

다양한 작물로부터 분리한 탄저병균(*Colletotrichum* spp.)의 살균제에 대한 반응

김준태 · 민지영 · 김흥태*

충북대학교 농업생명환경대학 식물의학과

Response to Fungicides of *Colletotrichum* Species Isolated from Infected Tissues of Several Crops

Joon Tae Kim, Ji Young Min and Heung Tae Kim*

Department of Plant Medicine, College of Agriculture, Life and Environment Sciences,
Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk 361-763, Korea

(Received on November 21, 2005)

This study has been conducted to investigate the responses of various isolates of four *Colletotrichum* species such as *C. gloeosporioides*, *C. acutatum*, *C. coccodes*, and *C. dematium* isolated from infected tissues of several crops to fungicides such as carbendazim, carbendazim+diethofencarb, four protective fungicides, and three ergosterol biosynthesis-inhibiting (EBI) fungicides. All the isolates of *C. acutatum* showed EC₅₀ values in a range of 0.001-3.040 µg/ml against carbendazim, a benzimidazole fungicide. As for the response to carbendazim, the isolates of *C. gloeosporioides* obtained from pepper, apple, and strawberry were clearly divided into two groups, resistant or sensitive isolates. All the resistant isolates showed EC₅₀ values above 1000 µg/ml, whereas the sensitive isolates had lower EC₅₀ values than 0.550 µg/ml. The isolates of *C. gloeosporioides* exhibited a negative cross resistance between carbendazim and diethofencarb (a *N*-phenylcarbamate fungicide), but isolates of *C. acutatum* did not. Toward carbendazim, *C. coccodes* and *C. dematium* isolates showed a similar response to *C. acutatum* isolates and the sensitive isolates of *C. gloeosporioides*, respectively. As for response of protective fungicides, all the isolates of *C. acutatum* showed a more resistant reaction than all the isolates of *C. gloeosporioides*. However, there was no difference among 4 species of *Colletotrichum* against EBI fungicides.

Keywords : Benzimidazole, *Colletotrichum*, Ergosterol biosynthesis-inhibiting fungicide, Fungicidal reaction, Protective fungicide

식물병의 여러 가지 방제 방법 중에서 가장 실질적인 방법은 농약을 사용하는 화학적 방제 방법일 것이다. 농약을 처리하는 화학적 방제를 통하여 농업 생산성이 질적으로, 또 양적으로 향상된 것이 사실이지만, 더불어 농약의 잔류와 환경 오염이라는 문제를 야기하기도 하였다. 농약 사용에 있어서의 이러한 문제의 주된 원인은 농약의 남용과 오용의 문제라고 생각한다. 농약의 남용과 오용을 방지하기 위해서는 병원균의 확실한 동정과 효과적인 저농약 방제 시스템의 확립이 필요하다.

국내에서 고추 탄저병을 일으키는 병원균으로는 *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. acutatum*, *C. coccodes*, *C. dematium*, 그리고 완전세대인 *Glomerella cingulata* 등이 보고되어 있다(박과 김, 1992). 이들 고추 탄저병균은 *Colletotrichum*이 갖는 형태적인 특징을 기준으로 하여 분류와 동정이 수행되어져 왔다(Freeman 등, 1998). 그러나 *Colletotrichum*속 안에서 형태적인 특징만으로 종을 분류하는 것이 한계를 드러내는 종들이 나타나면서, 정확한 동정을 위해 형태적인 특징의 관찰과 더불어 생리적인 특성(Denoyes와 Baudry, 1995)과 ITS 영역의 염기서열 분석을 통한 동정 방법(Talhinhas 등, 2002; Vinnere 등, 2002)이나, 종 특이적인 primer를 사용한 PCR(Adaskaveg와 Hartin, 1997; Forster와 Adaskaveg, 1999)과 같은 분자생

*Corresponding author

Phone)+82-43-261-2556, Fax)+82-43-271-4414

E-mail) htkim@cbnu.ac.kr

물리적인 다양한 기술을 이용한 동정 방법이 사용되기 시작하였다. 이러한 동정의 방법들을 이용하여 탄저병균의 동정이 보다 정확하고 효과적으로 진행되며, 국내의 고추 탄저병균 우점종이 *C. gloeosporioides*에서 *C. acutatum*으로 변화하였다고 보고되었다(김과 김, 2004). *C. acutatum*이 국내 고추 탄저병균의 우점종으로 변화하면서 화학적 방제를 위한 살균제의 처리에도 어려움이 따르게 되었다. 국내에는 고추 탄저병의 방제를 위해서 benzimidazole계 살균제와, ergosterol 생합성 저해 살균제, 그리고 프로피 수화제와 같은 보호용 살균제들이 등록되어 사용되고 있다.

Benzimidazole계의 살균제는 작용범위가 넓은 살균제로서 다양한 식물병원진균의 미세소관의 형성을 억제하기 때문에 세포 분열이 중기에서 정지되어 낮은 처리 농도에서도 균사 성장을 억제하는 살균제로 알려져 있다(Burland와 Gull, 1984; Fujimura 등, 1992). 고추 탄저병균으로 보고되어 있었던 *C. gloeosporioides*도 benzimidazole계 살균제의 낮은 처리 농도에서 균사의 생육이 억제되지만, *C. acutatum*은 benzimidazole계의 살균제에 대해서 비감수성 반응을 보인다는 보고가 있다(Ishii 등, 1988). 동일한 *Colletotrichum*의 속에 속하지만, 살균제에 대한 반응이 서로 다른 것이다.

이처럼 식물병원진균 중에는 동일한 속 또는 종임에도 불구하고 살균제에 대한 반응이 서로 다른 경우가 보고되어 있다. Kataria 등(1991)은 다양한 살균제를 가지고서 *Rhizoctonia solani*의 여러 균사 융합군(anastomosis group, AG)에 대한 균사 성장 억제 효과를 조사하였는데, pencycuron은 AG 2-2, AG 3, AG 6에 속하는 균주에 대해서 균사 성장을 90% 억제하는 농도가 0.2, 0.2, 0.60 µg/ml인 반면에, AG 1, AG 4, AG 5 등에 대해서는 5000 µg/ml 이상이었다고 하였다. 대부분의 진균의 균사생장을 저해하는 것으로 알려진 ergosterol 생합성 저해 살균제인 fenarimol은 pencycuron과는 다르게 AG 1과 AG 7에 대해서 2.5와 14.0 µg/ml에서 균사의 성장을 90% 억제하였으나, AG 2-1, AG 2-2, AG 3, AG 4, AG 5에 대해서는 5000 µg/ml에서도 90%의 균사 성장 억제 효과는 보이지 않았다고 보고하였다. Lyr(1995)는 난균문에 속하는 *Phytophthora*속의 다양한 종을 가지고 난균문의 방제를 위해서 등록되어 있는 살균제들의 실험을 수행하였다. Metalaxyl을 0.1 µg/ml 첨가한 배지에서 *P. cactorum*의 균사 생육은, 살균제 무처리 배지에서의 균사 성장에 비하여 100% 억제되었지만, *P. infestans*는 85%만 균사 생장이 억제되었고, cymoxanil을 첨가한 경우에도 *P. infestans*의 균사 생장은 100% 억제되지만, *P. cactorum*은 3% 밖에 균사의 생육을 억제하지 못하였다고 발표하였다. 이

처럼 살균제는 그 종류에 따라서 병원균의 종간에, 또는 가까운 근연 그룹간에서도 그 감수성의 차이가 크게 나타나고 있다.

국내에서 고추 탄저병균은 *Colletotrichum*속의 4종의 병원균에 의해서 발생하는 것으로 보고되어 있고, 또 현재 포장에서의 우점종이 과거에 보고되었던 병원균과 다르다면, 포장에서 탄저병의 방제를 위하여 사용하는 살균제의 우점 병원균에 대한 효과를 조사할 필요가 있다. 따라서 본 실험에서는 탄저병의 전형적인 병징을 보이는 고추에서 분리한 탄저병균과 다른 기주에서 분리한 탄저병균의 생리적인 특징을 살펴보고, 기존에 고추 탄저병의 방제를 위하여 사용하는, benzimidazole계 살균제와 보호용 살균제, 그리고 ergosterol 생합성을 저해하는 살균제를 선별하여 다른 기주에서 분리한 다른 종의 *Colletotrichum*에 대한 실험실에서의 병원균 균사생육 억제 효과를 조사하였다.

재료 및 방법

병원균 분리 및 사용한 균주. 실험에는 고추, 사과, 딸기 등의 기주식물에서 단포자 분리한 *Colletotrichum coccodes*(2균주), *C. dematium*(6균주), *C. acutatum*(6균주), *C. gloeosporioides*(14균주) 등 4종의 탄저병균을 사용하였다. 고추에서 분리한 *C. gloeosporioides*와 *C. acutatum*은 고추 열매의 탄저병 병반에서 단포자 분리하여 실험에 사용하였다. 채집한 병든 고추 열매는 플라스틱 용기(200×250×70 mm, L×W×H)에 넣고 24시간 동안 25°C에 습실 처리하여 병반 위에 분생포자를 형성시켰다. 플라스틱 용기에는 2겹의 키친 타월을 깔고 증류수를 50 ml씩 부어 습실을 유지하였다. 고추 열매의 탄저병 병반 위에 형성된 분생포자를 긁어내어 살균증류수에 현탁하였다. 분생포자 수는 hemacytometer를 이용하여 광학현미경 하에서 조사하면서, 포자의 농도를 약 1×10⁶ 개/ml로 조정하였다. 포자 현탁액은 300 µg/ml의 streptomycin이 첨가된 PDA(potato dextrose agar, Difco)에 100 µl를 도말하여 25°C 항온기에서 배양하였다. 2~3일 후에 PDA에서 자라나온 균사 끝을 떼어내어 새로운 PDA로 옮겨 25°C 항온기에서 배양하였다. 사과와 딸기에서 분리한 탄저병균은 경북대학교와 논산의 딸기시험장으로부터 분양받아 실험에 사용하였다.

병원균의 보관. 실험에 사용한 탄저병균의 균주들은 PDA에 접종하여 25°C의 암상태에서 7일간 배양하였다. 균총의 균사 선단에서 지름 5 mm의 균사 조각을 떼어내어 Cryotube™(직경; 12 mm, 높이; 48 mm, Nunc)에 5조

각씩 넣고, 1 ml의 멸균증류수를 부어 보관 균주를 만들어 상온에서 보관하였다. 또한 장기 보관을 위해서 Cryotube™에 병원균의 균사 조각을 넣고, 멸균증류수 대신에 6% DMSO(dimethyl sulfoxide)를 사용하여 -70°C에 보관하였다. 새로운 실험을 위해서는 보관하는 균주를 25°C의 PDA에서 배양하여 접종원으로 사용하였다.

병원균의 균사 생장 및 균총색. PDA 배지에서 3일 동안 자란 균총의 가장자리에서 떼어낸 지름 5 mm의 균사 조각을 새로운 PDA 배지에 올려놓고 25°C와 30°C의 압 조건에서 5일간 배양한 후에 균총의 직경을 측정하였다. 실험은 3반복으로 실시하였으며, 3회 실험한 결과 분석하였다. 탄저병균을 접종한 PDA 배지를 25°C의 암상대에서 14일간 배양하고 배지 뒷면에서의 균총의 색깔을 조사하였다.

실험에 사용한 살균제 및 살균제 배지 준비. 고추 탄저병의 방제에 사용되는 10개의 살균제를 선별하여 실험에 사용하였다. Benzimidazole계 살균제 중에서 carbendazim(90%)을 선별해서 사용하였으며, benzimidazole계와 N-phenylcarbamate계 살균제 사이의 역상관 교차 저항성을 조사하기 위하여 carbendazim과 diethofencarb의 혼합 수화제를 사용하였다. 보호용 살균제로는 dithianon(95% 이상), chlorothalonil(97%), propineb(93%) 등을 사용하였다. Ergosterol 생합성 저해(EBI) 살균제로는 tebuconazole(95% 이상), hexaconazole(92%), prochloraz(98.5%) 등을 선별하여 다양한 탄저병균인 *Colletotrichum* 속에 대한 감수성 정도를 조사하였다.

선발에 사용한 살균제의 원제는 DMSO에 용해시켜 적정 농도가 되게 PDA 배지에 희석하여 첨가하였으며, 모든 배지에서의 DMSO 농도는 1%가 되도록 조정하였다. 병원균을 접종한 PDA는 25°C의 암조건에서 7일간 배양한 후 아래 공식에 의해서 균사 생장 억제율을 구하였다.

$$\text{균사 생장 억제율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{살균제 배지에서의 균총의 직경}}{\text{무처리 배지에서의 균총의 직경}} \right) \times 100$$

병원균의 병원성 검정. 실험에 사용한 *Colletotrichum* 균주들을 PDA 배지에 접종하여 25°C 암상대에서 7일간 배양하였다. 각각 20 ml의 멸균증류수를 병원균을 배양한 plate에 붓고 멸균한 붓으로 분생포자를 수확하여 현탁액을 만들었다. 분생포자 현탁액은 4점의 가제(cheeze close)에 부어 균사조각을 제거하고, 분생포자 현탁액을 준비한다. 접종원의 분생포자 농도는 hemocytometer를 이용하여 광학현미경에서 분생포자 현탁액의 농도를 1×10^6 개/ml

로 조정하였다. 온실에서 재배한 고추(품종 : 녹광)의 열매는 70% 메탄올로 표면을 세척하고 혈당측정계(ACCUCHEK, Softclix^R)를 이용하여 상처를 낸 후 5 μ l의 포자 현탁액을 점적하여 접종하였다. 접종한 고추 열매는 플라스틱 용기에 넣고, 2주간 습실 상태로 25°C에서 보관하며 발병정도를 조사하였다.

결과 및 고찰

병원균의 균사 생장 및 균총색. 고추, 사과 및 딸기의 탄저병균을 PDA 배지에 새롭게 접종하여 25°C와 30°C의 암상대에서 5일간 배양한 후 균총의 직경을 조사하였고, 동일한 조건에서 14일간 배양한 후 균총 색깔을 비교하였다(Table 1). 실험에 사용한 탄저병균들은 균사생장에 따라서 두 group으로 구별할 수 있었다. 고추 탄저병균 10개의 균주와 사과 탄저병균 B88은 균사 생장이 30°C보다 25°C에서 빨랐으며, 25°C에서의 균사 생장이 6.7~8.1 mm/일로 나머지의 다른 탄저병균과 비교할 때 생장 속도가 늦었다(group I). B88을 제외한 사과 탄저병균 9균주, 2001-44와 2001-45와 같은 고추 탄저병균과 그리고 실험에 사용한 딸기 탄저병균 모두는 25°C와 30°C에서의 균사 생장이 비슷하였으며, 30°C에서의 균사 생장은 9.7~16.0 mm/일로 group I보다 빠르게 성장하는 것을 알 수 있었다(group II). 고추에서 분리한 2001-44와 2001-45의 균총의 색은 흰색이었다. 사과에서 분리한 탄저병균 중에서 B13과 B138도 위의 두 균주와 동일하게 흰색의 균총을 형성하였고, B-88은 주황색의 균총을 형성하였다. 사과에서 분리한 나머지 균주의 균총색은 모두 회색을 나타내었다. 딸기에서 분리한 균주는 모두 회색의 균총을 형성하였다. 균총의 색은 고추와 딸기의 경우와 같이 동일한 기주 식물에서 분리한 탄저병균은 모두 동일한 색인 회색의 균총을 형성하고 있었으나, 사과에서 분리한 탄저병균은 다른 기주에서 분리한 균주와는 다르게 그 색이 흰색, 회색, 주황색으로 다양하게 나타났다. 균총의 색이 탄저병균의 분류의 기준이 되기 때문에 탄저병균을 동정하고자 할 경우 균총의 색을 관찰하는 경우가 있었다. 박과 김(1992)은 *C. acutatum*의 경우, 균총이 색이 보라색을 나타내며, *C. gloeosporioides*는 회색을 나타낸다고 보고하고 있으나, 김과 김(2004)은 *C. acutatum*의 균주도 *C. gloeosporioides*와 같이 회색을 나타낸다고 보고하기도 하였다. Bernstein 등(1995)은 균총의 색과 균주의 균사생장 속도와 관련이 있으며, 균총색이 오렌지색을 띄는 균주의 균사생육은 느리지만, 회색을 띄는 균주의 색은 빠르다고 보고하고 있다. 본 실험에서는 균총의 색이

Table 1. Mycelial growth rate at two selected temperatures and colony color of *Colletotrichum* spp. isolated from pepper, apple and strawberry

Isolate	Host	Growth rate (mm/day) ^a		Colony color ^b	Group
		25°C	30°C		
FL001	pepper	8.1	5.9	gray	I
KS21	pepper	7.2	4.1	gray	I
JC24	pepper	8.1	6.1	gray	I
CJ38	pepper	7.3	4.4	gray	I
YS29	pepper	7.0	4.2	gray	I
02GG01	pepper	7.2	3.7	gray	I
02YY02	pepper	6.7	4.6	gray	I
02OG04	pepper	7.0	5.4	gray	I
02OG07	pepper	7.1	4.0	gray	I
02CO01	pepper	7.0	4.3	gray	I
2001-44	pepper	10.3	9.7	white	II
2001-45	pepper	10.2	10.0	white	II
B88	apple	7.8	6.0	orange	I
B165	apple	11.7	11.8	gray	II
B13	apple	13.0	10.6	white	II
B138	apple	11.0	11.6	white	II
B161	apple	12.3	12.5	gray	II
B176	apple	11.7	11.2	gray	II
B90	apple	11.8	10.6	gray	II
B92	apple	13.8	12.8	gray	II
B143	apple	11.6	12.7	gray	II
B147	apple	12.5	11.8	gray	II
CGF225	strawberry	14.4	16.0	gray	II
CGF50	strawberry	12.9	12.0	gray	II
CGF56	strawberry	12.7	11.8	gray	II
CGF214	strawberry	11.7	10.5	gray	II
CGF210	strawberry	12.1	12.0	gray	II
CGF212	strawberry	11.3	11.6	gray	II
CGF215	strawberry	10.8	11.1	gray	II
CGF250	strawberry	11.8	12.4	gray	II
CGF253	strawberry	10.1	12.2	gray	II
CGF254	strawberry	11.0	12.8	gray	II

^aValues are means of 3 replications after 5 days of incubation on PDA.

^bColony color of *Colletotrichum* spp. was investigated on PDA at 25°C after 14 days.

*Colletotrichum*속을 분류, 동정하는 기준이 될 수는 없는 것 같지만, 균사의 성장 속도는 *Colletotrichum*속을 동정하는 기준이 될 수 있을 것으로 판단한다. Adaskaveg와 Forster (2000)는 균사 생장의 속도를 가지고서 *C. gloeosporioides*와 *C. acutatum*을 분류하고 있었는데, *C. gloeosporioides*의 균사 성장 속도가 *C. acutatum*보다 빠르며, 25°C에서의 성장 속도보다 30°C에서의 성장 속도가 빠르다고 보고하였다. 그에 비하여 *C. acutatum*은 균사 성장 속도가 느리며, 25°C가 생육의 적온임이 여러 연구자들에 의해서 보고되어 있다. Table 1에서도 균사 성장 속도와 성장 적온을 가지고서 두 개의 group으로 실험에 사용한 탄저병균의 균주를 나눌 수가 있었다. 고추를 기주로 하는 탄

저병균은 2001-44와 2001-45를 제외한 모든 균사의 성장 속도가 느리고 성장 적온 역시 25°C인 것을 보면, *C. acutatum*에 가까운 특성을 보이며, 예외적이었던 두 균주는 *C. gloeosporioides*의 특성을 보이고 있었다. 사과에서 분리한 탄저병균들도 두 개의 group으로 구분할 수 있었지만, 딸기의 탄저병균들은 *C. gloeosporioides*의 group II에 속하는 특성을 보이고 있었다. 병원균의 분류, 동정을 균사의 성장 특성만을 가지고서 실시할 수는 없지만, 최소한 고추, 사과 딸기에서 분리한 탄저병균들을 두 개의 group으로 구별할 수는 있었다. 최근에는 탄저병균의 형태의 기준을 이용한 분류, 동정보다는 분자생물학적인 분류, 동정의 방법이 더 신뢰성이 높으며, 실제 많은 연구자들이 분자생물학적인 방법을 탄저병균의 분류, 동정에 도입하고 있다.

Benzimidazole계 살균제에 대한 *Colletotrichum*속 탄저병균의 반응. 실험에 사용한 4가지 종(*C. acutatum*, *C. coccodes*, *C. dematium*, *C. gloeosporioides*)의 탄저병균을 carbendazim에 대한 EC₅₀(50% 균사생장억제 농도)과 MIC(100% 균사생장을 억제하는 최소 농도) 값을 조사하였다(Table 2). 고추에서 분리한 *C. dematium* 6균주 모두는 carbendazim에 대하여 EC₅₀ 값이 0.04~0.97 µg/ml, MIC 값은 4와 20 µg/ml로 나타났다. 고추, 사과, 딸기에서 분리한 *C. gloeosporioides*는 carbendazim에 대해서 감수성 균주와 저항성 균주로 분류가 가능하였다. 고추에서 분리한 2001-44와 2001-45, 사과의 B13과 B138, 딸기에의 CGF89, CGF94, CGF252는 모두 감수성 균주로서 EC₅₀ 값이 0.001~0.55 µg/ml로 매우 낮았고 MIC 값도 CGF252가 100 µg/ml, CGF89가 10 µg/ml이었으며 나머지 균주는 1 µg/ml로 나타났다. 사과에서 분리한 B90, B92, B147과 딸기의 CGF50, CGF54, CGF222는 EC₅₀ 값과 MIC 값이 모두 100 µg/ml가 넘어가는 높은 저항성을 보였다. 몇몇의 연구자들에 의해서 *C. acutatum*의 benzimidazole계 살균제에 대한 비감수성이 보고되어 있다. 특히 Ishii 등은 benzimidazole계 살균제와 *N*-phenylcarbamate계 살균제의 역상관 교차 저항성의 관계를 가지고서 *C. gloeosporioides*와 *C. acutatum*의 구별이 가능하다고 보고하였다. 그러나 최근 딸기 등에서 분리한 탄저병균의 균주가 benzimidazole계와 *N*-phenylcarbamate계 살균제에 대한 반응이 지금까지 보고된 것과는 다른 반응을 보였기 때문에 살균제 반응을 이용한 *Colletotrichum*속의 동정의 정확성에 문제를 제기하게 되었다(Ishii 등, 1998). 결국 *Colletotrichum*속의 탄저병균의 정확한 동정을 위해서는 분자생물학적인 방법을 통해야 하며, 살균제의 반응은 분류, 동정에 필요한 기본적인 정보만을 제공한다고 할 수 있다. 하지만

Table 2. Inhibitory effect of carbendazim on the mycelial growth of *Colletotrichum* spp. on PDA at 25°C

Species	Isolate	Host	Region isolated	EC ₅₀ ^a	MIC ^b
<i>C. acutatum</i>	JC24	pepper	Jincheon	0.92	>100
	KS21	pepper	Geosan	3.04	>100
	MJ08	pepper	Mooju	2.94	>100
	02YY02	pepper	Yougndong	0.17	>100
	02OG07	pepper	Okcheon	0.001	>100
	02JB04	pepper	Jincheon	0.31	>100
<i>C. gloeosporioides</i>	2001-44	pepper	Jincheon	0.24	1
	2001-45	pepper	Jincheon	0.01	1
	B13	apple	Taegu	0.01	1
	B138	apple	Taegu	0.07	1
	B90	apple	Taegu	>100	>100
	B92	apple	Taegu	>100	>100
	B147	apple	Taegu	>100	>100
	CGF89	strawberry	Nonsan	0.02	10
	CGF94	strawberry	Iksan	0.001	1
	CGF252	strawberry	Nonsan	0.55	100
	CGF50	strawberry	Nonsan	>100	>100
	CGF54	strawberry	Nonsan	>100	>100
CGF222	strawberry	Nonsan	>100	>100	
<i>C. coccodes</i>	KACC40010	pepper	Taejeon	3.98	>100
	KACC40803	potato	Jeju	0.09	>100
<i>C. dematium</i>	02CS01	pepper	Chungju	0.04	20
	02UD01	pepper	Eumseong	0.11	4
	02UD02	pepper	Eumseong	0.26	4
	02UD03	pepper	Eumseong	0.97	4
	02UD04	pepper	Eumseong	0.41	4
	02UD05	pepper	Eumseong	0.43	4

^aConcentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$) causing mycelial growth inhibition by 50%.

^bThe lowest concentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$) that completely inhibited mycelial growth.

본 실험에 사용한 균주에서는 Table 3와 같이, Ishii 등 (1998)이 보고한 것과 같은 예외적인 균주를 발견할 수 없었으며, 국내의 균주는 아직까지 benzimidazole계와 *N*-phenylcarbamate계 살균제에 대한 반응을 가지고서 두 종의 탄저병균을 분류할 수 있을 것으로 생각된다.

보호용 살균제에 대한 반응. 고추 탄저병의 방제에 사용하고 있는 chlorothalonil과 propineb에 대하여 *C. acutatum*은 *C. gloeosporioides*의 다른 균주들보다 높은 EC₅₀ 값을 보여 종에 따른 살균제에 대한 반응이 다름을 보여주고 있다(Table 4). 그러나 *C. gloeosporioides*의 균주들 중에는 chlorothalonil과 propineb에 대한 저항성이 높은 예외적인 균주들도 있었다. Dithianon은 다른 균주들에 비해서 *Colletotrichum*의 종에 따라 감수성 정도에 큰 차이가 나타나지는 않았다. 보호용 살균제의 대부분은 균사 생장 억제 효과보다는 포자의 발아를 저해하는 효과가 크다고 알려져 있다. 특히 김 등(2003)은 *C. acutatum* JC24를 가지고서 수행한 실험에서 보호용 살균제인 mancozeb는 0.39 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서도 효과적으로 병원균의 발아를 억제하고 있다고 보고하였다. 본 실험에서

는 포자 발아에 대한 억제 효과를 조사하지는 않았지만, 보호용 살균제가 보이는 균사 생장 억제 효과가 *C. gloeosporioides*와 *C. acutatum* 사이에는 차이가 있었기 때문에 *Colletotrichum*속의 탄저병균에 대한 보호용 살균제들의 효과를 비교하고자 하였다.

Ergosterol 생합성 저해 살균제에 대한 반응. 탄저병균 4종(*C. acutatum*, *C. coccodes*, *C. dematium*, *C. gloeosporioides*)의 3가지 EBI 살균제(tebuconazole, hexaconazole, prochloraz)에 대한 EC₅₀ 값을 조사하였다(Table 5). *Colletotrichum*의 종간에는 EBI 살균제에 대한 EC₅₀ 값에 있어서의 차이가 보이지 않았다. 다만 *C. gloeosporioides* 중 2001-45균주는 tebuconazole과 hexaconazole에 대한 EC₅₀ 값이 34.0, 17.07 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 다른 균에 비해 높은 저항성 반응을 보였지만, prochloraz에 대한 EC₅₀ 값은 0.070 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 다른 균주와 차이를 보이지 않았다. Ergosterol 생합성 저해 살균제는 병원균의 ergosterol 생합성 과정에서 C₁₄-demethylase의 활성을 저해하는 것으로 알려져 있으며, 병원균의 포자 발아 억제 효과는 미미하나, 균사 생장은 아주 낮은 농도에서도 강하게 억제하는 것으로 보

Table 3. Negative cross resistance of *Colletotrichum* spp. to carbendazim and the mixture of carbendazim and diethofencarb

Species	Isolate	Host	Carbendazim		Carb. + Dietho. ^a	
			EC ₅₀ ^b	MIC ^c	EC ₅₀	MIC
<i>C. acutatum</i>	JC24	pepper	0.92	>100	1.12	>100
	KS21	pepper	3.04	>100	1.49	>100
	MJ08	pepper	2.94	>100	1.24	>100
	02YY02	pepper	0.17	>100	14.0	>100
	02OG07	pepper	0.001	>100	0.01	>100
	02JB04	pepper	0.31	>100	0.94	>100
<i>C. gloeosporioides</i>	2001-44	pepper	0.24	1	0.06	100
	2001-45	pepper	0.01	1	0.01	100
	B13	apple	0.01	1	0.01	1
	B138	apple	0.07	1	0.04	10
	B90	apple	>100	>100	0.12	100
	B92	apple	>100	>100	0.09	100
	B147	apple	>100	>100	0.11	100
	CGF89	strawberry	0.02	10	0.13	1
	CGF94	strawberry	0.001	1	0.09	100
	CGF252	strawberry	0.55	100	0.01	100
	CGF50	strawberry	>100	>100	0.58	10
	CGF54	strawberry	>100	>100	0.31	10
	CGF222	strawberry	>100	>100	0.49	10
<i>C. coccodes</i>	KACC40010	pepper	3.98	>100	127.6	>100
	KACC40803	potato	0.09	>100	0.29	>100
<i>C. dematium</i>	02CS01	pepper	0.04	20	0.72	20
	02UD01	pepper	0.11	4	0.53	4
	02UD02	pepper	0.26	4	0.75	4
	02UD03	pepper	0.97	4	2.47	20
	02UD04	pepper	0.41	4	0.64	4
	02UD05	pepper	0.43	4	0.93	4

^aFigures indicated the mixture of carbendazim and diethofencarb.

^bConcentration ($\mu\text{g}/\text{m}$) causing mycelial growth inhibition by 50%.

^cThe lowest concentration ($\mu\text{g}/\text{m}$) that completely inhibited mycelial growth.

Table 4. Inhibitory effect of several protective fungicides on the mycelial growth of *Colletotrichum* spp. on PDA incorporated with each fungicide

Species	Isolate	Iminoctadine ^a	Dithianon	Chlorothalonil	Propineb
<i>C. acutatum</i>	JC24	506.6 ¹	185.2	412.1	4.7
	KS21	227.4	45.7	357.5	53.2
	MJ08	182.7	165.2	>500	44.1
	02YY02	185.3	40.6	18.9	168.5
	02OG07	462.0	137.8	1522.0	332.0
	02JB04	90.4	90.4	846.1	177.4
<i>C. gloeosporioides</i>	2001-44	0.01	33.8	61.93	-
	2001-45	0.15	61.7	952.1	7.2
	B13	<0.01	14.0	22.4	102.2
	B138	0.3	11.8	61.6	21.8
	B90	<0.01	22.5	97.4	41.2
	B92	<0.01	40.5	44.0	8.6
	B147	0.01	14.0	460.3	4.5
	CGF89	<0.01	50.2	2.3	1.2
	CGF94	<0.01	34.6	34.3	0.3
	CGF252	<0.01	42.1	8.9	6.1
	CGF50	0.01	66.3	65.6	3.1
	CGF54	3.1	47.4	30.7	7.5
	CGF222	0.01	68.4	27.5	2.4

^aConcentration ($\mu\text{g}/\text{m}$) causing mycelial growth inhibition by 50%.

Table 5. Effective concentration-inhibiting a mycelial growth of *Colletotrichum* spp. on PDA incorporated with each fungicide by 50%

Species	Isolate	Tebuconazole ^a	Hexaconazole	Prochloraz
C. <i>acutatum</i>	JC24	0.20 ¹	0.22	0.24
	KS21	0.31	1.02	0.08
	MJ08	0.54	0.47	0.05
	02YY02	0.01	0.10	0.02
	02OG07	0.49	1.20	0.02
	02JB04	0.06	1.30	0.02
C. <i>gloeosporioides</i>	2001-44	0.6	0.34	0.26
	2001-45	34.0	17.07	0.07
	B13	1.93	1.58	0.01
	B138	1.81	2.26	0.02
	B90	2.02	1.37	0.03
	B92	2.16	1.31	0.02
	B147	1.74	1.68	0.08
	CGF89	1.81	0.73	0.09
	CGF94	1.91	1.42	0.02
	CGF252	0.20	0.39	0.01
C. <i>coccodes</i>	CGF50	0.51	0.60	>0.01
	CGF54	0.39	2.49	0.09
	CGF222	0.60	0.73	>0.01
	KACC40010	2.17	0.39	0.31
	KACC40803	0.83	0.40	0.26
		02CS01	0.12	0.20
C. <i>dematiium</i>	02UD01	0.04	0.20	0.01
	02UD02	0.03	0.20	0.01
	02UD03	0.23	0.70	0.01
	02UD04	0.01	0.10	0.01
	02UD05	0.03	0.20	0.01

^aConcentration ($\mu\text{g/ml}$) causing mycelial growth inhibition by 50%.

고되어 있다. 결과에서 보는 것과 같이 ergosterol 생합성 저해 살균제에 대한 탄저병균들의 반응은 종이 달라진다고 해서 변화되는 것이 아님을 알 수 있었다.

살균제가 동일한 작용 기작을 가지고 있다고 하여도, 또는 동일한 살균제에 국한하여 보더라도 병원균의 종류에 따라서 살균제에 대한 반응은 매우 다양하게 나타난다. Kataria 등(1991)은 *Rhizoctonia solani*의 균사 융합균에 따라서 살균제에 대한 반응이 다르다고 보고하였고, Lyr(1995)는 난균문의 병원균의 방제를 위해서 사용되는 살균제에 대한 *Phytophthora* 속에 속하는 여러 가지 종의 반응을 보고하였는데, 살균제에 따라서는 *Phytophthora*의 종에 대한 반응이 크게 차이가 나는 경우가 있었다. Cymoxanil을 배지에 100 $\mu\text{g/ml}$ 로 첨가하였을 때, *P. cryptogaea*와 *P. citricola*는 균사 생육이 전혀 억제되지 않은 반면에, *P. infestans*와 같은 병원균의 균사 생육은 100% 억제되었다. 이처럼 살균제에 대한 병원균의 반응은 병원균의 분류상의 근연 관계와는 무관하게 상이한 반응을 나

타내는 경우도 있다. 고추 탄저병균은 박과 김(1992)에 의해서 *C. gloeosporioides*가 국내의 우점종으로 보고되어 있었으나, 최근 여러 발표를 통하여 우점종이 *C. acutatum*으로 변화하였다고 보고하고 있다. 이러한 상황에서 병원균이 방제를 위하여 사용하는 살균제에 대한 반응이 다르다면, 포장에서 살균제를 사용하였을 때의 방제 효과도 변화할 것으로 예상된다. 본 실험의 결과와 같이 benzimidazole계 살균제와 보호용 살균제에 속하는 살균제들을 포장에서 직접 사용할 때에는 우점종의 변화를 감안하여 방제 시스템을 확립해야 할 것이다. 그러나 살균제 중에는 ergosterol 생합성을 저해하는 살균제와 같이 *Colletotrichum*의 종에 관계없이 유사한 반응을 보이는 살균제들도 있었다.

요 약

다양한 작물로부터 분리한 4종의 탄저병균, *C. gloeosporioides*, *C. acutatum*, *C. coccodes* 및 *C. dematiium* 등의 균주들에 대하여 여러 가지 살균제, 즉 carbendazim, carbendazim과 diethofencarb와의 혼합제, 4개의 보호용 살균제 및 3개의 ergosterol 생합성 저해(EBI) 살균제 등에 대한 약제 반응을 조사하였다. Benzimidazole계에 속하는 carbendazim에 대해서 4종의 *Colletotrichum*의 반응은; *C. acutatum*은 사용한 6개의 균주 모두 EC₅₀ 값은 0.001~3.04 $\mu\text{g/ml}$ 사이에 있었으며, 모든 균주의 MIC 값은 100 $\mu\text{g/ml}$ 이상이였다. 고추와 사과, 딸기에서 분리한 *C. gloeosporioides*는 carbendazim에 대해서 저항성과 감수성 반응이 뚜렷하게 구별되었는데, 고추의 두 균주는 EC₅₀ 값은 0.24와 0.01 $\mu\text{g/ml}$ 이었으며 MIC 값 역시 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 이였다. 이러한 반응은 사과와 딸기에서 분리한 균주 중에서 감수성 반응을 보이는 균주인 B13과 138, 그리고 CGF89와 94, 252에서도 비슷한 경향을 보였다. 그러나 저항성 균주로 판명된 B90, 92, 147과 CGF50, 54, 222는 EC₅₀ 값과 MIC 값 모두가 100 $\mu\text{g/ml}$ 를 상회하였다. *C. gloeosporioides*는 carbendazim과 역상관 교차 저항성을 보이는 diethofencarb와 carbendazim의 혼합제에 대해서는 모두 1~100 $\mu\text{g/ml}$ 의 MIC 값을 보였지만, *C. acutatum*은 100 $\mu\text{g/ml}$ 이상의 MIC 값을 보였다. Carbendazim에 대하여 *C. coccodes*는 *C. acutatum*과 그리고 *C. dematiium*는 *C. gloeosporioides*의 감수성 균주들의 반응과 유사한 반응을 보였다. 4종의 보호용 살균제에 대해서는 *C. acutatum*은 *C. gloeosporioides*보다도 높은 저항성인 반응을 보였다. 그러나 ergosterol 생합성 저해 살균제에 대해서는 4종의 탄저병균이 일정한 경향을 보였다.

감사의 글

본 연구 결과는 농림기술센터(연구과제 번호 : 20020595)의 연구비와 과학재단의 연구비를 지원받는 “고추 탄저병균의 분자역학 조사 및 살균제 저항성 유전자의 동태 파악(R01-2003-000-10898-0)”의 과제로 수행된 것으로 본 논문을 발표하는 자리를 빌려 감사를 표합니다.

참고문헌

- Adaskaveg, J. E. and Forster, H. 2000. Occurrence and management of anthracnose epidemics caused by *Colletotrichum* species on tree fruits crops in California. pp. 317-336. ed. by Prusky, D., Freeman, S. and Dickman, M. B. In *Colletotrichum* host specificity, pathology, and host-pathogen interaction. 393 pp.
- Adaskaveg, J. E. and Hartin, R. J. 1997. Characterization of *Colletotrichum acutatum* isolates causing anthracnose of almond and peach in California. *Phytopathology* 87: 979-987.
- Bernstein, B., Zehr, E. I. and Dean, R. A. 1995. Characteristics of *Colletotrichum* from peach, apple, pecan, and other hosts. *Plant Dis.* 79: 478-482.
- Burland, T. G. and Gull, K. 1984. Molecular and cellular aspects of the interaction of benzimidazole fungicides with tubulin and microtubules. pp. 299-320. ed. by Trinci, A. P. J and Ryley, J. F. In Mode of action of antifungal agents. pp. 405.
- Denoyes, B. and Baudry, A. 1995. Species identification and pathogenicity study of French *Colletotrichum* strains isolated from strawberry using morphological and cultural characteristics. *Phytopathology* 85: 53-57.
- Forster, H. and Adaskaveg, J. E. 1999. Identification of subpopulations of *Colletotrichum acutatum* and epidemiology of almond anthracnose in California. *Phytopathology* 89: 1056-1065.
- Freeman, S., Katan, T. and Shab, E. 1998. Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. *Plant Dis.* 82: 596-605.
- Fujimura, M., Kamakura, T. and Yamaguchi, I. 1992. Action mechanism of diethofencarb to a benzimidazole-resistant mutant in *Neurospora crassa*. *J. Pesticide Sci.* 17: 237-242.
- Ishii, H., Iwamoto, S., Nishimura, K. and Fukaya, M. 1998. Comparative studies on fungicide sensitivity and other characteristics in *Colletotrichum* isolated from various plant species. pp. 529-534. Brighton crop protection conference Pests & Diseases-1998.
- Kataria, H. R., Verma, P. R. and Gisi, U. 1991. Variability in the sensitivity of *Rhizoctonia solani* anastomosis groups to fungicides. *J. Phytopathol.* 133: 121-133.
- 김홍태, 김윤식. 2004. 우리나라 주요 고추 탄저병균의 변화. pp. 181-206. 한국 고추의 분자 유전과 육종. 김병동 등. 522 pp.
- 김재정, 김준태, 박성우, 박은숙, 김홍태. 2003. 고추 탄저병균의 포자 발아와 부착, 균사 생장에 미치는 화합물의 활성 검정법 확립 및 살균제의 효과. 한국농약과학회지 7: 159-168.
- Lyr, H. 1995. Selectivity in modern fungicides and its basis. pp.13-22. ed. by Lyr, H. In Modern selective fungicides - Properties, Applications, Mechanisms of action. 595 pp.
- Park, K. S. and Kim, C. H. 1992. Identification, distribution and etiological characteristics of anthracnose fungi of red pepper in Korea. *Kor. J. Plant Pathol.* 8: 61-69.
- Talhinhas, P., Sreenivasaprasad, S., Neves-Martins, J. and Oliveria, H. 2002. Genetic and morphological characterization of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose of lupins. *Phytopathology* 92: 986-996.
- Vinnere, O., Fatehi, J., Wright, S. A. I. and Gerhardson, B. 2002. The causal agent of anthracnose of *Rhododendron* in Sweden and Latvia. *Mycol. Res.* 106: 60-69.