

## 인삼 잣빛곰팡이병균의 procymidone에 대한 감수성 변화와 carbendazim/diethofencarb 합제와의 다중 저항성

이선욱 · 김주형<sup>1</sup> · 민지영<sup>1</sup> · 배영석<sup>2</sup> · 김홍태<sup>1\*</sup>

(주)영일케미컬연구소, <sup>1</sup>충북대학교 농업생명환경대학 응용생명환경학부 식물의학전공,

<sup>2</sup>작물과학원 인삼약초연구소 인삼과

## Monitoring for the Resistance of *Botrytis cinerea* Causing Ginseng Gray Mold to Procymidone and Its Multiple resistance with the Mixture of Carbendazim/Diethofencarb

Seon Wook Lee, Joohyung Kim<sup>1</sup>, Ji Young Min, Young-Seok Bae<sup>2</sup> and Heung Tae Kim<sup>1\*</sup>

Institute of Youngill Chemical, Cheongseong-myeon, Okcheon, Chungbuk 373-883, Korea

<sup>1</sup>Department of Plant Medicine, College of Agriculture, Life and Environment Sciences, Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk 361-763, Korea

<sup>2</sup>Ginseng & Medicinal Plants Research Institute, National Institute of Crop Science(NICS), RDA, Eumseong Chungbuk 369-873, Korea

(Received on November 6, 2007)

Effects of fungicides on the mycelial growth of *Botrytis cinerea* isolated from ginseng leaves were investigated by an agar dilution method. By using a agar dilution method, it was investigated the effect of fungicides, procymidone, carbendazim and the mixture with both of carbendazim and diethofencarb, on the mycelial growth of *Botrytis cinerea* isolates, which were isolated from infected leaves of ginseng in 2005 and 2006. With MIC (minimum inhibitory concentration) of procymidone against *B. cinerea*, pathogens were divided into two groups. While one showed the low MIC between 0.8 and 4.0 µg/ml, the other showed higher MIC above 20 µg/ml. In terms of the inhibition ratio of mycelial growth at the indicated concentration of procymidone, isolates of *B. cinerea* were divided into three groups; the sensitive, the intermediate resistant, and the resistant group. Each group was differentiated by EC<sub>50</sub>; the sensitive group showed below 2.0 µg/ml, the intermediate resistant group between 2.0 to 5.0 µg/ml, and resistant group above 5.0 µg/ml. Compared with the ratio of resistant isolates of *B. cinerea* in 2005, the ratio in 2006 increased from 19.3% to 27.5%. Furthermore, the average EC<sub>50</sub> value of them increased from 10.0 µg/ml in 2005 to 237.3 µg/ml in 2006. The ratio of isolates showing the multiple resistance between procymidone and carbendazim was 40.2%, whereas the ratio was 4.0% showing the multiple resistance in the mixture.

**Keywords :** *Botrytis cinerea*, Fungicide resistance, Ginseng gray mold, Procymidone

인삼은 산형화목 두릅나무과의 속하는 식물로서, 식물체내에 함유되어 있는 사포닌은 항 피로, 혈당치 강하, 용혈작용 등 약리적 효능에 강하며 항암작용 또한 탁월한 것으로 알려져 있다. 전국적인 인삼 생산액은 2001년 3,752 억이었던 생산액이 2002년부터는 5,784억으로 급격하게 상승하였으며, 재배면적과 생산량도 1996년까지는 계속

적인 하락하여 면적이 8,940 ha, 생산량은 10,147 t으로 저조하였지만, 1996년 이후 증가하기 시작하여 2006년의 재배면적은 약 16,400 ha, 생산량은 19,900 t까지 증가하였다. 인삼의 병해로는 19종의 인삼병이 국내에는 알려져 있고, 방제를 위해서 29 품목의 살균제가 등록되어 사용되고 있다(한국작물보호협회, 2007). 인삼은 서늘하고 그늘진 동일한 지역에서 다년간 재배하기 때문에, 재배기간 중에 다양한 병이 발생할 수 있는 좋은 조건이 형성되어 방제에 주의하여야 한다. 매년 반복되는 식물병 방제를

\*Corresponding author

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

E-mail) htkim@chungbuk.ac.kr

위해서 동일한 살균제를 다년간 사용하게 되면 살균제에 대해서 저항성을 갖게 되는 병원균의 출현이 문제화 될 가능성이 있지만, 아직까지 인삼 재배지에서의 살균제에 대한 저항성 병원균의 출현에 대한 모니터링 보고는 많지 않은 상태이다.

Procymidone은 1977년 일본의 스미또모화학에서 개발한 살균제로서 *Botrytis*, *Sclerotinia*, *Monilinia*, *Alternaria* 등이 병을 일으키는 다양한 작물에서 사용되어 왔다(Tomlin, 2006). Benzimidazole계에 대해서 저항성인 식물병원균이 포장에 출현하면서 새롭게 개발된 procymidone의 사용량이 증가하게 되었고, 그 결과로 procymidone에 대한 저항성균이 포장에서 문제가 되기 시작하였다(Pommer와 Lorenz, 1982; Leroux와 Frintz, 1983). 국내에서는 1970년대 말부터 procymidone이 포장에 사용되었는데, 1986년에 토마토에서 분리한 잿빛곰팡이병균 중에서 EC<sub>50</sub>이 10 µg/ml를 넘어가는 저항성균이 40% 이상이었다고 보고되었다(Kim, 1997). 1992년에는 딸기의 잿빛곰팡이병균에서 MIC 값이 8,000 µg/ml를 넘는 병원균이 37%를 차지하였다. 잿빛곰팡이병균은 procymidone뿐만 아니라 동일한 dicarboximide계에 속하는 vinclozolin, iprodione 등의 살균제에 대해서 교차저항성이 있음이 보고되어 있다(김 등, 1993). 또한 procymidone에 대해서 저항성인 균주는 benzimidazole계에 속하는 benomyl에 대해서 1 균주를 제외하고는 모두 다중저항성을 보인다고 보고하였다(김 등, 1993, 1995).

본 실험에서는 포장에서 분리한 인삼 잿빛곰팡이병균의 procymidone에 대한 저항성 모니터링을 실시하여, 연도별, 지역별 저항성 변이의 추세를 조사하고, 저항성과 감수성의 기준을 결정하고자 하였다. 또한 인삼 재배지에서 많이 사용하고 있는 carbendazim과 carbendazim과 diethofencarb 합제와의 다중저항성 발생 여부를 조사하고자 하였다.

## 재료 및 방법

**병원균의 채집 및 분리.** 실험에 사용한 잿빛곰팡이병균은 2005년과 2006년의 7월과 8월에 전국 6개 도, 16개 시, 군의 주요 인삼 포장에서 잿빛곰팡이병의 전형적인 증상이 보이는 인삼의 잎, 줄기 그리고 열매를 채집하였다. 채집한 시료는 건전 부위와 병진 부분을 함께 적당한 크기로 잘라 petri dish(직경; 90 mm, 높이; 15 mm)에 넣고 20°C 항온기에서 2일간 광처리를 하여 포자를 형성하였다. 이 때 petri dish에는 멸균수를 적신 filter paper(직경; 90 mm)를 깔아 내부의 습도를 포화 상태로 유지하였

다. 단포자 분리를 위해서 병진 표면에 발생한 포자를 현미경으로 관찰하여 capillary tube(직경; 1.5~1.8 mm, 길이; 90 mm)를 사용하여 포자를 한개 씩 떼어내어 한천배지(water agar, Difco)에 접종하였다. 2일 뒤에 형성된 균사 끝을 떼어내어 PDA(potato dextrose agar, Difco) 배지에 접종한 후, 20°C 항온기에서 배양하였다.

**보관 균주의 제작.** 분리한 균주들은 새로운 PDA에 접종하여 20°C 항온기에서 4일간 배양하고, 균총의 균사 선단부에서 지름 5 mm의 균사 조각을 떼어내어 Cryotube™ vial(직경; 12 mm, 높이; 48 mm, Nunc)에 10조각씩 넣고 5 ml의 멸균수를 넣어 상온에서 보관하였다. 또한 단포자 분리한 균주를 PDA 사면 배지에 접종하여 20°C에서 1일간 배양한 후, 4°C에서 보관하며 실험에 사용하였다. 실험에는 인삼 재배 포장에서 잿빛곰팡이병균에 감염된 잎을 채집하여 2005년과 2006년에 채집한 92개와 132개 균주를 사용하였다.

**Procymidone에 대한 인삼 잿빛곰팡이병균의 감수성 조사.** Procymidone(a.i. 50%, WP)에 대한 잿빛곰팡이병균의 감수성 정도를 병원균에 대한 약제의 균사생장 억제 정도를 조사하여 비교하였다. 2005년과 2006년에 분리한 총 224개의 인삼 잿빛곰팡이병균을 PDA에 접종하여 20°C에서 4일간 배양한 후, 균사 선단 부위에서 직경 3 mm의 균사 절편을 떼어내어 각 약제를 농도별로 첨가한 PDA 배지에 접종하였다. 실험에 사용한 약제는 멸균수에 용해시켜 PDA 배지에서 각각의 최종농도가 100, 20, 4, 0.8, 0.16, 0.032 µg/ml가 되도록 첨가하였으며, 세균의 오염을 방지하기 위해서 300 µg/ml의 streptomycin을 첨가하였다. 병원균을 접종한 배지는 20°C에서 4일간 배양한 후 균총의 직경을 측정하였으며, 약제를 첨가하지 않은 PDA 상에서의 균총의 직경과 비교하여 균사 생장 억제율(%)을 계산하였다. 또한 각각의 약제의 병원균에 대한 50% 균사 생장 억제 농도(EC<sub>50</sub>, effective concentration showing 50% of mycelial growth inhibition)와 균사 생장을 완전히 억제하는 농도(MIC, minimum inhibitory concentration)를 구하여 각각의 균주의 저항성 정도를 비교하고, 감수성과 저항성의 기준을 정하였다.

**균사 생장 억제율(%)**

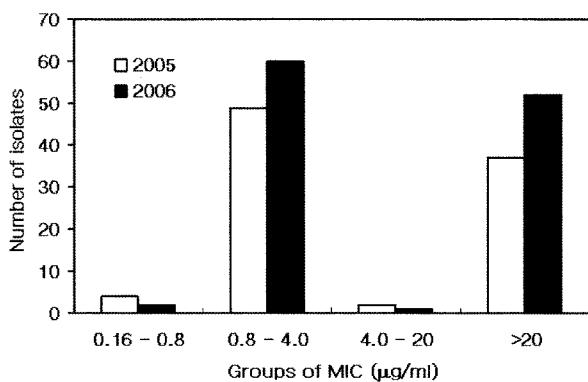
$$= \{1 - (\text{살균제 배지에서의 균총의 직경}/\text{무처리 배지에서의 균총의 직경})\} \times 100$$

**Carbendazim 및 carbendazim과 diethofencarb 합제와의 다중 저항성 모니터링.** 실험에 사용한 잿빛곰팡이병균에 대한 carbendazim(a.i. 60%, WP)과 carbendazim/diethofencarb 합제(a.i. 50%, WP)의 균사 생장 억제 효과

를 구하여 procymidone과의 다중 저항성 여부를 조사하였다. Carbendazim과 carbendazim/diethofencarb 합제는 멀균수에 용해시켜 PDA 배지에 각각의 최종농도가 100, 20, 4, 0.8, 0.16, 0.032  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 가 되도록 첨가하였으며, Procymidone과 동일하게 세균의 오염을 방지하기 위해서 300  $\mu\text{g}/\text{ml}$ [ $\omega$ ] streptomycin을 첨가하였다. Procymidone과의 다중 저항성 여부는 병원균의 균사 생장을 50% 억제하는 농도( $\text{EC}_{50}$ )를 구하여 비교하였다.

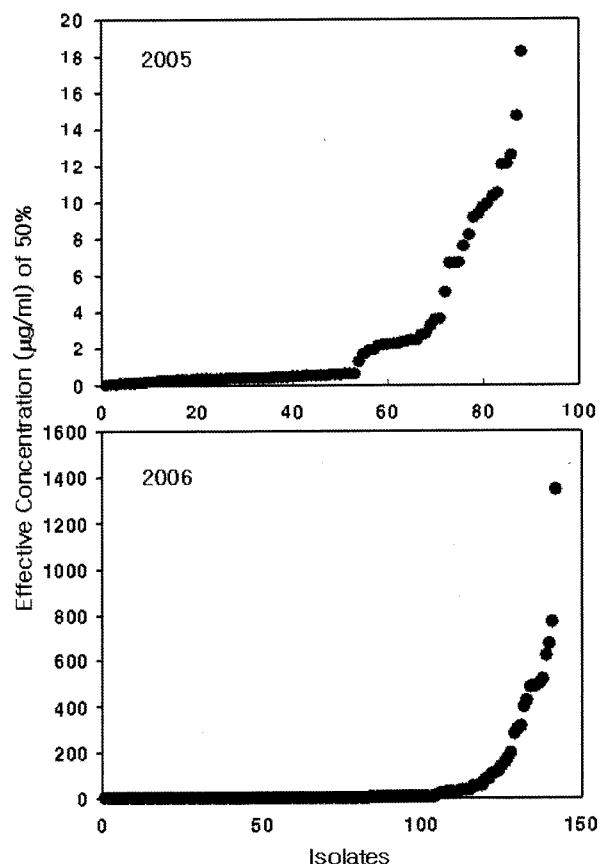
## 결 과

**MIC 값과  $\text{EC}_{50}$  값의 변화.** Fig. 1에서 보는 것과 같이 실험에 사용한 모든 균주는 분리한 연도와는 관계없이 대부분 균주의 MIC 값이 0.8과 4.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  사이인 그룹과 20  $\mu\text{g}/\text{ml}$  이상인 그룹으로 나눌 수 있었다. 2005년에 분리한 92개 균주 중에서 MIC 값이 0.8과 4.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  사이에 속하는 균주는 49개 균주로 53.3%를, 20  $\mu\text{g}/\text{ml}$  이상인 균주는 37개로 40.2%를 차지하고 있었으나, 2006년에 분리한 115개 균주의 경우에는 0.8과 4.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  사이에 속하는 균주가 60균주로 52.2%, 20  $\mu\text{g}/\text{ml}$  이상인 균주는 52개 균주로 45.2%를 차지하여, 2006년에 분리한 젓빛곰팡이병균 집단에서 미미하지만 procymidone에 대한 저항성 정도가 상승하고 있었다(Fig. 1). 모든 균주들에서 균사생장을 50% 억제하는 농도( $\text{EC}_{50}$ )를 구하여 보면 Fig. 2에서 보는 것과 같이 2006년에 분리한 균주들의 범위가 훨씬 넓게 나타나고 있었으며, 분리한 각 연도의 균주의 전체 평균값은 2005년이 14.8  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 2006년이 89.1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로, 2006년 균주의 살균제에 대한 저항성이 Fig. 1에서 본 것과 같이 상승하고 있음을 알 수 있었다.

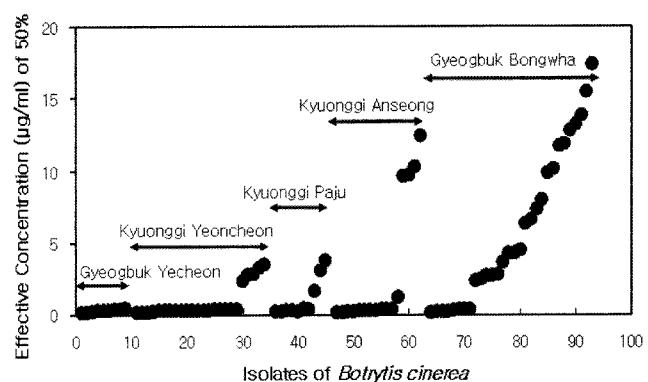


**Fig. 1.** MIC (minimum inhibition concentration) of procymidone against the mycelial growth of *Botrytis cinerea* isolated from infected leaves of ginseng in 2005 and 2006. MIC means the minimum concentration inhibiting the mycelial growth of *Botrytis cinerea* on PDA amended with the indicated concentration of fungicide perfectly.

**지역에 따른 procymidone 감수성의 변화.** Fig. 3에서 보는 것과 같이 2005년 경북의 예천과 봉화, 경기의 연천, 파주, 안성 등에서 분리한 병원균의 procymidone에 대한  $\text{EC}_{50}$  값은 지역에 따라서 다양한 양상을 보이고 있었다. 감수성 정도가 가장 다양한 지역은 경북의 봉화 지



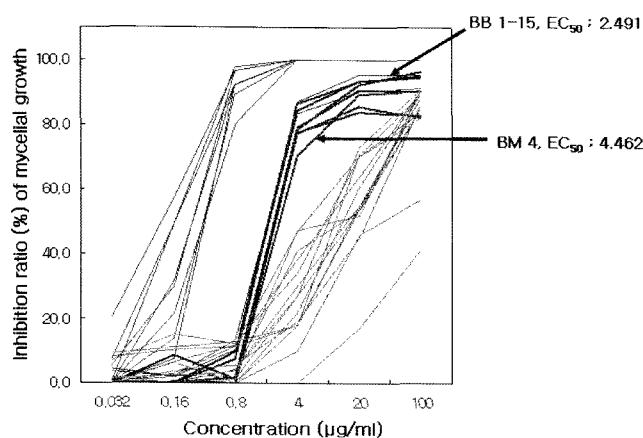
**Fig. 2.** Variation of  $\text{EC}_{50}$  (effective concentration of 50%) value of *Botrytis cinerea* isolated from infected ginseng leaves in 2005 and 2006.



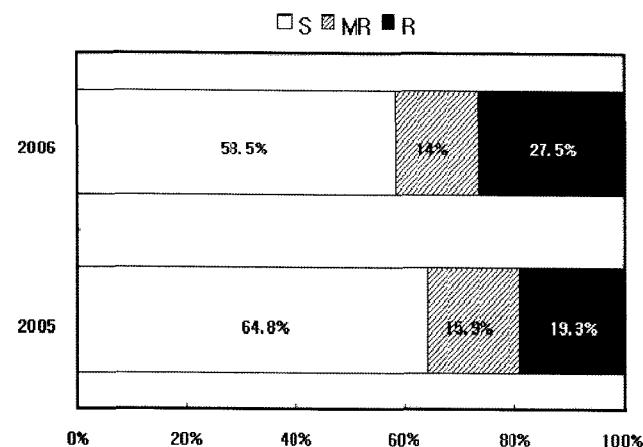
**Fig. 3.** Variation of  $\text{EC}_{50}$  (effective concentration of 50%) value of *Botrytis cinerea* isolates from infected ginseng leaves located in different regions, Yecheon, Bongwha, Yeoncheon, Paju, and Anseong in 2005.

역이었으며, 감수성의 변화가 가장 적었던 지역은 경북의 예천 지역이었다.  $EC_{50}$  값뿐만 아니라 두 지역 균주들의 MIC 값을 조사하여 보면, 경북 봉화에서 분리한 균주의 MIC 값은 0.8과 4.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  사이의 균주가 전체의 25%, 20  $\mu\text{g}/\text{ml}$  이상의 균주가 75%를 차지한 반면에, 경북 예천의 균주는 0.16과 0.8  $\mu\text{g}/\text{ml}$  사이의 균주가 20%, 0.8과 4.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  사이의 균주가 60%, 4.0과 20.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  사이의 균주가 20%로 나타났다.

**Procymidone에 대한 감수성 기준 설정과 저항성 균주의 발생.** Fig. 4에서 보는 것과 같이 2005년에 채집한 균주의 procymidone의 각각의 농도에 대한 반응은 3개의 그룹으로 나눌 수 있었다. 중도저항성을 보이는 그룹의

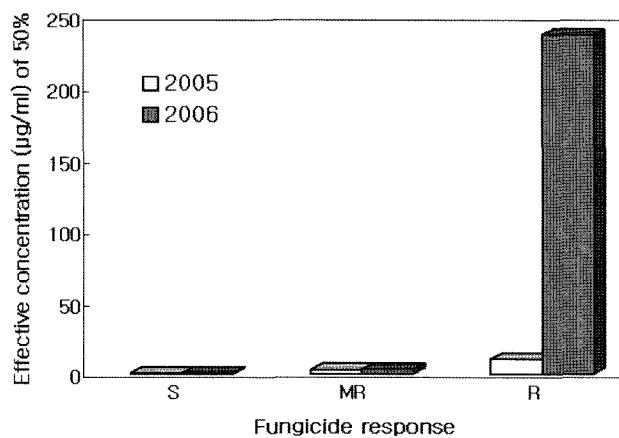


**Fig. 4.** Baseline of fungicide response sensitive, moderate resistant, and resistant to procymidone on isolates of *Botrytis cinerea* isolated in 2005.

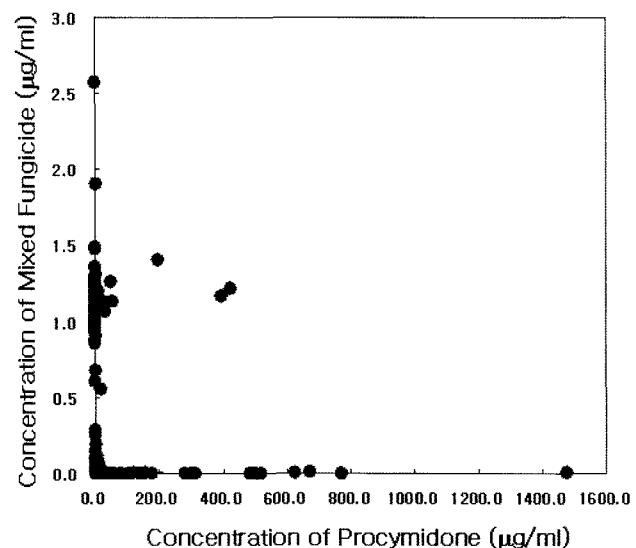


**Fig. 5.** Percentage of isolates to resistant, moderate resistant, and sensitive to procymidone isolated from infected leaves in 2005 and 2006. Fungicide response was decided with a baseline level of resistance. For calculating  $EC_{50}$  value ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ), colony diameter was investigated on PDA with or without fungicide after 5 day incubation at 20°C. S, MR and R indicated isolates sensitive, intermediate resistant and resistant to carbendazim/diethofencarb.

최고 최저  $EC_{50}$  값은 2.491과 4.462  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었기 때문에 procymidone에 대한 인삼 갯빛곰팡이병균의 감수성, 중도 저항성, 그리고 저항성의 기준을 2.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  이하를 감수성, 2.0과 5.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  사이를 중도저항성, 5.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  이상을 저항성 균주로 구분하는 것이 타당하다고 생각한다. 이 기준을 가지고서 2005년과 2006년의 균주를 조사하면, Fig. 5에서 보는 것과 같이 2005년에는 감수성과 중도저항성, 저항성 균주의 비율이 64.8, 15.9, 19.3%이었으나, 2006년에는 58.5, 14.0, 27.5%로 저항성 균주의 비율이 MIC와  $EC_{50}$  값을 가지고 분석했을 때와 동일하게 상승하고 있음을 알 수 있었다. Fig. 6에서는 각 저항성 그룹



**Fig. 6.** Average ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) of effective concentration of 50% of all *Botrytis cinerea* isolates included into groups sensitive, moderate resistant, and resistant to procymidone, respectively. S, MR and R indicated isolates sensitive, intermediate resistant and resistant to carbendazim/diethofencarb.



**Fig. 7.** Multiple resistance of *Botrytis cinerea* causing ginseng gray mold between procymidone and mixed fungicide both carbendazim and diethofencarb.

에 속하는 모든 균주의 평균  $EC_{50}$  값을 보여주고 있는데, 특히 한 사항은 2006년의 균주는 저항성 그룹의 비율이 19.3%에서 27.5%로 상승하였을 뿐만 아니라 평균  $EC_{50}$  값이 10.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 237.3  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 약 23배나 상승하였다는 것이다.

**Carbendazim과 carbendazim/diethofencarb 합제에 대한 다중 저항성 발현.** Fig. 7에서 보는 것과 같이 procymidone에 대한 저항성 반응과 carbedazim과 carbendazim/diethofencarb 합제에 대해서 반응을 조사하였다. 실험에 사용한 224개의 균주들 중에서 procymidone과 합제 모두에 감수성인 균주는 92개(SS)로 전체의 41.1%를 차지하고 있었으며, 두 살균제 모두에 대해서 저항성을 보이는 균주는 9개(RR)가 있었다. Procymidone에 대해서는 감수성이지만 합제에 대해서 저항성인 균주는 42개(SR)이었고, procymidone에 대해서는 중도저항성이고 합제에 대해서는 감수성인 균주는 34개(MRS), procymidone에 대해서는 저항성이고 합제에 대해서는 감수성인 균주는 46개(RS)로 나타났다. 이처럼 실험에 사용한 224개의 전체 균주 중에서 procymidone과 합제에 대한 반응이 서로 반대로 나타나는, 즉 역상관 관계를 보이는 균주는 122개로 전체의 54.5%를 차지하고 있었으며, 다중저항성을 보이는 균주는 9균주뿐이었다.

## 고 찰

Procymidone에 대한 인삼 잣빛곰팡이병균의 감수성 정도는 채집한 연도와 지역에 따라서 다르게 나타났다. 2005년과 2006년 전국적으로 채집한 균주들의 살균제에 대한 반응을 비교하면 2006년에 분리한 병원균의 저항성 정도가 2005년보다 증가한 것으로 나타났다. 2005년에 분리한 지역 별로 저항성의 정도를 조사하여 보아도 경북의 예천과 봉화 균주간에는 많은 차이를 볼 수 있었다(Fig. 3). 분리한 224개의 균주를 대상으로 procymidone의 균사 생장 억제 효과를 조사하였으며, 그 결과를 가지고서 감수성( $EC_{50}$  값이 2.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  이하), 중도저항성( $EC_{50}$  값이 2.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  이상, 5.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  이하), 저항성( $EC_{50}$  값이 5.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  이하) 균주로 분류하였다. 살균제에 대한 병원균의 baseline을 결정하기 위해서는 살균제를 사용하기 전에 분리된 병원균의 살균제 대한 반응과 살균제를 처리한 후에 분리한 병원균의 반응을 비교하여 결정하여야 하는데, 본 실험에서는 2005년과 2006년에 전국적으로 채집한 병원균을 대상으로 살균제의 효과를 검정하고, 그 결과를 가지고서 감수성의 정도를 구분하였으며, 인삼 잣빛곰팡이병균의 baseline으로 결정하여 포장에서의 저항성 모니

터링에 이용하였다. MIC 값 대신에  $EC_{50}$  값을 저항성의 baseline 결정에 사용하는 것은, Fig. 4에서 보는 것처럼  $EC_{50}$  값이 2.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  이상, 5.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  이하의 중도저항성 그룹에 속하는 균주들 간에도 MIC 값의 차이는 매우 크게 나타났다. 또한 procymidone의 수용해도는 4.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이기 때문에 배지에서 높은 농도를 조절하는 것이 용의하지 않으며, 모니터링하는 살균제의 농도에 오류를 범할 수 있어서,  $EC_{50}$  값을 사용하는 것이 타당할 것으로 생각한다.

Procymidone은 1977년 일본의 스미또모화학에서 개발되어 잣빛곰팡이병의 방제를 위해서 사용되어 오고 있다 (Tomlin, 2006). Benzimidazole계 살균제에 대해서 저항성을 보이는 병원균이 포장에서 발생하면서 작물보호를 위한 대체 농약으로 많이 사용되어 왔기 때문에, 다양한 작물의 포장에서 저항성균이 발생하였다(박 등, 1992; Kim과 Kwon, 1993; 김 등, 1993). 박 등(1992)은 주요 딸기 재배지에서 분리한 190여개의 병원균을 가지고 dicarboximide 계에 속하는 procymidone과 vinclozolin에 대한 감수성 정도를 조사한 결과, 감수성 균주와 저항성 균주의 기준을 MIC가 10.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  이하인 균주를 감수성으로, 5,000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서도 생육이 가능한 균주를 저항성으로 구별하였다. 김 등(1993)도 시설 원예 작물에서 분리한 112개의 균주 중에서 28개의 균주를 선발하여 저항성 정도를 조사하였는데, 감수성과 저항성 균주를 구별하는 기준을 앞에서와 동일하게 균사생장의 최소 억제 농도를 구하였으며, 그 농도는 10.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 결정하였다. 그러나 인삼 잣빛곰팡이병균의 저항성 모니터링을 수행한 결과, Fig. 4에서 보는 것과 같이 procymidone의 균사 생장 억제 양상을 3가지로 구분할 수 있었다. 김 등(1993)의 보고에서도 dicarboximide계에 속하는 procymidone과 vinclozolin은 잣빛곰팡이병균의 균사 생장을 억제하는 양상이 3가지로 나타나고 있었으나, MIC 값만을 가지고서 감수성과 저항성으로 분류하고 있었다. 그러나 본 논문에서처럼 procymidone에 대한 인삼 잣빛곰팡이병균의 저항성을  $EC_{50}$  값을 구하여 감수성, 중도저항성, 저항성의 그룹으로 세분화 하는 것이 포장에서 저항성 병원균을 관리하기가 용이할 것으로 판단되어, 감수성과 저항성의 기준을 세가지의 그룹으로 다시 제안하고자 한다.

박 등(1992)은 procymidone에 대하여 저항성인 딸기 잣빛곰팡이병균은 benomyl에 대해서도 저항성을 보인다고 보고하였다. 김 등(1993, 1995)도 다양한 기주 식물로부터 분리한 잣빛곰팡이병균의 경우, procymidone과 benomyl 사이에 다중저항성을 보이는 균주가 많이 발견된다고 보고하였다. 본 실험에서는 224개의 균주 중에서 benomyl

과 같은 기작을 지닌 carbendazim에 대해서 감수성인 균주는 17개로서, 전체의 7.6%만이 감수성으로 밝혀져, 인삼 재배 포장에서 잣빛곰팡이병균의 benomyl에 대한 저항성이 빌현 정도가 매우 심각한 상태임을 알 수 있었다. 하지만 김 등이 보고한 것과 같이 carbendazim에 대해서 저항성을 보이는 균주들의 대부분이 procymidone에 대한 저항성을 보이지는 않았다. Procymidone은 감수성이며 carbendazim에 대해서는 저항성인 균주가 117개로, 그 비율이 52.2%로 가장 높았다. Procymidone에 대해서 중도 저항성 또는 저항성이며 carbendazim에 저항성인 균주의 수는 90개로 전체의 40.2%를 차지하고 있었다. 인삼에서 분리한 *Botrytis cinerea*의 경우에는 procymidone에 대해서 저항성인 균주의 대부분이 benzimidazole계 살균제에도 저항성을 보였다는 이전의 논문과는 다른 결과를 보이고 있었다. Lee 등(1998)은 procymidone과 같은 dicarboximide계 살균제의 살균 효과는 세포막에서의 지질 과산화와 관련성이 크며, dicarboximide계 살균제의 저항성 빌현에는 catalase와 superoxide dismutase가 관여한다고 보고하였다(Choi 등, 1997). Yamaguchi와 Fujimura(2005)는 dicarboximide계 살균제에 대한 저항성 기작에는 삼투압 신호전달과제에서 작용하는 histidine kinase와 MAP kinase가 관계한다고 보고하였다. 한편 benomyl은 병원균의  $\beta$ -tubulin 단백질의 중합 반응을 억제하여 미세소관이 생성되는 것을 방해함으로써, 정상적인 세포분열이 일어나지 못하여 병원균의 생육이 억제된다고 알려져 있다(Davidse, 1973; Davidse, 1986). 또한 합제에 포함되어 있는 diethofencarb 역시  $\beta$ -tubulin 단백질의 중합 반응을 억제하는 것으로 알려져 있고, benzimidazole계에 속하는 benomyl, carbendazim 등과는 역상관 교차 저항성을 보이는 것으로 보고되어 있다(Kato 등, 1984; Suzuki 등, 1984; Elad 등, 1988; Fujimura 등, 1992). 이미 보고된 benzimidazole계 저항성 균주들과 동일하게 인삼에서 분리한 잣빛곰팡이병균들 중에서 저항성 균주들의  $\beta$ -tubulin 유전자의 염기서열을 분석한 결과, 198번지의 아미노산이 glutamate에서 alanin으로 바뀌어 있음을 알 수 있었다(Yarden과 Katan, 1993; Park 등, 1997; Sholberg 등, 2005; Kawchuk 등, 2002). 이처럼 dicarboximide계에 속하는 procymidone과 benzimidazole계에 속하는 carbendazim의 저항성 기작은 전혀 관련성이 없다. 하지만 병원균의 살균제에 대한 저항성 기작은 여러 가지의 원인에 의해서 발생하기 때문에, 단순히 작용점이 다르다는 것을 가지고서 다중저항성의 발현 여부를 논의하기에는 어려움이 있다고 생각한다. 따라서 다른 작물에서 분리한 *B. cinerea*에서는 대부분의 균주에서 procymidone과 ben-

zimidazole계 살균제 사이에서 다중저항성이 인정되었는데, 인삼에서 분리한 *B. cinerea*에서는 다중저항성을 보이는 병원균의 비율이 낮게 나타나는 원인이 무엇인지는 살균제의 기작 이외의 다른 저항성 기작을 연구하여 규명할 필요가 있다고 생각한다.

## 요 약

인삼의 잎에서 발생한 잣빛곰팡이병의 병반으로부터 병원균인 *Botrytis cinerea*의 224개 균주를 단포자 분리하여 실험에 사용하였다. 분리한 *B. cinerea*는 한천희석법을 사용하여 procymidone, carbendazim, carbendazim과 diethofencarb 합체의 균사생장 억제 효과를 EC<sub>50</sub>(균사생장을 50% 억제하는 농도)과 MIC(균사생장을 100% 억제하는 최소농도) 값을 조사하였다. Procymidone에 대한 MIC값을 가지고서 병원균을 분류하면 0.8과 4.0 µg/ml 사이에 속하는 그룹과 20 µg/ml 이상인 그룹으로 크게 분류할 수 있었다. 2005년에 분리한 균주들은 지역별로 procymidone에 대한 감수성의 변화가 매우 다양하게 나타났다. 실험에 사용한 procymidone의 각각의 농도에 대한 균사 생장 억제 양상을 가지고 병원균을 각각 감수성(EC<sub>50</sub> 값이 2.0 µg/ml 이하), 중도저항성(EC<sub>50</sub> 값이 2.0과 5.0 µg/ml 사이), 저항성(EC<sub>50</sub> 값이 5.0 µg/ml 이상) 등의 3개의 그룹으로 분류할 수 있었다. 이 기준으로 분류하였을 때, procymidone에 대해서 저항성인 *B. cinerea*의 비율은 2005년에 19.3%가 2006년에는 27.5%로 상승하였으며, 저항성 그룹의 평균 EC<sub>50</sub> 값도 10.0 µg/ml에서 237.3 µg/ml으로 상승하였다. Procymidone과 carbendazim의 경우에 다중저항성을 보이는 균주는 90개로 전체의 40.2%이었으며, 합체와의 다중저항성을 보이는 균주는 9개 밖에 없었다.

## 감사의 글

본 연구 결과는 농촌진흥청의 국책기술개발사업 연구과제(과제번호: 20070201030025)로 지원받은 과제로 수행된 것으로 감사를 표합니다.

## 참고문헌

- Davidse, L. C. 1973. Antimitotic activity of methylbenzimidazol-2-yl carbamate (MBC) in *Aspergillus nidulans*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 3: 317-325.
- Davidse, L. C. 1986. Benzimidazole fungicides: Mechanism of action and biological impact. *Ann. Rev. Phytopathol.* 24: 43-65.

- Elad, Y., Shabi, E. and Katan, T. 1988. Negative cross resistance between benzimidazole and *N*-phenylcarbamate fungicides and control of *Botrytis cinerea* on grapes. *Plant Pathology* 37: 141-147.
- Fujimura, M., Kamakura, T., Inoue, H., Inoue, S. and Yamaguchi, I. 1992. Sensitivity of *Neurospora crassa* to benzimidazoles and *N*-phenylcarbamates: Effect of amino acid substitutions at position 198 in  $\beta$ -tubulin. *Pestic. Biochem. Physiol.* 44: 165-173.
- Kato, T., Suzuki, K., Takahashi, J. and Kamoshita, K. 1984. Negatively correlated cross-resistance between benzimidazole fungicides and methyl *N*-(3,5-dichlorophenyl)carbamate. *J. Pesticide Sci.* 9: 489-495.
- Kawchuk, L. M., Hutchison, L. J., Verhaeghe, C. A., Lynch, D. R., Bains, P. S. and Holley, J. D. 2002. Isolation of the  $\beta$ -tubulin gene and characterization of thiabendazole resistance in *Gibberella pulicaris*. *Can. J. Plant Pathol.* 24: 233-238.
- 김병섭, 최경자, 조광연. 1993. Benzimidazole계 및 Dicarboximide계 살균제에 저항성인 잿빛곰팡이 병균(*Botryotis cinerea*)의 몇 가지 약제에 대한 반응. *한국식물병리학회지* 9: 98-103.
- 김병섭, 임태현, 박은우, 조광연. 1995. Benzimidazole계 및 *N*-phenylcarbamate계 살균제에 다중저항성인 잿빛곰팡이 병균의 발생. *한국식물병리학회지* 11: 146-150.
- Kim, C.-H. 1997. Review of fungicide resistance problem in Korea. In: Proceeding of international symposium fungicide resistance and development of new fungicides. pp. 1-14.
- 김충희, 권순식. 1993. Procymidone 저항성 딸기 잿빛곰팡이 병균의 기생적 적응성. *한국식물병리학회지* 9: 26-30.
- 한국작물보호협회. 농약사용지침서. 2007.
- Leroux, P. and Fritz, R. 1983. Antifungal activity of carboximides and aromatic hydrocarbons and resistance to these fungicides. In; Mode of action of antifungal agents. ed. by Trinci, A. P. J. and Ryley, J. F. Cambridge Univ. press, Cambridge, pp. 207-237.
- 박인철, 예완해, 김충희. 1992. Procymidone, Vinclozolin, Benomyl에 저항성인 딸기 잿빛곰팡이 병균의 발생. *한국식물병리학회지* 8: 41-46.
- Park, S.-Y., Jung, O.-J., Chung, Y.-R. and Lee, C.-W. 1997. Isolation and characterization of a benomyl-resistant form of  $\beta$ -tubulin-encoding gene from the phytopathogenic fungus *Botryotinia fuckeliana*. *Mol. Cells* 7: 104-109.
- Pommer, E. H. and Lorenz, G. 1982. Resistance of *Botrytis cinerea* Pers. to dicarboximide fungicides - a literature review. *Crop Protect.* 1: 221-230.
- Sholberg, P. L., Harlton, C., Haag, P., Levesque, C. A., O'Gorman, D. and Seifert, K. 2005. Benzimidazole and diphenylamine sensitivity and identity of *Penicillium* spp. that cause postharvest blue mold of apples using  $\beta$ -tubulin gene sequences. *Postharvest Biol. Technol.* 36: 41-49.
- Suzuki, K., Kato, T., Takahashi, J. and Kamoshita, K. 1984. Mode of action of methyl *N*-(3,5-dichlorophenyl)carbamate in the benzimidazole-resistant isolate of *Botrytis cinerea*. *J. Pesticide Sci.* 9: 497-501.
- Tomlin, C. D. S. 2006. The Pesticide manual. 14th, pp 1349.
- Yamaguchi, I. and Fujimura, M. 2005. Recent topics on action mechanisms of fungicides. *J. Pesticide Sci.* 30: 67-74.
- Yarden, O. and Katan, T. 1993. Mutations leading to substitutions at amino acids 198 and 200 of beta-tubulin that correlate with benomyl-resistance phenotypes of field strains of *Botrytis cinerea*. *Phytopathology* 83: 1478-1483.