

우리나라의 골프코스에서 *Typhula* spp.에 의해 발생하는 설부병의 동정 및 방제

김정호^{1,2*} · 심규열¹ · 이혜민² · 문효선² · 김영호²

¹한국잔디연구소, ²서울대학교 농생명공학부

Identification and Chemical Control of Gray Snow Molds Caused by *Typhula* spp. on Golf Course in Korea

Jeong-Ho Kim^{1,2*}, Gyu-Yul Shim¹, Hye-Min Lee², Hyo-Sun Moon²
and Young-Ho Kim²

¹Korea Turfgrass institute, Subsidiary of Korea Golf Course Business Association, Sunghnam
463-840, Korea

²Department of Agricultural Biotechnology and Center for Plant Molecular Genetics and Breeding
Research, Seoul National University, Seoul 151-921, Korea

ABSTRACT

In March of 2004, gray snow mold (*Typhula* blight) caused by *Typhula* spp. occurred on perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) and Kentucky bluegrass (*Poa pratensis* L.) at MuJu golf courses in Jeonbuk Province. Leaves in the affected areas were matted together and frequently covered with white to grayish mycelia. Sclerotia were formed on the leaf blade, leaf sheath, or crown regions. The fungus isolated from the diseased leaf formed whitish mycelium, clamp connections, and light pink to brown, irregular-shaped small sclerotia of less than 1.4 mm in diameter, which are characteristic to *Typhula incarnata*. Optimum temperature ranges for mycelial growth were 5°C to 15°C. The causal organism was confirmed to be *T. incarnata* as the partial sequence of its ribosomal RNA ITS1 (internal transcribed spacer) region was 91% homologous to those of *T. incarnata* in GenBank database. Out of the 14 fungicides tested for antifungal activity *in vitro*, 10 fungicides including iprodione, tebuconazole, polyoxin D, flutolanil, hexaconazole, tolclofos-methyl, fosetyl-Al, mepronil, pencycuron+tebuconazole, and fenarimol completely inhibited fungal growth at their recommended concentrations. In the field test, these fungicides and others

*Corresponding author. Tel : +82-31-781-6440
E-mail: kimjh9001@paran.com

such as thifluzamide and thiram effectively controlled the gray snow mold of turfgrass with some variable degrees of control efficacies.

key word : Typhula blight, *Typhula incarnata*, chemical control.

서론

우리나라의 골프장 수는 점차 증가하여 2008년 1월 현재 운영 중이거나 건설 중에 있는 골프장은 402개에 달한다(한국골프장경영협회, 2008). 국내 골프코스에 사용되는 잔디로는 페어웨이, 티잉그라운드, 러프지역에는 대부분이 한국잔디(*Zoysia japonica* Steud.)를 사용하고 있지만 모든 그린에는 한지형잔디인 크리핑벤트그래스(*Agrostis palustris* Huds.)를 사용하고 있다. 최근 들어 한지형잔디는 품질의 우수성과 긴 녹색기간, 강한 답압저항성 등의 장점 때문에 티잉그라운드, 그린칼라 및 에이프론 등 집중답압 지역에 부분적인 한지형잔디 사용이 증가하는 추세며 전국적으로 전지역을 한지형잔디로 조성한 골프장이 42개로 전체 골프장의 약 20% 정도에 이른다(심, 2006). 특히 여름철이 서늘하고, 겨울철 기온이 평지보다 낮은 산간지역 골프장의 경우 대부분이 한지형잔디로 조성되었으므로 겨울 동안의 적설에 의해 각종 설부병 발생이 조장되어 골프장에 피해가 발생하고 있는 실정이다.

겨울철에 한지형잔디에 설부병(snow mold)을 일으키는 주요 원인균으로 *Typhula incarnata*, *T. ishihariensis*, *Coprinus psychromorbidus*, *Gerlachia nivalis*, *Sclerotium rhizoides*, *Myriosclerotia boreale*, *Acremonium boreale*, *Pythium* spp. 등이 알려져 있다(Shurtleff et al., 1987). 이들 중 국내에서 가장 발생이 많은 병원균은 *Typhula* spp.로 잔디류, 두과 사료작물, 겨울철 맥류에 설부병을 일으키는 식물병원균으로 잘 알려져 있으며, 잔디에 병을 일으키는 병원

균으로는 *T. incarnata*와 *T. ishihariensis*가 있다(Agrios, 2005).

국내에서 설부병에 대한 연구는 김 등(1991, 1992)에 의해 이루어진 바 있다. 최근 들어 한지형잔디로 식재한 골프장의 수가 증가함에 따라 이 병의 발생이 있어 설부병에 대한 재조명할 필요가 있다.

따라서 본 연구는 우리나라에서 발생하는 설부병의 원인 병원균의 형태적, 분자생물학적 특성을 이용한 동정과 방제용 약제 중 설부병 방제에 효과적인 약제선발을 위해 연구를 실시하였다.

재료 및 방법

병원균 분리

골프장 페어웨이 잔디에서 병징을 보이는 이병엽의 절편과 균핵을 채취하여 70% ethyl alcohol에 1분간 표면살균을 하였다. 살균수로 씻은 후 수분을 제거하고 WA(water agar)에 치상하여 15℃ 항온기에서 배양한 후 성장하는 균사 끝부분을 떼어내어 감자천천배지(PDA, potato dextrose agar)에 이식하였다. 분리균은 -80℃에 보관하면서 병원균의 동정과 약제방제 효과 시험에 사용하였다.

병원균 동정

분리균의 균사생장 적은 및 균핵 형성유무와 크기, 색깔, 균핵 표면의 결각 모양(rind cell patterns) 등을 PDA배지와 1/8 PDA배지(PDA를 증류수로 8배 희석한 배지) 상에

서 조사하였다. 또한 분자생물학적인 동정을 위하여 분리균을 15℃ 배양기에서 14일간 배양한 후 서울대학교 농생명과학공동기기원(NICEM)에 의뢰하여 ribosomal RNA의 internal transcribed spacer 1 (ITS1) region의 염기서열을 GeneBank database에 등록된 염기서열과 상동성을 비교하여 종을 동정하였다.

실내 약제방제 효과 시험

잔디용으로 등록되어 있는 14개 약제를 대상으로 PDA배지 상태에서 약제방제를 검증하였다(Table 1). 병원균을 PDA 배지에 접종하고 15℃에서 14일간 배양한 후 균자 선단 부위에서 직경 5 mm의 균사 단편을 떼어내어 각 약제가 첨가된 PDA 배지에 접종하였다. 각 약제는 멸균수에 용해시켜 PDA배지에 추천농도가 되도록

희석하여 첨가하였다. 병원균을 접종한 배지는 15℃에서 21일간 배양한 후 균총의 직경을 측정하였으며, 방제가는 다음 식으로 구하였다.

포장 약제방제 효과 시험

실내 시험에서 사용한 약제를 비롯한 14개 사용하여(Table 2) 포장에서 방제효과를 검증하였다. 방제시험은 강원랜드 골프장에서 실시하였으며 처리농도는 잔디용으로 등록되어 있는 추천농도를 적용하였다.

약제처리 시기는 한지형 잔디인 켄터키블루그래스 품종에 휴면직전인 2003년 11월 24일부터 적설 전 10일 간격 3회(1ℓ/㎡) 토양관주 처리하였다. 시험구 배치는 구당 4㎡의 면적 난괴법 3반복으로 설계하여 실시하였다. 병 발생을 조사는 2004년 4월 6일에 실시하였으며 방제가는 다음 식으로 구하였다.

$$\text{균사생장억제율(\%)} = \frac{\text{무처리구 균총직경(mm)} - \text{처리구 균총직경(mm)}}{\text{무처리구 균총직경(mm)}} \times 100$$

Table 1. Fungicides used for the control of gray snow mold *in vitro*

Fungicides	a.i. ^a Content(%) and formulation	Mode of action	Applied rate
Validamycin-A	a.i.5, SL ^b	antibiotic	20 ml/20 ℓ
Iprodione	a.i.50, WP	contact	20 g/20 ℓ
Thiophanate-methyl	a.i.70, WP	systemic	13 g/20 ℓ
Tebuconazole	a.i.25, EC	systemic	10 ml/20 ℓ
Pencycuron	a.i.25, WP	contact	20 g/20 ℓ
Polyoxin D	a.i.2.25, WP	systemic	40 g/20 ℓ
Flutolanil	a.i.15, EC	systemic	20 ml/20 ℓ
Hexaconazole	a.i.2, SC	systemic	10 ml/20 ℓ
Azoxystrobin	a.i.47, WG	systemic	2 g/20 ℓ
Tolclofos-methyl	a.i.50, WP	contact	40 g/20 ℓ
Fosetyl-Al	a.i.80, WP	systemic	40 g/20 ℓ
Mepronil	a.i.75,WP	systemic	20 g/20 ℓ
Pencycuron+Tebuconazole	a.i.15+10, SC	contact, systemic	13.3 ml/20 ℓ
Fenarimol	a.i.12, EC	systemic	20 ml/20 ℓ

^aa.i.: active ingredient.

^bEC: emulsifiable concentrate, GR: granule, SC: suspension concentrate, SL: Liquid soluble concentrate, WG: water dispensible granule, WP: wettable powder.

*Measured at 21days after incubation on PDA.

$$\text{방제가 (\%)} = \frac{\text{무처리구의 피해면적} - \text{처리구의 피해면적}}{\text{무처리구의 피해면적}} \times 100$$

Table 2. Fungicides used for the control of gray snow mold in the field

Fungicides	a.i. ^a Content(%) and formulation	Mode of action	Applied rate
Validamycin-A	a.i.5, SL ^b	antibiotic	20 g/20 ℓ
Iprodione	a.i.50, WP	contact	20 g/20 ℓ
Thiophanate-methyl	a.i.70, WP	systemic	13 g/20 ℓ
Tebuconazole	a.i.25, EC	systemic	10 ml/20 ℓ
Pencycuron	a.i.25, WP	contact	20 g/20 ℓ
Polyoxin D	a.i.2.25, WP	systemic	40 g/20 ℓ
Flutolanil	a.i.15, EC	systemic	20 g/20 ℓ
Hexaconazole	a.i.2, SC	systemic	10 ml/20 ℓ
Thifluzamide	a.i.21, SC	absorption-translation	4 ml/20 ℓ
Tolclofos-methyl	a.i.50, WP	contact	40 g/20 ℓ
Fosetyl-Al	a.i.80, WP	systemic	40 g/20 ℓ
Mepronil	a.i.75, WP	systemic	20 g/20 ℓ
Thiram	a.i.80, WP	contact	40 g/20 ℓ
Fenarimol	a.i.12, EC	systemic	20 ml/20 ℓ

^aa.i.: active ingredient.

^bEC: emulsifiable concentrate, GR: granule, SC: suspension concentrate, SL: Liquid soluble concentrate, WG: water dispensible granule, WP: wettable powder.

*Monitored at 114days after final treatment.

결과 및 고찰

발병 및 병징

설부병의 병반은 켄터키블루그래스(Kentucky bluegrass)와 퍼레니얼 라이그래스(perennial ryegrass)로 조성된 페어웨이 위에 직경이 5~10 cm 이상의 빗바랜 벗겨색의 원형 패취를 형성하였다. 감염된 잔디들은 서로 엉켜서 매트화(mat)되었고, 종종 솜털 같은 흰색 또

는 회백색의 균사체들로 덮여 있기도 하였다. 균핵은 엽신(leaf blade), 엽초(leaf sheath) 및 관부(crown region)에 형성되어 있었다 (Fig. 1, 2).

병원균의 동정

병원균의 균학적 특성은 흰색의 균사체와 균총을 형성하였고, 균총에 형성된 균핵은 모양이 불규칙하고 크기가 0.5~1.4 mm 정도이

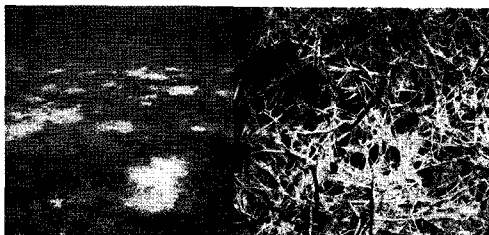


Fig. 1. Typical symptoms of gray snow mold on turfgrass.



Fig. 2. Sclerotia (arrow) of gray snow mold fungus formed on turfgrass stem.

었다. 균핵의 색깔은 형성초기에는 옅은 핑크색을 띠다가 시간이 지나면서 갈색을 보였으며 (Fig. 3, 4; Table 3), 균사에는 격최연결체 (clamp connection)를 형성하였다(Fig. 5).

병원균의 온도에 따른 균사생육적온은 5~15℃이었으며, 15℃에서 최대생장을 보였다 (Fig. 6). 배지에 따른 균사생장은 PDA배지에 비해 1/8 PDA배지에서 훨씬 생장이 빨랐으며, 균핵 형성 또한 1/8 PDA배지에서 더 양호하였다. 그러나 균체의 총형성량은 1/8 PDA보다 PDA에서 많은 것으로 나타났다.

분자생물학적 특성을 조사하기 위해 ribosomal RNA의 ITS1(internal transcribed spacer 1) 부위의 염기서열을 분석한 결과(Fig. 7), 754 bp 중에서 687 bp의 염기서열이 Gene bank database의 *T. incarnata*와 91%의 상동성을 보였다.

이상결과로 보아 전복소체의 무주골프장에 발생한 설부병은 원인균의 형태적 특성과 분자생물학적 특성을 조사한 결과 *T. incarnata*로 최종적으로 동정되었다.

실내 약제방제 효과 시험

14개 약제를 대상으로 실내 약제방제 효과를 검정한 결과, iprodione, tebuconazole, polyoxin D, flutolanil, hexaconazole, tolclofos-methyl, fosetyl-Al, mepronil, pencycuron+ tebuconazole, fenarimol 등은 높은 균사생장억제율을 보였다. 반면 validamycin-A, azoxystrobin은 각

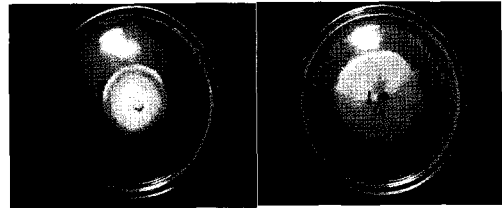


Fig. 3. Morphological characteristics of *Typhula incarnata*, showing mycelia and sclerotia formed on PDA(left) and 1/8 PDA(right).

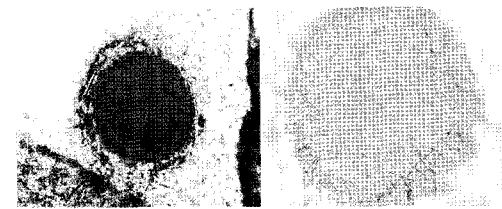


Fig. 4. Structure and surface of the first stage sclerotium formed on PDA.

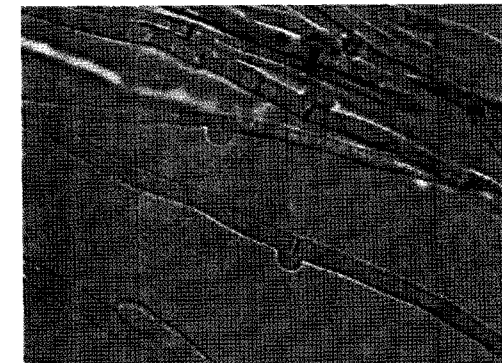


Fig. 5. Clamp connections of *Typhula incarnata*, the causal agent of gray snow mold (×800).

Table 3. Sclerotial characteristics of the causal fungus and gray snow mold

Characteristics	Present isolate	<i>Typhula incarnata</i> ^a	<i>T. ishikariensis</i> ^a
Color	Pink to brown	Pink to hazel brown	Dark brown to black
Diameter	0.5 to 1.4 mm	0.5 to 5 mm	0.2 to 2 mm
Shape	Irregular	Irregular	Spherical
Rind cell patterns	Lobate	Lobate	Not lobate
Attachment	Usually embedded	Usually embedded	Usually loose

^aDescribed by Hsiang *et al.*(1999)

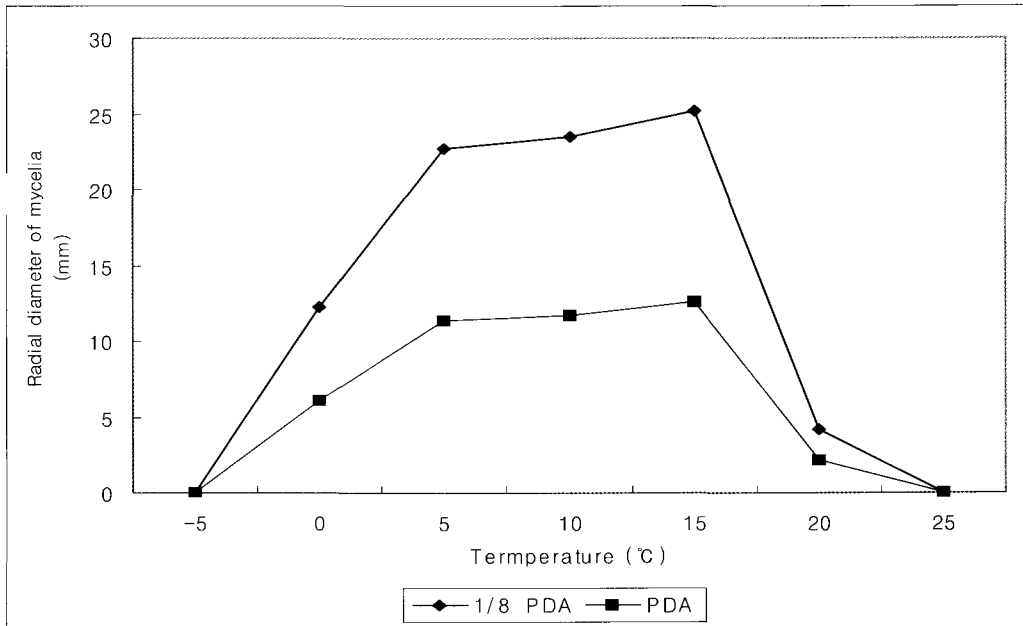


Fig. 6. Mycelial growth of *Typhula incarnata* on 1/8 PDA and PDA at different temperatures.

```

1  tccgtaggtg aacctgcgga aggatcatta tcgaatttaa ggctttgggt gagctggcgc
61  ttcggtgcat gtgcttgcc tgtgctgtcc attcttcaac acctgtgcac actttgtagt
121 tgactctttt gtttatctgt tcatctctct ctgactccg gtctctgtga aggggtgctg
181 ggcttttcga aagcaaggtc ctctatgta ttattataca ccctttacaa aaacaagtc
241 atagaacgtc caatgtaggc gcagcgtaaa acaactgttg ctgaaattat aaaacttata
301 caacttttaa caacgatct cttggctctc gcacgatga agaacgcagc gaaatgcat
361 aagtaatgtg aattgcagaa ttcagtgaat catcgaatct ttgaacgcac cttgcgctcc
421 ttggtattcc ggggagcatg cctgttgag tgtcattaaa ttctcaacca cactatgttt
481 ttattaacgt agttctgtg gcttgatct tggagttgt gccggtaaac ctttagttag
541 gttggtggct cctctttaa tgcattagct ggaacctct tgtggtgcca gactatgggt
601 tgataattat ctacgctgtg gttgttgcg ctgcgaattt aactatgggg ttctgcttct
661 aatcgctcct tttcaaagga cagtatagag tgtggtgggt gggttgcttt caaggggttc
721 gcctctgtg ttacaatctt gccctttacc tcttattgac attttgacct caaatcaggt
781 aggactacc gctgaactta agcatatcaa taagcggagg a
    
```

Fig. 7. Partial sequences of ribosomal RNA ITS1 region of *Typhula incarnata* isolated from turfgrass.

각 64.8%와 48.9%의 보였고, thiophanate-methyl과 pencycuron의 경우 31.9%와 37.4%의 낮은 균사생장억제율을 보였다(Talbe 4).

포장 약제방제 효과 시험

실내시험에서 사용한 14개 약제를 포장에서 약제의 효과를 시험한 결과 iprodione,

thiophanate-methyl, tebuconazole, polyoxin D, hexaconazole, thifluzamide 및 thiram은 90% 이상의 높은 방제효과를 보였으나, flutolanil, tolclofos-methyl, fosetyl-Al, fenarimol 및 mepronil은 70~80% 정도의 방제효과를 보였다. validamycin-A, pencycuron은 낮은 방제효과를 나타내었다(Table 5). 본시험의 결과, 전

Table 4. Effect of 14 fungicides on mycelial growth of gray snow mold *in vitro*

Treatment	Colony diameter(mm) ^x				Suppression of mycelial growth(%)
	1	2	3	Ave.	
Validamycin-A	2.8	2.5	2.4	2.6e ^y	64.4
Iprodione	0	0	0	0f	100
Thiophanate-methyl	4.8	4.8	5.3	5.0b	31.5
Tebuconazole	0	0	0	0f	100
Pencycuron	4.5	4.4	4.8	4.6c	37.0
Polyoxin D	0	0	0	0f	100
Flutolanil	0	0	0	0f	100
Hexaconazole	0	0	0	0f	100
Azoxystrobin	3.8	3.7	3.7	3.7d	49.3
Tolclofos-methyl	0	0	0	0f	100
Fosetyl-Al	0	0	0	0f	100
Mepronil	0	0	0	0f	100
Pencycuron+Tebuconazole	0	0	0	0f	100
Fenarimol	0	0	0	0f	100
Control	7.0	7.4	7.5	7.3a	-

^xMonitored at 114days after final treatment.

^yMean separation within columns by DMRT at $P=0.05$.

체적으로 침투이행성 약제들이 보호용 약제들에 비해 다소 높은 방제효과를 보였다. 특히, 침투이행성인 thiophanate-methyl의 경우 *in vitro* 시험에서는 30%대의 낮은 균사생장 억제율을 보인 반면 *in vivo* 시험에서는 90%대의 높은 방제효과를 보이는 특징을 보였다. 항생체계통인 validamycin-A는 다른 계통들에 비해 가장 낮은 방제효과를 보였다. 이러한 이

Table 5. Efficiencies of 14 fungicides for the control of gray snow mold in the field

Fungicides	Disease incidence(%) ^x				Control value (%) ^z
	1	2	3	Ave.	
Validamycin-A	30	11.5	18.5	20.0 bc ^y	60.2
Iprodione	1.5	9.4	2.3	4.4d	91.2
Thiophanate-methyl	7.5	3.2	4.0	4.9d	90.3
Tebuconazole	0	0.5	1.6	0.7d	98.7
Pencycuron	45.5	23.0	15.0	27.8b	44.7
Polyoxin D	1.8	0	8.5	3.4d	93.3
Flutolanil	4.0	12.0	5.3	7.1d	85.8
Hexaconazole	6.8	0	2.5	3.1d	93.8
Thifluzamide	7.5	1.2	0	2.9d	94.2
Tolclofos-methyl	0	13.0	3.5	5.5d	89.1
Fosetyl-Al	16.0	4.8	8.5	9.8cd	80.4
Mepronil	21.0	8.0	5.0	11.3cd	77.6
Thiram	0	7.5	3.9	3.8d	92.4
Fenarimol	10.6	3.8	1.3	5.2d	89.6
Control	49.8	60.5	40.2	50.2a	-

^xMonitored at 114days after final treatment.

^yMean separation within columns by DMRT at $P=0.05$.

^zCalculated from the equation $(D.I._{control}-D.I._{treat}/D.I._{control}) \times 100$.

유는 가을철에 예방시약을 할 경우 침투이행성 약제들의 경우 잔디의 체내에 침투되어 겨울 동안(약 2~3개월) 유실율이 적어 약효지속기간이 길어져 방제효과가 상대적으로 높게 나타난 반면 보호용약제의 경우에는 그 기간 동안 농약의 유실율이 높아 초봄에 발생하는 설부병에 방제효과가 떨어진 것이 원인이라고 생각된다.

이상의 포장시험 결과로 보아 설부병의 방제는 시기적으로 잔디가 농약성분을 흡수할 수 있는 잔디휴면 직전에 처리하는 것이 효과적일 것으로 생각되며, 약제는 보호용 살균제 보다는 침투이행성 살균제가 방제효과를 높일 수 있을 것으로 판단된다.

요 약

2004년 3월에 전라북도에 위치한 한 골프장의 켄터키 블루그래스와 퍼레니얼 라이그래스에 설부병이 발생되었다. 감염된 잔디잎들은 서로 엉켜서 매트화 되고, 흰색에서 회백색의 균사체들로 덮여있었다. 균핵들은 잔디의 엽신, 엽초 및 관부 위에 형성되어 있었다. 이병 잎으로부터 분리된 곰팡이는 직경이 1.4 mm 미만의 밝은 핑크에서 갈색의 불규칙한 모양의 균핵과 격쇄연결체, 흰색의 균사체 등을 형성하여 *Typhula incarnata*와 같은 특징을 보였다. 분리된 *T. incarnata*의 균사생육 적온은 5~15°C이었다. 원인균의 ribosomal RNA IST1의 부분 염기서열은 GeneBank database에 등록된 *T. incarnata*의 부분 염기서열과 91%로의 상동성을 보여 *T. incarnata*로 동정되었다. 실내 약제방제 시험결과 14개 살균제 중 iprodione, tebuconazole, polyoxin D, flutolanil, hexaconazole, tolclofos-methyl, fosetyl-Al, mepronil, penicyuron+ tebuconazole

및 fenarimol 살균제들은 추천농도에서 완전하게 균생장을 억제하였다. 포장시험에서, 이들 살균제와 thifluzamide와 thiram과 같은 살균제들은 다소 방제효능의 정도 차이는 있지만 효과적으로 잔디 설부병을 방제하였다.

주요어 : 설부병, 타이폴라 인카나타, 화학적 방제

참고문헌

1. 김진원. 1991. 우리나라 골프장의 Bentgrass와 Kentucky Bluegrass에 발생한 *Typhula incarnata* Lasch ex Fr.에 의한 설부소립균핵병에 관한 연구. 석사논문. 서울시립대학교.
2. 김진원, 이두형, 심규열. 1992. 화본과식물에 발생하는 설부소립균핵병균의 동정 및 발생생태에 관한 연구. 한국잔디학회지 20: 37-43 p.
3. 심규열. 2006. 한지형잔디의 하·동절기 고사원인과 대책. 10 p. In: 한지형잔디 특성화 교육 교재. 한국잔디연구소.
4. 한국골프장경영협회. 2008. 전국골프장현황.
5. Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology*. 5th Ed. Elsevier Academic Press. NY. 396 p.
6. Hsiang, T., N. Matsumoto, and S.M. Millett. 1999. Biology and management of *Typhula* snow molds of turfgrass. *Plant Dis.* 83:788-798 p.
7. Shurtleff, M.C., T.W. Fermanian, and R. Randell. 1987. *Controlling Turfgrass Pests*. A Reston Book, Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, USA. 449 p.