1993
P24-1	<i>P. rostratum</i>	<i>A. palustris</i>	Taegu	August 1993
P24-3	<i>P. periplocum</i>	<i>A. palustris</i>	Taegu	August 1993
P25	Ht-F ^z	<i>Z. matrella</i>	Taegu	September 1993
P26-2	<i>P. graminicola</i>	<i>A. palustris</i>	Hansung	July 1994
P27-2	<i>P. graminicola</i>	<i>A. palustris</i>	Plaza	July 1994
P28-1	<i>P. myriotylum</i>	<i>A. palustris</i>	Sorakplaza	July 1994
P30-1	<i>P. graminicola</i>	<i>A. palustris</i>	Royal	July 1994
P31-1	<i>P. torulosum</i>	<i>A. palustris</i>	Kwanak	July 1994
P33-3	<i>P. aphanidermatum</i>	<i>A. palustris</i>	Dogo	July 1994
P35-1	<i>P. oligandrum</i>	<i>A. palustris</i>	Dongjin	July 1994
P36-3	<i>P. aphanidermatum</i>	<i>A. palustris</i>	Namsuwon	July 1994
P37-1	<i>P. vanterpoolii</i>	<i>A. palustris</i>	Shinra	April 1995
P38-1	<i>P. arrhenomanes</i>	<i>A. palustris</i>	Hansung	April 1995
P38-2	<i>P. vanterpoolii</i>	<i>A. palustris</i>	Hansung	April 1995
P39-1	<i>P. vanterpoolii</i>	<i>A. palustris</i>	Nasan	May 1995
P40-1	<i>P. vanterpoolii</i>	<i>A. palustris</i>	Ipo	May 1995
P41-2	<i>P. catenulatum</i>	<i>A. palustris</i>	Ildonglake	July 1995
P42-2	<i>P. catenulatum</i>	<i>A. palustris</i>	Iri	July 1995
P43-2	<i>P. arrhenomanes</i>	<i>A. palustris</i>	Namsungde	July 1995
P44-1	<i>P. aphanidermatum</i>	<i>Poa pratensis</i>	Sunsan	July 1995
P45	<i>P. graminicola</i>	<i>A. palustris</i>	Yeoju	July 1995
P46-1	<i>P. aphanidermatum</i>	<i>P. pratensis</i>	Jungmun	July 1995
P47	<i>P. graminicola</i>	<i>A. palustris</i>	Plaza	August 1995
P48-3	<i>P. vanterpoolii</i>	<i>A. palustris</i>	Ildonglake	April 1996
P49-1	<i>P. torulosum</i>	<i>A. palustris</i>	Seungju	May 1996
P50-1	<i>P. catenulatum</i>	<i>A. palustris</i>	Namseoul	July 1996
P51-1	<i>P. aphanidermatum</i>	<i>P. pratensis</i>	Ora	August 1996

^zHt-F = Heterothallic *Pythium* sp. or unidentified *Pythium* sp. with filamentous sporangia.

특히, 1992년의 예비 실험결과 metalaxyl에 대해 내성을 나타내는 *Pythium* sp.가 분리되었으며(김, 1992), 이미 여러 골프장에서 metalaxyl을 이용한 *Pythium*성 병 방제의 실패사례가 관리자 사이에 거론되고 있는 실정이다.

따라서 골프장에서 *Pythium*성 잎마름증상으로부터 분리한 *Pythium* 균주로부터 metalaxyl 저항성 *Pythium* spp.의 생성 유무를 보다 면밀히 조사하여 그 실태를 밝히고자 본 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

Metalaxyl 저항성 *Pythium* spp.의 분리

Metalaxyl 저항성 *Pythium* spp.의 분리를 위하여 35개 골프장에서 분리한 *Pythium* spp. 125개 균주 중에서 분리 시기별, 골프장별 그리고 동정된 종별로 선발한 44개 균주(Table 1)를 공시균주로 사용하였다. Metalaxyl에 대한 저항성 여부를 알기 위하여 Vaartaja(1990)의 방법을 이용하여 국내에서 시판중인 메타실수화제(metalaxyl, a. i. 25% WP)를 여러 농도(0.1, 1.0, 10.0, 25.0, 50.0, 100.0 및 250.0 $\mu\text{g a. i./ml}$)로 넣어 제조한 약제배지를 사용하였다. 약제배지의 제조는 약제를 각각의 농도별로 약 50°C로 식힌 살균증류수에 넣고, 고운고압살균시킨 corn meal agar (CMA) 배지를 50°C-60°C까지 식힌 것에 부어 잘 혼합시킨 후 직경 9 cm, 1회용 petri dish에 20 ml씩 분주하여 평판배지를 만들었다. Potato carrot agar(PCA) 배지, 25°C에서 3일간 배양시킨 공시균주의 균총 가장자리로부터 직경 10 mm cork borer로 균총 원판을 떼어 준비된 여러 농도의 약제배지 중앙에 치상한 후 25°C 암조건에서 4일간 배양시키면서 균총의 직경을 조사하고, 무처리의 균사생장속도와 비교하여 균사생장의 억제 정도를 조사하여 저항성 균주를 분리하였다. 이 모든 실험은 3반복으로 실험하였고, 약제에 대한 균사생장억제율은 다음과 같이 계산하였다.

균사생장억제율(%)

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

50%의 균사생장억제율을 나타내는 metalaxyl의 농도(EC_{50})는 log로 환산하여 균사생장억제율에 대한 회귀직선으로부터 구하였다.

Metalaxyl 저항성 *Pythium* spp.의 pot내 농약 스크리닝시험

실내에서의 농약스크린 결과 *Pythium graminicola* 중 metalaxyl에 대하여 감수성을 나타내는 P16-1(MS3), P23-1(MS2), P26-2(MS1) 그리고 P30-1(MS4) 4개 균주와 저항성을 나타내는 P2(MR1), P19-2(MR2) 그리고 P27-2(MR3) 3개 균주를 선발하여 사용하였다. 공시잔디로 creeping bentgrass 품종 'penncross'를 peat moss, 모래

그리고 vermiculite를 1:2:2의 용적비율로 혼합한 8×16 cm의 사각 pot에 파종하여 25°C에서 발아시킨 다음 4주간 생육시킨 것을 이용하였다. 접종원은 2.3의 방법으로 조제하였다. 접종방법으로는 공시잔디가 식재된 pot에 직경 13 mm, 깊이 30 mm인 구멍을 3개 뚫고 준비된 접종원을 넣어 25°C, 광조건하에서 12시간 그리고 20°C, 암조건하에서 12시간 그리고 RH 90%로 조절된 인공배양기내에서 생육시켰다. 공시균주 당 3반복 실험을 하였으며, 병 발생 정도는 0-5까지 6단계로 나누어 달관조사하였고, 병원성을 나타내는 피해 잔디의 경우는 경엽과 뿌리를 광학현미경으로 관찰하여 *Pythium* spp.의 유무를 확인하였다. 약제 처리는 메타실수화제(metalaxyl, a. i. 25%)를 여러 농도(a. i. conc.; 3.12, 6.25, 12.50, 25.00, 50.00 및 100.00 $\mu\text{g/ml}$)로 조제한 후 약액이 충분히 스며들도록 토양관주형으로 처리하였다. 처리방법으로는 접종 1일 전에 처리한 경우 그리고 접종 5일 후 발병초기에 처리한 경우를 무처리와 비교하여 방제가를 조사하였다.

결과

Metalaxyl 저항성 *Pythium* spp.의 분리

125개 *Pythium* spp. 균주 중에서 분리시기별, 골프장별 그리고 동정된 종별로 선발한 44개 균주(Table 1)에 대해 여러 농도의 metalaxyl을 함유한 약제배지에서 균사생장의 억제 정도를 조사한 결과, 10.0 $\mu\text{g a. i./ml}$ 처리구에서

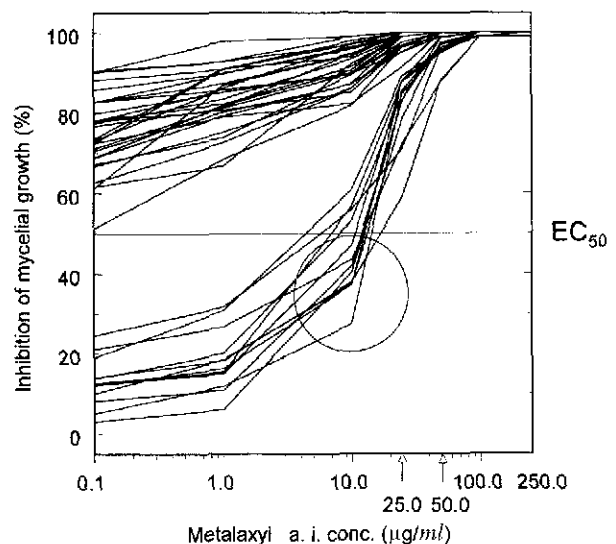


Fig. 1. Differential responses of 44 isolates of *Pythium* spp. to metalaxyl. The isolates were grown on corn meal agar with various concentrations of metalaxyl for 4 days at 25°C under dark condition. EC_{50} is the dosage of metalaxyl (a. i. conc.) which inhibits 50% of linear mycelial growth compared to the corresponding control. The circle indicate that *Pythium* isolates are metalaxyl-resistant group at 10.0 $\mu\text{g a. i. conc./ml}$ metalaxyl.

특징적으로 약 50% 내외의 낮은 균사생장억제율을 나타내는 group의 균주를 얻을 수 있었다(Fig. 1). 이들 균주는 P2(*P. graminicola*, 안양골프장), P12-4(*P. graminicola*, 태광골프장), P14-1(*P. graminicola*, 한양골프장), P15-1(*P. catenulatum*, 뉴코리아골프장), P18-1(*P. catenulatum*, 도고골프장), P19-2(*P. graminicola*, 창원골프장), P22-

1(*P. catenulatum*, 프라자골프장), P27-2(*P. graminicola*, 프라자골프장), P28-1(*P. myriotylum*, 설악프라자골프장), P31-1(*P. torulosum*, 관악골프장), P42-2(*P. catenulatum*, 이리골프장), P43-2(*P. arrhenomanes*, 남성대골프장) 그리고 P49-1(*P. torulosum*, 승주골프장)로 13개 균주였다. 특히 *P. graminicola*(P12-4, P19-2, P27-2), *P. myriotylum*

Table 2. Percent inhibition of mycelial growth of *Pythium* spp. measured in Difco corn meal agar with various concentrations of metalaxyl after 4 days of incubation at 25°C under dark conditions

Isolate No.	<i>Pythium</i> species	Metalaxyl concentration ($\mu\text{g/ml}$)					
		0.1	1.0	10.0	25.0	50.0	100.0
P12-4	<i>P. catenulatum</i>	5.0	11.8	27.4	85.2	98.8	100.0
P19-2	<i>P. graminicola</i>	12.0	16.3	37.3	87.5	96.2	100.0
P42-2	<i>P. catenulatum</i>	10.0	18.5	37.5	78.6	97.5	100.0
P31-1	<i>P. torulosum</i>	14.1	18.2	37.9	59.0	87.9	t
P15-1	<i>P. catenulatum</i>	3.0	6.1	40.3	83.0	98.7	100.0
P27-2	<i>P. graminicola</i>	8.2	10.8	41.9	83.0	97.2	t
P28-1	<i>P. myriotylum</i>	21.0	26.7	43.4	72.2	87.6	t
P43-2	<i>P. arrhenomanes</i>	12.1	15.0	47.1	87.5	98.8	100.0
P22-1	<i>P. catenulatum</i>	13.7	20.0	53.0	84.5	95.6	100.0
P49-1	<i>P. torulosum</i>	24.5	31.7	55.8	71.0	95.7	t
P18-1	<i>P. catenulatum</i>	12.5	15.4	56.0	87.5	94.9	100.0
P2	<i>P. graminicola</i>	18.9	30.8	60.7	88.9	95.4	100.0
P14-1	<i>P. graminicola</i>	25.0	41.5	60.7	87.9	98.8	100.0
P26-2	<i>P. graminicola</i>	51.1	68.4	81.7	96.3	t	100.0
P9-3	<i>P. torulosum</i>	56.4	66.5	81.9	97.9	100.0	100.0
P50-1	<i>P. catenulatum</i>	72.3	78.8	82.1	91.2	100.0	100.0
P45	<i>P. graminicola</i>	77.8	80.5	84.9	96.3	t	100.0
P23-1	<i>P. graminicola</i>	62.5	72.5	85.8	97.5	100.0	100.0
P48-3	<i>P. vanterpoolii</i>	66.6	75.0	85.9	95.0	t	100.0
P47	<i>P. graminicola</i>	70.4	80.0	86.9	95.0	t	100.0
P6	<i>P. catenulatum</i>	68.6	79.1	87.0	t	100.0	100.0
P21-2	<i>P. graminicola</i>	77.5	82.2	88.9	97.5	100.0	100.0
P40-1	<i>P. vanterpoolii</i>	82.6	85.6	89.3	t	100.0	100.0
P16-1	<i>P. graminicola</i>	67.1	73.7	89.4	97.5	100.0	100.0
P41-2	<i>P. catenulatum</i>	77.8	85.6	89.5	95.0	100.0	100.0
P8-3	<i>P. catenulatum</i>	76.6	81.0	89.7	96.7	t	100.0
P20-1	<i>P. graminicola</i>	72.2	85.0	89.7	t	100.0	100.0
P33-3	<i>P. aphanidermatum</i>	68.7	81.7	90.4	100.0	100.0	100.0
P4	<i>P. catenulatum</i>	78.0	82.0	91.3	t	100.0	100.0
P39-1	<i>P. vanterpoolii</i>	61.5	66.7	92.0	t	100.0	100.0
P44-1	<i>P. aphanidermatum</i>	77.2	83.3	93.3	t	100.0	100.0
P37-1	<i>P. vanterpoolii</i>	73.4	81.7	93.4	t	100.0	100.0
P38-1	<i>P. arrhenomanes</i>	73.3	90.9	93.8	100.0	100.0	100.0
P46-1	<i>P. aphanidermatum</i>	61.1	86.7	94.4	100.0	100.0	100.0
P3	Ht-F ²	82.6	87.1	94.5	100.0	100.0	100.0
P1	<i>P. vanterpoolii</i>	70.9	81.2	94.7	t	100.0	100.0
P24-1	<i>P. rostratum</i>	85.6	89.8	95.8	t	100.0	100.0
P38-2	<i>P. vanterpoolii</i>	82.5	89.6	96.3	t	100.0	100.0
P51-1	<i>P. aphanidermatum</i>	72.9	86.0	97.0	100.0	100.0	100.0
P30-1	<i>P. graminicola</i>	90.0	92.7	97.0	t	100.0	100.0
P36-3	<i>P. aphanidermatum</i>	72.2	90.7	97.2	100.0	100.0	100.0
P24-3	<i>P. periplocum</i>	88.0	90.8	97.9	t	100.0	100.0
P25	Ht-F ²	90.3	92.8	t	100.0	100.0	100.0
P35-1	<i>P. oligandrum</i>	90.0	97.9	t	100.0	100.0	100.0

²Ht-F = Heterothallic *Pythium* sp. or unidentified *Pythium* sp. with filamentous sporangia.

The data are averages of three replicates.

t = trace.

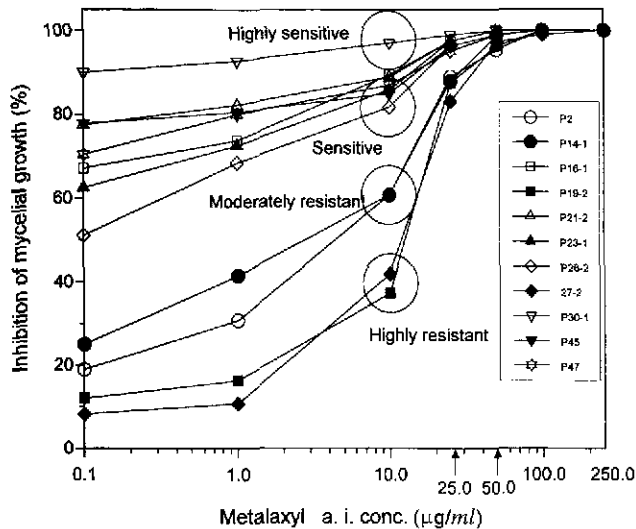


Fig. 2. Differential responses of 11 isolates of *Pythium graminicola* to metalaxyl. The isolates were grown on corn meal agar with various concentrations of metalaxyl for 4 days at 25°C under dark condition. The circles indicate that *P. graminicola* isolates are differentiated into 4 group with different levels of resistance to metalaxyl at 10.0 µg a. i. conc./ml metalaxyl.

(P28-1), *P. torulosum*(P31-1) 및 *P. catenulatum*(P42-2)가 보다 낮은 균사생장억제율을 나타냈으며, P28-1과 P31-1은 50.0 µg a. i./ml 처리구에서도 타 균주에 비해 낮은 균

사생장억제율을 나타냈다. 반면 Ht-F(P3), *P. rostratum* (P24-1), *P. periplocum*(P24-3), Ht-F(P25), *P. oligandrum* (P35-1), *P. arrhenomanes*(P38-1) 및 *P. vanterpoolii*(P40-1) 등은 0.1 µg a. i./ml 처리구에서 80% 이상의 균사생장억제율을 나타냈고, 이들 균주 모두는 25.0 µg a. i./ml 이상의 처리구에서 100%의 균사생장억제율을 나타냈다 (Table 2).

특히, 44개 공시균주 중 11개 *P. graminicola*는 metalaxyl에 대해 다양한 감수성을 나타냈으며 1.0 그리고 10.0 µg a. i./ml 처리구에서 높은 저항성(P27-2, P19-2), 저항성(P2, P14-1), 감수성(P26-2, P23-1, P16-1, P45, P47, P21-2) 그리고 높은 감수성(P30-1) 균으로 구분할 수 있었다(Fig. 2).

Metalaxyl 저항성 *Pythium* sp.의 pot 내 농약 스크리닝 시험

Creeping bentgrass 품종 'penncross' pot 내에서의 metalaxyl에 대한 방제여부를 실험한 결과 감수성균(MS 1~4)의 경우는 6.25 µg a. i./ml 이상의 처리구에서는 병 발생이 없었고, 저항성균(MR1~3)의 경우는 25.0 µg a. i./ml 와 그 이상의 처리구에서도 방제가 되지 않았다(Table 3).

또한, 병원균 접종 1일 전 처리구가 병 발생 후(접종 5 일 후) 처리한 것에 비해 다소 높은 방제가를 나타냈고, 두 처리 방법 모두에서 50.0 µg a. i./ml과 100.0 µg a. i./ml의 처리구에서는 염색이 황변하는 약해가 나타났다.

Table 3. Effects of pre- and post-applications of metalaxyl on leaf blight development on creeping bentgrass after inoculation with metalaxyl-sensitive (MS) and metalaxyl-resistant (MR) isolates of *Pythium graminicola*

Metalaxyl conc. (µg a. i./ml)	Disease severity ^y						
	MS1	MS2	MS3	MS4	MR1	MR2	MR3
1 day before inoculation							
0.00	5	5	5	5	5	5	5
3.12	1	1	0	0	5	5	5
6.25	0	0	0	0	4	5	5
12.50	0	0	0	0	4	4	4
25.00	0	0	0	0	3	4	4
50.00	0	0	0	0	2	3	3
100.00	0	0	0	0	1	2	2
5 days after inoculation							
0.00	5	5	5	5	5	5	5
3.12	2	1	0	0	5	5	5
6.25	0	0	0	0	5	5	5
12.50	0	0	0	0	5	5	5
25.00	0	0	0	0	4	4	4
50.00	0	0	0	0	3	4	4
100.00	0	0	0	0	2	3	3

The data are averages of three replicates.

^xPots were sprayed to run-off with metalaxyl (a. i. conc. 25% WP) suspension and fungicide treated about 1 day before and 5 days after inoculation with *Pythium graminicola*.

^yVisual rating scale of 0-5, where 0=no disease, 1=10~20%, 2=21~40% and 5=81~100% of foliage blighted.

^zPhytotoxicity was observed after application of 50.00 and 100.00 µg a. i./ml of metalaxyl.

Table 4. The amount of fungicide use to control *Pythium* diseases at golf courses in Korea from 1990 to 1996

Fungicides ^z	Amount of a. i. conc. (kg)						
	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996
Hy	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	87.33*
Hy + Me	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	174.52*
Me	353.72	265.00	282.02	102.60	19.83	461.36*	563.78
Me + Co	25.40	21.60	50.00	27.45	0.00	0.00	0.00
Me + Ma	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1,104.70*	2,465.64
Et	0.00	3.30	12.47	196.90*	583.83	515.75	626.68
Ox + Pr	0.00	0.00	0.00	2,147.58*	5,267.14	4,310.75	3,912.58
Ph	38.50	197.80	131.67	2,011.43*	3,552.30	3,316.61	2,064.56
Fa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1,186.08*	781.12
U/T ^y	448.40/ 26,222.00	491.00/ 29,916.90	516.16/ 59,389.42	4,485.96/ 49,157.91	9,423.10/ 58,852.99	10,895.25/ 55,996.40	10,676.21/ 48,888.46
U/T Rate (%)	1.71	1.64	0.87	9.13	16.01	19.46	21.84
UG/TG ^x	-/49	15/59	12/79	10/83	2/85	66/91	84/97

*Year of notification to turfgrass 'Pythium blight'.

^zAbbreviated as follows; Hy = hymexazole (30.0%) SL, Hy + Me = hymexazole (30.0%) + metalaxyl (4.0%) SL, Me = metalaxyl (25.0%) WP, Me + Co = metalaxyl (15.0%) + copper oxychloride (35.0%) WP, Me + Ma = metalaxyl (7.5%) + mancozeb (56.0%) WP, Et = etridiazole (25.0%) EC, Ox + Pr = oxadixyl (8.0%) + propineb (56%) WP, Ph = propamocarb hydrochloride (66.5%) SL, Fa = fosetyl-Al (80%) WP, Common name (a. i. conc. %) formulation type.

^yU/T = Amount of fungicide use to control *Pythium* diseases/Amount of total pesticide use to control disease of golf courses surveyed.

^xUG/TG = Number of golf courses using metalaxyl/Total number of golf courses surveyed.

고찰

1997년도 6월 현재 국내에서 잔디용으로 고시된 약제는 살균제가 41개, 살충제가 11개, 제초제가 17개 그리고 생장조정제가 1개로 모두 70개 품목이다. 이 중에서 잔디피 시움블라이트병 방제용 고시농약은 다찌가렌액제, 다찌밀액제, 메타실수화제, 메타실엠수화제, 에디졸유제 그리고 파모액제 등 6개 품목으로 잔디에 발생하는 *Pythium* 성병의 방제에 사용되는 농약의 사용량은 골프장 수의 증가와 병의 중요성에 의한 사용의 증가로 인해 매년 급증하는 추세에 있다(Table 4). 현재 옥사프로수화제나 포세칠알수화제는 각각 잔디탄저병약과 잔디브라운벚취병약으로 고시되어 있으나 이들 약제는 *Pythium* 성병의 방제에는 효과가 인정되는 약제들로 이들 약제가 *Pythium* 병에 이용된다고 고려할 경우 1996년 조사대상 84개 골프장의 농약 전체 사용량은 유효성분량기준으로 48,888.46 kg으로 이중 *Pythium* 성병의 방제에 사용되는 농약의 사용량은 10,676.21 kg으로 21.84%에 이르고 있고(Table 4) 이는 우리 나라 골프장에서 *Pythium* 병이 중요한 병해임을 간접적으로 알 수 있게 한다.

우리 나라 골프장의 경우 metalaxyl 및 그 혼합제는 이미 1990년대 이전부터 사용되어 왔으며, 골프장의 농약사용량이 공식적으로 조사되기 시작한 1990년 이후 metalaxyl을 사용하였던 골프장의 수는 1991년에는 15개, 1992년에는 12개, 1993년에는 10개, 1994년에는 2개 골프장이었으나 잔디용으로 고시된 1995년에는 급증하여 66개 골프장에서 사용하였고 1996년에는 84개 골프장에서 사용한 것으로 조사되었으며, 그 사용량도 1990년 이

후부터 골프장의 농약사용상의 규제에 의하여 사용량이 줄어들다가 1995년도 잔디용으로 고시가 되면서 그 사용량이 증가하고 있다(Table 4). 이처럼 metalaxyl의 사용량과 사용골프장의 수가 앞으로도 증가한다고 볼 때 metalaxyl의 연용으로 인한 metalaxyl 저항성 *Pythium* spp.의 출현은 계속되리라고 생각되고 이로 인한 우수한 약제의 단명이 우려된다.

내성균의 분리를 위한 실내에서의 agar test는 Sozzi 등(1997)이 보고한 바와 같이 특정 수준의 metalaxyl 함유배지에서의 균사생장억제의 차이로 저항성 균을 구분할 수 있다. 인위적으로 자외선 조사에 의해 저항성 균을 유기하여 농약에 대한 저항성 실험을 하기도 하지만(2, 9), 무엇보다도 특정 병원균의 방제를 위해 사용되는 특정 농약에 대한 저항성 균의 생성 여부는 포장에서 직접 분리한 균을 이용하는 것이 바람직하다.

실험 결과 metalaxyl 1.0 µg a. i./ml 처리구에서 50% 이상의 균사생장억제를 나타내는 균주를 감수성 균으로 분류하고, 10.0 µg a. i./ml 처리구에서 50% 이하의 균사생장억제를 나타내는 균주를 저항성 균으로 분류하였다. 25.0 µg a. i./ml 처리구에서의 균사생장억제는 감수성 균의 경우에는 95.0~100%로 거의 균사생장을 볼 수 없었으나, 저항성 균의 경우에는 59.0~88.9%로 뚜렷한 균사생장을 볼 수 있었다.

44개 조사대상 균주 중 metalaxyl에 저항성을 나타내는 균주는 13개로 29.6%를 차지하고, *Pythium* spp.별로는 *P. arrhenomanes* 1균주, *P. catenulatum* 4균주, *P. graminicola* 5균주, *P. myriotylum* 1균주 그리고 *P. torulosum* 2균주로 나타났고, 가장 높은 metalaxyl 저항성을 나타내는 *Pythium*

sp.는 *P. torulosum*(P31-1)으로 25.0 $\mu\text{g a. i./ml}$ 처리구에서 59%의 군사생장억제율을 나타내 타 균주에 비해 높은 저항성을 나타냈다. 특히 *P. graminicola*와 *P. catenulatum*은 전체 metalaxyl 저항성 균주 중 약 69%를 차지해 높은 분리빈도를 나타냈으며, 이들 2종은 전체 125개 분리 균 중 44%를 차지하고, 병원성도 높은 *Pythium* spp.이다. *Pythium* spp.가 분리된 전체 35개 골프장 중 34.9%를 차지하는 12개 골프장(관악골프장, 남성대골프장, 뉴코리아골프장, 도고골프장, 설악프라자골프장, 송주골프장, 안양골프장, 이리골프장, 창원골프장, 태광골프장, 프라자골프장, 한양골프장)에서 metalaxyl에 저항성을 나타내는 *Pythium* spp.가 분리되었고(Table 1과 2) 이는 이미 많은 골프장에서 *Pythium* sp.가 metalaxyl에 저항성을 나타내고 있음을 보여 주는 것이다. Sanders(1990)의 실험에서 분리된 metalaxyl 저항성 *Pythium* sp.는 *P. aphanidermatum*이었으나 본 실험결과에서는 metalaxyl 저항성 *P. aphanidermatum*은 분리되지 않았다.

Metalaxyl에 저항성을 나타내는 *Pythium* spp.는 모두 creeping bentgrass에서 분리한 균주였고, zoysiagrass (P25, P35-1)나 Kentucky bluegrass(P44-1, P46-1)에서 분리한 균주는 모두 10.0 $\mu\text{g a. i./ml}$ 처리구에서 90%이상의 군사생장억제율을 나타내 metalaxyl에 감수성을 나타냈다. 이는 metalaxyl의 사용은 주로 creeping bentgrass로 조성된 green의 *Pythium*성 병의 방제에 주로 사용되기 때문으로 생각된다. 또한 프라자골프장에서 1993년 8월에 분리한 *P. catenulatum*(P22-1)과 1994년 7월에 분리한 *P. graminicola*(P27-2)는 저항성 균으로 분류되었다. 이는 종은 다르나 1993년에 분리한 것에 비해 1994년에 분리한 것이 다소 높은 저항성을 나타내 저항성이 증가되고 있는 것으로 생각된다.

Metalaxyl에 감수성과 저항성을 나타내는 *P. graminicola*를 접종원으로 이용하여 creeping bentgrass 품종 'penncross'를 심은 pot 내에서의 metalaxyl에 대한 방제 여부를 실험한 결과 감수성 균(MS 1~4)의 경우는 6.25 $\mu\text{g a. i./ml}$ 이상의 처리구에서는 병 발생이 없었고, 저항성 균(MR1~3)의 경우는 12.50 $\mu\text{g a. i./ml}$ 와 그 이상의 처리구에서도 방제가 되지 않았다(Table 12). 이는 배지 내에서의 군사생장억제율과 유사한 결과를 나타냈다. 배지 내에서의 100.00 $\mu\text{g a. i./ml}$ 처리구의 저항성 균에 대한 군사억제율은 거의 100%를 나타냈지만, pot 실험 결과에서는 creeping bentgrass에 약해가 발생함에도 불구하고 저항성 균에 대한 metalaxyl의 방제가는 100%를 나타내지 않아 실제 재배환경인 골프장에서는 심각한 문제라고 생각된다.

Metalaxyl에 감수성을 나타내는 균주에 대한 metalaxyl의 방제효과 시험 결과(Table 3) 접종 전 처리가 발생 후(접종 5일 후) 처리에 비해 우수한 방제효과를 나타냈다. Metalaxyl과 같은 침투이행성약제의 균에 대한 독성 발현

은 주로 이들 성분이 식물체내에 흡수된 후 식물 세포에 침입된 군사가 영양원으로 세포 내 함유물을 흡수하는 과정에서 균체내로 들어가 생리적 불활성화를 통해 살균작용이 이루어지므로 이와 같은 약제를 이용한 *Pythium*성 잔디 잎마름병의 방제를 위해서는 예방적 차원의 시약이 필요하다고 생각된다. 그리고 Zaki 등(1981)의 실험에서와 같이 침투이행성 약제들을 지상부에 처리할 경우 뿌리에로의 이동은 적으므로 토양관주의 형태가 바람직하다고 생각된다.

Metalaxyl에 내성을 나타내는 균주를 분리한 골프장에서의 metalaxyl의 사용량을 개별 조사한 결과 1980년대 후반부터 주로 Green에 사용하기 시작하여 다소 차이는 있으나 평균적으로 연간 3~4회를 사용하였고, 1회 사용량은 평균 0.6~0.8 g(metalaxyl 25%, WP)/ m^2 로 조사되었고 현재 고시농도는 0.5 g/ m^2 다. 이들 사용량을 10~25 $\mu\text{g a. i./ml}$ 의 수준[0.5~1.0 g(metalaxyl 25%, WP)/ m^2]으로 생각할 때 배지 및 creeping bentgrass pot내 농약스크린 실험에서 metalaxyl 저항성 *Pythium* spp.는 25.0 $\mu\text{g a. i./ml}$ 처리구에서 군사생장억제력 및 효과적인 방제가 이루어지지 않았고, 따라서 이들 저항성 균이 분리된 골프장에서는 앞으로 metalaxyl을 이용한 효과적인 *Pythium*성 병의 방제에는 문제가 있으리라 생각된다. 일단 metalaxyl에 대해 저항성을 획득한 균은 기타의 acylalanine계 농약에 대해서도 저항성을 나타내므로(Bruin and Edgington, 1982) 화학구조상 성분이 다른 약제로의 전환이 필요하다. 몇몇 연구자의 실험결과에 의하면 metalaxyl에 저항성을 나타내는 균주 중 일부가 파모액제와 포세칠알수화제에 대해서도 저항성을 나타낸다고 하였다(Cohen and Samoucha, 1986; Sanders *et al.*, 1990). 따라서 근본적으로 약제에 대한 저항성 균의 출현을 막는 것이 중요하다.

내성균의 생성억제를 위한 방법으로 연용의 금지, 혼합제의 사용 및 성분이 다른 약제와의 교호적인 사용이 효과적이라고 보고되어 있고(Staub and Sozzi, 1984), *Pythium* spp.에 의한 잎마름병을 방제하기 위해 metalaxyl을 사용할 경우 propamocarb 및 mancozeb와의 혼합처리는 metalaxyl 저항균의 생성을 억제시킨다는 보고(Sanders *et al.*, 1985)도 있다. 따라서 metalaxyl 저항성 *Pythium* spp.가 발생되지 않은 골프장에서는 metalaxyl 단제의 사용과 연용을 피하고 혼합제의 사용 및 화학적으로 계통이 다른 타 약제와의 교호적인 사용이 요구된다.

요 약

국내 35개 골프장에 식재된 잔디류의 잎마름 증상으로 부터 분리한 125개 *Pythium* spp. 균주 중 분리시기별, 골프장별 그리고 *Pythium* spp.별로 선별한 44개 균주를 사용하여 실내실험을 통해 metalaxyl에 대한 감수성정도를 조사하였다. 다양한 농도(0, 0.1, 1.0, 10.0, 50.0, 100.0 및

250.0 $\mu\text{g a. i./ml}$ 로 metalaxyl을 함유한 Difco corn meal agar 배지에서 균사생장억제 정도를 조사한 결과 1.0과 10.0 $\mu\text{g a. i./ml}$ 수준의 metalaxyl에 대해 감수성 정도에 따라 크게 2 group으로 나눌 수 있었다. Metalaxyl 함량이 1.0 $\mu\text{g a. i./ml}$ 에서 균사생장억제율은 감수성 group에 속한 31개 균주는 66~98%, 저항성 group에 속한 13개 균주는 6~26%이었고, 10.0 $\mu\text{g a. i./ml}$ 에서는 각각 82~99%와 27~47%를 나타냈다. 이처럼 metalaxyl에 저항성을 나타내는 *Pythium* spp.의 출현과 골프장 잔디에서의 분리는 국내에서 처음 보고되는 것이다. Metalaxyl에 저항성을 나타낸 *Pythium* spp. 균주 중 분리빈도가 상대적으로 높았던 *P. graminicola* 중 metalaxyl에 감수성을 나타내는 4개 균주와 저항성을 나타내는 3개 균주를 이용하여 pot 내 creeping bentgrass에 대하여 농약 스크리닝 시험을 한 결과 metalaxyl 감수성 균의 경우 6.25 $\mu\text{g a. i./ml}$ 이상의 처리구에서는 병 발생이 없었지만 저항성 균의 경우는 12.5 $\mu\text{g a. i./ml}$ 와 그 이상의 처리구에서도 방제가 되지 않았다. 50.0과 100.0 $\mu\text{g a. i./ml}$ 처리구에서는 creeping bentgrass에 약해를 나타냈다. 병원균 접종 전 약제처리가 발병 후 처리에 비하여 우수한 방제효과를 나타냈다.

감사의 글

본 논문은 2000년도 서울시립대학교 교내학술연구조성비에 의하여 수행된 연구결과입니다.

참고문헌

- 김진원. 1992. 메타실수화제에 의한 피시움블라이트 방제 무엇이 문제인가(피시움블라이트 방제가 효과가 인정되는 약제들의 특성 소개). 한국잔디연구소 관리정보지 19: 31-41.
- 농약공업협회. 1997. 농약사용지침서. 삼정인쇄공사. 716 pp.
- 양승원. 1997. 국내 골프장의 농약 사용 추이. 한국잔디학회지 11: 149-159.
- 오진성, 김충희. 1992. 고추 재배지역에서 분리한 *Phytophthora capsici* 균주들의 살균제 metalaxyl에 대한 감수성. 한국식물병리학회지 8: 29-33.
- 최경자, 김병섭, 정영륜, 조광연. 1992. 감자 재배포장에서 Metalaxyl 저항성인 감자역병균(*Phytophthora infestans*)의 발생. 한국식물병리학회지 8: 34-40.
- 一谷 多喜郎, 藤井 久美, 反保 雄行, 谷 利一. 1991. ゴウライシバに2種類の病害を起こす *Pythium vanterpoolii* のメタラキシル剤耐性化. 芝草研究 20: 33-40.
- 反保 宏行, 湊 一伸, 谷 利一. 1987. ベントグラスに發生する2種のピシウム性病害に對する選擇的殺菌劑の效果 -室内試験による評価- 芝草研究 16: 147-153.
- Ashbaugh, F. M. and Larsen, P. O. 1984. Comparison of fungicides for control of *Pythium* blight on *Festuca rubra*. *Phytopathology* 74: 812 (Abstr.).
- Bruin, G. C. A. and Edgington, L. V. 1982. Induction of fungal resistance to metalaxyl by ultraviolet irradiation. *Phytopathology* 72: 476-480.
- Cohen, Y. and Coffey, M. D. 1986. Systemic fungicides and the control of Oomycetes. *Ann. Rev. Phytopathology* 24: 311-338.
- _____ and Samoucha, Y. 1984. Cross-resistance to four systemic fungicides in metalaxyl-resistant strains of *Phytophthora infestans* and *Pseudoperonospora cubensis*. *Plant Dis.* 68: 137-139.
- Dekker, J. 1976. Acquired resistance to fungicides. *Ann. Rev. Phytopathology* 14: 405-428.
- Georgopoulos, S. G. and Grigoriu, A. C. 1981. Metalaxyl-resistant strains of *Pseudoperonospora cubensis* in cucumber greenhouses of southern Greece. *Plant Dis.* 65: 729-731.
- Ham, J. H., Hwang, B. K., Kim, Y. J. and Kim, C. H. 1991. Differential sensitivity to metalaxyl of isolates of *Phytophthora capsici* from different geographic areas. *Kor. J. Plant Pathol.* 7: 212-220.
- _____, Kim, Y. J. and Hwang, B. K. 1991. Induction of resistance to metalaxyl of *Phytophthora capsici* by chemical mutagenesis. *Kor. J. Plant Pathol.* 7: 133-139.
- Joyner, B. G. and Couch, H. B. 1976. Relation of dosage rates, nutrition, air temperature, and suscept genotype to side effects of systemic fungicides on turfgrasses. *Phytopathology* 66: 806-810.
- Katan, T. and Bashi, E. 1981. Resistance to metalaxyl in isolate of *Pseudoperonospora cubensis*, downy mildew of cucurbit. *Plant Dis.* 65: 798-800.
- Littrell, R. H., Gay, J. D. and Wells, H. D. 1969. Chloroneb fungicide for control of *Pythium aphanidermatum* on several crop plant. *Plant Dis. Repr.* 53: 913-915.
- Lucas, L. T. 1983. Recently labeled fungicides for use on turfgrass. *Plant Dis.* 67: 120.
- Monteith, Jr., J. and Dahl, A. S. 1932. Turf disease and their control. *US Golf Assoc. Green Sect. Bull.* 12: 185-187.
- Sanders, P. L. 1984. Failure of metalaxyl to control *Pythium* blight on turfgrass in Pennsylvania. *Plant Dis.* 68: 776-777.
- _____, Burpee, L. L., Cole, Jr., H. and Duich, J. M. 1978. Control of *Pythium* blight of turfgrass with CGA-48988. *Plant Dis. Repr.* 62: 663-664.
- _____, Coffey, M. D., Greer, M. D. and Soika, G. D. 1990. Laboratory-induced resistance to fosetyl-Al in a metalaxyl-resistant field isolate of *Pythium aphanidermatum*. *Plant Dis.* 74: 690-692.
- _____, Houser, W. J., Parish, P. J. and Kole, Jr., H. 1985. Reduced-rate fungicide mixtures to delay fungicide resistance and to control selected turfgrass diseases. *Plant Dis.* 69: 939-943.
- _____, Warren, C. G. and Cole, Jr., H. 1976. Control of *Pythium* blight on penncross bentgrass with Pyroxychlor. *Phytopathology* 66: 1033-1037.
- Smith, J. D., Jackson, N. and Woolhouse, A. R. 1989. Fungal diseases of amenity turf grasses. 3rd. Ed. E. & F. N. Spon Ltd., New York. 401 pp.
- Sozzi, D. and Staub, T. 1987. Accuracy of methods to monitor sensitivity of *Phytophthora infestans* to Phenylamide fungicides. *Plant Dis.* 71: 422-425.
- Staub, T. H. and Sozzi, D. 1984. Fungicide resistance: A continuing challenge. *Plant Dis.* 68: 1026-1031.
- Vaartaja, O. 1960. Selectivity of fungicidal materials in agar cultures. *Phytopathology* 50: 870-873.
- Warren, C. G., Sanders, P. L. and Cole, Jr., H. 1976. Increased severity of *Pythium* blight associated with use of benzimidazole fungicides on creeping bentgrass. *Plant Dis. Repr.* 60:

- 932-935.
- Watkins, J. 1983. New fungicides for ornamental disease control. *Plant Dis.* **67**: 351-352.
- Wells, H. D. 1969. Chloroneb, a foliage fungicide for control of cottony blight of ryegrass. *Plant Dis. Repr.* **53**: 528-529.
- Windham, A. S. and Spencer, J. A. 1981. Identity, pathogenicity, and control of *Pythium* spp. from selected turf plots and golf greens. *Phytopathology* **71**: 913 (Abstr.).
- Zaki, A. I., Zentmyer, G. A. and LeBaron, H. M. 1981. Systemic translocation of ¹⁴C-labeled metalaxyl in tomato, avocado, and *Persea indica*. *Phytopathology* **71**: 509-514.