

Benzimidazole과 dicarboximide계 살균제 저항성 잣빛곰팡이병원균 (*Botrytis cinerea*)에 대한 mepanipyrim의 효과

구한모 · 안승준 · 신호철¹ · 도은수² · 신미호³ · 김유석³ · 김진희³ · 천세철^{4,*}

공주대학교 식물자원학과, ¹경농(주) 중앙연구소, ²중부대학교 한약자원학과, ³건국대학교 식량자원학과, ⁴건국대학교 분자생명공학과

Effect of Mepanipyrim on the Resistant Isolates of Gray Mold Fungus, *Botrytis Cinerea* to the Fungicides of Benzimidazole and Dicarboximide

Han-Mo Koo, Seung-Joon An, Yu, Ho-Chul Shin¹, Eun-Soo Do², Mi-Ho Shin³, You-Seok Kim³, Jin-Hee Kim³ and Se-Chul Chun^{4,*}

Department of Plant Resources, Kongju National University, Yesan 340-702, Korea

¹Central Research Institute of Kyung Nong Cooperation, 226 Guhwang-dong 780-110, Korea

²Department of Oriental Medicine Resources, Jungbu National University, Keumsan 312-702, Korea

³Department of Crop Science and ⁴Department of Molecular Biotechnology, Konkuk University, Hwayang-Dong, Kwangjin-gu, Seoul 143-701, Korea

Received May 2, 2006; Accepted November 30, 2006

Effect of the fungicide mepanipyrim on the resistant and sensitive isolates of *Botrytis cinerea* was studied *in vitro* and also tested to control Botrytis rot of strawberry, cucumber and grape in the field. These isolates were selected by relative mycelial growth and spore germination on potato dextrose agar (PDA) incorporated with 100 µg a.i./ml of benomyl and procymidone, respectively, compared to the unamended PDA. Mycelial growth of the selected resistant isolates was significantly inhibited by mepanipyrim but the inhibition rate was similar to other fungicides belong to benzimidazole or dicarboximide, although spore germination was not inhibited even by the higher concentration of mepanipyrim. When the benomyl and procymidone resistant isolates were inoculated to cucumber leaves, lesion development was significantly inhibited with application of 250 µg a.i./ml of mepanipyrim but not with that of benomyl and procymidone. In addition, when 250 µg a.i./ml of mepanipyrim was applied to strawberry, cucumber, and grape in the field, the control of Botrytis rot was significantly different from that of the untreated control (Duncan's multiple range test, $p < 0.05$). The results suggested that mepanipyrim might be an alternative fungicide for the control of benomyl- and procymidone-resistant pathogens of Botrytis rot.

Key words: benomyl, *Botrytis cinerea*, Botrytis rot, fungicide resistant, mepanipyrim, prochymidone

서 론

잣빛곰팡이병은 전 세계적으로 널리 분포하여 많은 원예작물, 수목, 곡류 및 특히 최근에는 원예작물에 발병하는 다범성 균으로 여러 가지 형태의 농작물에 막대한 피해를 일으킨다. 이 병은 온실재배작물에서 가장 흔히 발생하는 병으로 기주식물 및 생육시기에 따라 병징이 다양하게 나타난다. 주로 꽃머름병과 열매썩음병을 일으키고 모잘록병, 줄기궤양병, 줄기썩음병, 점무늬병 등을 비롯하여 괴경, 구근, 인경 및 뿌리에서도 병을

일으킨다¹⁾. 병원균은 병든 식물의 잔재에서 성장하는 균사체 또는 균핵으로 월동 또는 월하하며, 균사체 및 균핵은 생육환경이 적절할 때 발아하여 분생포자를 형성한다. 저온 다습한 환경에서 발병이 많고 이른 봄부터 발생하여 장마기까지 발생이 계속되다가 여름의 고온 건조기에는 일시적으로 병 발생이 중단된다. 잣빛곰팡이병원균이 가장 문제시되는 작물로는 딸기 및 각종 채소류이며, 2차적으로 저장, 운송, 판매 과정에 과일류와 채소류의 무름병을 일으키기도 한다.²⁾

잣빛곰팡이병의 병원균인 *Botrytis cinerea*는 회색의 균사와 길고 분지된 분생포자경을 생성하는데, 분생포자경 끝의 둥근 정단세포에는 무색이나 회색의 난형 단세포인 분생포자를 다발로 형성하며, 분생포자경과 분생포자 다발은 포도송이와 유사하다. 분생포자는 습한 날씨에 쉽게 방출되어 기류를 따라 이

*Corresponding author

Phone: +82-2-450-3727; Fax:+82-455-9707

E-mail: scchun@konkuk.ac.kr

동한다. 또한, 이 곰팡이는 단단하고 납작하며 불규칙한 모양의 균핵을 형성하는데, 식물 잔재에서 균사체와 함께 월동형으로 이용된다. 병원균의 최적생장, 포자형성, 포자방출, 발아와 감염 후 정착에는 저온(18~23°C) 다습한 날씨가 요구된다. 이 병원균은 저온에서 활동이 왕성하므로 0~10°C에서도 오랫동안 저장하는 작물에는 상당한 피해를 입힌다. 발아하는 포자는 생장하는 조직에 직접 가해하지는 않지만 상처를 통해 조직에 침입할 수 있고, 늪은 꽃잎, 죽어 가는 잎, 죽은 인경 꺾질 등에 균사를 형성한 후 조직에 침입할 수 있다. 또한, 균핵도 발아하여 균사 다발을 형성함으로써 직접 침입하는 경우가 많으며, 일부의 경우 균핵은 자낭반과 자낭포자를 형성한다.²⁾

본 병원균의 방제는 물리적 방제수단으로 재배 시설내의 환기 및 온풍 장치를 이용 저온 다습의 발병환경을 개선하거나 발병식물을 제거하여 2차 전염원을 제거하는 방법, 밀식을 피하고 과번성을 막기 위하여 질소 비료의 사용을 제한하는 방법이 있다. 길항곰팡이를 이용한 생물적 방제도 이용되고 있지만 아직까지 실용화되지 못한 실정이다. 포장에서 저온 다습한 경우 효과가 떨어지기는 하지만 현재까지 가장 널리 사용되는 방법은 살균제를 사용하는 방법이다. 약제에 의한 방제는 발생 초기에 중점을 두고, 7~10일 간격으로 실시한다. 방제 약제로 benzimidazole, dicarboximide, N-phenyl-carbamate계 등이 있으며, 이들 방제 약제들에 대한 감수성 및 저항성 반응에 따라 약제 반응형을 분류하기도 한다.^{1,3-8)} 널리 사용되고 있는 이와 같은 계통에 속하는 킴투스 살균제에 대한 저항성균이 많이 발생하여 약효가 감소되어 있는 실정인데, 특히 benomyl, dichloran, iprodione, captan에서 이미 약제저항성이 보고되어 있다.⁹⁻¹¹⁾

잣빛곰팡이병의 효율적인 약제 방제를 위해서 시설재배지의 잣빛곰팡이병원균의 방제 약제에 대한 실제적인 약제 저항성 정도를 파악해야 한다. 잣빛곰팡이병 방제를 위해서 1972년부터 등록되어 사용된 benzimidazole계 약제인 benomyl과 1978년도부터 등록되어 사용된 dicarboximide계 약제인 procymidone의 경우 이미 저항성보고가 있을 뿐 아니라 실제포장에서도 그 효과가 떨어지고 있다.¹⁾ 본 실험에서 사용하고자 하는 mepanipyrim은 기존 약제와 다른 작용점을 갖는 anilinopyrimidine계의 살균제로서 1990년대 개발되어 지금은 널리 사용되는 약제로서 병원균의 포자 발아를 억제하지는 못하지만 발아관의 신장과 초기 균사의 생육을 억제함으로써 치료적인 효과보다는 발병 전에 미리 약제를 살포하여야 하는 예방적인 방제 효과를 갖는다.¹²⁻¹³⁾ 그러나, mepanipyrim이 실제 benzimidazole과 dicarboximide에 대한 저항성인 균에 대하여 얼마나 효과적 방제 효과를 갖는지에 대한 연구는 많지 않은 편이다.¹³⁾

본 실험은 딸기, 오이, 토마토, 포도에서 benomyl과 procymidone에 저항성을 나타내는 잣빛곰팡이균을 분리하고 새로운 작용점을 갖는 약제인 mepanipyrim으로 이들 저항성균을 효과적으로 방제할 수 있는가를 검정한 것이다. 먼저 benomyl과 procymidone의 저항성균주를 선발하여 기존의 잣빛곰팡이병 방제 약제와 동일한 계통의 약제에 대한 저항성 정도를 비교하였다. 기존약제에 저항성인 균주에 대한 mepanipyrim의 효과를

실험실에서 검정한 후 온실내 실험을 통해 실제로 병원균과 식물의 병발생 상호작용을 효과적으로 억제할 수 있는가를 규명하고자 하였다. 위의 실험 결과를 바탕으로 benzimidazole과 dicarboximide 계 살균제 저항성인 병원균주가 혼재되어 있을 것으로 예상되는 실제 농가 포장에서 잣빛곰팡이병에 대한 anilinopyrimidine계 살균제인 mepanipyrim의 사용 가능성을 검정하였다.

재료 및 방법

잣빛곰팡이병원균의 분리 및 공시 약제. 병원균 분리. 1998년과 1999년에 경상북도 경주시 사방, 이조, 나원, 현곡, 황남 지역의 시설배재 포장으로부터 딸기, 오이, 토마토, 포도의 이 병식물 및 이병과실을 채집하였다. 병반을 20°C, 상대 습도 90% 이상의 항온항습실에서 2일간 습실 처리 한 후 streptomycin 200 µg a.i./m²이 첨가된 potato dextrose agar(PDA)에 올려놓아 병반에서 자라 나온 곰팡이의 균사 선단을 새로운 배지에 이식하여 잣빛곰팡이병원균 64균주를 분리하고 분리된 균은 4°C의 저온실에 보관하였다. 선발된 병원균 중 곰팡이 포자를 이용한 실험을 위하여 PDA에서 충분한 양의 포자를 형성하는 23균주를 선발하여 본 실험에서 사용하였다.

공시 약제. 본 실험에 사용된 잣빛곰팡이병 공시 약제는 모두 주식회사 경농 중앙연구소에서 분양받아 본 실험에서 이용하였다. 기존 잣빛곰팡이병 방제 약제와 다른 작용기작을 갖는 새로운 약제로 본 실험에서 사용된 약제는 anilinopyrimidine계인 mepanipyrim(50% a.i. 수화제, 경농, 서울, 한국)이 사용되었다. 기존에 사용되어진 공시 약제는 benzimidazole계의 대표적 살균제로 benomyl(50% a.i. 수화제, 경농, 서울, 한국)이 사용되었으며 동일 계통의 약제에 대한 교차 저항성 검정을 위해 carbendazim(60% a.i. 수화제, 경농, 서울, 한국), thiophanate-methyl(70% a.i. 수화제, 경농, 서울, 한국)을 사용하였다. 또 다른 계통의 기존 약제로는 dicarboximide계의 대표적 살균제로 procymidone(50% a.i. 수화제, 경농, 서울, 한국)을 사용하였으며 동일 계통의 약제에 대한 교차저항성 검정을 위해 iprodione(50% a.i. 수화제, 동부한농, 서울, 한국), vinclozolin(47% a.i. 수화제, 한국삼공, 서울, 한국)을 사용하였다(Table 1).

Benomyl과 procymidone에 저항성을 나타내는 잣빛곰팡이병원균 선발. 균사생장에 의한 약제 저항성. 실험실 수준에서 잣빛곰팡이병 방제에 널리 사용된 대표적인 기존약제에 대한 저항성 균주를 선발하기 위하여 100 µg a.i./m²의 benomyl과

Table 1. The list of fungicide used in this study

| Fungicide group | Fungicide compound | Mode of action |
|-------------------|--------------------|--|
| Anilinopyrimidine | Mepanipyrim | Inhibition on secretion of pathogen proteins and of germ tube elongation |
| Benzimidazole | Benomyl | Inhibition of tubulin synthesis |
| | Carbendazim | |
| | Thiophanate-methyl | |
| Dicarboximide | Procymidone | Inhibition of triglycerate synthesis |
| | Iprodione | |
| | Vinclozolin | |

procymidone이 각각 첨가된 PDA와 약제가 첨가되지 않은 PDA에 잣빛곰팡이병원균 23균주의 균사 조각을(직경, 6 mm) 이식하였다. 20°C에서 4일간 배양한 후 균사 길이를 측정하였다. 농약이 첨가되지 않은 배지에서의 균사 생장 길이 대비 농약이 첨가된 배지에서의 균사 생장 길이의 비율에 기준하여 약제 저항성을 판단하였다.

포자발아율에 의한 약제 저항성. 포자 생성을 위해서는 PDA에 병원균 균사를 접종하고 20°C에서 5일간 배양 후 12시간씩 광암이 교차되는 배양기(4,000 lux)에서 4일간 배양하여 형성시켰다. 포자현탁액은 포자가 형성된 배지에 멸균수를 붓고 멸균된 붓으로 포자를 수확하여 3겹의 멸균된 거즈로 걸러 만들었다(약 1.50×10^5 conidia/ml). 100 µg a.i./ml의 benomyl과 procymidone이 각각 첨가된 PDA에 살균된 cellophane을 올려놓고 그 위에 포자 현탁액을 10 µl씩 떨어뜨렸다. 20°C에서 6시간 배양 후 광학현미경 100배 시야에서 전체 포자수와 발아된 포자수를 관찰하여 발아율을 구하였다. 무처리에서의 포자발아율에 대한 약제처리에 의한 포자발아율의 비율을 구하여 약제 저항성을 판단하였다.

잣빛곰팡이병원균의 동일계통 약제간의 교차저항성 및 mepanipyrim에 대한 감수성

동일계통 살균제에 대한 교차저항성. Benomyl과 procymidone에 대해 저항성과 감수성이 다른 균주들이 동일계통의 다른 약제에 대하여도 교차저항성을 갖는지를 판단하기 위해서, benomyl과 procymidone 두 약제 모두에 저항성이 2균주(BC34, BC46)와 두 약제 모두에 감수성이 2균주(BC25, BC40)에 대하여 동일계통의 다른 약제가 100 µg a.i./ml이 첨가된 PDA에서의 균사 생육과 포자 발아억제율을 조사하였다. Benomyl이 속한 benzimidazole계통의 약제로는 carbendazim, thiophanate-methyl이 사용되었으며 procymidone이 속한 dicarboximide 계통의 약제로는 iprodione과 vinclozolin이 사용되었다. Benzimidazole 또는 dicarboximide 계통의 약제가 첨가된 PDA에서 생장한 균사 직경의 길이를 비교한 상대적 생장율과, 발아한 포자수를 전체 포자수로 나누어 발아율을 결정하고 상대적 포자발아율을 구하여 저항성 균주와 감수성 균주를 구분하고 교차저항성을 판단하였다.

Mepanipyrim의 농도에 따른 반응. 균사생육억제와 포자발아억제실험을 모두 약제가 첨가된 PDA상에서 각각 수행하였다. 균사생육은 앞서 언급한 바와 같이 benomyl이나 procymidone이 첨가된 배지에서 선발된 저항성 2균주와 감수성 2균주를 mepanipyrim이 일련의 농도(0.1, 10, 100, 250, 500 µg a.i./ml)로 첨가된 PDA에 이식한 후 20°C에서 4일간 배양 후 균사 길이를 측정하였다. 포자발아는 포자상대발아율 실험과 동일한 방법으로 준비한 포자현탁액(1.50 × 10⁵ conidia/ml) 살균된 cellophane을 올려놓은 mepanipyrim이 첨가된 PDA에 10 µl씩 떨어뜨렸다. 처리 후 20°C에서 6시간 배양 후 광학현미경 100배 시야에서 전체포자수와 발아된 포자수를 관찰하였다.

Mepanipyrim 약제에 의한 저항성 균주의 오이식물체 침입 억제 효과

기주식물 및 병원균 접종원 제조. 접종 기주식물인 오이의 품종으로는 신희진주가 사용되었으며 원예용 상토(피트모스 : 질

석 = 1 : 1)와 발 흙을 1 : 1로 섞은 토양을 사용하여 유리온실에서 재배하여 1엽의 3/4이 전개된 식물체가 접종 기주식물로 사용되었다. 균사배양과 포자형성은 benomyl과 procymidone에 저항성이 잣빛곰팡이 병원균 균사를 PDA 배지에서 접종하여 20°C, 암상태에서 7일간 배양한 후 다시 7일 동안 12시간 광암을 교차하여 배양함으로써 수행하였다. 형성된 포자는 무처리구에서 충분한 병 발생을 위하여 2.4%의 살균된 potato dextrose broth(PDB)를 붓고 살균된 붓으로 병원균 포자를 수확한 후 혈구계(hemocytometer)를 이용하여 약 1.00×10^6 conidia/ml 농도로 포자현탁액 접종원을 준비하였다.

약제처리 및 병원균 접종. Mepanipyrim이 benomyl과 procymidone에 저항성이 잣빛곰팡이병원균의 기주식물체 침입을 억제하는지를 조사하기 위해서 benomyl, procymidone, 그리고 mepanipyrim을 각각 처리한 후 앞서 언급한 바와 같은 benomyl과 procymidone에 저항성을 나타내는 균주(BC34, BC46)를 각각 접종하였다. 위의 3가지 약제를 각각 125, 250 µg a.i./ml의 농도로 각 병원균이 접종되기 24시간 전에 각각 오이 1엽이 충분히 젖을 정도로 살포하였다. 5 mm paper disc에 미리 준비한 각 병원균의 포자 접종원을 충분히 흡수시킨 후, 농약이 처리된 오이 잎에 흡수시킨 paper disc를 얹어 접종하였다. 접종된 식물체는 접종한 후 20°C, 상대습도 90% 이상의 배양기에서 6일간 배양한 후 병반을 조사하였다. 침입 억제 유무는 병반면적율을 무병징(-)에서 50% 이상 병반면적율(+++)의 4가지 등급으로 나누어 수행하였다.

잣빛곰팡이병에 대한 mepanipyrim의 약제 방제효과. 시험은 딸기(보교조생), 오이(만춘천장), 포도(켄벨)에 대해 실제 농가 재배 포장을 임차하여 2001년도에 수행하였다. 경종방법은 일 반농가의 관행적인 방법에 따라 재배하였으며, mepanipyrim 처리구, 대조약제 처리구, 무처리구의 세 처리에 대해, 난괴법 3 반복으로 딸기 및 오이는 각각 구당 20 m², 포도는 구당 1주를 시험구로 하고, 약제처리는 mepanipyrim 250 µg a.i./ml을 병 발생 직전 7일 간격으로 4회 처리하였다. Mepanipyrim의 딸기, 오이, 포도의 잣빛곰팡이병 방제 효과를 비교하기 위한 대조약제로는 procymidone 500 a.i./ml을 mepanipyrim과 동일한 방법으로 살포하였다. 무처리구는 아무 약제도 처리하지 않았다. 잣빛곰팡이병에 대한 약제의 약효 조사는 딸기는 처음 약제 처리 30일 후에, 오이는 25일 후에, 그리고 포도는 40일 후에 각 처리구별로 구당 200과 이상에 대해 건전과의 개수와 이병과의 개수를 구하여 이병과율(%)을 계산하였으며, 평가된 결과는 Duncan's multiple range test(DMRT)를 이용하여 통계 분석하였다.

결 과

Benomyl과 procymidone에 저항성을 나타내는 잣빛곰팡이병원균의 선발

균사생장에 의한 약제 저항성. Benomyl이 100 µg a.i./ml의 농도로 첨가된 PDA에서의 23균주의 균사생장률은 무첨가구 대비 0.35~0.88(Fig. 1A)로 procymidone의 0.00~0.38(Fig. 1B)에 비하여 높게 나타났다.

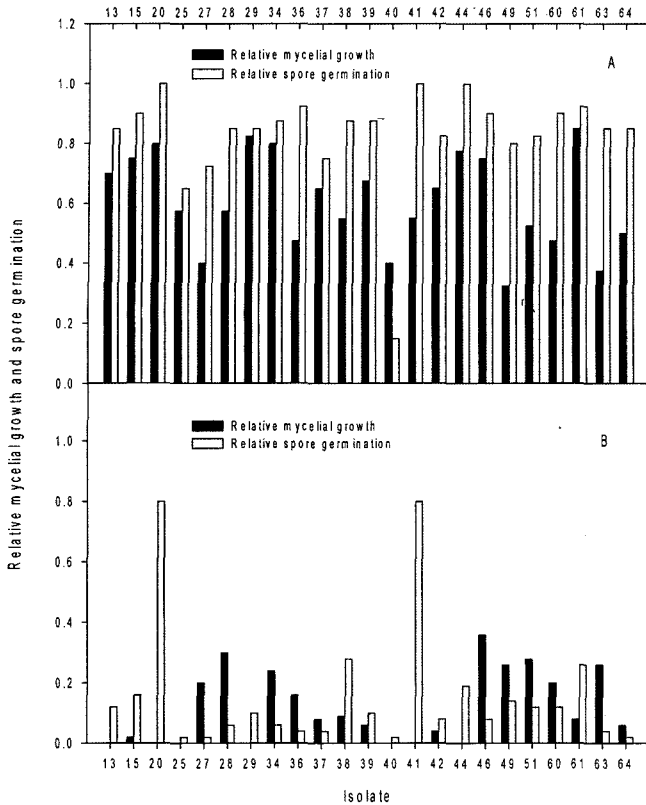


Fig. 1. Relative mycelial growth and relative spore germination of the 23 isolates of *Botrytis cinerea* on potato dextrose agar amended with 100 µg a.i./ml of benomyl (A) and procymidone (B).

포자발아율에 의한 약제 저항성. Benomyl과 procymidone이 각각 100 µg a.i./ml의 농도로 첨가된 cellophane위에서의 23개 균주의 무첨가구 대비 포자발아율은 benomyl이 0.16~1.00(Fig. 1A)이었으며, procymidone은 0.00~0.81(Fig. 1B)이었다. BC25와 BC40을 제외한 모든 균주는 benomyl이 첨가된 PDA에서 0.78 이상의 포자발아율을 보여 무첨가 PDA와 유사한 발아율을 나타내었다(Fig. 1A). 반면에 procymidone이 첨가된 PDA에서는 BC20과 BC41을 제외한 모든 균주의 상대 발아율이 0.30 이하로 억제되었다(Fig. 1B).

저항성 및 감수성 균주 선발. 균사생장을 및 포자발아율을 통한 benomyl과 procymidone에 대한 약제 반응을 조사한 결과 두 약제 사이의 유의한 상관관계는 없었으며, 특히 두 약제에 대해 모두 완전히 저항성이거나 또는 두 약제 모두에 대하여 완전히 감수성인 균주를 찾을 수 없었지만 두 약제에 대한 균사생장을 및 포자발아율의 결과를 종합하여 저항성 균주로는 BC34와 BC46을 선발하였고 감수성 균주로 BC25와 BC40을 선발하여 이후의 시험에 대표 균주로 사용하였다.

젯빛곰팡이병원균의 동일계통 약제간의 교차저항성 및 mepanipyrim에 대한 감수성

동일계통 살균제에 대한 교차저항성. Benzimidazole 또는 dicarboximide 계통의 약제가 100 µg a.i./ml로 농도로 첨가된 PDA 배지에서의 균사직경의 길이는 benzimidazole계통의 약제에 대해서 저항성균주는 49~61 mm, 감수성 균주는 34~34 mm로 나타났다. Dicarboximide계통의 약제에 대해서는 저항성균주

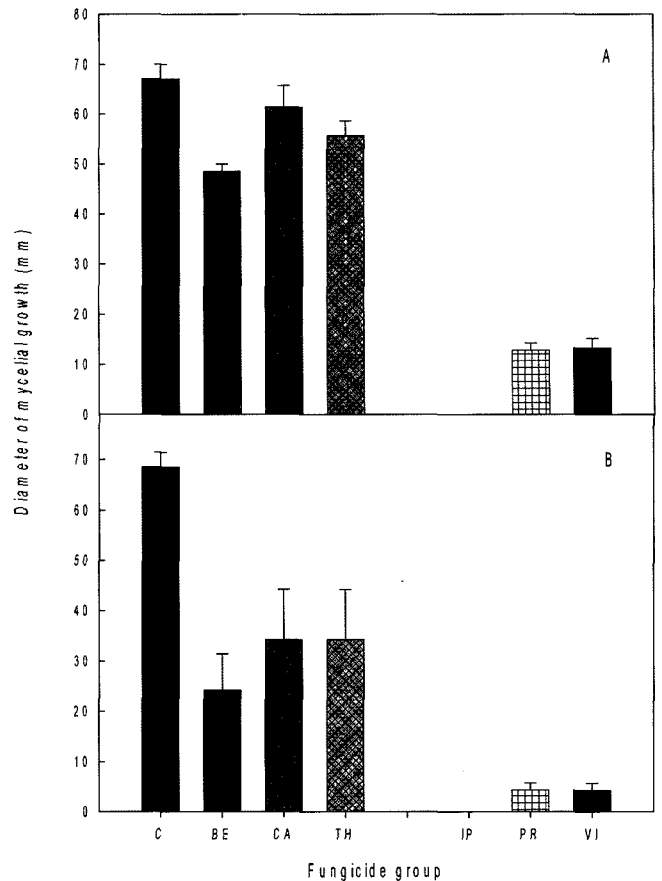


Fig. 2. Diameter of mycelial growth of benomyl- and procymidone-resistant (BC34, BC46) (A) and -sensitive *Botrytis cinerea* isolates (BC25, BC40) (B) on potato dextrose agar (C) and on that amended with 100 µg a.i./ml of benzimidazole fungicide [benomyl (BE), carbendazim (CA), thiophanate-methyl (TH)] and dicarboximide fungicide [iprodione (IP), procymidone (PR), vinclozolin (VI)]. Vertical bars represent standard error of the means of two isolates.

가 0~13 mm, 감수성균주는 0~4 mm로 나타났다(Fig. 2A and B). 위의 결과는 균사생장은 benomyl과 procymidone에 대한 저항성 균주가 감수성 균주에 비하여 동일계통 내에서 약제에 대해 저항성 정도가 더 높다는 것을 나타낸다. 또한 저항성과 감수성 각각의 균주는 동일한 계통의 약제에서 비슷한 저항성 또는 감수성을 보여주고 있다(Fig. 2A and B). 각각의 시험 약제가 100 µg a.i./ml 농도로 첨가된 배지에서 포자발아율은 benzimidazole 계통약제에 대해서는 저항성 균주는 0.78~0.84, 감수성 균주는 0.47~0.72였다(Fig. 3A and B). Dicarboximide 계통약제에 대해서는 저항성 균주가 vinclozolin에 대해서만 0.71의 발아율을 보였으며 저항성 균주와 감수성 균주에 대한 vinclozolin외의 나머지 2가지 약제에 대하여는 0.04 미만의 포자발아율을 보였다(Fig. 3A and B). Benzimidazole 계통 약제에 대한 포자발아율은 저항성 균주나 감수성 균주 모두 균사생장과 비슷한 정도를 나타내었다(Fig. 2A and B, Fig. 3A and B). Vinclozolin을 제외한 다른 dicarboximide 계통의 약제는 저항성 균주나 감수성 균주에 상관없이 포자발아를 억제하는 경향을 보였으나 vinclozolin은 저항성 균주의 포자 발아를

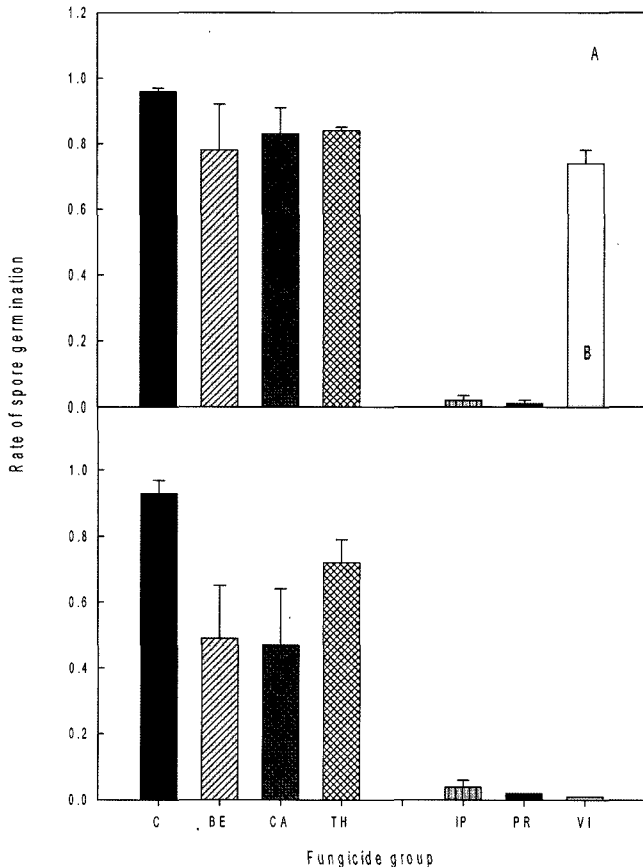


Fig. 3. Rate of spore germination of benomyl- and procymidone-resistant (BC34, BC46) (A) and -sensitive *Botrytis cinerea* isolates (BC25, BC40) (B) on potato dextrose agar (C) and on that amended with 100 μg a.i./ml of benzimidazole fungicide [benomyl (BE), carbendazim (CA), thiophanate-methyl (TH)] and dicarboximide fungicide [iprodione (IP), procymidone (PR), vinclozolin (VI)]. Vertical bars represent standard error of the means of two isolates.

억제하지 못하는 것으로 나타났다(Fig. 3A and B).

Mepanipyrim의 농도에 따른 반응. Benomyl과 procymidone에 대하여 저항성과 감수성으로 선발된 각각의 2균주를 이용하여 mepanipyrim의 농도에 따른 균사생장과 포자발아율을 측정하였다. 균사생장은 mepanipyrim의 농도 증가에 따라서 저항성과 감수성 균주 모두 비슷한 수준으로 현저히 감소하였다(Fig. 4A and B). 균주에 따라서는 500 μg a.i./m에서도 균사생장이 완전히 억제되지 않은 것(Fig. 4 A and B)으로 보아 mepanipyrim에 의한 균사 생장 억제는 기존의 다른 약제에(Fig. 2A and B) 비해 차이가 없어 보였다. Mepanipyrim의 농도의 증가에 따른 저항성 및 감수성 균주의 포자 발아는 억제되지 않았지만(Fig. 5A and B) 현미경으로 관찰한 결과 100 μg a.i./ml 이상의 농도에서는 발아된 균사가 더 이상 정상적으로 성장하지 못하는 것을 관찰할 수 있었다(data not shown).

저항성균주에 대한 mepanipyrim의 침입 억제효과. 대조약제로 사용된 benomyl과 procymidone을 250 μg a.i./m의 농도로 처리한 오이에서의 병변면적율은 10~50%인 반면 mepanipyrim

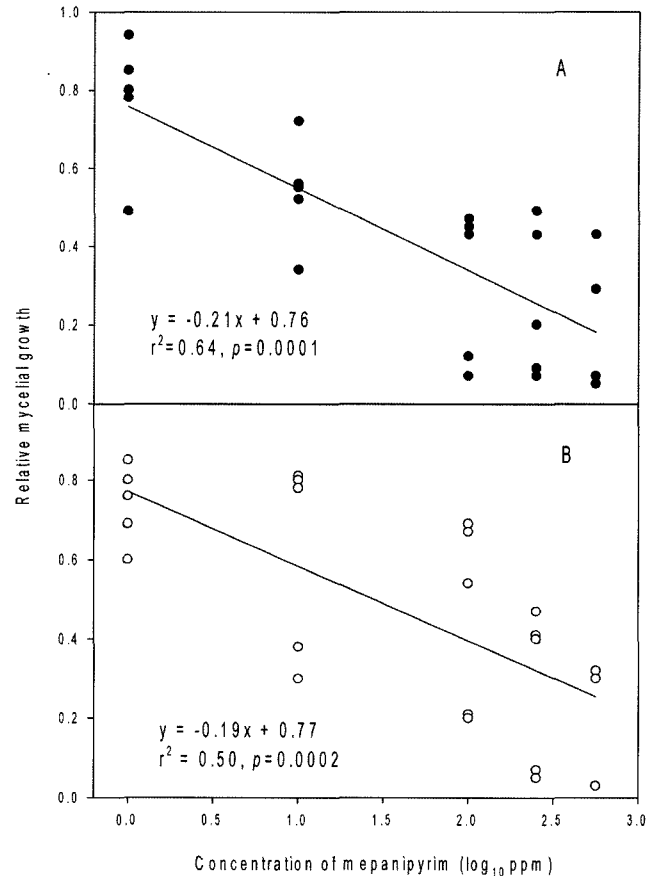


Fig. 4. Relative mycelial growth of benomyl- and procymidone-resistant (BC34, BC46) (A) and -sensitive *Botrytis cinerea* isolates (BC25, BC40) (B) on potato dextrose agar amended with various concentrations of mepanipyrim.

을 동일한 농도로 처리한 오이에서는 병반이 형성되지 않아 benomyl과 procymidone에 대한 저항성 균주에 대해 침입 억제 효과가 높게 나타났다(Table 2).

잣빛곰팡이병에 대한 mepanipyrim의 약제 방제효과.

Mepanipyrim의 효과를 일반농가의 관행재배형태로 재배되는 딸기, 오이, 포도에 약제를 살포한 후 약제 방제효과를 조사한 결과, 딸기의 경우 무처리구의 이병과율이 48.8%인데 반해 mepanipyrim 처리구의 이병과율은 7.6%로 나타났다(Table 3). 이것은 무처리구는 물론 대조약제인 procymidone 처리구의 이병과율 9.1%와 비교하여도 방제 효과가 유의하였다(DMRT, $p < 0.05$). 오이에서 무처리구의 이병과율은 33.9%로 나타났지만, mepanipyrim 처리구의 이병과율은 4.9%로 대조약제인 procymidone 처리구의 이병과율 5.6%와는 유의한 차이가 없었으나 두 약제 모두 무처리와는 현저한 차이를 보였다(DMRT, $p < 0.05$). 포도에서도 무처리구의 이병과율은 16.9%였지만 mepanipyrim 처리구의 이병과율은 4.2%로 나타나서 mepanipyrim의 방제 효과가 유의하였다. 그러나, mepanipyrim 처리구의 이병과율은 procymidone 처리구의 이병과율 7.6%와는 유의성이 있지 않았지만 두 약제 모두 무처리와는 유의한 차이가 있었다(DMRT, $p < 0.05$) (Table 3).

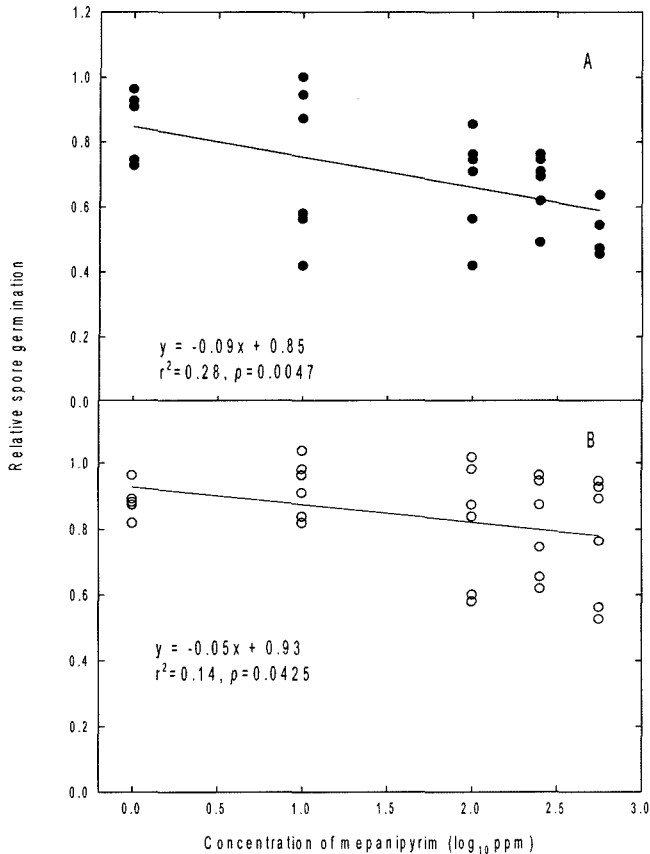


Fig. 5. Relative spore germination of benomyl- and procymidone-resistant (BC34, BC46) (A) and -sensitive *Botrytis cinerea* isolates (BC25, BC40) (B) on potato dextrose agar amended with various concentrations of mepanipyrim.

고찰

본 실험의 목적은 잿빛곰팡이병을 방제하기 위해 사용되어 온 benzimidazole 및 dicarboximide계 살균제에 저항성인 균주를 선발하여 기존 약제에 저항성인 균주에 대한 anilinopyrimidine계 mepanipyrim의 약효를 검정하고 이를 바탕으로 포장시험을 통해 적용 가능성을 검정하는 것이었다. 본 실험은 균사 생육 억제 실험을 통해 잿빛곰팡이병원균의 살균제 저항성 보고를¹⁾ 기초로 하여 포자 발아 억제실험을 통해 살균제 저항성 균주를 선발하였다. 실험의 편리성에 의해 균사 생육 억제실험이 저항성 판단의 주요한 방법으로 이용되고 있다. 하지만 예방적 살균제의 경우 포자발아의 억제가 중요한 저항성 판단의 기준이 될 수 있다. 본 실험에서도 균사 생육 억제와 포자 발아 억제는 서로 상관관계가 없음을 알 수 있었다. 그러므로 살균제 저항성 판단은 약제의 특성에 맞게 결정해야 함을 알 수 있었다.

Prochymidone보다는 benomyl에 저항성인 균주들이 더 많이 분리되어서 포장에서 benomyl에 대한 저항성 잿빛곰팡이균이 더 널리 퍼져 있다고 사료되었다. benomyl은 살균작용 범위가 넓고 침투성이며 낮은 농도에서 약효가 우수하여 다른 병에도 널리 사용되어 왔기 때문에 세계 각국에서 살균제 저항성 문제로 현재 그 사용량이 매우 감소하게 되었다.¹⁴⁻¹⁶⁾ 김 등³⁾의 연구에 의하면 시설원예작물과 감귤에서 분리한 잿빛곰팡이 균주

Table 2. The lesion development caused by the resistant *Botrytis cinerea* isolates (BC34 and BC46) to benomyl and procymidone on 1st leaves of cucumber treated with 125 and 250 µg a.i./ml of benomyl, procymidone, and mepanipyrim, respectively, at 6 days after inoculation

| Treatment | Concentration (µg a.i./ml) | Lesion development |
|-------------|----------------------------|--------------------|
| Benomyl | 125 | +++a |
| | 250 | ++ |
| Procymidone | 125 | ++ |
| | 250 | ++ |
| Mepanipyrim | 125 | + |
| | 250 | - |
| Control | 0 | +++ |

a-, +, ++, +++ indicate arbitrary disease rating scales (- = no lesion, + = 1 to 10%, ++ = 10 to 50%, +++ = 50 to 100% of leaf area). Disease rating scales were averaged from the results by the two resistant isolates. If scales were marked as ++ and +, respectively, from the respective isolate, the average was given to the mark of “++±”.

Table 3. Infection rate on fruits of strawberry, cucumber, and grape treated with or without 250 µg a.i./ml of mepanipyrim and 500 µg a.i./ml of procymidone

| Treatmenta | Infection rate (%) | | |
|-------------|--------------------|--------------------|-------|
| | Treatmenta | Infection rate (%) | Grape |
| Control | 48.8a | 33.9a | 16.9a |
| Mepanipyrim | 7.6cb | 4.9b | 4.2b |
| Procymidone | 9.1b | 5.6b | 7.6b |

^aThe plot was deployed to randomized complete block design and there were three replications per plot.

^bMeans followed by same letters within columns are not significantly different at $p < 0.05$ according to Duncan's multiple range test.

들 중에서 prochymidone 2 ppm에서 균사생장이 억제되는 BC-2, KC-5 등 7개의 균주가 1,250 ppm의 benomyl에서 생장이 억제되지 않은 저항성을 보였다고 하였다. 또한, 전체 112개 균주들 중 benomyl에 저항성을 보인 균주는 60.7%로서 benomyl에 대한 저항성 균주가 prochymidone에 대한 저항성 균주보다 더욱 많은 비율을 차지하고 있을 보여 주어서 본 연구 결과와 유사하였다.

Benomyl과 procymidone 두 약제에 대해 저항성으로 선발된 균들은 benomyl과 같은 benzimidazole계통에 속하는 다른 약제인 carbendazim과 thiophanate-methyl에도 교차 저항성을 보였다(Fig. 2A and Fig. 3A). 이것은 포장에서 분리된 benomyl 저항성 균이 benzimidazole 계통의 다른 약제 간에도 교차 저항성이 있다는 여러 연구 결과에 의하여 보고된 바와 같다.^{7,17,18)} 한편 procymidone과 같은 dicarboximide계의 다른 약제인 vinclozolin에 대하여는 교차 저항성을 보였으나, iprodione에 대하여 교차저항성을 나타내지 않았으며(Fig. 2A and B), 동시에 iprodione에 대하여 포자발아율은 매우 낮게 나타났다. 이것은 본 연구에서 benomyl과 prochymidone 두 약제에 대하여 저항성으로 선발된 균주가 포자발아율을 기준으로 판단할 때 prochymidone에 대한 저항성 정도가 크지 않았기 때문이다. 그러나, vinclozolin에 대하여는 매우 큰 저항성을 보여주었다

(Fig. 3A and B). 이것은 본 연구에서 선발된 균주의 포자 발아율이 vinclozolin에 의하여 억제되지 않는 저항성을 보이기 때문이라 생각된다.

일반적으로 잭빛곰팡이병원균은 기주식물체를 침입할 때, 기주식물체의 방어 조직을 분해하는 효소를 분비하는 것으로 알려져 있으며, mepanipyrim의 작용기작은 잭빛곰팡이병원균이 분비하는 효소의 분비를 억제하는 것으로 알려져 있다.¹²⁾ Benzimidazole 및 dicarboximide계 살균제에 대하여 저항성으로 선발된 균주를 오이 식물체에 접종했을 때, 위 두 가지 계통의 살균제 처리로는 잭빛곰팡이병을 충분히 방제하지 못하였지만, mepanipyrim은 효과적으로 병원균의 침입을 억제하였다(Table 2). 또한 딸기를 대상으로 한 실험에서는 anilinopyrimidine계인 mepanipyrim의 효과는 dicarboximide계인 procymidone 약제보다 더 효과적으로 나타나(Table 3) 현재 기존 약제에 대한 저항성이 발현된 포장에서도 잭빛곰팡이병을 효과적으로 방제할 수 있음을 제시하여 주었다. 그러나, 오이와 포도의 잭빛곰팡이병의 방제에 대한 포장 실험에서 mepanipyrim과 prochloraz의 방제 효과의 차이는 통계적 유의성이 없었는데 이것은 실험에 사용된 포장에서 procymidone에 대한 저항성 균이 아직 충분히 발생하지 않았음을 제시하여 준다고 생각된다.

초 록

Benomyl과 procymidone에 대한 잭빛곰팡이병원균(*Botrytis cinerea*) 저항성 균주와 감수성 균주에 대한 mepanipyrim의 효과를 실내에서 조사하고 딸기, 오이, 포도에 대한 포장에서의 잭빛곰팡이병의 방제 효과를 시험하였다. 잭빛곰팡이병원균(*Botrytis cinerea*)의 균사 생장과 포자 발아율의 비교를 기초로 하여 benomyl과 procymidone을 각각 100 µg a.i./m²씩 첨가한 감자한천배지(potato dextrose agar, PDA)에서 benomyl과 procymidone 살균제에 저항성 또는 감수성인 균주를 선발하였다. 선발된저항성 균들의 포자발아는 mepanipyrim의 농도가 증가함에도 불구하고 현저히 억제되지는 않았다. 그러나 포자 발아하는 대조적으로 균사의 생장은 benzimidazole 또는 dicarboximide계의 기존 다른 약제와 유사하게 억제되었다. Benomyl과 procymidone에 저항성인 분리 균주를 오이 잎에 접종한 후 mepanipyrim 250 µg a.i./m²를 처리하였을 때 병원균의 침투력이 현저히 억제되었지만 benomyl과 procymidone을 처리하였을 때는 그렇지 못했다. Mepanipyrim 250 µg a.i./m²를 포장에서 딸기, 오이, 포도에 처리하였을 때 잭빛곰팡이병이 현저히 억제된 것으로 나타나(Duncan's multiple range test, $p < 0.05$), mepanipyrim이 benzimidazole과 dicarboximide계 등의 다른 살균제에 저항성인 잭빛곰팡이병원균에 의한 병을 방제하는데 효과적으로 사용될 수 있음을 제시하여 주었다.

참고문헌

1. Kim, B. S. 1997. Physiological and ecological diversity of fungicide-resistant *Botrytis cinerea*. Seoul National University,

- Ph.D. dissertation. pp. 147.
2. Agrios, G. N. 1988. Plant Pathology (3rd edition). Academic Press, Inc., New York, 803 p.
3. Kim, B. S., Choi, K. J. and Cho, K. Y. 1993. Reaction to several benzimidazole and dicarboximide resistant *Botrytis cinerea*. *Kor. Plant Pathol. Jour.* 9, 98-103.
4. Kim, C. H. and Kwon S. I. 1993. Parasitic adaptation of procymidone resistant *Botrytis cinerea* of strawberry. *Kor. Plant Pathol. Jour.* 9, 26-30.
5. Kim, H. T., Jeong, Y. R. and Cho, K. Y. 1990. Inhibition effect of prochloraz on cucumber *Botrytis cinerea*. *Kor. Plant Pathol. Jour.* 6, 333-337.
6. Choi, K. J., Jeong, Y. R. and Cho, K. Y. 1990. Several factors on disease incidence of Botrytis rot of cucumber in the field. *Kor. Plant Pathol. Jour.* 6, 186-192.
7. Akutsu, K., Irono, T., Kube, A., Okuyama, S., and Hibi, T. 1988a. Induction of dicarboximide fungicide-resistance with filtrates of the resistant strains of *Botrytis cinerea*. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 53, 497-506.
8. Al-Mughriabi, K. I. and Gray, A. B. 1995. Competition between triadimefen-sensitive and triadimefen-resistant isolates of *Erysiphe graminis* f.sp. *tritici*. *Plant Dis.* 79, 709-712.
9. Baik, S. B. 1984. Study on fungicide-resistant *Botrytis cinerea*. *Konkuk. Univ. Agric. Resour. Develop. Paper* 9, 35-44.
10. Choi, I. S. Jeong, Y. R. and Cho, K. Y. 1995. Variation in phenotypic characteristics in pathogenicity and fungicide-resistance of the isolates of *Botrytis cinerea* from different hosts. *Kor. Jour. Mycol.* 23, 246-256.
11. Chiba, M., and Morthover, J. 1988. Efficacy of new benzimidazol fungicides against sensitive and benomyl-resistant *Botrytis cinerea*. *Phytopathology* 78, 613-618.
12. Maeno, S. and Miura, I. 1990. Mepanipyrim(KIF-3535), a new pyrimidine fungicide. Proceedings of the 1990 Brighton conference of British crop protection council. November 16-19, 1990. pp. 415-422.
13. Rosslenbroich, H-J., and Stuebler, D. 2000. *Botrytis cinerea*-History of chemical control and novel fungicides for its management. *Crop. Prot.* 19, 557-561.
14. Davis, R. P. and Dennis, C. 1981. Properties of dicarboximide-resistant strains of *Botrytis cinerea*. *Pestic. Sci.* 12, 521-535.
15. Kadish, D. and Cohen, Y. 1988. Fitness of *Phytophthora infestans* isolates from metalaxyl-sensitive and resistant population. *Phytopathology* 75, 521-535.
16. 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. Trinci, A.P.J. and Ryley, J. F., ed. pp. 207-237. Cambridge Press. Cambridge.
17. Akutsu, K., Tsukamoto, T., Irino, T. and Okuyama, S. 1988b. Transfer of benomyl-resistance by hyphal fusion of *Botrytis cinerea*. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 54, 290-295.
18. Davidse, L.C. and Flach, W. 1977. Differential binding of methyl benzimidazole-2-yl carbamate to fungal tubulin as a mechanism of resistance to this antimitotic agent in mutant strains of *Aspergillus nidulans*. *J. Cell. Biol.* 72, 174-193.