농약과학회지 제13권 제3호 (2009)
The Korean Journal of Pesticide Science Vol. 13, No. 3, pp. 171~176

연구보문/방 제

감나무로부터 분리한 *Colletotrichum gloeosporioides*의 스테롤 생합성 저해제에 대한 감수성

임태헌 · 이동운[1]* · 최용화[2] · 이상명[3] · 한상섭[4] · 차병진[5]

(주) 삼호유비 농생명과학연구소, [1]경북대학교 생물응용학과, [2]경북대학교 식물자원학과, [3]국립산림과학원 남부산림연구소, [4]전북대학교 산림자원학과, [5]충북대학교 식물의학과

(2009년 7월 16일 접수, 2009년 8월 3일 수리)

Sensitivity to Ergosterol Biosynthesis Inhibiting-Fungicides of *Colletotrichum gloeosporioides* Isolated from Persimmon Trees

Tae Heon Lim, DongWoon Lee[1]*, Yong-Hwa Choi[2], Sang Myeong Lee[3], Sangsub Han[4] and Byeongjin Cha[5]

Research Institute of Agri-Bio Science, Samhoub, Co., Ltd., Sangju 742-130, Korea, [1]Department of Applied Biology and [2]Department of Plant Resources, Kyungpook National University, Sangju 742-711, Korea, [3]Southern Forest Research Center, Korea Forest Research Institute, Jinju, Gyeongnam, 660-300, Republic of Korea, [4]Department of Forest Resources, Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea, [5]Department of Plant Medicine, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

Abstract

In 2008, 110 isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* were obtained from infected twigs of persimmon collected at Sangju and five fungicides (prochloraz manganese complex, tebuconazole, mancozeb+myclobutanil, fluquinconazole+prochloraz, and tebuconazole+tolyfluanid) were evaluated to determine their growth on fungicide-medium. Among them, the mycelial growth of 97.3 and 98.2% of isolates was inhibited over 91% in response to prochloraz (250 ㎍/㎖) and tebuconazole (125 ㎍/㎖), respectively, compared to untreated control. In response to mancozeb+myclobutanil, fluquinconazole+prochloraz, and tebuconazole+tolyfluanid, isolates of 96.4, 99.1 and 96.4% of them were inhibited by fungicides, respectively. Isolates showed the highest sensitivity to fluquinconazole+prochloraz among 5 fungicides. The correlation between tebuconazole and tebuconazole+tolyfluanid was higher (r=0.85).

Key words Anthracnose, fungicide, persimmon, sensitivity

서 론

감은 2008년 현재 농경지 내에 가장 재배가 많이 되는 과수로 30,669 ha가 재배되고 있으며(http://www.kosis.kr) 임산물 생산 통계에 의하면 2007년 현재 생산량은 82,118톤에 금액으로는 1,561억원에 이른다(http://www.forest.go.kr). 특히 경북지역은 전체 떫은 감 생산량의 51.3%가 생산되고 있는데(http://www.forest.go.kr) 경북 상주를 비롯한 경북 서북부지역의 곶감용 둥시와 청도를 중심으로 연시용 반시 감이 주류를 이루고 있다. 특히 상주 지역의 재배면적은 2006년 692 ha로 년간 68 ha의 증가추세를 보이고 있다(상주시, 2007). 이러한 재배면적 증가와 상주둥시 단일 품종의 재배면적이 증가함에 따라 병해충의 발생양상과 피해정도가 다양하게 변화되고 있다(임 등, 2008). 특히 *Colletotrichum gloeosporioides*에 의한 탄저병은 묘목생산 단계에서부터 줄기나 잎자루, 눈 및 과일에 발생하여 재배자에게 큰 어려움을 주고 있다. 묘목

*연락저자 : Tel. +82-54-530-1212, Fax. +82-54-530-1218
E-mail: whitegrub@knu.ac.kr

생산 단계의 피목 감염은 정식 4-5년 후 감 생산 초기단계에 고사로 이어져 보식 및 방제에 따른 비용의 증가와 시간적 손실을 초래하고 있다. 그리고 묘상이나 과수원에서의 잎자루 감염은 빗물에 의한 눈 감염으로 초기진단과 1차 전염원 제거의 어려움을 유발하여 재배 중 과일과 신초감염으로 이어지는 과정이 되풀이되고 있다(김 등, 2002). 실제 상주 지역의 감 재배 농가들은 감 재배과정 중 탄저병에 의한 병 발생이 관리의 가장 어려운 점으로 지적하고 있으며 이로 인하여 병해충 방제를 위한 약제 살포 횟수가 증가하고 있는 실정이다(임 등, 2008).

감 탄저병 방제용 살균제는 보호 살균제와 스테롤 생합성 저해 살균제나 benzimidazole계 살균제와 같은 침투성 살균제가 있다. 스테롤 생합성 저해제는 진균의 에르고스테롤을 생산하는 경로의 14번 탄소의 탈메틸화를 차단하여 정상적인 스테롤 생산을 저해하고 이로 인해 세포막 기능을 손상시키는 것으로 균류에만 선택적으로 작용하여 가장 성공적인 살균제군의 하나로 인식되고 있다(한국균학회, 1999; Hargreaves et al., 1996). 그러나 1981년 보리 흰가루병균에서 처음으로 저항성이 보고 된(Fletcher and Wolfe, 1981) 이래 우리나라에서도 박 등(2002)이 고추에서 분리한 탄저병균에서 저항성 균주를 확인 한 바 있다.

이에 본 연구에서는 상주지역 감 과수원으로부터 탄저병의 1차 감염 시기인 5~6월에 감염 신초로부터 탄저병원균을 분리하여 상주지역에서 농가 선호도가 높은 스테롤 생합성 저해제에 대한 감수성을 비교하여 현장 요구형 탄저병 방제체계 확립을 위한 기초 자료를 확보하고, 또한 임 등(2006)이 2005년에 조사한 결과와 비교하여 해당 약제에 대한 포장 분리 균의 감수성 변화를 비교하고자 수행 하였다.

재료 및 방법

병원균 분리

2008년 5월과 6월에 상주 지역의 감 과수원으로부터 탄저병 증상을 보이는 이병 가지를 채집하여 병원균 분리 원으로 사용하였다. 분리 원간 교차 오염을 방지하기 위하여 각각의 채집봉지에 개별 채집하였다. 분리 원은 2겹의 키친타올을 깔고, 살균 증류수 50 ㎖를 분주하여 포화습도를 유지시킨 250 mm × 250 mm × 70 mm(L × W × H) 크기의 플라스틱 용기에 넣어 24~48시간 동안 포자형성을 유도하였다. 병반 부위에 형성된 포자를 수확·현탁하여 100~200 spores/㎖로 포자 농도를 조절하였다. 포자 현탁액은 세균의 생육을 억제하기 위하여 300 ㎍/㎖ 농도의 streptomycin이 함유된 감자한천배지에 100 ㎕씩 분주 후 도말 건조하였다. 포자현탁액이 접종된 plate는 28℃ 배양기에서 2~3일간 배양 후 균총 선단을 떼어내어 새로운 감자한천 배지에 옮겨 배양한 후 실험에 사용하였다.

살균제 감수성 검정

현재 감 탄저병의 방제를 위하여 등록되어 사용되고 있는 스테롤 생합성 저해제 단제와 혼합제 중 prochloraz manganese complex, tebuconazole, mancozeb + myclobutanil, fluquinconazole + prochloraz, tebuconazole + tolyfluanid 등 총 5종의 살균제에 대한 감수성을 조사하였다(Table 1).

이들의 제형과 활성성분의 함량 및 권장처리 농도는 Table 1과 같다.

공시 살균제 대한 감수성은 공시 약제를 적정농도로 희석한 후 배지 내 최종 농도가 농가권장 농도가 되도록 제조한 감자한천배지를 이용하였다.

감수성 조사를 위한 병원균의 접종원은 냉장 보관 중인 균을 25~28℃에서 7일간 배양 후 균총 선단에서 직경 5 mm의 균사 조각을 cork borer로 떼어내어 사용하였다. 접종된 살균제 plate들은 28℃에서 7일간 배양 후 균총의 길이를 측정하였으며 억제율(%)은 다음 식에 의하여 산출 비교하였다. 억제율(%) = {1-[처리구 균총 길이(mm)/대조구 균총 길이(mm)]} × 100. 약제간 상호관계는 Excell program의 단순상관 분석을 통하여 조사하였다.

Table 1. Fungicides used in this study

Common name	Formulation[a]	Content (%) of active ingredient	Recommend concentration (㎍/㎖)
Prochloraz manganese complex	WP	50	250
Tebuconazole	WP	25	125
Fluquinconazole+Prochloraz	WP	Fluquinconazole 5+Prochloraz 25	300(50+250)
Mancozeb+Myclobutanil	WP	Mancozeb 65+ Mycolobutanil 2	1,340(1,300+40)
Tebuconazole+Tolyfluanid	WP	Tebuconazole 15+Tolyfluanid 50	325(75+250)

[a]WP represent wettable powder.

결과 및 고찰

Prochloraz manganeses complex에 대한 감수성

Prochloraz는 imidazole 계열로 *Alternaria* spp., *Botrytis* spp., *Colletotrichum* spp. 및 *Septoria* spp. 등 다양한 진균성 식물병균에 의한 병 방제에 등록 사용되고 있으며, 일부 제형을 위하여 금속이온을 이용하고 있다(Tomlin, 2006). 분리한 110균주 중 97.3%의 균주가 prochloraz가 포장 권장농도인 250 ㎍/㎖ 농도로 첨가된 배지에서 균사생육이 91%이상 억제 되었다. 81~90% 사이의 균사생육이 억제되는 균주의 비율은 2.7%로 조사되었다(Fig. 1 & 2). 포장 적용농도에

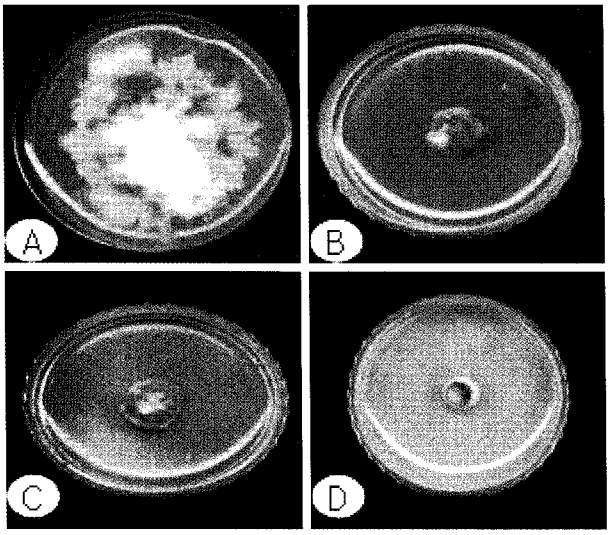

Fig. 1. Responses to prochloraz (250 ㎍/㎖), tebuconazole (125 ㎍/㎖) and mancozeb (65 ㎍/㎖) +myclobutanil (2 ㎍/㎖) of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates obtained from persimmons collected at Sangju in 2008. A: control, B: prochloraz, C: tebuconazole, D: mancozeb+myclobutanil.

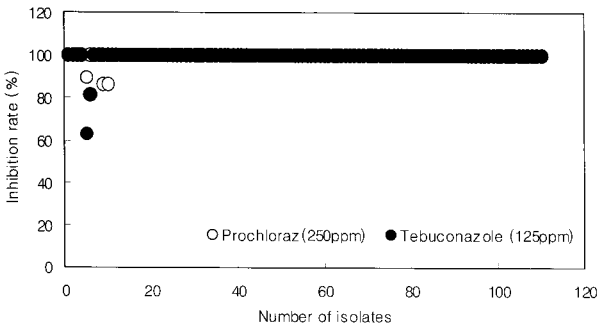

Fig. 2. Sensitivity to prochloraz (250 ㎍/㎖) and tebuconazole (125 ㎍/㎖) of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates obtained from persimmons collected at Sangju in 2008. % Inhibition = {1-[mycelial growth (mm) on fungicide medium/ mycelial growth (mm) on control medium]} × 100.

있어 tebuconazole에 비하여 prochloraz가 2배 정도 높으나 감수성은 차이가 없는 것으로 나타났다. Prochloraz는 2006년 감(단감포함) 탄저병 방제약제로 등록되어 2005년 균주와 감수성 변화를 비교할 수 없었다.

Tebuconazole에 대한 감수성

Tebuconazole는 triazole 계열로1986년 개발되어 1988년 Bayer에 의해서 소개되었으며, 국내에서는 단제 및 혼합제로 감, 사과, 고추, 포도 및 배 등의 주요 경제 작목의 탄저병을 비롯한 다양한 진균성 병 방제에 등록 사용 되고 있다(Tomlin, 2006; 한국작물보호협회, 2008). 2008년 5~6월 사이 분리 균의 포장 권장농도(150 ㎍/㎖)에서 감수성을 조사한 결과, 분리 균 중 98.2%의 균주가 91% 이상의 균사생육이 억제되는 것으로 조사되었으나, 5번 균주의 경우 63%의 균사생육 억제율을 보였으며, 6번 균주의 경우 81%의 균사생육이 억제되는 것으로 나타났다(Fig. 1 & 2). 이러한 결과는 2005년 분리 균주를 대상으로 한 본 약제에 대한 감수성 조사결과와 비교하여 90% 이상의 균사생육이 억제되는 균주의 비율이 약 1.8% 정도 감소한 것이다(임과 최, 2006).

2005년과 2008년에 분리된 감나무 탄저병균 *C. gloeosporioides*의 tebuconazole에 대한 감수성을 비교할 경우 미미하지만 감수성이 저하된 것으로 나타나 상주 지역에서의 이들 약제의 효율적이며 지속적 사용을 위해서는 장기적인 모니터링이 필요할 것으로 생각된다. 이러한 감수성 저하는 탄저병 발생증가에 따른 방제효율이 높은 약제의 선호도 및 사용횟수 증가와 밀접한 관계가 있을 것으로 생각된다(Brent와 Hollomon, 1998; Yasunori와 Ishii, 1998). 또한 현재 prochloraz와 tebuconazole의 안전사용 기준이 4회로 되어있어 임 등(2008)이 보고한 상주지역의 연간 감나무 약제살포 횟수를 고려할 경우 단일약제의 연속 사용에 따른 약효 저하현상이 심화될 가능성이 매우 높다.

Mancozeb+Myclobutanil(MM)에 대한 감수성

분리된 110균주 중 96.4%는 MM이 1,340 ㎍/㎖ 농도로 첨가된 배지에서 균사생육이 91%이상 억제되었으며, 81~90% 사이의 균사생육이 억제된 균주의 비율은 3.6%였다. 이는 mancozeb 단제에 대한 감수성 보다 높은 것이며, 임 등이 2006년 보고한 myclobutanil에 대한 감수성보다는 저하된 것이다(임과 최, 2006)(Fig. 3).

Fluquinconazole + Prochloraz(FP)에 대한 감수성

Imidazole과 triazole 합제인 FP에 대한 감수성을 비교한

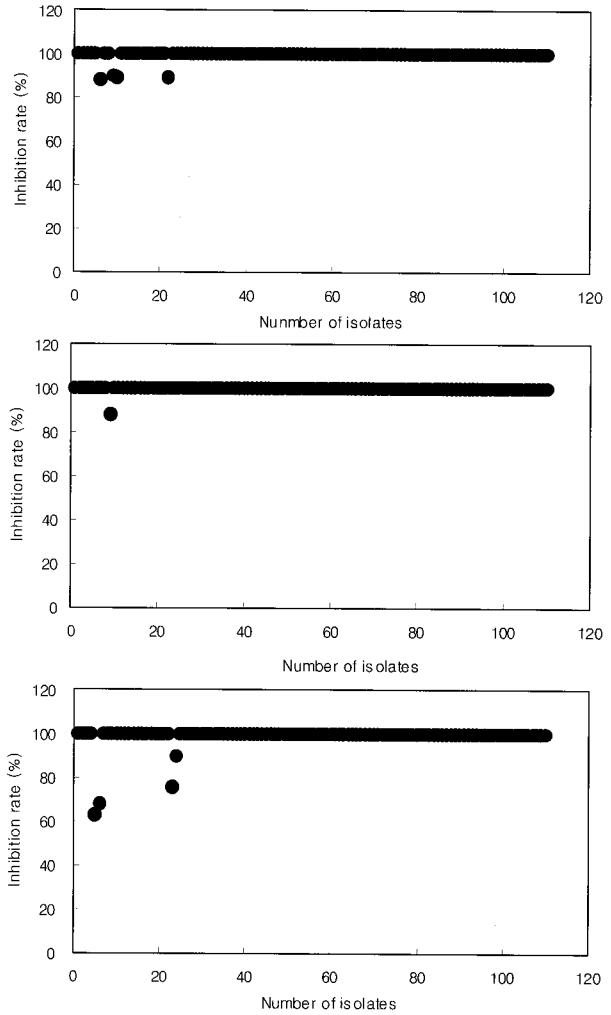

Fig. 3. Sensitivity to mancozeb+ myclobutanil (top), fluquninazole+ prochloraz (middle), and tebuconazole+tolyfluanid (bottom) of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates obtained from persimmons collected at Sangju in 2008. % Inhibition = {1-[mycelial growth (mm) on fungicide medium/ mycelial growth (mm) on control medium]} × 100.

결과, 분리 균주 중 99.1%의 균주가 91%이상의 균사생육을 억제 당하는 것으로 나타났다. 81~90% 사이의 균사생육을 억제 당하는 균주의 비율은 0.9%로 나타났다(Fig. 3). 91% 이상의 균사생육이 억제되는 균주의 비율이 prochloraz 단제에 비하여 2.6% 높은 것이다. 이는 현장에서 prochloraz 단제 보다는 합제의 효율성이 높을 수 있음을 시사하는 것이다 (Brent와 Hollomon, 1998).

Tebuconazole+Tolyfluanid(TT)에 대한 반응

Tebuconazole를 포함한 스테롤 생합성 저해제들의 경우 다른 다양한 작용점을 지닌 약제들과 합제로 다양한 병 방제에 활용되고 있다. TT의 경우 tebuconazole의 최종 적용농도는 75 ㎍/㎖으로 단제의 1/2수준이다(한국작물보호협회, 2008). 분리된 균주의 96.4%는 TT에 의하여 91%이상 균사생육이 억제되었으며 이는 tebuconazole단제와 비교할 경우 1.8% 낮은 비율이다(Fig. 3). 2005년 분리 균주의 tebuconazole에 대한 감수성과 2008년 분리한 균주의 tebuconazole 단제와 합제에 대한 감수성을 비교할 경우 세밀한 현장 분리 균 대상의 모니터링이 필요할 것이다(Lim, 1998; Staub, 1991) .

2008년 5~6월 사이 상주 지역의 감 과수원으로부터 분리한 탄저병균(*Colletotrichum gloeosporioides*)의 tebuconazole을 비롯한 스테롤 생합성 저해제 단제 또는 합제에 대한 감수성을 조사한 결과, 2005년 현장 분리 균과 비교할 때 감수성 감소 저하현상이 진행되고 있는 것으로 추측된다. 특히 2005년 분리한 균 중 tebuconazole과 myclobutanil에 대하여 분리 균주 모두 현장 권장농도에서 균사생장 억제율이 91% 이상이었으나, 2008년 조사에서는 분리된 균주 중 98.2와 96.4%의 균주가 위 두 약제에 의해서 91% 이상 균사생육이 억제되

Table 2. Cross-responses among fungicides used in this study[a]

Combination	Recommend concentration (㎍/㎖)	Values of r
Prochloraz+Tebuconazole	250/125	0.42
Prochloraz+MM[b]	250/1,340	0.23
Prochloraz+TT	250/325	0.30
Prochloraz+FP	250/300	0.61
Tebuconazole+MM	125/1,340	0.42
Tebuconazole+TT	125/325	0.85
Tebuconazole+FP	125/300	-0.01
MM+TT	1,340/325	0.29
MM+FP	1,340/300	0.45
TT+FP	325/300	-0.02

[a]Cross-responses was analyzed by correlation analysis.
[b]MM; Mancozeb+Myclobutanil, TT; Tebuconazole+Tolyfluanid, and FP; Fluquinconazole+Prochloraz.

었다. 2006년 감 탄저병 방제약제로 등록 사용되고 있는 prochloraz와 FP에 대한 감수성도 다른 약제와 비슷한 수준으로 나타나 이들 약제 사용에 있어 각별한 주의가 필요하다. 또한 스테롤 생합성 저해제와 합제에 대한 감수성도 유사한 수준으로 조사되었다.

분리된 110균주의 시험에 사용한 약제간 교차 저항성을 조사한 결과, prochloraz와 tebuconazole 사이의 r 값은 0.42, tebuconazole단제와 tebuconazole과 tolyfluanid 합제 사이의 r 값은 0.85, prochoraz와 prochloraz와 fluquinconazole 합제 간 r 값은 0.61로 조사되었다(Table 2). 이에 따라 약제 사용에 있어 스테롤 합성 저해제의 경우 상표보다 품목을 고려한 약제 선택이 필요한 것으로 판단된다(Table 2).

스테롤 생합성 저해제는 multi-step에 의하여 저항성이 발현되어 benzimidazole 계열과 strobilurin 계열 약제들에 비하여 저항성에 의한 급속한 약효 저하현상 발현에 따른 위험성은 낮으나, *Rhynchosporium secalis*의 20년간 triadimenol에 대한 감수성 변화 보고를 고려할 경우 사용에 각별한 주의가 필요하다(Brent와 Hollomon, 1998).

한편 이 등(2003)은 2000년과 2001년 단감원에서 농가의 농약 사용 실태 조사를 수행한 바 있는데 benzimidazlole계 살균제 사용 농가가 가장 많고, 스테롤 생합성 저해제를 사용하는 농가는 상대적으로 적었는데 상주지역과 같이 탄저병에 감수성 품종의 재배면적이 넓은 지역에서는 농가의 농약 사용 실태를 파악하여 저항성 문제에 효과적으로 대응할 수 있는 방안을 강구하는 것이 필요할 것이다. 특히 동일계열 살균제의 연용 및 과다 사용에 의한 약효 저하 현상에 따른 문제점을 해결하기 위하여 단제 보다는 합제, 동일계열의 합제 보다는 다른 계열간의 합제 및 작용기작이 다른 약제를 활용한 합리적 방제 프로그램의 활용이 필요할 것이다(Table 2; Brent와 Hollomon, 1998; Lim, 1998; Staub, 1991).

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 특화작목연구개발과제의 연구비 지원에 의해 수행되었으며, 시료채취에 도움을 주신 지역농민들에게 사의를 표합니다.

> 인 / 용 / 문 / 헌

Adaskaveg, J. E. and H. Försyer (2000) Occurrence and management of anthracnose epidemics caused by *Colletotrichum* species on tree fruits crops in California. pp.300-316 in: *Colletotrichum*-host specificity, pathology and host-pathogen interaction. D. Prusky, S. Freeman and M. B. Dickman, eds. APS Press, Minnesota. USA.

Brent, K. J. and D.W. Hollomon (1998) Fungicide resistance: The assessment of risk. FRAC. 48pp.

Delp, C. J. (1988) Fungicide resistance in North America. The American Phytopathological Society, St. Paul, Mn. 133pp.

Fletcher, J. S., and M. S. Wolfe (1981) Insensitivity of *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei* to triadimefon, triadimenol and other fungicides. Brighton Crop Protection Conference; pests and diseases-1981, 2:633~640.

Fry, W. E. (1982) Principles of plant disease management. Academic Press, Orlando. 378pp.

Hargreaves, J. A., J. P. R. Keon and R. Croxen (1996) Molecular genetics of ergosterol biosynthesis in *Ustilago maydis*. pp.117-123. in Modern fungicides and antifungal compounds. H. Lyr, P. E. Russell and H. D. Sisler, eds. Intercept Ltd., Andover, UK.

Lim, T. H., T. H. Chang and B. J. Cha (1998) Incidence of benzimidazole- and dicarboximide-resistant isolates of *Monilinia fructicola* from overwintering mummies and peduncles on peach trees. Korean. J. Plant Pathol. 14:367~370.

Staub. T. (1991) Fungicide resistance: Practical experience with antiresistance strategies and the role of integrated use. Ann. Rev. Phytopathol. 29:421~442.

Tomlin, C. D. S. (2006) Prochloraz pp. 859. in: The pesticide manual fourteen edition. Published by BCPC. UK.

Yasunori, T. and H. Ishii (1998). Reduced sensitivity to fenarimol in Japanese filed strains of *Venturia nashicola*. Pestic. Sci. 54:150~156.

김태춘, 이규철, 이용문 (2002) 감의 생리생태와 재배신기술. 중앙생활사. 332pp.

박성우, 김준태, 김재정, 김흥태 (2002) 고추에서 분리한 탄저병균의 스테롤 생합성 저해 살균제에 대한 감수성 반응과 포장 적응력. 식물병연구 8:239~244.

상주시 (2007) 상주시 통계연보. 상주시. 459pp.

이동운, 이상명, 최병렬, 박정규, 추호렬 (2003) 단감원의 최근 농약 사용실태. 한국응용곤충학회지 42:85~89.

임태헌, 최용화 (2006) 상주지역 감나무로부터 분리한 *Colletotrichum gloeosporioides* 균주들의 방제 약제에 대한 반응. 식물병연구 12:99~102.

임태헌, 최용화, 송인규, 김국래, 이동운, 이상명 (2008) 2007년과 2008년 경북 상주지역 감 과원의 과원 관리실태 조사. 한국농약과학회지 12:414~420.

한국균학회 (1999) 균학개론. 321pp.

한국작물보호협회 (2008) 농약사용지침서. 1080pp.

감나무로부터 분리한 *Colletotrichum gloeosporioides*의 스테롤 생합성 저해제에 대한 감수성

임태헌 · 이동운[1]* · 최용화[2] · 이상명[3] · 한상섭[4] · 차병진[5]

(주) 삼호유비 농생명과학연구소, [1]경북대학교 생물응용학과, [2]경북대학교 식물자원학과, [3]국립산림과학원 남부산림연구소, [4]전북대학교 산림자원학과, [5]충북대학교 식물의학과

요 약 2008년 5~6월 사이 상주 지역 감 과수원으로부터 분리한 탄저병균(*Colletotrichum gloeosporioides*)의 prochloraz manganese complex, tebuconazole, mancozeb+myclobutanil, fluquinconazole+prochloraz, tebuconazole+tolyfluanid 등 총 5종의 살균제에 대한 반응을 조사하였다. 분리한 탄저병균 110균주 중 prochloraz (250 ㎍/㎖)과 tebuconazole(125㎍/㎖)에 대하여 각각 97.3%와 98.2%의 균주가 91%이상의 균사생육이 억제되는 것으로 나타났다. Mancozeb + myclobutanil, fluquinconazole + prochloraz 및 tebuconazole + tolyfluanid 스테롤 생합성 저해제와 다른 약제의 합제에 대하여 91% 이상의 균사생육이 억제되는 균주의 비율은 각각 96.4, 99.1 및 96.4%로 나타났다. 공시한 약제 중 감수성이 가장 높은 약제는 fluquinconazole + prochloraz로 나타났다. Tebuconazole과 tebuconazole + tolyfluanid 약제간 r=0.85으로 약제간 교차 저항성의 위험성이 높은 것으로 나타났다.

색인어 탄저병, 살균제, 감나무, 감수성