

## 나리에서 분리한 잎마름병균의 살균제에 대한 감수성 변화와 포장 방제

함수상<sup>1\*</sup> · 경기천<sup>2</sup> · 김병련<sup>1</sup> · 한광섭<sup>1</sup> · 최종진<sup>2</sup> · 남윤규<sup>1</sup> · 유승현<sup>3</sup>

<sup>1</sup>충남농업기술원 농업환경연구과, <sup>2</sup>충남농업기술원 태안백합시험장, <sup>3</sup>충남대학교 응용생물학과

### Changes in Sensitivity Levels of *Botrytis* spp. Population Isolated from Lily to Fungicides and Control under Field Condition

Soosang Hahm<sup>1\*</sup>, Kicheon Kyeong<sup>2</sup>, Byungryun Kim<sup>1</sup>, Kwangseop Han<sup>1</sup>, Jongjin Choi<sup>2</sup>, Yunkyu Nam<sup>1</sup> and Seunghun Yu<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Agricultural Environment Research Division, Chungnam Agricultural Research and Extension Services, Yesan 340-861, Korea

<sup>2</sup>Taeon Lily Experiment Station, Chungnam Agricultural Research and Extension Services, Taeon 357-952, Korea

<sup>3</sup>Department of Applied Biology, College of Agriculture and Life Sciences, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

(Received on December 7, 2012; Revised on February 12, 2013; Accepted on February 28, 2013)

Forty eight isolates of *Botrytis elliptica* and 23 isolates of *B. cinerea* from several locations in Korea were tested for resistance to fungicides used in the farmer's fields. Isolation frequency of *B. elliptica* having EC<sub>50</sub> (effective concentration of 50%) value 500–1000 µg/ml to benomyl and mancozeb appeared highly, suggesting that the two fungicides are not effective in controlling leaf blight of lily in the field. The isolates were tested for resistance to fungicides procymidone and iprodione which were most commonly used in the farmer's fields. The rates of EC<sub>50</sub> value 5–50 µg/ml to procymidone and iprodione were 93.7% and 100%, respectively, and those of 0–0.1 µg/ml to diethofencarb+carbendazim and fludioxonil were 98.0% and 93.8%, respectively. In the rain-protected cultivation, control of leaf blight of lily was the most effective when iprodione, diethofencarb+ carbendazim, and fludioxonil were sprayed alternately four times during the growing season.

**Keywords :** Benzimidazole, *Botrytis cinerea*, *Botrytis elliptica*, Dicarboximide

## 서 론

국내에서 재배되는 나리는 일본에 수출하는 오리엔탈계통 품종뿐만 아니라 최근 강원도를 중심으로 재배가 확대되고 있는 신나팔나리(씨백합, *Lilium formolongi*)의 경우, 잎마름병을 방제하기 위하여 여름 장마기에는 주 3회 이상 약제를 처리하고 있는 실정이다. 그러나 방제 효과는 점차 떨어지고 있어 약제 저항성균의 출현에 대한 의심이 높아지고 있다. Park 등(1992)은 benzimidazole계 살균제에 대한 저항성인 딸기 잿빛곰팡이병균 균주의 비율

이 73.2%에 이르는 것으로 보고한 바 있으며, 감귤의 경우, benzimidazole계 살균제인 benomyl과 thiophanate-methyl 및 *N*-phenylcarbamate계 살균제인 diethofencarb에 대한 저항성 균주의 발생이 심각한 수준에 이르고 있는 것으로 확인되었다(Koh 등, 1998). 또한 benzimidazole계통의 살균제와 *N*-phenylcarbamate 계통의 살균제에 대한 역상관 교차저항성을 뚜렷하게 관찰할 수 있었으며, 두 계통의 살균제에 대한 저항성을 지닌 다중 저항성균이 관찰되었고, dicarboximide계 살균제인 procymidone, vinclozolin 및 iprodione 사이에서는 교차저항성이 관찰되었다. Kim 등(1998)은 딸기, 토마토, 오이에 발생하는 *Botrytis cinerea* 균주의 carbendazim, procymidone, diethofencarb에 대한 저항성균 출현율이 각각 69.9%, 43.7%, 31.8%로 국내 딸기, 토마토, 오이 재배농가에서 benzimidazole계 살균제는

\*Corresponding author

(Phone) +82-41-330-6288, (Fax) +82-41-331-1919

(Email) hahmsoo@korea.kr

잣빛곰팡이 방제 약제로서의 기능을 상실하였고, dicarboximide계 살균제도 점차 약효가 감소하는 것으로 판단하였다.

인삼 잣빛곰팡이병균에서도 지역적으로 procymidone 약제에 대한 저항성이 발현하였음이 보고되었고, 그에 따른 대책으로 carbendazim/diethofencarb 합제, carbendazim, procymidone에 대한 저항성 지도를 작성하여 우수한 방제 효과를 지닌 살균제를 안정적이며 효과적으로 사용할 수 있는 방법을 제공하였다(Lee 등, 2007). 그러나 나라에 발생하는 잎마름병균의 살균제 저항성 출현에 관한 연구는 수행된 바 없다.

따라서 본 연구는 나라 주산단지에서 수집 분리한 잎마름병균의 살균제에 대한 반응을 조사하여 농약사용을 절감할 수 있는 환경보전적인 효율적인 약제방제 체계를 수립코자 수행하였다.

## 재료 및 방법

**농약사용 실태조사.** 2005년 11월과 12월에 국내 나라 절화 및 종구 주산단지 6개 도, 15개 시, 군에서 150농가를 대상으로 백합 잎마름병 방제제로 사용하고 있는 화학약제의 종류와 한 작기 동안 살포횟수 등을 설문을 통하여 조사하였다.

**약제 저항성 검정에 사용된 균주 및 약제.** 약제 저항성 검정에 사용한 잎마름병균은 2005년부터 2007년까지 충남 서산, 태안, 홍성, 아산, 경기도 수원, 강원도 강릉, 영월, 양구, 횡성, 전북 남원, 익산, 전남 해남, 제주도의 나라 재배농가에서 잎마름병에 이병된 나라의 잎, 줄기, 꽃의 병든 부위를 채집하였다. 채집한 시료는 단포자 분리를 거쳐 균학적 특성과 계통 분류학적 분석으로 *Botrytis elliptica*와 *B. cinerea* 2종으로 동정하였고, 본 실험에서는 사용한 균주는 위 지역에서 채집하여 각각 분리한 *B. elliptica* 48균주와 *B. cinerea* 23균주를 약제 저항성 검정에 이용하였다. 화학 약제로는 benzimidazole계 benomyl, dithio-carbamate계 mancozeb, dicarboximide계 procymidone과 iprodione, N-phenylcarbamate계 diethofencarb, 그리고 diethofencarb/carbendazim 합제와 fenhexamid, fludioxonil 였고 이들의 원제(technical compound)를 사용했다.

**살균제 저항성 검정.** 시험에 사용한 benomyl, mancozeb, procymidone, iprodione, diethofencarb, diethofencarb/carbendazim 합제, fenhexamid, fludioxonil 약제를 각각 0, 0.1, 1, 10, 100, 500, 1000 µg/ml 함유하는 potato dextrose agar(PDA, Difco, USA) 중앙에 10일 정도 배양된 균주의 균총(직경 5 mm)을 치상하고 20°C의 항온기에서 5일간 배양한 후 균총의 직경을 측정하여 균사 성장 억제율을

계산하였다. 시험에 사용한 각각 살균제의 병원균에 대한 50% 균사 성장 억제농도(EC<sub>50</sub>, effective concentration of 50%)와 균사 성장을 완전히 억제하는 농도(MIC, minimum inhibitory concentration)를 구하여 각각 균주의 저항성과 감수성의 기준을 정하였다. 이때 각 균주들의 저항성 정도 기준설정은 약제농도 0.1 µg/ml에서 성장하지 않는 것은 감수성(S), 0.1 µg/ml에서는 성장하나 10 µg/ml에서는 성장하지 않는 것은 약저항성(LR), 10 µg/ml에서는 성장하나 100 µg/ml에서는 성장하지 않는 것은 중도저항성(MR), 100 µg/ml에서는 성장하나 500 µg/ml에서는 성장하지 않는 것은 저항성(R), 500 µg/ml에서 성장하는 것은 고도저항성(HR)으로 구분하였다.

**약제방제 효과 포장시험.** 사용 약제는 benomyl(60WP, 신젠타, 2000배 희석), procymidone(50WP, 동방아그로, 1000배 희석), iprodione(50WP, 바이엘, 1000배 희석), diethofencarb/carbendazim 합제(25+25WP, 동방아그로, 1000배 희석)로 단일 약제로 처리하였으며, 살포 횟수는 농가 관행에 준하여 예방과 치료를 목적으로 2003년 4월 21일부터 7월 간격으로 13회 살포하였다. 시험에 사용된 나라 품종은 오리엔탈계통의 'Casa Blanca'로 성숙구(종구둘레, 12 cm 이상)를 사용하였으며, 재식거리는 15 × 15 cm 였고 관행 재배법에 준하여 관리하였다. 시험포장은 토양재배가 아닌 인공상토(artificial soil)를 사용하는 백합시험장의 시설하우스를 이용하였으며, 인공상토는 질석, 피트모스, 왕겨를 1:1:1(v/v)로 혼합한 나라 전용상토(501, 신성미네랄)를 사용하였다. 이병엽을 조사는 4월 28일 1차 조사하였고, 1주일 간격으로 7월 15일까지 조사하였으며, 처리별 3반복으로 60주씩 조사한 후 무처리 대비 방제가를 구하였다. 한편 약제 살포량을 줄이면서 방제효과를 높이기 위한 최적의 교호살포 조합을 찾고자 하였다. 약제 적용 순서는 단용처리 시험에서 가장 효과가 좋았던 2종의 약제(iprodione, diethofencarb/carbendazim 합제)와 2005년 농약품목등록 고시하여 백합 잎마름병 방제 약제로 새롭게 등록된 fludioxonil(20SC, 신젠타, 2000배) 약제 순으로 정하였다. 포장 효과 검정 시험은 2006년부터 2007년까지 봄재배 작형으로 2회 수행하였으며, 약제 처리는 잎이 전개된 4월 17일부터 13회 살포, 최초 병 발생 직후인 6월 17일부터 6회 살포, 병 발생 직후부터 4회 살포 처리구로 각각 구분하여 7일 간격으로 하였다. 시험 품종 등 경종적 방법은 위 시험과 동일하게 처리하였다.

## 결과 및 고찰

**재배농가 농약사용 실태.** 나라 주산단지를 대상으로

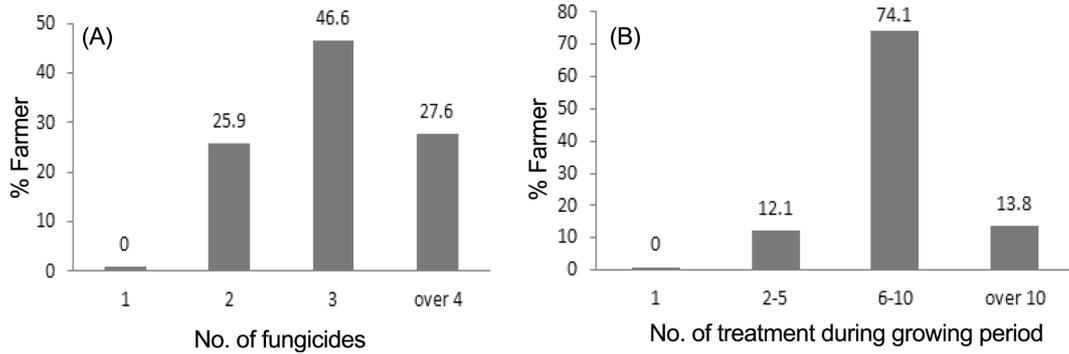


Fig. 1. Number of fungicides (A) and frequency of fungicide treatment (B) during growing period of lily in Korea.

백합 잎마름병 방제를 위한 농약사용 실태를 조사한 결과, 나리 재배농가에서 사용하고 있는 살균제는 benomyl, mancozeb, procymidone, iprodione, diethofencarb, diethofencarb/carbendazim 합제, fenhexamid, fludioxonil 이였고, 1작기 동안 사용하는 약제 종류수별 농가비율은 2종이 25.9%, 3종 69.6%, 4종 이상은 27.6%였으며, 1작기 동안 살포횟수에 따른 농가비율은 6-10회가 74.1%, 10회 이상 13.8%로 나리 재배농가 사용하는 대부분의 농약 종류는 적고 살포 횟수는 많아 약효저하와 약제 내성발현이 의심되는 상황이었다(Fig. 1).

**중간 약제 저항성 비교.** *B. elliptica* 균주의 경우, benzimidazole계 살균제인 benomyl과 dithio-carbamate계인 mancozeb의 EC<sub>50</sub> 값이 500-1000 µg/ml으로 가장 높은 저항성 수준을 나타내었고, dicarboximide계인 procymidone 약제와 iprodione 약제는 5-50 µg/ml 범위내 균주의 비율은 각각 93.7%와 100%였으며, diethofencarb/carbendazim 합제와 fludioxonil 약제는 0-0.1 µg/ml 범위에서 98.0%와 93.8%를 차지하였다(Fig. 2). 한편 나리의 잎, 줄기, 꼬투리 등의 죽은 조직에서 주로 기생하는 *B. cinerea*의 경우에는 시험에 사용된 모든 살균제에서 *B. elliptica*와 같은 경향으로 저항성이 발현되는 결과를 보였다.

**약제별 교차·다중저항성.** 국내에서 수집한 백합잎마

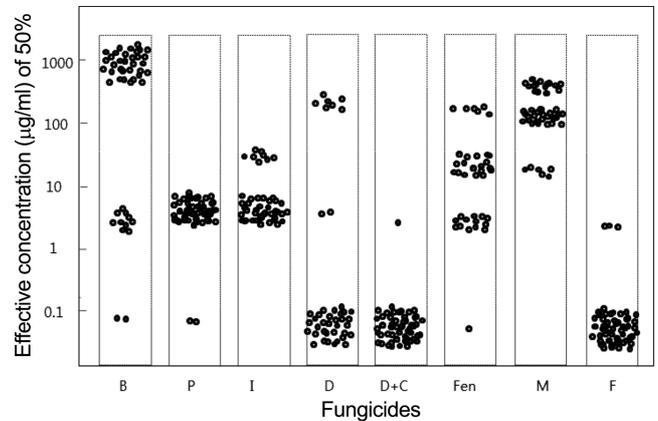


Fig. 2. Distribution of EC<sub>50</sub> value on *Botrytis elliptica* isolated from infected lily tissue collected from 2003 to 2005 in Korea. EC<sub>50</sub> means effective concentration showing 50% of mycelial growth inhibition compared with mycelial diameter on potato dextrose agar without fungicide. B: benomyl, P: procymidone, I: iprodione, C: carbendazim, D: diethofencarb, D+C: diethofencarb+carbendazim, Fen: fenhexamide, M: mancozeb, F: fludioxonil.

름병균을 대상으로 약제저항성을 검정한 결과, MIC 값 10 µg/ml(LR, low resistance)를 약제 저항성균으로 간주하였을 때 *B. elliptica* 경우, dicarboximide계의 iprodione 약제에 저항성을 보인 균주가 procymidone 약제에 저항

Table 1. Rate of resistance groups of *Botrytis* spp. against benzimidazole and dicarboximide fungicides based on minimum inhibitory concentration (MIC) value of 10 µg/ml<sup>x</sup>

Species	% Fungicide resistance				
	Benzimidazole		Dicarboximide		Multiple
	Benomyl	Iprodione	Procymidone	Cross <sup>y</sup>	
<i>B. elliptica</i>	93.8 a <sup>z</sup>	100 a	93.8 a	93.8 a	91.5 a
<i>B. cinerea</i>	100 b	100 a	90.9 a	90.9 a	90.9 a

<sup>x</sup>For calculating MIC value (µg/ml), colony diameter was investigated on potato dextrose agar after 5 days incubation at 20°C.

<sup>y</sup>Cross resistance was between iprodione and procymidone, and multiple resistance was between benzimidazole and dicarboximide procymidone.

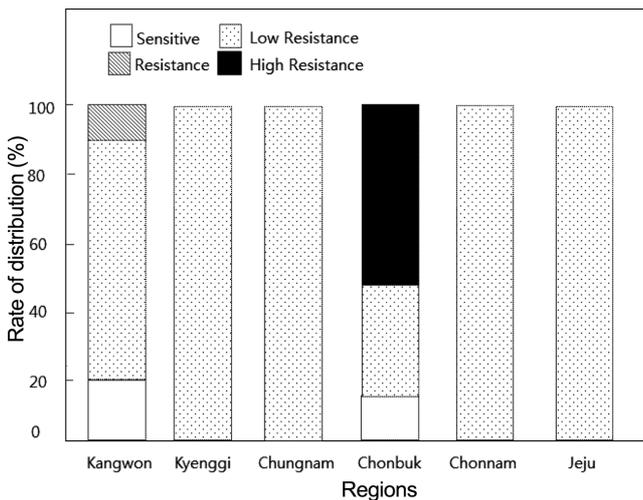
<sup>z</sup>Values in each column followed by the same letter don't differ significantly according to Duncan's multiple range test at P=0.05.

성을 보이는 교차저항성 발현률은 93.8%였고, benzimidazole 계에 속하는 benomyl에 대하여 저항성을 보인 균주가 dicarboximide계의 procymidone 약제에서도 저항성을 나타내는 다중저항성 발현률은 91.5%였다(Table 1). 한편, 동일한 도표상의 *B. cinerea* 경우, 교차저항성과 다중저항성 발현률은 모두 90.9%를 나타내었는데, 이러한 결과는 Kim 등(1993)이 국내 딸기에서 분리한 잭빛곰팡이병균(*B. cinerea*)이 vinclozolin과 iprodione 살균제뿐만 아니라 procymidone 살균제에 대해서도 교차저항성을 확인하였던 내용과 일치하였다. 이스라엘과 스페인에서도 각각 1989년과 1992년에 채소류에서 분리한 *B. cinerea* 균주가 benzimidazole계, dicarboximide계, diethofencarb/carbendazim 합제 간에 복합저항성이 발현되었다고 보고하였고(Elad 등, 1992, Raposo 등, 1996), Chastagner(1986)는 튜립에서 분리한 *B. tulipae*는 dicarboximide계에 속하는 vinclozolin과 iprodione 살균제 간에 교차저항성이 발현되었음을 보고한 바 있다. 이상의 연구 결과로 보아 백합 잎마름병균의 저항성 발현은 다른 작물들과 같이 dicarboximide 계 통간의 살균제 저항성이 점차적으로 진행 중인 것으로 판단되며 이에 따른 방제 대책을 수립해야 할 것으로 생각된다.

**지역간 살균제 저항성 비교.** 비교 현재 국내 나리 재배농가에서 가장 많이 사용되고 있는 dicarboximide계 procymidone 약제를 대상으로 지역별로 수집한 *B. elliptica* 균주에 대한 저항성 발현 정도를 분석한 결과, 전북 남원과 정읍지역에서 분리한 균주의 50%는 고도의 저항성

(HR)을 보였고 35%는 약저항성(LR)을, 15%는 감수성(S)을 보이는 것으로 나타났으며, 강원도 인제와 화천지역에서는 저항성(R)이, 횡성과 양구에서는 약저항성(LR)이, 횡성에서는 감수성(S)이 분리되는 등 강원 도내에서는 지역적으로 다양하게 분포하였고, 그 외 경기도 수원과 파주, 충남 태안, 아산 등, 전남 해남 등, 제주지역에서 분리한 35개 균주는 약저항성(LR)을 발현하는 것으로 조사되었다(Fig. 3).

**약제 방제효과 포장검정.** 비가림 시설재배에서 benomyl, procymidone, iprodione 및 diethofencarb/carbendazim 합제를 단용으로 각각 7일 간격으로 13회 살포한 후 잎마름병에 대한 약제 방제효과를 조사한 결과, 방제가는 18.0%, 68.4%, 83.3%, 81.2%로 *in vitro*에서 수행한 약제저항성 검정 결과와 같이 benomyl 수화제는 방제효과가 전혀 없는 결과를 얻었다(Table 2). 따라서 benzimidazole계 benomyl 약제는 백합 잎마름병 방제약제로써 기능을 완전히 상실한 것으로 판단되고, 나머지 약제도 그 효과가 점차적으로 떨어지는 것으로 보아 새로운 약제 대체가 불가피하다고 생각된다. 또한 백합 잎마름병 방제를 위한 포장에서의 약제 처리 빈도는 한 작기 동안 10회 이상으로 지나치게 많아 약제에 대한 저항성 발현 시기를 앞당기는 요인이 되는 것으로 추측되므로 각각 다른 작용기작을 가진 살균제 iprodione, diethofencarb/carbendazim 합제, fludioxonil를 교호적으로 살포하였다. 처리 횟수는 농가 관행에 따라 잎이 전개된 후부터 13회 살포, 최초 병 발생 직후부터 6회 살포, 4회 살포로 각각 구분하여 처리한 후 비교하였더니 방제가는 각각 92.7%, 89.9%, 88.1%로 나타났(Table 3). 처리 횟수 간에는 유의성이 없는 것으로 나타나 살포횟수가 가장 적은 발병 직후 4회 살포하는 것이 바람직할 것으로 생각되며, 이러한 결과는 Vincelli 등(1998)이 양파 잭빛곰팡이병 화학 방제에서 농가 관행으로 처리한 12회 방제와 3회 방제와의 발병률과



**Fig. 3.** Rate of isolates having fungicide response highly resistant, resistant, low resistant, and sensitive to procymidone on *Botrytis elliptica* isolated from infected lily tissue in Korea. For calculating minimum inhibitory concentration value ( $\mu\text{g/ml}$ ), colony diameter was investigated on potato dextrose agar after 5 days incubation at 20°C. S, LR, R, and HR indicate susceptible, low resistant, resistant, and highly resistant, respectively.

**Table 2.** Efficacy of several fungicides used for control of *Botrytis* leaf blight of lily in field

Chemical <sup>a</sup>	Infected leaves (%)	Control value (%)
Benomyl	40.2 a <sup>z</sup>	18.0
Procymidone	15.5 b	68.4
Iprodione	8.2 c	83.3
Diethofencarb+Carbendazim	9.2 c	81.2
Untreated	49.0 a	—

<sup>a</sup>Fungicide was sprayed thirteen times from April 21 at 7-day intervals during growing period.

<sup>z</sup>Values in each column followed by the same letter don't differ significantly according to Duncan's multiple range test at  $P=0.05$ .

**Table 3.** Efficacy of the modified fungicides application for control of Botrytis leaf blight of lily greenhouse in 2007

Date of first application	Spray combination of fungicides <sup>x</sup>	No. of application	Infected leaves (%)	Control value (%)
Apr. 17	Ipro → Dieth + Carb → Flu <sup>z</sup>	13	0.8 a <sup>y</sup>	92.7
Jun. 19	Ipro → Dieth + Carb → Flu	6	1.1 a	89.9
Jun. 19	Ipro → Dieth + Carb → Flu	4	1.3 a	88.1
Not treated	Not treated	0	10.9 b	—

<sup>x</sup>Fungicide was sprayed at 7-day intervals during growing period.

<sup>y</sup>Values in each column followed by the same letter don't differ significantly according to Duncan's multiple range test at  $P=0.05$ .

<sup>z</sup>Ipro: iprodione, Dieth + Carb: diethofencarb + carbendazim, Flu: fludioxonil.

양과 생산량을 비교하였을 때 유의차가 없다는 결과와 유사하였다.

농가의 관행적인 백합 잎마름병 방제는 시설재배와 노지재배 구분없이 주로 예방위주로 생육초기부터 7일 간격으로 살포하고, 특히 여름철 우기에는 최고 매주 4회 이상 살포하는 경우가 많다. 그러나 본 시험에서는 비가림 시설재배에서 병 발생 직후 iprodione 약제, diethofencarb/carbendazim 합제, fludioxonil 약제 순으로 4회 교호살포하는 것이 약제저항성 발현과 경영적인 측면을 고려할 때 가장 효과적인 방법이라고 생각된다.

## 요 약

국내 나리 주산단지에서 분리한 *Botrytis elliptica* 48개 균주와 *Botrytis cinerea* 23개 균주를 대상으로 농가포장에서 사용되고 있는 살균제에 대한 약제저항성 검정을 실시하였다. 살균제 benomyl과 mancozeb에 대한 EC<sub>50</sub> 값은 500–1,000 µg/ml로 시험에 사용된 모든 약제 중에서 가장 높게 나타나 이 약제들은 나리재배 포장에서 잎마름병에 대한 방제 효과가 거의 없을 것으로 판단되었다. 또한 나리 재배농가에서 잎마름병 방제약제로 가장 많이 사용되고 있는 dicarboximide계 procymidone 살균제와 iprodione 살균제의 경우, EC<sub>50</sub> 값 5–50 µg/ml은 각각 93.7%와 100%이었고, diethofencarb/carbendazim 합제와 fludioxonil 살균제의 EC<sub>50</sub> 값 0–0.1 µg/ml 범위는 각각 98.0%와 93.8%이었다. 한편, 비가림 포장 재배에서의 잎마름병 방제 효과는 발병 직후 iprodione 약제, diethofencarb/carbendazim 합제, fludioxonil 약제를 교호적으로 4회 살포하였을 때 가장 우수하였다.

in washington with dicarboximide fungicides. *Acta Hort.* 177: 453–458.

- Elad, Y., Yunis, H. and Katan, T. 1992. Multiple fungicide resistance to benzimidazoles, dicarboximides and diethofencarb in field isolates of *Botrytis cinerea* in Israel. *Plant Pathol.* 41: 41–46.
- Hahm, S. S., Lee, K. H., Lee, J. W., Lee, H. D. and Yu, S. H. 2007. Control and incidence of leaf blight on lily with different cultural systems. *Res. Plant Dis.* 13: 152–156. (In Korean)
- Kim, B. S., Park, E. W. and Cho, K. Y. 1998. Changes in sensitivity levels of *Botrytis cinerea* populations to benzimidazole, dicarboximide, and *N*-phenylcarbamate fungicides. *Res. Plant Dis.* 14: 682–688. (In Korean)
- Kim, C. H. and Kwon, S. I. 1993. Parasitic fitness of procymidone-resistant isolates of *Botrytis cinerea* on strawberry. *Res. Plant Dis.* 9: 26–30. (In Korean)
- Koh, Y. J., Lee, J. G., Seo, J. K., Moon, D. K. and Han, H. R. 1998. Fungicide resistance and genetic diversity of *Botrytis cinerea* of citrus. *Res. Plant Dis.* 14: 682–688. (In Korean)
- Lee, S. W., Kim, J. Y., Min, J. Y., Bae, Y. S. and Kim, H. T. 2007. Monitoring for the resistance of *Botrytis cinerea* causing ginseng gray mold to procymidone and its multiple resistance with the mixture of carbendazim/diethofencarb. *Res. Plant Dis.* 13: 170–176. (In Korean)
- Park, I. C., Yeh, W. H. and Kim, C. H. 1992. Occurrence of isolates of *Botrytis cinerea* resistant to procymidone, vinclozolin and benomyl in strawberry field in Korea. *Res. Plant Dis.* 8: 41–46. (In Korean)
- Raposo, R., Delcan, J., Gomez, V. and Melgarejo, P. 1996. Distribution and fitness of isolates of *Botrytis cinerea* with multiple fungicide resistance in Spanish greenhouses. *Plant Pathol.* 45: 497–505.
- Vincelli, P. C. and Lorbeer, J. W. 1988. Comparison of predictive systems for timing the initial fungicide application to control *Botrytis* leaf blight of onion. *Plant Dis.* 72: 632–635.

## References

Chastagner, G. A. 1986. Control of fire (*Botrytis tulipae*) on tulips