

구기자 탄저병 방제를 위한 살균제 선발

구한모*

공주대학교 산업과학대학 식물자원학과

Fungicide Selection for Control of *Lycium chinense* Anthracnose Caused by *Colletotrichum* spp.

Han Mo Koo*

Department of Plant Resources, College of Industrial Science, Kongju National University, Yesan 340-702, Korea
(Received on March 20, 2008)

Anthracnose caused by *Colletotrichum* spp. has been known as a significant disease which commonly infects to the fruits of Chinese matrimony (*Lycium chinense*) in the field conditions. To select effective fungicides for the control of Chinese matrimony anthracnose, the antifungal activity of 15 fungicides were evaluated with 13 different strains of *Colletotrichum* spp. in the laboratory condition. Six fungicides (Dithianon WG, Tebuconazole SC, Tebuconazole WG, Trifloxystrobin + Tebuconazole SC, Azoxystrobin SC and Polyoxin D zinc salt + Carbendazim WP) out of them, showed effective suppression with the mycelium growth of pathogenic fungus, and were selected to test *in vivo* of the field condition. Five fungicides, Dithianon WG, Tebuconazole WG, Trifloxystrobin + Tebuconazole SC, Tebuconazole SC and Azoxystrobin SC, were significantly effective to protect anthracnose of Chinese matrimony, the variety "Chungyang Jerae".

Keywords : Anthracnose, *Colletotrichum* spp, Fungicide selection, *Lycium chinense*

구기자나무는 다년생 낙엽성 관목으로 수피는 회백색이며, 키는 1 m 내외이며, 잎은 장기에는 호생하나, 단기에는 한마디에 대, 중, 소엽이 총생한다. 꽃피는 시기는 지역과 품종에 따라 차이가 있으나, 6월부터 개화를 시작하여 11월까지 몇 차례 수확하며 열매와 꽃이 동시에 생장하는 무한화서이다. 구기자는 줄기의 눈에서 열매가 순차적으로 익고, 구기자 가지에서 잎은 위를 향하고 열매는 밑을 향하는 모양을 취하고 있다(이, 2003).

구기자의 탄저병은 6월-8월 장마기에 비바람이 불 때 발병하는데 발병이 가장 심한 장마기에 잦은 비로 인하여 적기에 약제 처리를 하지 못하게 되거나, 적당한 발병 환경이 조성되면 구기자 탄저병이 격발하게 되어, 개화된 열매는 물론 후기에 개화가 전혀 되지 않아 구기자 재배 농가에 치명적인 피해를 주게 된다(이, 2004).

우리나라에서 구기자에 주로 발생하는 병은 흰가루병, 점무늬병, 탄저병, 갈색점무늬병, 역병 및 뒷면곰팡이병

등 6종이 보고되어 있으며(한국식물병명목록, 2004), 그 중 가장 큰 피해를 주는 것은 탄저병이다(이 등, 1986; 김 등, 2006).

탄저병의 주요 전염원은 병에 걸린 식물의 잔재물이다. 발생시기는 생육 초기부터 수확 말기까지 전 생육기간에서 걸쳐 발병하며 탄저병 병원균은 기주 식물에 부착하고 발아하여 부착기를 형성하며, 식물체에 침입 후 기주 식물로부터 영양분을 공급 받으면서 식물 세포 간극에서 성장한다. 탄저병의 일반적인 감염경로는 과일, 종자, 식물의 잔사체 등에서 균사, 자낭각 또는 분생포자로 월동한다(김 등, 2002).

본 연구에서는 현재 구기자 탄저병 방제로 등록되어 있는 약제가 오로지 propineb 수화제 한 가지 품목뿐이어서(한국작물보호협회, 2007), 구기자 탄저병 방제를 위한 최적 살균제를 선발하기 위하여 본 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

구기자 탄저병의 공사균주. 본 실험에서는 KACC(Korean

*Corresponding author

Phone) +82-41-330-1204, Fax) +82-41-330-1209

E-mail) hmkoo@kongju.ac.kr

Table 1. Isolates of *Colletotrichum* spp. used in this study

	Isolate	Time of Isolation	Origin
A	KACC40013	'05.05	KACC ^a
B	KACC41832	'05.05	KACC
C	KACC40299	'05.05	KACC
D	KACC4003	'05.05	KACC
E	BAC02003	'04.11	A.T.A ^b
F	BAC02075	'04.11	A.T.A
G	BAC02063	'04.11	A.T.A
H	BAC02077	'04.11	A.T.A
I	<i>C. acutatum</i>	'04.11	A.T.A
J	<i>C. sp.</i>	'05.05	K.N.U ^c
K	00-64	'04.11	A.T.A
L	99-03	'04.11	A.T.A
M	<i>C. sp.</i>	'05.05	K.N.U

A, *C. dematium*; B, *C. acutatum*; C, *Glomerella cingulata*; D, *C. gloeosporioides*; E, *Glomerella cingulata*; F, *Colletotrichum* spp.; G, *C. acutatum*; H, *Glomerella cingulata*; I, *Colletotrichum acutatum*; J, *Colletotrichum* sp.; K, *Colletotrichum acutatum*; L, *Colletotrichum acutatum*; M, *Colletotrichum* sp.

^aKorean Agricultural Culture Collection, ^bCheongyang Boxthorn Experiment Station A.T.A., ^cThe Microbiology Laboratory of Kongju National University.

Agricultural Culture Collection)에서 분양받은 *Colletotrichum dematium* 의 3종, 청양구기자시험장에서 분양받은 *Glomerella cingulata* 의 6종을 분양받아 4±1°C에서 보관하며 실험에 이용하였다. 나머지 2균주는 공주대학교 병리학 실험실에서 직접 배양하였다(Table 1). 또한 충청남도 구기자시험장 포장에서 탄저병의 병징을 보이는 구기자 열매를 채집하여 병원균을 분리한 후 실험에 사용하였다. 병원균을 분리하기 위해서 병든 열매의 이병부와 건전부의 경계 부분에서 조직(5×5 mm)을 떼어내어, 70% ethanol과 1% NaOCl에 각각 1분 정도 표면 살균한 후, 살균수에 3회 세척하였다. 표면살균한 구기자 조직은 여과지를 이용하여 물기를 제거한 후, 300 µg/ml의 streptomycin을 첨가한 감자한천배지(PDA : potato 200 g, dextrose 20 g, agar 15 g, pH 6.5 distilled water : 1,000 ml)에 치상하여, 25±1°C에서 5일간 배양하였다. 배지에서 자란 탄저병균의 포자를 검정하여 병원균을 동정 확인 후, 균총의 선단부에서 직경 5 mm의 균사조각을 떼어내어, 감자한천배지 상에 이식 후에는 25±1°C Incubator에서 7일간 배양한 다음 실험에 사용하였다.

구기자 탄저병의 병원성 검정. 본 실험에서 사용된 13개의 균주를 PDA 배지에 이식하고, 25±1°C의 암상태에서 7일간 배양한 후, 형성된 분생포자를 수확하였다. 분생포자 현탁액에서의 포자농도는 10⁵ conidia/ml로 조절하

여 병원성 검정에 사용하였다. 구기자 열매에서 병원성을 확인하기 위하여 건전한 숙과와 미숙과를 취하여 70% ethanol로 1분간 표면 소독하고, 살균수로 세척하였다. Petri dish(87 mm×15 mm)에 살균수에 침지 처리한 여과지를 깔고, 구기자 열매를 올려놓은 다음, 13개 균주를 접종하였다. 병원균은 구기자의 숙과와 미숙과에 상처 접종과 무상처 접종을 구분하여 실시하였는데, 상처접종을 하기 위해서 구기자 열매에 멸균한 침(직경; 0.15 mm)으로 2 mm 깊이로 찢러 상처를 유발한 후 병원균의 현탁액을 접종하였다. Petri dish의 뚜껑을 덮은 후에 28±1°C에서 보관하며, 상처접종은 3일 후, 무상처 접종은 5일 후에 탄저병의 발병정도를 조사하였다.

구기자 탄저병 방제를 위한 실내 약효 검정. 구기자 탄저병 방제를 위한 살균제를 선발하기 위하여, 실험에 사용한 13개 균주에 대한 15종의 살균제(Table 2)의 균사생장 억제 효과를 조사하였다. PDA배지에서 5일간 배양한 병원균의 균사 선단에서 직경 5 mm의 균사조각을 떼어내어 새로운 PDA 배지의 중앙에 접종하였다. 병원균을 25±1°C에서 3일간 배양한 후, 처리한 살균제의 저지대 효과를 조사하였다. 저지효과는 균총의 저지 크기(mm)를 가지고 조사하였는데, 저지대의 크기가 3.5 mm 이상인 경우를 a, 2.5~3.5 mm 사이를 b, 1.5~2.5 mm를 c, 0.5~1.5 mm를 d, 그리고 균사 생장을 전혀 저지하지 못하였을 때를 x로 하여 조사하였다.

Table 2. Fungicides used in this study

Item name	Formulation (a.i. %)	Application dosage (/20 l)
Kasugamycin+Cooper oxychloride	5.75+45 WP ^a	20 g
Chlorothalonil	75 WP	33 g
Metalaxyl-M	7.5+75 WP	40 g
Mancozeb	75 WP	40 g
Captan	50 WP	40 g
Folpet	50 WP	40 g
Propineb	70 WP	40 g
Thiophanate-methyl	70 WP	13 g
Azoxystrobin	20 SC ^b	10 ml
Trifloxystrobin	50 WG ^c	5 g
Polyoxin D zinc salt+carbendazim	1.5+50 WP	20 g
Trifloxystrobin+Tebuconazole	10+20 SC	10 ml
Tebuconazole	23 WG	10 g
Tebuconazole	20 SC	10 ml
Dithianon	66 WG	6.6 g

^aWP, Wettable powder; ^bSC, Suspension concentrate; ^cWG, Water dispersible granule.

구기자 탄저병 방제를 위한 최적 약제 선발. 실험에 사용한 15종의 살균제 중에서 탄저병균의 균사 생장 억제 효과가 우수한 6종의 최적약제를 선발하여 청양구기자시험장의 포장에서 발병 억제 효과를 조사하였다(Table 5). 대조 살균제로는 propineb 수화제를 사용하였으며, 모든 살균제는 포장에서 사용하는 희석 배수로 처리하였다. 살균제는 7월 21일부터 10일 간격으로 3회 처리하였으며, 최종약제처리 10일 후에 구당 전체과일에 대한 발병과율(농업과학기술원, 2003)을 조사하였다. 처리한 살균제의 구기자에 대한 약해를 시험하기 위해서 약제를 추천 희석농도와 배량을 처리하고, 약제처리 후 3, 5, 7, 14일 경엽 및 과일에 대한 약해 유무를 달관조사하였다. 구기자

탄저병에 대한 시험 품종은 청양제레이며, 시험구는 난괴법 3반복으로 배치하였다.

결과 및 고찰

구기자 탄저병의 병원성 검증. 구기자 탄저병은 열매에서 주로 발생하는데, 2006년 충청남도 농업기술원 구기자 시험장 포장에서 재배되고 있는 구기자에서 8월경부터 줄기, 잎, 열매 등 식물에 전체에 이상 증상이 발생되었으며, 특히 구기자 열매에서 가장 큰 피해를 주었다(Fig. 1A). 공주대학교 병리학 실험실에서 분리한 탄저병균은 Fig. 1B에서 보는 것과 같이 이(2004)가 보고한 *C.*



Fig. 1. Anthracnose symptoms of *Lycium Chinense*. A, Late symptoms of mature fruits; B, Conidia of *Colletotrichum acutatum*. Bar = 10 μ m.

Table 3. Pathogenicity of *Colletotrichum* spp. on immature and mature fruits of *Lycium chinense* by artificial inoculation with or without wounds (Cheongyang-jare)

	Species	Isolate	Pathogenicity			
			Mature fruit		Immature fruit	
			Wound	Not-wound	Wound	Not-wound
A	<i>C. dematium</i>	KACC40013	+++ ^a	-	++	++
B	<i>C. acutatum</i>	KACC41832	+ ^c	++	+++	-
C	<i>Glomerella cingulata</i>	KACC40299	++ ^b	-	+++	++
D	<i>C. gloeosporioides</i>	KACC4003	+	-	+++	++
E	<i>Glomerella cingulata</i>	BAC02003	++	+	+++	++
F	<i>Colletotrichum</i> spp.	BAC02075	++	-	++	++
G	<i>C. acutatum</i>	BAC02063	+	++	+++	+++
H	<i>Glomerella cingulata</i>	BAC02077	+	-	+++	++
I	<i>C. acutatum</i>	<i>C. acutatum</i>	+	-	++	++
J	<i>Colletotrichum</i> spp.	<i>Colletotrichum</i> spp.	+	-	++	++
K	<i>C. acutatum</i>	00-64	- ^d	-	++	+
L	<i>C. acutatum</i>	99-03	+	+	+++	+
M	<i>Colletotrichum</i> spp.	<i>Colletotrichum</i> spp.	+	-	+++	+++

^a+++ , High symptom; ^b++ , Middle symptom; ^c+ , Low symptom; ^d- , no symptom.

*acutatum*과 형태적으로 매우 유사하였으며, 미숙과에 상처 접종하였을 때, 강한 병원성을 보여주었다.

구기자(품종: 청양재래)의 숙과와 미숙과에 상처와 무상처 접종한 결과는 Table 3과 같았다. *C. dematium* KACC40013은 숙과의 무상처 접종에서는 병원성을 보이지 않았으며, 상처접종과 미숙과에서 병원성을 보여주었다. *C. acutatum* KACC41832 균주 외 7균주는 미숙과 상처 접종에서 특히 강한 병원성을 나타냈다. *Glomerella cingulata* KACC40299 외 2균주는 미숙과에서는 강한 병원성을 보여주었고, 숙과의 상처접종에서 약한 병원성으로 보였으며, 무상처 접종에서는 병원성을 보이지 않았다

다. *C. gloeosporioides* KACC4003 균주는 미숙과에서는 강한 병원성을 보여주었고, 숙과의 상처 접종에서 약한 병원성을 보여주었으며, 무상처 접종에서는 병원성을 보이지 않았다. *Colletotrichum* spp. BAC02075는 숙과의 무상처 접종에서는 병원성을 보이지 않았다. 공주대학교 병리학 실험실에서 분리한 상기의 *Colletotrichum* spp.의 2균주는 미숙과에서는 강한 병원성을 보였으며, 숙과의 상처 접종에서 약한 병원성으로 나타났고, 무상처 접종에서는 병원성을 보이지 않았다.

구기자 탄저병 방제를 위한 실내 약효 검증. Fig. 2와 같이 13개의 탄저병균 균주를 가지고 15종의 살균제가

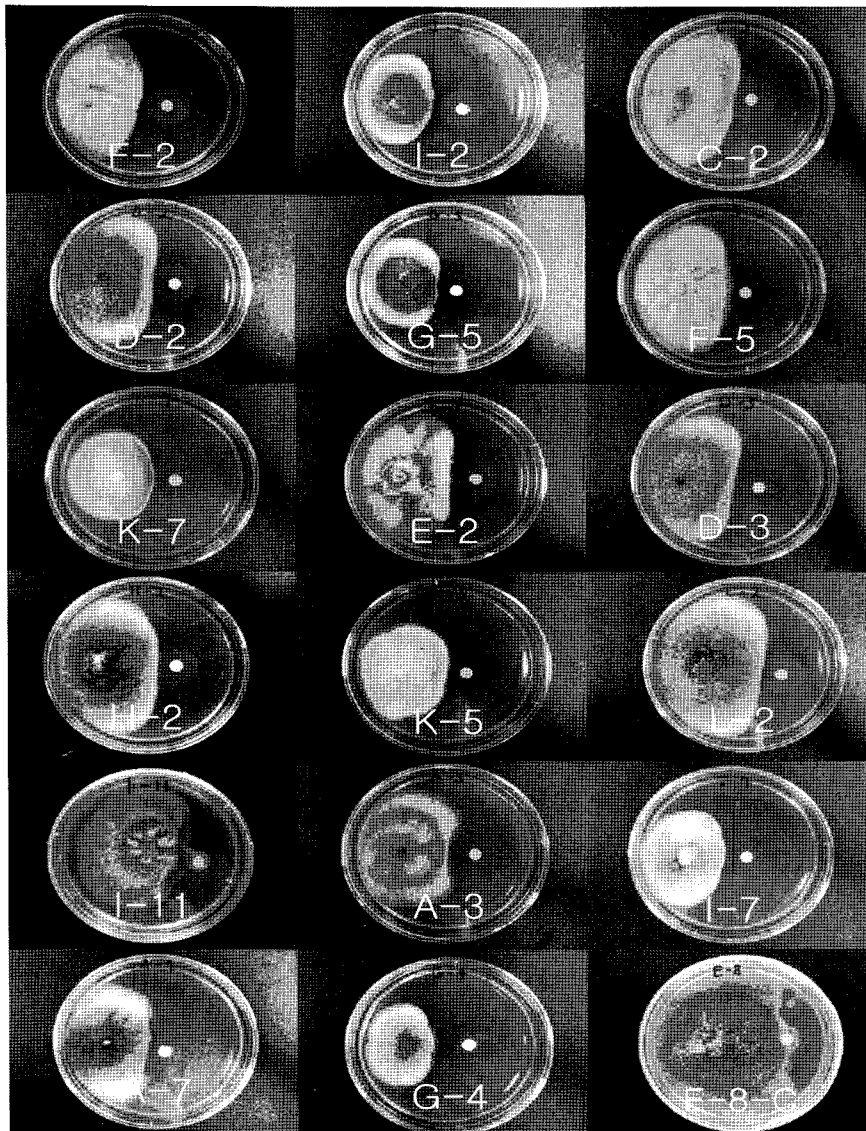


Fig. 2. Cultural characteristics of *Colletotrichum* isolates for different fungicides on PDA. A: *C. dematium*; C: *Glomerella cingulata*, D: *C. gloeosporioides*, E: *Glomerella cingulata*, F: *Colletotrichum* spp. G: *C. acutatum*, H: *Glomerella cingulata*, I: *C. acutatum*, K: *C. acutatum*, L: *C. acutatum* 2. Trifloxystrobin+Tebuconazole SC, 3. TebuconazoleWG, 4. Tebuconazole SC, 5. Dithianon WG, 7. Azoxystrobin SC, 8. Thiophanate-methyl WP 11. Polyoxin D zinc salt+carbendazim WP; C: Control.

Table 4. Inhibitory effect of several fungicides on the mycelial growth of *Colletotrichum* spp.

Fungicides	<i>Colletotrichum</i>													
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	
1	d*	x	x	x	x	x	c	x	x	x	x	x	x	
2	b*	x	b	b	a	x	b	a	a	x	b	a	b	
3	a*	x	a	a	b	x	x	a	x	x	x	x	x	
4	x*	x	x	b	b	x	a	b	x	x	x	c	b	
5	x	c*	x	b	x	a	a	x	b	x	a	x	x	
6	x	x	d	c	x	c	x	x	x	x	b	d	x	
7	x	a	d	b	x	c	x	x	x	x	a	x	x	
8	x	x	d	x	d	x	x	x	x	x	x	x	x	
9	a	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
10	x	x	x	x	x	x	c	x	x	x	x	x	x	
11	x	d	d	d	d	d	c	x	x	x	x	a	x	
12	x	d	x	x	x	x	x	x	c	x	d	d	x	
13	x	d	x	x	d	x	x	x	b	x	x	d	x	
14	x	d	d	x	x	x	v	x	x	x	c	d	x	
15	d	d	x	x	x	x	x	x	x	b	d	d	x	

*Inhibitory effect : a(above3.5), b(3.5-above2.5), c(2.5-above1.5), d(1.5-above0.5), x(none) uni : mm.

1. kasugamycin+Cooper oxychloride(cu), 2. Trifloxystrobin + Tebuconazole SC, 3. TebuconazoleWG, 4. Tebuconazole SC, 5. Dithianon WG, 6. Trifloxystrobin WG, 7. Azoxystrobin SC, 8. Thiophanate-methyl WP, 9. Chlorothalonil WP, 10. Folpet WP, 11. Polyoxin D zinc salt + carbendazim WP, 12. Metalaxyl-M WP, 13. Mancozeb WP, 14. Captan WP, 15. Propineb WP; A: KACC40013, B: KACC41832, C: KACC40299, D: KACC4003, E: BAC02003, F: BAC02075, G: BAC02063, H: BAC 02077, I: *C. acutatum*, J: *C. spp*, K: 00-64, L: 99-03, M: *C. spp*.

보이는 균사생장 억제 능력을 실험하였다. 여러 가지 살균제 중에서 trifloxystrobin과 tebuconazole을 액상수화제로 만든 혼합제와 tebuconazole WG, dithianon WG가 탄저병균의 균사생육을 저지하는 능력이 높았다(Table 4). 한편 propineb WP, mancozeb WP 및 chlorothalonil WP 등과 같은 보호 살균제는 탄저균의 균사생육을 크게 억제하지 못하였다. 특히 대조구로 사용한 thiophanate-methyl

WP은 전혀 균사생장을 억제하지 못하였는데, 이는 실험에 사용한 다양한 탄저병균 균주들이 thiophanate-methyl에 대해서 비감수성인 것으로 생각되어진다(김 등, 2004). 실내 실험에서 균사생장 억제 효과가 우수하였던 6종의 살균제 즉 trifloxystrobin+tebuconazole SC, dithianon WG, tebuconazole WG, tebuconazole SC, azoxystrobin SC 및 polyoxin D zinc salt+carbendazim WP 선발하여 propineb WP를 대조구로 하여 탄저병 방제를 위한 최적 약제 선발 실험을 포장에서 수행하였다.

구기자 탄저병 방제를 위한 최적약제 선발. 포장에서의 구기자 탄저병에 대한 효과를 보면, Table 6과 같이 dithianon WG, tebuconazole WG, trifloxystrobin+tebuconazole SC, tebuconazole SC 및 azoxystrobin SC은 80% 이상의 방제 효과를 나타냈다. 하지만 polyoxin D zinc salt+carbendazim WP, propineb WP 등은 구기자 탄저병의 방제약제로 효과가 충분하지 못하여 추후 더 연구가 필요하다고 사료된다. 실험약제 중에서 dithianon WG는 탄저병균의 포자 발아 억제 효과가 우수하기 때문에 고추 탄저병에서도 방제 효과가 높은 것으로 보고되어 있다(최 등, 2006). Azoxystrobin SC는 국내에서 딸기 탄저병에서 가장 효과적인 탄저병 방제약제로 보고되어 있는데(김 등, 2002b), 구기자의 청양채래 품종에서도 높

Table 5. Fungicides used for control anthracnose of *Lycium chinense* and dilution rate in the field

Fungicides	Active ingredient (a.i. %)	Dilution rate	Application day
Azoxystrobin SC ^b	20	2000	7.21, 8.01, 8.11
Dithianon WG ^c	66	3000	
Polyoxin D zinc salt+ carbendazim WP ^a	1.5+50	1000	
Tebuconazole SC	20	2000	
Tebuconazole WG	23	2000	
Trifloxystrobin+ Tebuconazole SC	20+20	2000	
Propineb WP	70	500	
None treatment	-	-	-

^aWP, Wettable powder; ^bSC, Suspension concentrate; ^cWG, Water dispersible granu.

Table 6. Control effects of fungicides on anthracnose of *Lycium chinense* in the field

Item name	Disease incidence (%)	Control value (%)	Phytotoxicity
Dithianon WG	8.7	90.1a ^a	-
Tebuconazole WG	10.7	87.9a	-
Trifloxystrobin+ Tebuconazole SC	12.3	86.1a	-
Tebuconazole SC	13.3	84.9a	-
Azoxystrobin SC	16.7	81.1a	-
Polyoxin D zinc salt+ carbendazim WP	85.0	3.7c	-
Propineb WP(control)	56.7	35.8b	-
None treatment	88.3		

^aMean separation in a column by Duncan's multiple range test at 5% level.

^bCultivar of *Lycium chinense* : Cheongyangjare.

은 방제효과를 보여주었다.

요 약

구기자 탄저병 방제를 위한 살균제를 선발하기 위하여 13개의 탄저병 균주는 구기자의 청양재래 품종에 대해서 숙과와 미숙과 모두에서 상처 접종 시 병원성이 강하게 나타났다. 또한 15종 살균제의 균사생육 억제 효과를 실내 검정하여 탄저병균에 대한 균사 생장 억제 효과가 우수한 dithianon WG, tebuconazole SC, tebuconazole WG, trifloxystrobin+tebuconazole SC, azoxystrobin SC 및 polyoxin D zinc salt+carbendazim WP 등 6종의 살균제를 선발하였다. 선발한 살균제들의 포장에서 병 방제 효과를 조사한 결과 dithianon WG, tebuconazole WG, trifloxystrobin+tebuconazole SC, tebuconazole SC 및

azoxystrobin SC 등 5종의 살균제가 높은 방제효과를 나타냈다.

감사의 글

이 연구는 공주대 자체개발연구 및 농촌진흥청 지역특화작목기술개발과제 연구비의 지원으로 수행된 것으로 감사를 표합니다.

참고문헌

- 김승환, 최성용, 임양숙, 윤재탁, 최부슬. 2002a. 딸기 탄저병의 시기별 발생과 감염 경로. 식물병연구 8: 45-49.
- 김승환, 최성용, 임양숙, 윤재탁, 최부슬. 2002b. 딸기 탄저병의 약제 방제 효과. 식물병연구 8: 50-54.
- 김준태, 이정희, 민지영, 조인준, 강범관, 박성우, Nguyen Van Bach, 김윤식, 홍성택, 노창우, 김홍태. 2004. 살균제 Chlorothalonil에 대한 고추 탄저병균의 감수성 변화. 한국농약과학회지 8: 231-237.
- 김준태, 민지영, 김홍태. 2006. 다양한 작물로부터 분리한 탄저병균의 살균제에 대한 반응. 식물병연구 12: 32-39.
- 농약사용지침서. 2006. 한국작물보호협회. 283 pp.
- 농업과학기술원. 2003. 연구조사분석기준. 농촌진흥청. 7-8 pp.
- 이보희. 2004. 구기자 탄저병에 관여하는 *Colletotrichum* spp.의 형태, 병원성 및 분자계통분석에 관한 연구. 충남대석사논문.
- 이제현, 유승현, 백운기, 김광석. 1986. 구기자 탄저병에 관여하는 2종의 *Colletotrichum*에 관하여. 한국식물병리학회지 2: 31-36.
- 이주찬. 2003. 구기자. 충청남도 농업기술원 청양구기자 시험장 보고서. pp. 26-30.
- 최용호, 김홍태, 김진철, 장경수, 조광연, 최경자. 2006. 고추 탄저병균에 대한 13종 살균제의 살균 활성. 한국농약과학회지 10: 36-42.
- 한국식물병리학회. 2004. 한국식물병명목록. 74 pp.