

## 콩 검은뿌리썩음병 방제를 위한 살균제 선발

박성우 · 강범관 · 김홍식<sup>1</sup> · 우선희<sup>1</sup> · 김흥태\*

충북대학교 농업생명환경대학 응용생명환경학부 식물의학전공, <sup>1</sup>식물자원생산학부 식물자원학전공

**요약** : 콩 검은뿌리썩음병의 방제를 위한 살균제 선발을 위하여 실내 및 온실 검정을 실시하였다. 한천희석법과 96-well microtiter plate법을 이용하여 총 25종의 살균제의 병원균에 대한 생육 억제 효과를 검정하였다. 보호용 살균제 중에서 iminoctadine을 제외한 dithianon, dichlofluanid, mancozeb, captan 등은 한천희석법에서 조사한 병원균의 생육을 억제하는 EC<sub>50</sub>값은 500 µg mL<sup>-1</sup> 이상으로 효과가 매우 낮았지만, 96-well microtiter plate법에서는 4.65, 0.61, 4.64, 0.29 µg mL<sup>-1</sup>로, 병원균의 포자 발아에 대하여 매우 높은 활성을 보였다. 그러나 ergosterol 생합성을 저해하는 살균제 (EBI) 그룹은 물질에 따라 매우 다른 살균활성을 보였다. Difconazole의 경우에는 균사생육보다는 포자발아 억제활성이 높았고, prochloraz의 경우에는 균사 생육활성과 포자 발아억제활성이 서로 유사하였다. 이에 비하여 다른 EBI 살균제들은 포자발아보다는 균사생육저해활성이 큰 것으로 나타났다. Carbendazim과 diethofencarb의 혼합제와 dazomet만이 두 가지의 실내 검정법 모두에서 우수한 효과를 보였다. Carbendazim과 diethofencarb의 혼합제를 비롯한 8종의 살균제를 선발하여 온실검정을 실시한 결과, carbendazim과 diethofencarb의 혼합제만이 병원균을 접종하기 2일 전과 후에 토양에 처리하였을 때, 75와 76.7%의 효과를 보였고, tebuconazole은 병원균을 접종하고 2일 후에 관주처리 하였을 때, 83.3%의 효과를 보였다. (2007년 1월 23일 접수, 2007년 3월 15일 수리)

**색인어** : 콩 검은뿌리썩음병, carbendazim과 diethofencarb의 혼합제, 화학적 방제.

### 서 론

콩이 영양 및 건강식품으로 각광받으면서 그 수요는 크게 증가하고 있다(김과 조, 2005). 따라서 2002년부터 논에서의 콩 재배가 적극 권장되고, 콩 재배 농가에 대한 소득 보전 정책을 추진하게 되어, 소규모 밭에서 행해지던 콩의 재배가 대규모의 논으로 확산되고 있다. 이렇게 콩의 재배가 논으로 확산됨에 따라 재배조건의 변화, 특히 밭 토양에서 논토양으로의 변화에 따라 기존에 문제가 되지 않았던 병해가 발생하여 문제를 일으킬 수 있는 가능성은 여러 곳에 산재되어 있다. 특히 습한 토양에서 발생하는 콩 검은뿌리썩음병도 콩의 재배지가 논토양으로 변함으로 인해 문제가 될 것으로 예상된다.

콩 검은뿌리썩음병은 브라질, 카메룬, 동부 유럽, 일본과 미국 등에서 이미 문제가 되는 병으로 알려져 있으며, 심한 경우에는 50% 이상의 개체들이 피해를 받거나 죽는 것으로 보고된 바 있다(Berner 등, 1986; Glenn, 2001). 검은뿌리썩음병의 원인이 되는 병원균은 *Cylindrocladium parasiticum*(완전세대: *Calonectria*

*ilicicola*)이며, 이는 동부, 블루베리, 담배 등의 다른 작물에서도 병을 일으키는 것으로 보고되어 있다(Crous 등, 1993). 미국에서는 1975년까지는 주로 알팔파에 큰 피해를 주며 콩에는 피해가 적었으나, 1976년 플로리다의 땅콩에서 대발생하여, 땅콩 포장에서 50%가 넘는 땅콩이 검은뿌리썩음병균에 감염되었다고 한다. 루이지애나에서도 콩에 큰 피해를 준 것으로 보고되어 있으며(Kucharek, 2000), 2000년에는 버지니아에서 검은뿌리썩음병에 의해서 670만불의 피해를 입었다고 보고하였다(Phipps, 2000). 이러한 땅콩 검은뿌리썩음병을 방제하기 위한 경종적 방법과 화학적 방법이 보고되어 있다. Kucharek(2000)은 경종적 방법으로 토양의 수분관리가 중요하며, 포장에서의 병든 식물의 제거와 병이 발생한 포장의 격리 등 포장의 위생관리를 철저히 하는 것이 중요하다고 보고하였다. 또한 검은뿌리썩음병에 대한 강한 저항성 품종은 아직 육종되지 않았지만, Florunner가 다른 품종에 비하여 저항성을 보이기 때문에 저항성 품종의 재배를 장려하였다. 또한 효율적인 방제를 위해서 저항성 품종의 재배와 더불어 정식 2 ~ 3주전에 metam sodium을 이용하여 토양 훈증을 한다면 더욱 효과가 증가할

\* 연락처

것이라고 하였다. Branch와 Brenneman(2003)은 metam sodium을 이용하여 토양을 훈증하는데 많은 경비가 소요되기 때문에 병원균에 대하여 저항성이 강한 품종을 육성하여야 한다고 주장하였다. Norman은 *Cylindrocladium spathiphylli*에 의한 *Spathiphyllum*의 뿌리썩음병의 방제를 위해서 살균제를 토양에 관주 처리하였는데, triflimizole, thiophanate-methyl, fluazinam 등이 높은 방제 효과를 나타내었다고 보고하였다. *C. parasiticum*에 의한 땅콩의 검은뿌리썩음병도 땅콩의 생육 중기에 살균제를 분무 처리함으로써 땅콩 수확이 감소하는 것을 방지할 수 있다고 보고하였다 (Kucharek, 2000). Brenneman과 Kemera(2004)는 JAU 6476이라는 후보 살균제가 땅콩 검은뿌리썩음병에 대한 효과가 우수함을 보고하였다.

본 실험에서는 다른 식물병의 방제에 사용되는 살균제를 선발하여 콩 검은뿌리썩음병에 대한 방제 효과를 실내와 온실 검정을 통하여 조사하고 우수한 효과를 보이는 살균제를 선발함으로써 포장에서의 방제 체계를 확립하는 기초로 삼고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 병원균의 채집, 분리와 보관

2002년과 2003년 8월에 전국의 콩 재배지역에서 지상부가 황화되고 지제부에는 붉은색의 자낭각이 보이는 콩 검은뿌리썩음병균에 감염된 것으로 의심되는 식물체를 채집하였다. 흐르는 물로 채집한 시료의 흙을 세척하고 지제부의 조직 절편을 1% sodium hypochloride 용액에서 1분간 표면 살균한 후, 300 µg ml<sup>-1</sup>의 streptomycin을 함유한 PDA에 치상하여 25°C의 항온기에서 배양하였다. 조직의 절편에서 나온 균사의 선단을 새로운 PDA에 이식하였다. *Fusarium* spp. 등 기타 균이 섞여 나오는 경우 균을 확보하기 어려우므로 지속적으로 균총을 육안으로 관찰하여 기타 균과 구분하였고 현미경 관찰을 통해 검은뿌리썩음병균을 확인하였다. 지제부에서 자낭각이 관찰되는 시료는 검은뿌리썩음병균일 확률이 높기 때문에 멸균한 핀셋으로 지제부에서 자낭각을 떼어내어 PDA 배지에 치상하였다. 이때도 육안으로 확인한 자낭각의 형태가 *Nectria* spp. 또는 *Fusarium* spp.과 유사하므로 분리에 주의하였다. 콩 검은뿌리썩음병균으로 확인된 균주는 단포자 분리하여 실험에 사용하였다. 분리한 콩 검은뿌리썩음병균의 균주는 25°C의 PDA에서 7일간 배양한 후, 균사선단부에서 지름 5 mm의 균사 조각

을 떼어내어 PDA 사면배지에 접종하고 25°C에서 7일 배양한 후, 4°C에서 보관하며 실험에 사용하였다. 병원균의 장기 보관을 위하여 25°C에서 7일 배양한 균총의 선단에서 떼어낸 직경 5 mm의 균사조각을 5 mL의 멸균수를 넣어 상온에서 보관하였다.

### 콩 검은뿌리썩음병균에 대한 살균제의 실내 효과 검증

실험실에서 살균제의 효과 검정을 하기 위하여 2003년에 분리한 *Calonectria ilicicola* SC03-15를 선발하여 사용하였다. 시판되는 살균제 중에서 화학 구조, 작용기작 등을 고려하여 Table 1과 같이 총 25 종을 선발하였으며, 한천희석법과 96-well microtiter plate법을 통하여 효과를 검정하였다. 살균제의 균사생장 억제 효과는 한천희석법을 통하여 조사하였다. 살균제는 300 µg mL<sup>-1</sup>의 streptomycin 용액을 사용하여 희석하였는데, neosozin을 비롯한 16종은 배지에서의 최종 농도가 500, 50, 5, 0.5 µg mL<sup>-1</sup>가 되도록 PDA 배지에 첨가하였으며, nuarimol을 비롯한 8종의 살균제는 배지에서의 최종농도를 50, 5, 0.5, 0.05 µg mL<sup>-1</sup>로 조절하였다. *C. ilicicola* SC03-15는 25°C의 PDA에서 10일간 배양한 다음, 균총 선단에서 지름 5 mm의 균사조각을 떼어 내어 정해진 농도의 살균제를 첨가한 PDA 배지의 중앙에 균사 표면이 배지에 직접 닿도록 접종하였다. 접종하고 25°C에서 10일간 배양한 후, 균총의 직경을 측정하였다. 약제의 균사생장 억제 효과는 멸균수만을 첨가한 PDA에서 자란 균총의 직경과 약제 첨가 배지에서의 균총의 직경을 비교하여 아래와 같이 구하였다.

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

또한 96-well microtiter plate법을 사용하여 병원균의 포자발아에 미치는 살균제의 효과를 검정하였다. 병원균의 포자를 수확하기 위하여 *C. ilicicola* SC03-15를 PDA에 접종하고, 25°C의 암상태에서 10일간 배양하였다. 멸균한 시약스폰을 사용하여 병원균의 공중 균사를 제거하고, 25°C의 광상태에서 다시 5일간 배양하였다. 병원균을 배양한 PDA 배지에 20 mL의 PDB를 부어 배지 표면에서 포자를 수확한 후 거즈에 여과하여 균사체를 제거하였으며, 현미경으로 포자현탁액을 관찰하여 포자의 농도를 1 × 10<sup>4</sup> mL<sup>-1</sup>로 조절하였다. 살균제는 300 µg mL<sup>-1</sup>의 streptomycin이 첨가된 멸균수에 용해시킨 다음, 준비한 병원균의 포자현

Table 1. The list of fungicides used in this study

Fungicides	Formulation	Applied host plants	Target diseases
neoasozin	SC 6.5%	apple	apple canker
dazomet	GR 98%	garlic, watermelon	white rot, fusarium wilt
diethionon	WG 66%	peach, pear	brown rot, black spot
diclofluanid	WP 50%	tomato, cucumber	gray mold, downy mildew
mancozeb	WP 75%	pepper, grapes	anthracnose, black rot
captan	WP 50%	barley, apple	scab, white rot
chlorothalonil	WP 75%	tangerine, peanut	scab, black leaf spot
propineb	WG 67%	orchid, grapes	anthracnose, bird's eye rot
iminocadine	SC 30%	tomato, gerbera	gray mold, anthracnose
cyprodinil	WG 50%	grapes, pear	gray mold, scab
iprodione	WP 50%	grass	brown patch,
tolclofos-methyl	WP 50%	ginseng, melon	damping-off, root rot
penicuron	WP 25%	rice, grass	sheath blight, rhizoctonia blight
flutolanil	EC 15%	rice	sheath blight
polyoxin D zinc salt	WP 2.25%	rice plant, welsh onion	ear blight, alternaria leaf spot
polyoxin B	WP 10%	carrot, pumpkin	powdery mildew, scab
procymidone	WP 50%	rape, peach	sclerotinia rot, brown rot
diethofencarb + carbendazim	WP 25%	ginseng, strawberry	gray mold
nuarimol	WP 1%	apple, pear	powdery mildew, cedar apple rust
difenoconazole	WP 10%	sweet persimmon, tobacco	anthracnose, brown spot
myclobutanil	WP 6%	carnation, pepper	rust, powdery mildew
bitertanol	SC 40%	lily, melon	leaf blight, powdery mildew
tebuconazole	SC 20%	garlic, tea plant	white rot, anthracnose
penconazole	WP 5%	rose, pear	powdery mildew, scab
prochloraz	WP 25%	strawberry, watermelon	powdery mildew, gummy stem rot

탁액에 정해진 농도가 되도록 희석하였다. 실험에 사용한 모든 살균제의 농도는  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ 부터  $0.098 \mu\text{g mL}^{-1}$ 까지 1/2씩 희석하여 총 11개의 농도로 조절하였다. 살균제를 정해진 농도로 처리한 각각의 포자 현탁액은 96-well microtiter plate에  $100 \mu\text{L}$ 씩 분주한 후,  $25^\circ\text{C}$  암상태에서 24시간 150 rpm으로 진탕배양하였다. 병원균의 포자 발아와 균사 성장 정도는 현미경 관찰을 통하여 다음과 같은 지수로 조사하였는데, 포자가 전혀 발아 하지 못한 것은 0, 포자는 발아하였으나 균사를 뻗지 못한 것은 1, well 면적의 25% 미만이 균사로 덮인 것은 2, well 면적의 25% 이상 50% 미만이 균사로 덮인 것은 3, well의 50 이상부터 75% 미만까지 균사로 덮인 것은 4, well의 75% 이상을 균사로 덮은 것을 5, well을 완전히 덮어 자란 것을 6으로 하여 조사하였다.

#### 온실에서의 살균제의 효과 검증

실내 실험에서 선발한 8종의 살균제(dazomet, diclofluanid, iminocadine tris, captan, diethofencarb +

carbendazim, difenoconazole, tebuconazole, prochloraz)는 온실에서 재배한 본엽 2엽기의 한남콩에 병원균을 접종하기 전과 후에 토양 처리하고, 병 발생 억제 효과를 조사하였다. 실험에 사용한 한남콩은 지름이 10 cm인 pot에 파종한 후, 본엽 2엽이 전개될 때까지 온실에서 재배하였다. 병원균을 접종하기 2일 전과 접종하고 2일 후에, 처리 용액의 농도를  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ 로 조절한 살균제를 pot 당 10 mL 씩 토양에 관주하여 방제효과를 조사하였다. 병원균의 접종은 실내에서 형성시킨 *C. ilicicola* SC03-15의 자낭각을 접종원으로 사용하였다. PDA배지에서 SC03-15의 자낭각을 형성시키기 위해서 분생포자를  $2 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ 로 조절한 다음,  $50 \mu\text{L}$ 를 PDA에 분주하고 유리봉으로 도말하고  $25^\circ\text{C}$ 의 암상태에서 6일간 배양하였다. 균사가 배지 위를 완전히 덮었을 때 공중균사를 제거하고,  $25^\circ\text{C}$ 에서 12시간 간격으로 광을 조사하며 병원균은 3주간 배양하여 자낭각을 형성시켰다. 살균증류수를 사용하여 형성된 자낭각을 수확하여 자낭각의 농도를 500 개  $\text{mL}^{-1}$ 로 조절한 후, 실험 pot 당 10 mL씩을 토양에

Table 2. Disease severity index of soybean black rot inoculated with *Colonectria ilicicola* through the wound inoculation test in a greenhouse

Scale	Disease symptoms
0	No visible symptoms
1	Browning of inoculation site
2	Browning of crown and tap root
3	Browning of secondary roots, Extension of tap root symptoms
4	Falling off the high position secondary roots, Severe decay of tap root
5	Most of secondary roots were falling off, Severe decay of tap root

<sup>a)</sup>Pathogen inoculation was conducted by wounding crowns of soybean with cutting knife. The size of the wound was 5 (length)×3 (depth) mm.

<sup>b)</sup>Disease severity was investigated 40 days after inoculation.

관주하여 접종하였다. 온실에서 접종한 pot는 각각을 저면 관수하며 발병을 유도하였으며, 접종하고 40일 후에 뿌리의 토양을 세척하고 Table 2와 같은 발병 지수를 사용하여 조사하였다.

## 결과 및 고찰

### 살균제의 실내 검정 효과

한천희석법을 통해서 실험한 25개의 살균제 중에서 iminoctadine, carbendazim과 diethofencarb의 혼합제, tebuconazole 등의 EC<sub>50</sub>값이 1.0 µg mL<sup>-1</sup>보다 낮게 나타나 병원균의 균사 생장을 억제하는 효과가 큼을 알 수 있었다(Table 3). Dazomet, iprodione, myclobutanil, penconazole, prochloraz 등은 10.0 µg mL<sup>-1</sup> 이하에서 병원균의 균사 생육을 50% 억제하는 것으로 나타났다. 특이한 것은 tebuconazole과 myclobutanil과 같이 진균의 ergosterol 생합성을 저해하는 것으로 알려져 있는 nuarimol과 difenoconazole은 EC<sub>50</sub>값이 25.1과 500 µg mL<sup>-1</sup> 이상으로 높게 나타나 동일한 작용 기작을 갖는 살균제이면서도 동일한 병원균에 대하여 효과가 다를 수 있었다. 김 등(2003)도 고추 탄저병균인 *Colletotrichum acutatum*에 대한 살균제의 효과를 96-well micrititer plate를 이용하여 조사하였는데, 100 µg mL<sup>-1</sup>의 처리에서 bitertanol, nuarimol, prochloraz 등은 40% 이하의 생육 억제 효과를 보이는 반면에 hexaconazole은 90%의 효과를 보였다고 보고하였다. 이처럼 동일한 기작을 지닌 살균제가 동일한 병원균

에 대한 효과가 다른 이유는 사용하는 살균제의 이화학적 성질이 다르기 때문에 액체 배지 상태에서 병원균과의 접촉, 흡수 이행 등에 영향을 받아 나타나는 결과라고 생각한다.

병원균의 균사를 접종하는 한천희석법에서 carbendazim과 diethofencarb의 혼합제는 낮은 처리 농도에서 병원균의 균사생육 억제 효과가 높았다. 또한 병원균의 포자를 접종하여 실험한 96-well microtiter plate법에서도 EC<sub>50</sub>값은 0.67 µg mL<sup>-1</sup>로, 낮은 처리농도에서 높은 효과를 보임으로써 균사의 성장뿐만 아니라 포자의 발아도 억제하는 것으로 판단되었다. Carbendazim과 diethofencarb의 혼합제의 포자에 대한 효과를 현미경으로 관찰하면, Fig. 1C에서 보는 것과 같이 0.78 µg mL<sup>-1</sup>의 처리에서는 하나의 포자에서 발아관이 여러 개가 나타나고 있었으며, 발아관의 선단이 비정상적으로 만곡될 뿐만 아니고, 그 생장이 크게 저해되고 있었다. 그러나 12.5 µg mL<sup>-1</sup>를 처리하였을 때는 병원균의 포자가 전혀 발아하지도 못하였으며, 포자 내부에서는 원형질 분리가 일어나는 것이 관찰되었다(Fig. 1D). 병원균의 균사생장 억제 효과가 높았던 ergosterol 생합성 저해 살균제의 경우에는 tebuconazole과 prochloraz가 3.55와 1.64 µg mL<sup>-1</sup>의 EC<sub>50</sub>값을 보여 우수한 효과를 보였다. 그러나 현미경으로 병원균을 관찰한 결과, tebuconazole과 prochloraz는 carbendazim과 diethofencarb의 혼합제와는 다르게 25.0 µg mL<sup>-1</sup>의 처리구에서도 병원균 포자가 발아는 하였지만, 발아관이 더 이상 신장하지 못하고 크게 저해되는 것으로 나타났다. 보호용 살균제인 dithianon, dichlofluanid, mancozeb, captan 등은 한천희석법에서는 EC<sub>50</sub>값이 500 µg mL<sup>-1</sup> 이상이었는데, 96-well microtiter plate법에서는 4.65, 0.61, 4.64, 0.29 µg mL<sup>-1</sup>의 우수한 효과를 보였다. 이러한 결과는 고추 탄저병균인 *C. acutatum*에 대한 살균제의 효과를 동일한 96-well microtiter plate법으로 실험한 김 등(2003)의 결과와도 부합하는 결과로 보호용 살균제가 균사의 성장보다는 포자 발아에 대한 억제 효과가 큼을 보여 주고 있다. Fig. 1B에서 보는 것처럼 captan을 0.78 µg mL<sup>-1</sup>로 처리하였을 때, 병원균의 포자는 전혀 발아하지 못하고 원형질이 분리되며 원형질이 없어진 부분의 세포벽이 약간 팽윤하는 현상이 관찰되었다. 결국 보호용 살균제는 병원균의 균사 생장을 억제하는 효과보다는 포자의 발아를 억제하는 효과가 높음을 알 수 있을 뿐만 아니라, 이러한 특성 때문에 콩의 검은뿌리썩음병의 방제를 위해서도 병이 발생하기 전에

Table 3. Inhibitory effect of fungicides on mycelial growth and spore germination of *Calonectria ilicicola* SC03-15

Fungicides	Agar dilution method		96-well microtiter plate method	
	EC <sub>50</sub>	MIC	EC <sub>50</sub>	MIC
neoasozin	213.38	>500	>100	>100
dazomet	9.75	500	2.83	25
dithianon	>500	>500	4.65	12.5
diclofluanid	>500	>500	0.61	3.13
mancozeb	>500	>500	4.64	25
captan	>500	>500	0.29	1.56
chlorotharonyl	>500	>500	>100	>100
propineb	>500	>500	>100	>100
iminocadine	0.01	50	>100	>100
cyprodinil	99.46	>500	>100	>100
iprodione	6.93	>500	>100	>100
tolclofos-methyl	>500	>500	>100	>100
penycuron	>500	>500	>100	>100
flutolanil	>500	>50	>100	>100
polyoxin D zinc salt	>500	>500	>100	>100
polyoxin B	>500	>500	>100	>100
procymidone	16.87	500	>100	>100
diethofencarb + carbendazim	0.04	0.5	0.67	12.5
nuarimol	25.06	>50	>100	100
difenoconazole	>500	>50	18.67	>100
myclobutanil	3.56	50.0	28.05	>100
bitertanol	>500	>50	>100	>100
tebuconazole	0.65	50.0	3.55	>100
penconazole	4.93	>50	>100	100
prochloraz	1.76	50.0	1.64	100

<sup>a)</sup>In both agar dilution method and 96-well microtiter plate method, fungicidal activity was investigated 10 days after inoculation.

<sup>b)</sup>The fungicidal activity was calculated by comparing the fungal growth in the treatment not applied with a fungicide with one in the fungicide treatment.

<sup>c)</sup>The activity was presented by the effective concentration of 50% (EC<sub>50</sub>,  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) and the minimum inhibitory concentration (MIC,  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ).

미리 처리해야만 효과를 볼 수 있을 것으로 생각한다.

#### 온실에서의 살균제 효과 검증

실내 검정에서 사용한 한천희석법과 96-well microtiter plate법 모두에서 병원균의 생장에 대한 억제효과가 좋았던 dazomet, diethofencarb와 carbendazim의 혼합제, tebuconazole, prochloraz를 선발하여 온실 검정에 사용하였다. 또한 한천희석법에서는 병원균 생육에 대한 EC<sub>50</sub>값이 0.01  $\mu\text{g mL}^{-1}$  이하이었지만, 96-well microtiter plate법에서의 병원균에 대한 생육 억제효과는 저조하였던 iminocadine, 반대로 한천희석법에서는 EC<sub>50</sub>값이 500  $\mu\text{g mL}^{-1}$  이상으로 병원균의 균사 생장에 대한 억제효과가 매우 낮았지만 96-well microtiter

plate법을 통해서 조사된 EC<sub>50</sub>값은 0.61, 0.29, 18.67  $\mu\text{g mL}^{-1}$ 이었던 dichlofluanid, captan, difenoconazole 등 총 8종의 살균제를 선발하여 온실에서 효과 검정을 수행하였다.

Carbendazim와 diethofencarb의 혼합제는 온실 실험에서도 병원균의 접종 전 처리와 접종 후 처리 모두에서 병 발생 억제효과가 75%와 76.7%로, 처리한 살균제 중에서 가장 우수한 효과를 보였다(Fig. 2). Norman(1996)이 *Cylindrocladium spathiphylli*에 의한 *Spathiphyllum*의 뿌리썩음병을 방제하기 위해서 살균제를 토양에 관주하였을 때, carbendazim과 동일한 계열의 살균제인 thiophanate-methyl의 처리에서 우수한 효과를 얻은 것을 보면 benzimidazole계 살균제가 토양병원균인 *Cylindrocladium*의 방제에 유용하게 사용

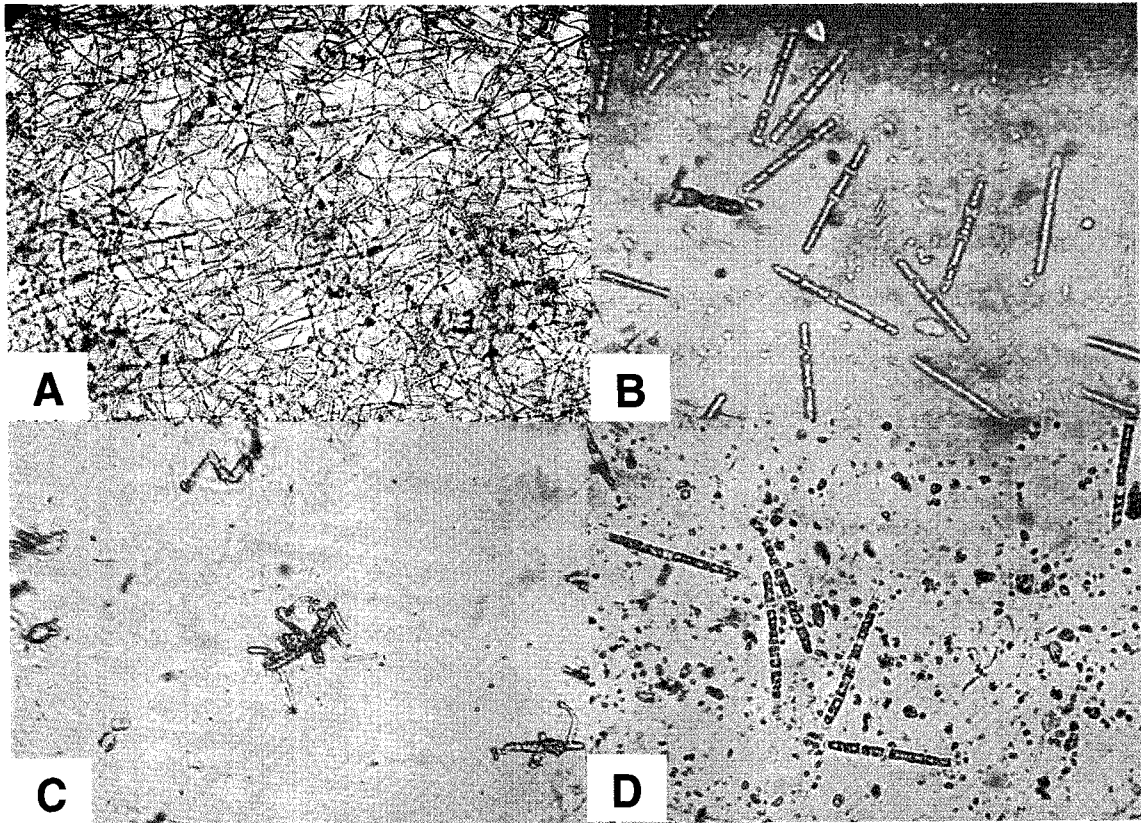


Fig. 1. Microscopic photographs of mycelia and germinating conidia of *Calonectria ilicicola* SC03-15. A, mycelia of *C. ilicicola* SC03-15 not applied with any fungicides; B,  $0.78 \mu\text{g mL}^{-1}$  of captan; C,  $0.78 \mu\text{g mL}^{-1}$  of the mixture of both diethofencarb and carbendazim; D,  $12.5 \mu\text{g mL}^{-1}$  of the mixture of both diethofencarb and carbendazim.

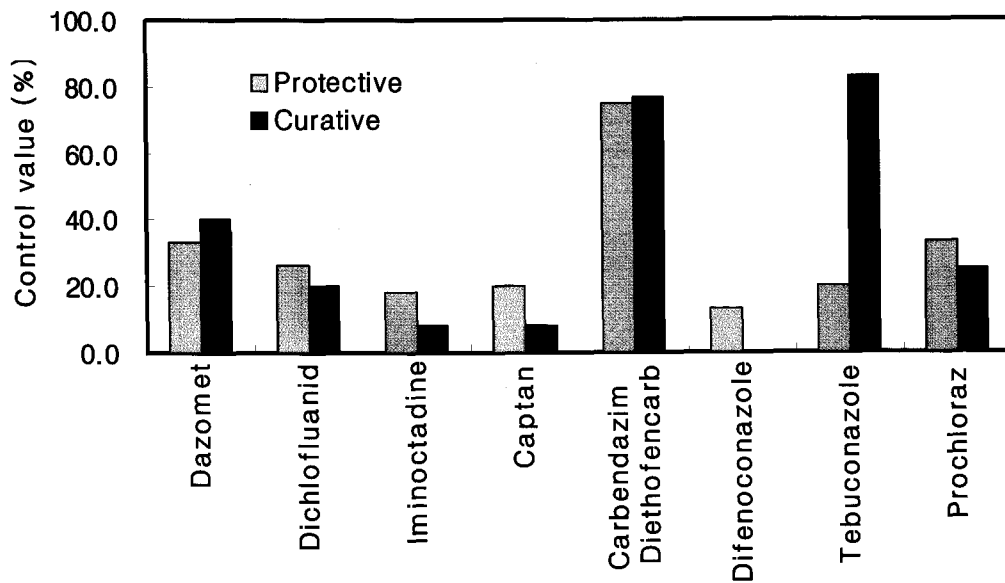


Fig. 2. Controlling effect of fungicides on soybean black root rot caused by *Calonectria ilicicola* SC03-15 in a greenhouse. Fungicides were applied by drenching 10 mL of each fungicide solution into soil 2 days before or after inoculation.

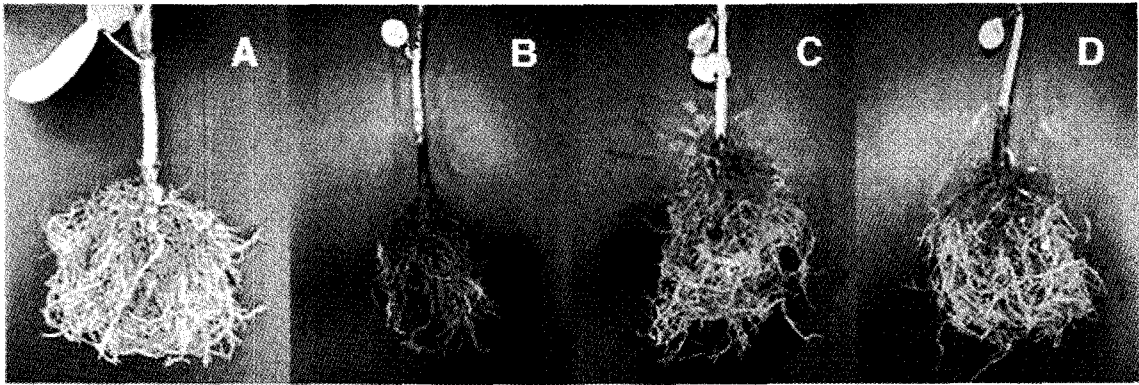


Fig. 3. Fungicidal activity against soybean black root rot caused by *Calonectria ilicicola* SC03-15 in a greenhouse. Photographs were made 40 days after inoculation. A, Root of non-inoculated soybean; B, Root inoculated with perithecia not applied with fungicides; C, Root applied with  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$  of the mixture both diethofencarb and carbendazim by drenching 2 days before inoculation of perithecia of *C. ilicicola* SC03-15; D, Root applied with  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$  of the mixture by drenching 2 days after inoculation of perithecia of *C. ilicicola* SC03-15.

될 수 있을 것으로 생각한다. 실내 검정에서 carbendazim과 diethofencarb의 혼합제는 한천희석법을 통한 균사 성장 억제효과가 매우 크게 나타났으며, 포자를 사용한 96-well microtiter plate법에서도 병원균의 성장 억제 효과가 우수한 것으로 조사되었던 살균제이다. 이 결과는 carbendazim과 diethofencarb의 혼합제가 콩 검은뿌리썩음병균의 균사 성장과 포자 발아에 대한 억제 효과 모두를 갖는 우수한 살균제임을 보여주는 것으로 생각한다. 이처럼 균사 성장과 포자 발아 모두를 억제 할 수 있는 carbendazim과 diethofencarb의 혼합제는 식물체에 병원균을 접종하기 전에 처리하는 예방 처리에서는 병원균 포자의 발아를 저해함으로써 병 발생을 억제할 수 있으며, 병원균을 접종하고 2일 후에 처리한 경우에는 토양과 식물체의 표면에서 발아하여 균사 성장을 하는 병원균뿐만 아니라, 식물체에 침입하여 균사로 정착하는 병원균 모두에 대해서도 효과를 보이기 때문에 식물체에서 병 발생을 억제하는 것으로 생각한다. 하지만 Fig. 3에서 보는 것과 같이 무처리구에서는 뿌리가 전체적으로 갈변하며 뿌리의 생육이 심하게 억제되고 있는데 비하여, carbendazim과 diethofencarb의 혼합제를 병원균 접종 전후에 토양에 처리하였을 때, 뿌리 생육의 억제는 크게 나타나지 않았지만 콩의 지체부와 뿌리의 측근 일부가 갈변하며 병이 발생하는 것을 관찰할 수 있었다. 이 결과는 온실 검정에서 가장 우수한 효과를 보인 carbendazim과 diethofencarb의 혼합제조차도 포장에서 사용할 때에 효과가 감소할 위험성이 있음을 보여주고 있다.

Tebuconazole은 예방 처리에 의한 병 발생 억제 효

과보다는 병원균을 접종하고 2일 후에 처리한 경우의 효과가 83.3%로 높게 나타났다. 이 결과는 tebuconazole이 *C. ilicicola* SC03-15의 포자 발아에 대한 억제 효과보다는 균사생장에 대한 억제효과가 우수한 살균제임을 보여주고 있으며, Table 3에서의 실내 검정 결과와도 부합하는 결과라고 생각한다. 특히 병원균 발아 전 처리에서 방제 효과가 20%로 저조하게 나타난 이유를 설명하기 위해서는 tebuconazole의 토양 중에서의 물리성과 이동 등의 특성을 기초로 더 연구되어야 할 것으로 생각한다. 다만 실제 포장에서 사용하고자 할 때에 이러한 tebuconazole의 특성을 참고한다면, tebuconazole의 처리 시기는 1차 전염원이 나타나기 전부터 처리하는 것보다는 발병의 초기에 처리하는 것이 적기일 수도 있을 것으로 생각된다. 실험에 사용하였던 prochloraz와 보호용 살균제들의 방제 효과는 40% 이하로 저조하게 나타났다. 특히 실내 검정에 사용한 두 가지 방법 모두에서 우수한 병원균의 생육 억제 효과를 보였던 dazomet은 식물체를 직접 사용하며 토양에 관주처리하는 온실 검정에서는 효과가 미미하였다. 병원균 포자의 발아 억제 효과가 큰 보호용 살균제들이 토양에 처리하였을 때, 효과가 저조하게 나타나는 것은 토양에서의 살균제의 이동이나 흡착이 큰 영향을 미치는 것으로 생각된다.

본 실험에서는 콩의 검은뿌리썩음병을 화학적 방법인 살균제를 처리하여 방제하기 위하여 실내와 온실 검정을 실시하였으며, carbendazim과 diethofencarb의 혼합제와 tebuconazole의 방제 효과가 우수함을 증명하였다. 따라서 콩의 논 재배 증가와 더불어 예상되는 검은뿌리썩음병의 방제를 위해서는 선발한 살균제

를 토양처리하여야 하며, 살균제의 특성상 tebuconazole은 발병 전 예방 처리보다는 병 발생 직후가 처리 적기인 것으로 생각한다. 그러나 포장에서 콩 검은뿌리썩음병 방제를 위해서는 더 많은 살균제의 검정을 통하여 콩 검은뿌리썩음병균에 대하여 탁월한 방제 효과를 보이거나 특이적인 방제 특성을 보이는 살균제의 선발과 병원균의 침입 과정과 경로를 고려한 적합한 방제 시스템을 확립하는 것이 필요할 것으로 보인다.

### 감사의 글

본 연구 결과는 농촌진흥청의 Biogreen21 연구과제로 지원받은 과제로 수행된 것으로 본 논문을 발표하는 자리를 빌려 감사를 포함합니다.

### 인용문헌

- Berggren, G. T. (1989) Root and lower stem diseases and aerial blight. p.6. In Soybean disease atlas. 2nd ed. P. D. Colyer.
- Berner, D. K., G. T. Berggren, M. E. Pace, E. P. White, J. S. Gershey, J. A. Freedman and J. P. Snow (1986) Red crown rot: now a major disease of soybeans. Louisiana Agriculture 29:4~5.
- Branch, W. D. and T. B. Brenneman (2003) Field resistance to cylindrocladium black rot and tomato spotted wilt virus among advanced runner-type peanut breeding lines. Crop Protection 22:729~734.
- Brenneman, T. B. and B. Kemerait (2004) New management options for *Cylindrocladium* black rot (CBR). Georgia Peanut Commission Research Report Summaries.
- Crous, P. W., M. J. Wingfield and A. C. Alfenas (1993) *Cylindrocladium parasiticum* sp. nov., a new name for *C. crotalariae*. Mycol. Res. 97:889~896.
- Glenn, D. L. (2001) Incidence and Management of Seed Transmission of *Cylindrocladium* Black Rot of Peanut in Virginia. MSc thesis, Virginia Polytechnic Institute and State University. p.60.
- Kucharek, T. (2000) *Cylindrocladium* black rot (CBR) of peanut, soybean, and forage legumes in Florida. Plant Pathology Fact Sheet pp.139~143. University of Florida.
- Norman, D. J. (1996) Control of *Cylindrocladium* root rot of *Spathiphyllum* with fungicide drenches. Central Florida Research and Education Center Report RH-96-6.
- Phipps, P. M. (2000) Applied research of field crop disease control. Virginia Polytechnic Institute and State Univ. Suffolk. TAREC Information Series No. 439.
- 김용욱, 조준형 (2005) 국내 육성 콩 품종의 논 재배에 따른 생육 반응과 수량성. 韓作詩. 50(3):161~169.
- 김제정, 김준태, 박성우, 박은숙, 김홍태 (2003) 고추 탄저병균의 포자 발아와 부착, 균사 생장에 미치는 화합물의 활성검정법 확립 및 살균제의 효과. 한국농약과학회지 7(3):159~168.



---

**Selection of Fungicides for the Control of Soybean Black Root Rot Caused by *Calonectria ilicicola***

Seong Woo Park, Beom Kwan Kang, <sup>1</sup>Hong Sik Kim, <sup>1</sup>Sun Hee Woo, and <sup>\*</sup>Heung Tae Kim (Department of Plant Medicine, College of Agriculture, Life and Environment Sciences, Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk 361-763, Korea, <sup>1</sup>Department of Agronomy, College of Agriculture, Life and Environment Sciences, Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk 361-763, Korea)

**Abstract :** Fungicidal screening was performed to control soybean black root rot caused by *Calonectria ilicicola* through *in vitro* and greenhouse assays. In *in vitro* assay, 25 fungicides were assessed by an agar dilution method and a 96-well microtiter plate method. While protective fungicides including dithianon, dichlofluanid, mancozeb, and captan showed a very low activity against the mycelial growth *C. ilicicola* SC03-15 in the agar dilution method, they displayed potent inhibitory activity against spore germination in a 96-well microtiter plate method with EC<sub>50</sub> values of 4.65, 0.61, 4.64, and 0.29  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , respectively. Ergosterol biosynthesis-inhibiting (EBI) fungicides showed different antifungal activity against mycelial growth and spore germination according to molecules. Difenconazole displayed higher antifungal activity against spore germination rather than mycelial growth, and prochloraz inhibited potently both mycelial growth and spore germination with EC<sub>50</sub> values less than 1.8  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . In contrast, the other EBI fungicides inhibited more highly mycelial growth than spore germination. Carbendazim+diethofencarb and dazomet also inhibited both mycelial growth and spore germination of *C. ilicicola* SC03-15 at very low concentrations. In greenhouse assay, carbendazim+diethofencarb effectively controlled a soybean black root rot by drenching 2 days before or after inoculation. In addition, tebuconazole showed potent curative activity against soybean black root rot.

Key words : soybean black root rot, the mixture both carbendazim and diethofencarb, chemical control.

---

<sup>\*</sup>Corresponding author (Fax : +82-43-271-4414, E-mail : thkim@cbnu.ac.kr)