

잔디에 *Rhizoctonia* 마름병을 유발하는 *Rhizoctonia* spp.의 침투성 살균제에 대한 반응

장태현* · 이승준

경북대학교 생태환경시스템학부 식물자원환경전공

Response of Systemic Fungicides of *Rhizoctonia* spp. Causing *Rhizoctonia* Blight on Turfgrass

Taehyun Chang* and Seong Jun Lee

School of Ecology and Environmental System, Kyungpook National University, Sangju, Gyeongbuk, 742-711, Korea
(Received on November 26, 2013; Revised on December 09, 2013; Accepted on December 13, 2013)

ABSTRACT. The *Rhizoctonia* blight causing by *Rhizoctonia* spp. is an important disease of turfgrass, requiring fungicide application to maintain acceptable conditions for turfgrass good qualities in the golf course. The experiment was conducted to determine the mean 50% effective concentration inhibiting mycelial growth (EC₅₀) value of flutolanil, pyraclostrobine and hexaconazole to *Rhizoctonia solani* AG-1 IB, *Rhizoctonia cerealis* and *Rhizoctonia solani* AG2-2IV isolated from Gyeongbuk province of Korea in vitro. Five discriminatory concentrations of each fungicide were used to detect in vitro sensitivity. The mean of EC₅₀ values to three systemic fungicides was the lowest isolate of *R. solani* AG-1 IB. However, the sensitivity of fungicides to *Rhizoctonia solani* AG2-2IV were higher mean EC₅₀ value of 0.026 µg a.i. ml⁻¹ of pyraclostrobine and 0.044 µg a.i. ml⁻¹ of flutolanil. *R. cerealis* was the lowest sensitivity to hexaconazole which was an average EC₅₀ value of 0.022 µg a.i. ml⁻¹. Inhibition of mycelial growth rate (%) by three combine fungicides using the EC₅₀ value of each fungicide was the highest *R. solani* AG2-2IV. Results of this study were may confirmed in vitro response fungicide of three *Rhizoctonia* species for control of *Rhizoctonia* blight in the field.

Key words: Effective concentration inhibiting mycelial growth (EC₅₀), Flutolanil, Hexaconazole, Pyraclostrobine, Sensitivity

서 론

한지형잔디(cool season turfgrass)와 난지형잔디(warm season turfgrass)에 발생하는 패취형태의 잔디마름병인 *Rhizoctonia* blight는 *Rhizoctonia* spp.에 의해서 발생하는 것으로 1920년경에 미국에서 brown patch(갈색잎마름병) 병으로 알려졌다. 그 이후 여러 종류의 잔디에서 다양한 병징이 발견됨에 따라(Couch et al., 1990), 1984년 미국식물병리학회에서 병명을 구분하여 명명하였다(Couch, 1985). *R. solani* AG-1 IB에 의해 발생하는 병은 brown patch(갈색잎마름병) 또는 *Rhizoctonia* blight로도 명명 하

였고, *R. cerealis*에 의한 병명은 Yellow patch (cool season brown patch: 갈색마름병)로, *R. zea*에 의한 병명은 *Rhizoctonia* leaf and sheath spot 및 *R. solani* AG2-2IV에 의한 병은 Large patch(갈색패집병)으로 구체화 하였다(Couch, 1985). 하지만 국내에서는 벼트그라스(*Agrostis stolonifera* L.; syn = *A. palustris* Huds.)와 한국잔디(*Zoysia* spp.)에서 *R. solani* AG2-2IV에 의한 병명을 *Rhizoctonia* blight 병으로 보고되기도 하였다(Kim, et al., 1991). 이들 병원균은 골프장에서 가장 흔하게 발생하는 병으로 병원균은 토양 속이나 지제부에 생존하면서 병을 일으키지만, 발병 적은은 각각 달라서 이른봄부터 늦가을까지 발생 함으로서 그 피해 또한 심각하다(Couch et al., 1990).

Rhizoctonia spp.에 의한 병의 방제는 잔디관리 환경과 비료의 사용 조절에 의한 경종적인 방제와 미생물을 이용한 생물학적 방제 및 화학농약을 사용하는 화학적 방제가

*Corresponding author:

Phone) +82-54-530-1204, Fax) +82-54-530-1209

E-mail) thchang@knu.ac.kr

있다(Couch et al., 1990). 화학적 방제인 농약을 사용하여 병을 방제하는 방법은 다른 방제 방법에 비하여 비용은 많이 들지만 편리하면서 방제효과가 좋아 주로 이 방법을 선택하고 있다.

우리나라에서 *Rhizoctonia* 마름병을 방제를 위하여 현재 등록된 살균제는 단일계통의 단일농약과 계통간의 혼합제제를 합해서 38종의 살균제가 있다(Fungicide list in Korea, 2013). 이들 살균제들은 갈색잎마름병, 갈색마름병 및 갈색피집병을 동시에 방제하거나, 단독 방제하는 것으로 등록이 되어 있는 경우도 있고, 아울러 녹병, 탄저병, 동전마름병과도 동시에 방제할 수 있도록 등록이 된 약제들도 있다. 이들 약제 중에도 계통이 다른 3종의 침투성살균제인 아닐아드게인 flutolanil, 트리아졸계인 hexaconazole 및 스트로빌루린계통인 pyraclostrobin에 등록된 병명을 보면, flutolanil은 갈색잎마름병(춘고병)과 갈색피집병에 등록이 되어 있고, hexaconazole은 달라스팓과 갈색마름병에 등록이 되어 있고, pyraclostrobin은 갈색잎마름병, 갈색피집병, 달라스팓 및 피시움마름병에 등록이 되어 있다(Fungicide list in Korea, 2013).

이들 살균제들은 두 종류의 이상의 병을 방제하는 농약으로 등록되어 있지만, 침투성살균제로 동일 농약을 장기간 사용할 경우 병원균에 대한 살균제의 감수성이 저하되거나 또는 살균제에 대한 저항성을 나타내는 병원균들이 출현으로 인하여 병 방제 효과가 낮아질 수도 있다(Couch et al., 1990). 미국은 골프장에서 동전마름병을 방제하기 위하여 사용한 결과, 1983년부터 여러 약제에 대하여 저항성이 보고 되었으나(Golembiewski et al., 1995; Hsiang et al., 1997), 국내에서는 동전마름병과 *Rhizoctonia* spp. 의한 마름병에 대한 살균제의 저항성은 아직 보고되지 않았다.

Rhizoctonia spp.에 의해 발생하는 마름병에 대한 살균제의 감수성을 실내에서 구체적으로 평가하는 방법으로는 상대적인 균사생장을 50%억제하는 농도인 EC_{50} 값으로 평가하고 있으며(Detweiler et al., 1983; Chang et al., 2012), 지금까지 이 방법은 수많은 곰팡이 병원균에 대한 살균제 감수성과 저항성을 결정하기 위해서 사용되어 왔다(Detweiler et al., 1983; Chang et al., 2012).

본 시험은 골프장에 *Rhizoctonia* spp. 의한 *Rhizoctonia* 마름병을 방제하고 동시에 동전마름병 방제를 위하여 자주 사용하는 침투성 살균제에 대하여 골프장에서 분리 동정한 *R. solani* AG-1 IB, *R. cerealis* 및 *R. solani* AG2-2IV에 대하여 실내에서 살균제의 감수성을 평가하기 위하여 flutolanil, hexaconazole 및 pyraclostrobin을 이용하여 1) EC_{50} 값을 구하고, 2) 각각 살균제의 EC_{50} 농도를 기준으로 두 약제를 혼용하여 상대적인 균사생장 억제율을 조사하여 골프장에서 이들 병을 동시에 방제 할 수 있는 기초

자료를 제공하고자 실시하였다.

재료 및 방법

병원균의 분리

본 시험에 사용된 3종의 병원균인 *R. solani* AG-1 IB, *R. cerealis* 및 *R. solani* AG2-2IV은 골프장에서 patch 형태의 마름증상을 보이는 이병잔디를 채집하여 병원균을 분리 동정하였다(Chang and Lee, 2013). *R. solani* AG-1 IB은 그린주변에 식재 된 켄터키블루그래스(*Poa pratensis* L.)에서 분리하였고, *R. cerealis*는 그린의 크리핑 벤투그래스(*Agrostis stolonifera* L.; syn = *A. palustris* Huds)에서 분리하였으며, *R. solani* AG2-2IV는 한국잔디(*Zoysia* spp.)에서 분리하였다. 병원균을 분리하기 위해 샘플을 채집한 골프장은 여름철에 동전마름병과 patch 마름병을 방제하기 위하여 propiconazole, pyraclostrobin 및 flutolanil 살균제를 2번 이상 사용하였다.

병원균의 순수분리를 위해서는 샘플에서 분리한 이병조직을 3% sodium hypochloride 용액에서 30초간 살균 후 멸균수로 세척하고, 다시 70% 알코올 30초간 살균한 후 멸균수에 침지하여 세척한 후, streptomycin 100 mg과 ampicillin 1000 mg·L⁻¹을 첨가한 PDA (potato dextrose agar: Difco Laboratories) 배지 위에 치상 하였다. Petri dishes는 파라 필름으로 밀봉하여 25°C 인큐베이터에서 배양하였다. 순수분리를 위하여 이병조직에서 자라는 균사의 가장자리를 5 mm 크기의 균사조각을 잘라내어 위와 동일한 항생제가 함유된 PDA배지에 재 접종하여 배양하여 1차적으로 육안으로 균사와 균핵의 형태적인 관찰을 통하여 시험용 균주를 선별한 후 최종 균주의 동정을 위하여 DNA를 추출하여 rDNA의 ITS 지역의 ITS5 and ITS4 프라이머를 이용 염기서열분석을 통하여 최종적으로 확인하였고(Chang and Lee, 2013), 병원성 시험도 마친 균주로 본 시험이 진행되는 동안 PDA 사면배지에서 배양하여 4°C에서 보관하면서 사용하였다.

단용 살균제의 감수성 조사

본 실험에서 사용한 살균제는 골프장에서 여름철 병 방제용으로 자주 사용하는 침투성 살균제인 anilides 계인 flutolanil 유제(a.i. 15%), triazole 계통인 hexaconazole 액상수용제(a.i. 2%), 및 스트로빌루린계통인 pyraclostrobin 수용제(a.i. 25%)를 사용하였다(Table 1). 병원균은 골프장에서 분리한 *R. solani* AG-1 IB, *R. cerealis*, *R. solani* AG2-2IV를 사용하였다. 살균제의 감수성을 조사하기 위해서 PDA 배지에 혼용한 살균제는 멸균수에 농도에 맞게 희석하여 준비하였다. 3종의 살균제는 EC_{50} 값과 3종의 병원균의 상대적인 균사생장의 회귀분석을 위하여 살균제

Table 1. List of fungicides used in this study.

Common Name (Active ingredients) ^x	Trade Name and Rates	Mode of action	Chemical group	FRAC ^y Code
Flutonail EC	Moncart -15% (1 L m ⁻²)	Respiration inhibitor (C2: Succinate dehydrogenase inhibitors)	Phenyl-benzamides (Anilides)	7
Hexaconazole FL	Rapid - 2% (1 L m ⁻²)	biosynthesis of ergosterol inhibitor (demethylation inhibitors (DMI))	Triazole	3
Pyraclostrobin WP	Cabrio-A- 20% (1 L m ⁻²)	Respiration (cytochrome) inhibitor (C3: QoI-Quinone Inside Inhibitor)	Mmethoxy-carbamates (Strobilurin)	11

^xAbbreviations for formulations: EC: Emulsifiable concentrate; FL: Flowable; WP: Wettable powder

^yFRAC means fungicide resistance action committee.

FRAC Code List is based on scientific evaluation of the mode of action of the active ingredients.

혼용 PDA 배지의 농도는 다음과 같이 설정하였다. Flutolanil의 농도는 0.0001, 0.001, 0.01, 0.1 및 1.0 µg a.i. ml⁻¹이 되게 하였고, hexaconazole의 농도는 0.005, 0.01, 0.05, 0.1 및 0.5 µg a.i. ml⁻¹ 이고, pyraclostrobin의 농도는 0.001, 0.005, 0.01, 0.1 및 0.5 µg a.i. ml⁻¹ 으로 하여 수행하였다. 이때 PDA 배지에 세균의 오염을 방지하기 위하여 streptomycin (300 a.i. µg ml⁻¹)을 첨가하였다. 살균제 혼용 PDA배지는 PDA를 먼저 살균 후 살균제 주성분의 분해를 방지하기 위하여 PDA배지의 온도가 60°C 식힌 후에 멸균수에 희석하여 준비한 살균제를 넣고 잘 혼용하였다. 병원균의 접종은 25°C에서 2일간 배양한 균총의 가장자리로부터 직경 5 mm 크기의 균사 조각으로 떼어 내어 살균제 혼용 배지에 올려놓고 밀봉 후 25°C 인큐베이터에서 3일간 배양 후에 균총의 직경을 측정하였다. 균총의 크기는 가로와 세로의 길이를 측정하여 평균값을 구하여 사용하였으며, 모든 시험은 5반복으로 2번 실시하였다. 상대적인 균사생장 값은 살균제 첨가배지에서 자란 균사 생장 값에 살균제 무 첨가 배지에서 자란 균사생장 값으로 나누어서 구하였다. 균사 생장 억제율(%) 은 살균제를 첨가하지 않은 배지상에서 균총의 직경과 살균제를 첨가한 배지에서 균총의 직경을 구하였다. 각 살균제에 대한 균주의 EC₅₀ 값은 균총의 생장을 효과적으로 50%까지 억제하는 살균제의 농도는 SAS 프로그램에서 Probit 분석으로 EC₅₀값을 구하였다.

균사생장 억제율(%) = (살균제 무처리 PDA배지에 자란 균총의 지름 - 살균제 처리 PDA배지 균총의 지름) / 살균제 무처리 PDA배지에 자란 균총의 지름 × 100

각각 살균제에 대한 3 종류 병원균의 EC₅₀ 값과 상대적인 균사에 대한 상관성 관계분석은 최저 EC₅₀ 값과 최고 EC₅₀ 값을 이용하여 아래와 같이 산출하였다.

상대적인 균사생장 = (최저 EC₅₀ 값 - 최고 EC₅₀ 값) / 최저 EC₅₀ 값

혼용 살균제에 대한 감수성조사

두 살균제의 혼용에 의한 살균제 감수성은 다음과 같이 평가하였다. Flutolanil, hexaconazole 및 pyraclostrobin 살균제를 이용하여 각각 살균제에 대한 3종의 병원균인 *R. solani* AG-1 IB, *R. cerealis* 및 *R. solani* AG2-2IV에 대하여 EC₅₀ 값을 구하였다. 즉 *R. solani* AG-1 IB에 대한 두 종의 혼용 살균제를 EC₅₀ 값에 해당하는 농도의 혼용 PDA 배지를 만들기 위하여 flutolanil EC₅₀ 값의 농도와 hexaconazole 살균제의 EC₅₀ 값의 농도를 희석하여 준비 하였다. PDA 배지를 살균하여 50°C로 식힌 후에 준비한 flutolanil과 hexaconazole 살균제의 EC₅₀ 값에 해당하는 농도를 넣고 잘 혼합하여 만들었다. 같은 방법으로 각각 3종의 병원균에 대하여 flutolanil 과 pyraclostrobin EC₅₀ 혼용배지와 hexaconazole 과 pyraclostrobin의 EC₅₀ 혼용배지를 준비하였다. 병원균의 접종은 25°C에서 2일간 배양한 균총의 가장자리로부터 직경 5 mm 크기의 균사 조각으로 떼어 내어 살균제 혼용 배지에 올려놓고, 밀봉 후 25°C 인큐베이터에서 3일에서 5일간(*R. cerealis*) 배양 후에 균총의 직경을 측정하여 상대적인 균사 생장량을 조사하여 위와 같이 상대적인 균사생장 억제율을 구하였다.

통계 분석

Rhizoctonia spp. 균주 3종의 살균제에 대한 상대적인 균사생장억제 효과를 조사하여 통계 분석하였다. 모든 데이터는 SAS 프로그램을 이용하여 3종의 살균제에 대하여 상대적인 균사생장을 효과적으로 억제하는 농도(EC₅₀)를 구하였으며, Fit Y by X 모델에서 one way 분석을 위하여 평균(means) / ANOVA 분석 / T-test와 표준편차 및 all pairs, Tukey HSD ($P \leq 0.05$) 분석을 하였다(SAS, 2003). EC₅₀ 값은 직선회귀모델로 평가로 하였고, 각각 살균제에 대한 상대적인 균사생장에 대한 분석을 EC₅₀ 값으로 t-검정을 하였으며, 상대적인 균사생장과 EC₅₀ 값에 대한 상관관계도 분석하였다.

Table 2. In vitro fungicide sensitivities of effective concentration inhibiting by 50% of mycelial growth of three three *Rhizoctonia* species.

<i>Rhizoctonia</i> spp.	EC ₅₀ value (µg a.i. ml ⁻¹) ^x					
	Flutolanil		Hexaconazole		Pyraclostrobin	
	EC ₅₀	Range.	EC ₅₀	Range.	EC ₅₀	Range.
<i>R. solani</i> AG2-2IV	0.044a ^y	0.027-0.072	0.019a	0.017-0.022	0.026a	0.021-0.033
<i>R. cerealis</i>	0.036b	0.021-0.065	0.022a	0.019-0.026	0.016b	0.013-0.020
<i>R. solani</i> AG-1 IB	0.023c	0.015-0.035	0.015b	0.013-0.017	0.004c	0.002-0.006

^x Concentration of effectively 50% mycelial growth inhibition (EC₅₀ value) = (Mean colony diameter on PDA non-amended with fungicides - Mean colony diameter on PDA amended with fungicides) / (Mean colony diameter on PDA non-amended with fungicides) × 100.

^y Within a column, values followed by the same letter are not significantly different at P = 0.05 according to the Fisher's protected least significant difference (LSD) test.

EC₅₀ values were collected form 72 hour and 120 hour (*R. cerealis*) after inoculation by dividing the mean colony diameter of on PDA amended with fungicide the mean diameter of non-amended PDA.

The sensitivity of three *Rhizoctonia* species to fungicides was investigated through the agar dilution method.

결과 및 고찰

Rhizoctonia spp. 대한 살균제 감수성

Rhizoctonia 마름병을 일으키는 3종류의 병원균에 대한 살균제의 감수성을 조사하기 위하여 침투성 살균제인 anilides 계의 flutolanil, DMI계의 hexaconazole 및 strobilurin계의 pyraclostrobin을 이용하여 균사의 상대적인 생장을 효과적으로 50% 억제하는 농도인 EC₅₀ 값을 구한 결과는 Table 2 와 같다.

3종의 살균제에 대한 *R. solani* AG2-2IV, *R. cerealis* 및 *R. solani* AG-1 IB의 감수성 정도는 각각 살균제에서 통계적인 유의성의 차이를 볼 수 있었다. 갈색잎마름병을 일으키는 *R. solani* AG-1 IB은 flutolanil, hexaconazole 및 pyraclostrobin 살균제에서 EC₅₀ 농도가 가장 낮았다. Flutolanil에서 EC₅₀ 농도는 0.023 µg a.i. ml⁻¹ 이고, hexaconazole은 0.015 µg a.i. ml⁻¹이었으며, pyraclostrobin은 0.015 µg a.i. ml⁻¹로 살균제에 대한 감수성이 가장 높았다. 한국잔디에서 갈색피집병을 일으키는 *R. solani* AG2-2IV은 flutolanil 과 pyraclostrobin에서 EC₅₀ 농도가 0.044 µg a.i. ml⁻¹ 와 0.026 µg a.i. ml⁻¹로 가장 높았고, 한국잔디에 춘고병과 한지형잔디에 갈색마름병을 일으키는 *R. cerealis*는 hexaconazole에서 EC₅₀ 농도가 0.019 µg a.i. ml⁻¹로 가장 높았다.

각각 살균제에 대하여 3종류의 병원균의 EC₅₀ 값과 살균제의 감수성 사이에 연관관계를 분석한 결과 Fig. 1과 같이 flutolanil과 pyraclostrobin 살균제에서 통계적인 유의성의 차이를 보였다. 두 살균제의 감수성 반응을 보면, 3종류의 병원균 모두가 EC₅₀ 값이 높은 균일수록 상대적인 균사생장이 증가하는 상관관계가 나타나는 것을 볼 수 있었다. 반면, hexaconazole 살균제에서는 3종 병원균과의 상관관계가 나타나지 않았다.

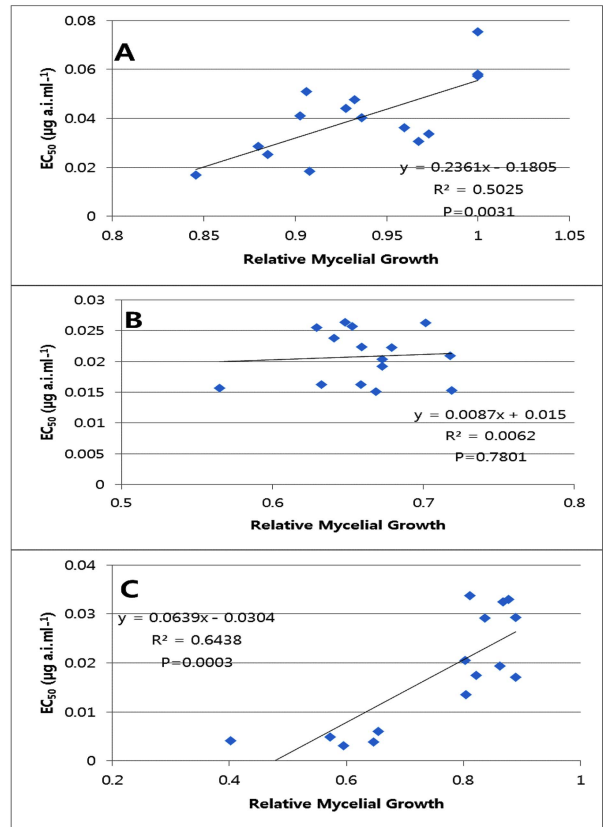


Fig. 1. Relationship between EC₅₀ values and relative mycelial growth (RMG) of *R. cerealis*, *R. solani* AG2-2IV and *R. solani* AG-1 IB on potato dextrose agar amended with five discriminatory concentration of A: Flutolanil; B: Hexaconazole; and C: Pyraclostrobin. RGM values were collected form 72 hour and 120 hour (*R. cerealis*) after inoculation by dividing the mean colony diameter of on PDA amended with fungicide the mean diameter of non-amended PDA. RMG values = (EC₅₀ value of minimum concentration - EC₅₀ value of maximum concentration) / EC₅₀ value of minimum concentration.

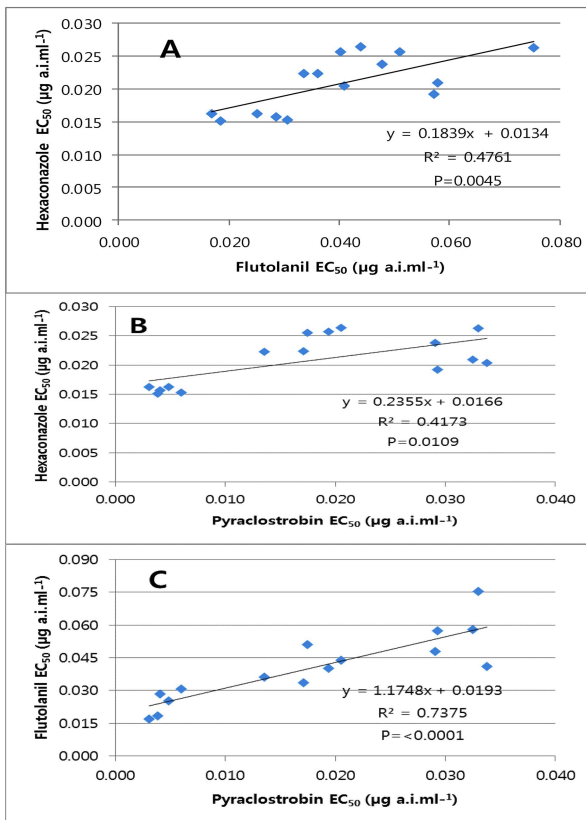


Fig. 2. Relationship between fungicide concentration resulting in 50% growth inhibition (EC_{50}) values and relative mycelial growth of *R. cerealis*, *R. solani* AG2-2IV and *R. solani* AG-1 IB on potato dextrose agar amended with a discriminatory concentration of A: Anilides + Triazole (DMI); B: Triazole (DMI) + Strobilurin; and C: Anilides + Strobilurin. Relative mycelial growth was calculated after 72 hour and 120 hour (*R. cerealis*) by dividing the mean colony diameter on PDA amended with fungicides by the mean diameter of colony grown on non-amended PDA.

Flutolanil은 0.05-0.072 µg a.i. ml⁻¹ 농도에서 상대적인 균 사생장 값은 평균 0.9349로 EC_{50} 과의 상관관계가 0.5025 로 통계적인 유의성($P=0.0031$) 차이가 있었고(Fig. 2A), pyraclostrobin은 상대적인 균사 생장 평균 값이 0.7557로 EC_{50} 과의 상관관계가 0.6438로 통계적인 유의성($P=0.0003$) 차이가 있었다(Fig. 2B).

살균제 함유 배지와 살균제를 함유하지 않은 배지에 대한 3종의 병원균에 대한 살균제의 감수성 정도를 파악하기 위하여 병원균의 상대적인 균사생장 값은 살균제가 효과적으로 3종의 병원균에 대하여 50%를 억제하는 농도로 평가를 하고 있다(Detweiler et al., 1983). EC_{50} 값을 실내에서 조사하는 것은 포장에서 병 방제를 위한 살균제의 효과를 예측할 수 있을 좋은 방법인 동시에 장기적으로 포장에서 약제에 대한 저항성 병원균의 출현을 예측 하는

데 좋은 방법이 되기도 한다(Jo et al., 2006). *Rhizoctonia* 마름병을 유발하는 *R. solani* AG-1 IB, *R. cerealis* 및 *R. solani* AG2-2IV에 대한 감수성 baseline이 아직 국외내적으로 설정이 되어 있지 않다. 하지만 추후 병 방제를 위한 살균제의 효과를 예측하고 병을 관리하는 측면에서 지속적인 관찰을 통한 연구가 이루어져 병 방제에 도움이 되었으면 한다. 하지만 이들 병원균은 토양과 지체부에 존재하면서 병을 일으키지만, 병원균의 전파는 균사나 균핵으로 이루어지는 특성을 갖고 있어 아직까지는 살균제에 저항성 문제가 나타나지 않은 것으로 본다. 그러나 상습 발병지에서 지속적이고 년차적으로 살균제의 효과를 모니터링 하거나, 감수성의 정도를 조사한다면 이들 세 종류의 병을 동시에 한 종류의 약제를 사용하여 방제 할 수 있는 좋은 기초자료가 될 것으로 생각한다.

추후 시험에서는 여러 포장에서 많은 병원균을 분리하여 이들 살균제에 대한 감수성의 정도를 조사 할 필요성을 이번 시험을 통해서 알게 됨으로서 지속적인 모니터링이 필요할 것으로 생각한다.

Jo et al. (2006)에 의하면 동전마름병 방제를 위해서 hexaconazole과 동일 계통인 propiconazole 살균제를 사용한 골프장에서 분리한 균주에 대한 EC_{50} 값이 0.17 µg a.i. ml⁻¹로 baseline 균주 보다 100-200배 정도 높은 것으로 조사 됨으로서 propiconazole 을 사용한 골프장에서는 살균제의 효과를 저하시킬 수 있다고 하였으며, Putman et al. (2010)은 동전마름병에 propiconazole 살균제에 대한 baseline 균주의 EC_{50} 이 0.0016 µg a.i. ml⁻¹이였지만, 동일 살균제를 사용한 골프장에서 분리한 동점마름병원균의 EC_{50} 는 높게 나타나 저항성이 나타날 가능성을 제시하였으며, 또한 동일 골프장에서 살균제의 감수성 정도가 다양하다고 하였다.

Hexaconazole, propiconazole과 tebuconazole은 작용 기작은 모두 지상부 침투성 triazole계 살균제로 sterol 생합성을 저해하는 작용 기작을 갖고 있어 장기간 사용하면 대상 병원균에 따라 약제에 대한 저항성을 유발하여 방제효과가 낮아지게 된다(Burpee, 1995; Smith et al., 1989). 이들 약제들은 설부소립균핵병, 동전마름병 및 *Rhizoctonia* spp.에 의한 patch병을 방제하는 약제로 사용하고 있는데, 해당 병원균들의 공통적인 특징은 토양이나 뿌리 지체부에 균사나 균핵으로 존재하면서 동일하게 포자를 형성하지 않고 균사로 전염이 된다. 동전마름병 및 *Rhizoctonia* spp.에 의한 patch병은 유사한 시기에 발병이 됨으로써 두 균과 연관시켜 살균제의 감수성을 종합적으로 검토가 필요할 있을 것으로 생각된다.

본시험에서 사용한 약제 중 hexaconazole 살균제는 국내에서 여름철 동전마름병과 *Rhizoctonia* spp.에 의한 patch병 방제를 위하여 봄부터 여름철에 발생하는 병을 방제하

기 위하여 년 3회 이상 사용하는 약제임으로 *Rhizoctonia* spp. 에 의한 3종의 병원균에 대한 상대적인 군사생장에 대한 상관성이 나타나지 않을 정도로 다양성을 보임으로서 다양한 방법과 시험을 통한 감수성 반응 평가가 필요할 것으로 생각된다.

살균제에 대한 저항성병원균의 출현은 포장에서 해당 병에 대한 방제 효과를 줄이고, 관리비용을 높인다. 골프장에서 살균제 저항성은 1960년 후반에 Benzimidazoles계 살균제가 소개되면서 benomyl과 thiophanate-methyl 살균제에 대한 자낭균류인 동전마름병에 대한 저항성 균주가 미국 여러 주에서 발견되었다(Cole et al., 1968). 그 이후 새로운 계통의 살균제인 dicarboximides에 대한 동전마름병에 대한 저항성이 1980년대에 보고 되었고(Detweiler et al., 1983), demethylation inhibitors (DMIs) 살균제인 propiconazole에 대한 저항성이 나타난 것은 이 살균제를 사용 후 10년 뒤인 1990년대에 처음보고가 되었다(Vargas et al., 1992).

살균제 간의 상관관계

3종의 살균제를 서로 다른 계통간에 감수성 정도에 대한 상관 관계를 조사하고자 3종의 병원균을 이용하여 두 그룹 간의 상관관계를 비교분석을 하였다(Fig. 3). Triazole 계인 hexaconazole 과 anilides계인 flutolanil 간의 R² 값이 0.4761로 상관 관계가(p=0.0045) 나타났으며(Fig. 2A), hexaconazole과 strobilurin계 pyraclostrobin 간에도 상관관계가(p=0.0109) 있었으며(Fig. 2B), flutolanil과 pyraclostrobin

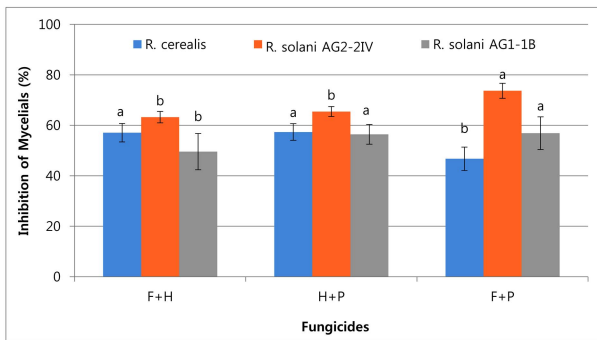


Fig. 3. Effect of mixed fungicide concentration of effectively 50% mycelial growth inhibition (EC₅₀) to F + H: Flutolanil + Hexaconazole; H + P: Hexaconazole + Pyraclostrobin; F + P: Flutolanil + Pyraclostrobin for *R. cerealis*, *R. solani* AG2-2IV and *R. solani* AG-1 IB from three golf courses in Korea as determined by growth on potato dextrose agar amended with five serial concentrations of fungicide. Sensitivity to each fungicide was analyzed separately for each experimental run (graph bars). Values followed by the same letter are not significantly different at P=0.05 according to the Fisher's protected least significant difference (LSD) test.

간에도 R² 값은 0.7375로 상관관계가(p < 0.0109) 있었다(Fig. 2C).

본시험에서 3종의 살균제에 대한 감수성 정도 간에 상관 관계가 있는 지를 살펴봄으로써 두 그룹 간의 교차 저항성 발현 여부 가능성을 알아 볼 수 있었다. 계통이 다른 약제 간에 혼용에 의한 조사대상 균주에 대한 감수성의 정도에서 상관관계가 나타나지 않음으로써 여름철 빈번히 사용하는 약제들이 아직은 설부소립균핵 병원균에 대하여 교차 저항성을 반응이 보이지 않고 있음을 알 수 있었다.

Hsiang et al. (1997)은 동전마름병 균주에서 propiconazole 과 tebuconazole 두 약제간에 교차저항성은 나타나지 않았으나, tebuconazole과 mycobutanol 및 mycobutanol과 propiconazole 살균제 사이에서는 교차저항성이 나타났다. 이들 DMI 살균제인 propiconazole 과 tebuconazole은 미국이나 캐나다에서 잔디에 사용 등록이 되어 많이 사용하고 있으며, 이들 살균제는 오랫동안 사용함에 따라 교차저항성을 나타냄으로 동전마름병에 대한 살균제 반응 baseline 과 살균제 감수성 모니터링 연구가 많이 수행되어 가치 있는 정보를 제공하고 있을 뿐만 아니라 살균제 저항성 작용 위원회에서 별도 분리가 되어 있을 정도로 중요하게 다루어지고 있는 살균제이다(Brent, 1995).

혼용 살균제에 대한 감수성 조사

두 살균제의 혼용에 대한 3종의 병원균에 대하여 살균제의 혼용에 대한 상승효과를 조사하기 위하여 실시하였다. EC₅₀ 농도의 두 살균제를 혼용한 배지에서 군사생장 억제율은 혼용농약의 종류 보다는 병원균의 종류에 따라서 Fig. 3과 같이 통계적인 유의성의 차이를 보였다.

R. solani AG2-2IV는 3종의 살균제 조합인 flutolanil+ hexaconazole, hexaconazole+pyraclostrobin 및 flutolanil+ pyraclostrobin에서 63.2%의 군사생장 억제 효과를 보여 혼용 살균제에 대한 감수성이 낮은 반면, *R. cerealis*은 3종류의 살균제 조합에서 모두 군사생장억제율을 50% 미만을 억제하는 것으로 나타났다. *R. solani* AG-1 IB은 flutolanil+hexaconazole 살균제 조합에서 50% 미만으로 억제 효과를 보였다.

살균제는 병원균에 대한 방제효과를 높이고, 저항성병원균의 출현을 방지하기 위하여 작용 기작이 서로 다른 두 살균제를 혼용하여 새로운 제형을 만들어서 등록이 되고 있다(Fungicide list in Korea, 2013).

본시험에서 살균제의 혼용에 대한 상승효과는 조사하기 위하여 실시한 시험에서 두 약제를 해당병원균에 대한 EC₅₀ 값의 농도로 혼용하여 상대적인 군사생장 억제율 조사에서 병원균간에 큰 차이를 보이는 것을 알 수 있었다. 병원

균의 종류에 따라서 살균의 감수성의 차이가 현저하게 나타난 것을 관찰할 수 있었다. 이는 포장에서 두 살균제를 혼용하였을 때 병 방제에 대한 상승 효과가 나타나지 않을 수 있다는 것을 나타내는 것이다. 이는 이 시험에 사용한 균들이 이미 살균제에 노출이 되어서 감수성이 낮은 것인지 아니면 살균의 상승효과가 없다는 것인지를 구체적인 연구가 추후에 필요할 것으로 보여주는 것으로 생각되므로 해당 병원균에 대하여 보다 많은 균주를 이용하여 조사하여 볼 필요가 있다고 생각한다.

국내 골프장에서 발생하는 여름철병은 본시험에 사용된 살균제를 이용하여 여러 병을 동시에 방제하기 위하여 자주 사용하는 살균제로 아직까지는 저항성 병원균의 출현 보고는 없지만 감수성이 낮은 경향은 보이고 있어, 동전 마름병과 *Rhizoctonia* spp.에 의한 patch 마름병 등과 같이 종합적인 방제를 위해서 병원균에 대한 살균제의 효과와 감수성반응을 매년 모니터링이 필요할 것으로 생각 된다.

본 연구 결과 *Rhizoctonia* spp.에 대한 anilides계 살균제인 flutolanil, triazole계인 hexaconazole 및 strobiluin계인 pyraclostrobin의 실내 감수성 시험에서 감수성이 아주 낮은 균주가 없다는 것을 확인할 수 있었으며, 이들 약제들은 각각 3종류의 병원균에 의해 발생하는 병을 동시에 방제하는 효과가 있었다.

요 약

Rhizoctonia spp. 에 의한 *Rhizoctonia* 마름병은 잔디에서 중요한 병이며, 골프장에서 잔디의 좋은 품질을 유지하기 위하여 살균제를 사용하고 있다. 본시험은 포장에서 분리한 *R. solani* AG-1 IB, *R. cerealis* 및 *R. solani* AG2-2에 대한 침투성 살균제인 flutolanil, pyraclostrobin, and hexaconazole에 대하여 실내에서 상대적인 균사생장을 효과적으로 50%억제하는 EC₅₀농도를 결정하는 시험을 수행하였다. 각각 살균제에 대한 감수성은 3종의 *Rhizoctonia* 균주에 대하여 5 수준의 농도를 사용하였다. 3종류의 살균제에 대한 EC₅₀ 값은 *R. solani* AG-1 IB에서 가장 낮았다. 하지만, *R. solani* AG2-2에 대한 살균제 감수성은 pyraclostrobin 과 flutolanil에서 평균 EC₅₀ 값이 0.026 µg a.i. ml⁻¹ 와 0.044 µg a.i. ml⁻¹ 로 가장 높았다. *R. cerealis* 은 hexaconazole에서 EC₅₀ 값이 0.022 µg a.i. ml⁻¹로 가장 감수성이 낮았다. 각각의 살균제의 EC₅₀값을 사용하여 두 농약을 혼용한 3종의 조합에서 3종의 병원균에 대한 균사생장억제율은 *R. solani* AG2-2에서 가장 높았다. 본 연구 결과는 포장에서 *Rhizoctonia* 마름병을 방제하기 위하여 실내에서 침투성 살균제에 대한 반응을 확인할 수 있었다.

주요어: 효과적인균사생장억제농도(EC₅₀), flutolanil, hexaconazole, pyraclostrobin, 감수성

Acknowledgement

This research was supported by KNU (Kyungpook National University) Research Fund, 2013.

References

- Brent, K.J. 1995. Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed. FRAC Monograph 1: 1-48.
- Chang, T.H. and Lee, S.J. 2012. Evaluation of fungicides for control of gray snow mold caused by *Typhula incarnata* on cool season turfgrass. Asian J. Turfgrass Sci. 6(2):102-109. (In Korean)
- Chang, T.H. and Lee, Y.S. 2013. Occurrence of brown patch on Kentucky bluegrass caused by *Rhizoctonia solani* AG-1 IB. Weed Turf. Sci. 2(1):88-94. (In Korean)
- Couch, H.B. 1985. Common names for turfgrass diseases. In: Common for plant disease (Eds). By Hansen, J.D. Plant Dis. 69:649-676.
- Couch, H.B., Lucas, L.T. and Haygood, R.A. 1990. The nature and control of *Rhizoctonia* blight. Golf Course Manag. 58:49-58.
- Cole, H., Taylor, B. and Duich, J. 1968. Evidence of differing tolerances to fungicides among isolates of *Sclerotinia homoeocarpa*. Phytopathology 58:683-686.
- Detweiler, A.R., Vargas, J.M., Jr. and Danneberger, T.K. 1983. Resistance of *Sclerotinia homoeocarpa* to iprodione and benomyl. Plant Dis. 67:627-630.
- Fungicide list in Korea. 2013. <http://www.koreacpa.org> (Accessed on Nov. 10, 2013).
- Golembiewski, R.C., Vargas, J.M., Jones, A.L. and Detweiler, A.R. 1995. Detection of demethylation inhibitor (DMI) resistance in *Sclerotinia homoeocarpa* populations. Plant Dis. 79:491-493.
- Hsiang, T., Yang, L. and Barton, W. 1997. Baseline sensitivity and cross-resistance to demethylation-inhibiting fungicides in Ontario isolates of *Sclerotinia homoeocarpa*. Eur. J. Plant Pathol. 103:409-416.
- Jo, Y-K., Niver, A.L., Rimelspach, J.W. and Boehm, M.J. 2006. Fungicide sensitivity of *Sclerotinia homoeocarpa* from golf courses in Ohio. Plant Dis. 90:807-813.
- Kim, W.G., Shim, G.Y., Cho, W.D. and Lee, Y.H. 1991. Anastomosis groups and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* isolates causing *Rhizoctonia* blight of turfgrass. Korean J. Plant Pathol. 7:257-259.

- Putman, A.I., Jung, G. and Kaminski, J.E. 2010. Geographic distribution of fungicide-insensitive *Sclerotinia homoeocarpa* isolates from golf courses in the northeastern United States. *Plant Dis.* 94:186-195
- Smith, J.D., Jackson, N. and Woolhouse, A.R. 1989. Fungal diseases of amenity turfgrasses. E. & F. N. Spon, New York, USA. pp. 75-89.
- SAS Institute, Inc. 2003. SAS/STAT user's guide: Statistics. Version 8.00, SAS Inst., Inc., Cary, NC, USA.
- Vargas, J.M., Jr., Golembiewski, R. and Detweiler, A.R. 1992. Dollar spot resistance to DMI fungicides. *Golf Course Manage.* 60(3):50-54.