

살균제 나무주사를 이용한 참나무 시들음병 방제 효과

Control Efficacy of Fungicide Injection on Oak Wilt in the Field

손수연 · 서상태* · 박지현

국립산림과학원 산림병해충연구과

***Corresponding author**

Tel : +82-2-961-2667

Fax : +82-2-961-2679

E-mail: stseo@forest.go.kr

Su-Yeon Son, Sang-Tae Seo* and Ji-Hyun Park

Division of Forest Diseases & Insect Pests, Korea Forest Research Institute, Seoul 130-712, Korea

Oak wilt caused by *Raffaelea quercus-mongolicae* was first noticed in South Korea in 2004 and, ever since, its distribution and damage have been increasing. To screen a fungicide effective for oak wilt control by tree injection, laboratory and field experiments were conducted. Ten fungicides and one antibiotic were examined *in vivo* for their effectiveness in restricting the growth of *R. quercus-mongolicae* and *R. quercivora* (Japanese oak wilt pathogen) isolates. To the Korean isolates of *R. quercus-mongolicae*, chlorothalonil showed the highest fungicidal effects, followed by benomyl and propiconazole. To the Japanese one, propiconazole was highest in the fungicidal effectiveness, followed by benomyl and bitertanol. Propiconazole was selected for field-testing of its control efficacy because it showed good fungicidal effects *in vitro* and systemic activity. The control efficacy in the field was 87.5% in the first year of injection and 66.7% in the second year, indicating the fungicidal effects last at least over one year.

Keywords : Fungicide, Oak wilt, *Raffaelea quercus-mongolicae*

Received July 18, 2014

Revised October 27, 2014

Accepted November 3, 2014

우리강산에서 흔히 볼 수 있는 나무는 소나무와 더불어 참나무류(*Quercus* sp.)로서, 참나무류는 목재뿐만 아니라 버섯재배, 숯, 칩, 목초액 등 활용도가 높은 나무이다. 이런 참나무류가 한 여름에 급속히 고사하는 증상이 2004년 경기도 성남시에서 처음 발견되었는데, 그 원인은 참나무 시들음병이었다. 참나무 시들음병은 광릉긴나무좀(*Platypus koryoensis*)이 매개하는 병원균(*Raffaelea quercus-mongolicae*)에 의해 나무의 수분공급이 방해되어 급격히 고사하는 병으로 알려져 있다(Kim 등, 2009). 산림청 통계(Korea Forest Service, 2014)에 의하면 참나무 시들음병 피해목은 2013년 309천본으로 2012년 268천본에 비해 15% 증가하였으며, 주 피해 지역은 서울과 경기도이다. 주 피해 수종은 신갈나무이며 졸참나무, 갈참나무에서도 피해가 크다(Suh 등, 2012). 가까운 일본에서도 참나무 시들음병 피해가 심

각한 수준으로 매개충은 *P. quercivorus*이며 병원균은 *R. quercivora* 이다(Kubono와 Ito, 2002).

우리나라에서 사용되는 참나무 시들음병 방제법으로는 소구역 선택베기, 피해목 제거, 끈끈이롤트랩 설치, 유인목 설치, 전기충격기 활용, 지상 약제살포, 대량포획 장치법, 약제줄기 분사법 등이 있다(Korea Forest Service, 2014). 일본의 경우 나무주사용으로 benomyl 수화제, triforine 유제가 등록되어 있으며(Kawashima 등, 2009), 미국의 경우 나무주사용으로 propiconazole 유제가 등록되어 이용되고 있으나(Blaedow 등, 2010), 우리나라에는 나무주사용으로 등록된 약제가 없는 실정이다. 이번 연구에서는 참나무 시들음병 방제를 위한 나무주사용 살균제를 선별하기 위하여 실시한 실내시험과 포장시험 결과를 보고한다.

공시균주 및 실내검정. 2012년 4월, 참나무 시들음병균에 대한 살균제 선별을 위해 국내 참나무 시들음병균(*R. quercus-mongolicae*)과 일본 참나무 시들음병균(*R. quercivora*) 균주를 이

Research in Plant Disease

©The Korean Society of Plant Pathology

pISSN 1598-2262, eISSN 2233-9191

Table 1. Fungal isolates used in this study

Species	Isolate	Source	Country
<i>Raffaelea quercus-mongolicae</i>	GY	<i>Q. Mongolica</i>	Korea
<i>Raffaelea quercus-mongolicae</i>	RQ10.410	<i>Q. Mongolica</i>	Korea
<i>Raffaelea quercivora</i>	RA410918	<i>Q. grosseserrata</i>	Japan

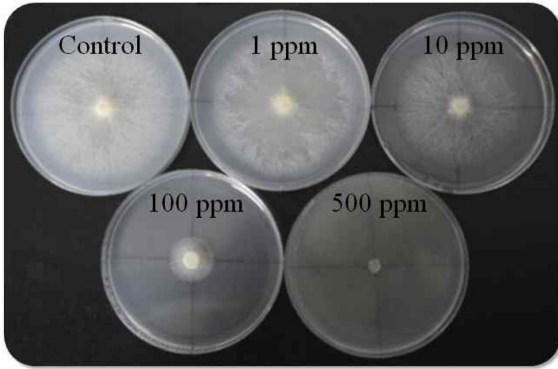


Fig. 1. Mycelial growth of *Raffaelea quercus-mongolicae* (Isolate GY) on potato dextrose agar with metalaxyl fungicide at different concentrations.

용하여 살균제 효과를 실내검정하였다. 공시 균주로는 한국과 일본에서 각각 큰 피해를 입고 있는 신갈나무와 물참나무의 피해목에서 분리한 균주들을 이용하였다(Table 1). 각 균주에 대한 성장저해 효과는 살균제 10성분[EBI 침투성: mycobutanil 6%(시스텐), triadimefon 5%(바리톤), bitertanol 25%(바이코),

propiconazole 25%(배너), Non-EBI 침투성: thiophanate-methyl 70%(톱신엠), benomyl 50%(벤레이트), metalaxyl 7.5%(리도밀엠지), 접촉성: chlorothalonil 82.5%(다코닐), mancozeb 75%(다이센엠-45), iprodione 50%(새노브란)]과 항생제 1성분 [streptomycin sulfate 20%(부라마이신)]에 대하여 조사하였다. Potato dextrose agar(PDA) 배지가 굳기 전(50°C)에 선발된 살균제와 항생제를 4개의 농도(1, 10, 100, 500 µg/ml)에 맞추어 첨가한 후 혼합하여 각각의 약제첨가 고체배지를 조제하였다. 25°C 암조건에서 5일간 배양한 각 균주의 가장자리에서 지름 1 cm 균사 디스크를 잘라내어 조제된 배지의 중심에 치상하였고, 각 조건 당 4반복 실시하였다. 대조구로는 살균제 또는 항생제를 첨가하지 않은 PDA 배지를 사용하였다. 치상한 배지는 25°C 암조건에서 4일간 배양한 후(Fig. 1) 치상한 균사 디스크의 중심에서 바깥쪽으로 성장한 균사의 길이를 양쪽 두 곳에서 측정 후 평균값을 계산하였다. 각각의 농도별 살균제와 항생제의 참나무 시들음병균 성장저해 효과는 4반복의 값을 평균하여 나타냈었으며, SAS System을 이용하여 Tukey's Studentized Range(HSD) test($\alpha=0.05$)를 통하여 사후검정으로 통계분석하였다.

국내와 일본 참나무 시들음병균 공시균주에 대하여 iprodione을 제외한 모든 약제가 10 µg/ml 이상에서 대조구에 비해 성장저해 효과를 나타냈다(Tables 2, 3). 국내균주의 경우 접촉성인 chlorothalonil과 침투성인 benomyl의 효과가 가장 높아 1 µg/ml에서 균사생장이 가장 저조했으며, 10 µg/ml에서는 생장이 완전히 억제되었다(Table 2). 그 다음으로 높은 성장 저

Table 2. Fungicide effect on radial growth of *Raffaelea quercus-mongolicae* (Isolate GY) on amended fungicide agar media

Treatment	Linear growth (cm) (Mean ± S.E.)			
	1 µg/ml	10 µg/ml	100 µg/ml	500 µg/ml
Control	7.3 ± 0.1 a	7.3 ± 0.1 a	7.3 ± 0.1 a	7.3 ± 0.1 a
Contact fungicides				
Chlorothalonil	1.6 ± 0.0 f	0.0 ± 0.0 f	0.0 ± 0.0 g	0.0 ± 0.0 c
Mancozeb	7.2 ± 0.1 a	6.1 ± 0.2 b	0.0 ± 0.0 g	0.0 ± 0.0 c
Iprodione	7.1 ± 0.1 a	7.6 ± 0.2 a	5.6 ± 0.1 c	0.0 ± 0.0 c
Systemic EBI fungicides				
Myclobutanil	6.2 ± 0.1 b	4.7 ± 0.1 c	2.6 ± 0.1 d	1.4 ± 0.3 b
Bitertanol	5.6 ± 0.0 c	3.4 ± 0.1 d	1.6 ± 0.1 f	1.2 ± 0.0 b
Propiconazole	4.7 ± 0.1 d	1.5 ± 0.1 e	0.0 ± 0.0 g	0.0 ± 0.0 c
Triadimefon	6.2 ± 0.1 b	5.3 ± 0.1 c	3.0 ± 0.1 d	0.9 ± 0.0 b
Systemic non-EBI fungicides				
Metalaxyl	7.4 ± 0.2 a	6.4 ± 0.1 b	2.1 ± 0.1 e	0.0 ± 0.0 c
Benomyl	2.5 ± 0.0 e	0.0 ± 0.0 f	0.0 ± 0.0 g	0.0 ± 0.0 c
Thiophanate-methyl	7.4 ± 0.0 a	3.7 ± 0.4 d	0.0 ± 0.0 g	0.0 ± 0.0 c
Antibiotics				
Streptomycin sulfate	6.6 ± 0.2 b	6.4 ± 0.1 b	6.3 ± 0.1 b	6.8 ± 0.3 a

EBI, ergosterol biosynthesis inhibitor.

Table 3. Fungicide effect on radial growth of *Raffaelea quercivora* (Isolate RA410918) on amended fungicide agar media

Treatment	Linear growth (cm) (Mean \pm S.E.)			
	1 μ g/ml	10 μ g/ml	100 μ g/ml	500 μ g/ml
Control	6.2 \pm 0.2 ab	6.2 \pm 0.2 ab	6.2 \pm 0.2 b	6.2 \pm 0.2 a
Contact fungicides				
Chlorothalonil	3.6 \pm 0.0 d	2.1 \pm 0.0 e	1.5 \pm 0.0 d	1.0 \pm 0.0 e
Mancozeb	6.0 \pm 0.1 b	5.2 \pm 0.1 c	2.7 \pm 0.2 c	0.0 \pm 0.0 f
Iprodione	6.3 \pm 0.1 ab	6.8 \pm 0.0 a	6.8 \pm 0.1 a	3.6 \pm 0.1 c
Systemic EBI fungicides				
Myclobutanil	4.9 \pm 0.1 c	3.2 \pm 0.0 d	1.5 \pm 0.1 d	1.3 \pm 0.1 e
Bitertanol	4.4 \pm 0.1 c	2.0 \pm 0.1 e	0.0 \pm 0.0 e	0.0 \pm 0.0 f
Propiconazole	1.8 \pm 0.0 f	0.0 \pm 0.0 f	0.0 \pm 0.0 e	0.0 \pm 0.0 f
Triadimefon	6.0 \pm 0.1 b	6.0 \pm 0.1 b	5.9 \pm 0.0 b	2.6 \pm 0.1 d
Systemic non-EBI fungicides				
Metalaxyl	5.0 \pm 0.2 c	4.8 \pm 0.1 c	2.8 \pm 0.1 c	0.0 \pm 0.0 f
Benomyl	2.3 \pm 0.1 e	0.0 \pm 0.0 f	0.0 \pm 0.0 e	0.0 \pm 0.0 f
Thiophanate-methyl	6.4 \pm 0.1 ab	2.9 \pm 0.4 d	0.0 \pm 0.0 e	0.0 \pm 0.0 f
Antibiotics				
Streptomycin sulfate	6.7 \pm 0.3 a	5.9 \pm 0.2 b	6.0 \pm 0.1 b	5.0 \pm 0.1 b

EBI, ergosterol biosynthesis inhibitor.

해 효과를 보인 침투성인 propiconazole은 1 ppm과 10 ppm을 처리했을 때 병원균의 생장이 상당히 저해되었으며 100 ppm에서는 생장이 완전히 억제되는 결과를 나타내었다. 국내균주 두 종류(GY, RQ10.410)가 동일한 양상을 보였으며 균주 GY에 대한 살균제 및 항생제 처리 효과는 Table 2와 같다. 국내균주와 달리 일본균주는 propiconazole과 benomyl 첨가 배지에서 생장이 가장 저조하였다(Table 3). 처리한 살균제 및 항생제의 특성별(EBI 침투성, Non-EBI 침투성, 접촉성, 항생제)로는 통계적으로 유의한 생장저해 효과가 나타나지 않았다.

위 실험결과 국내에 발생하는 참나무 시들음병 방제를 위해서 chlorothalonil, benomyl, propiconazole을 활용할 수 있을 것으로 판단하였으나, chlorothalonil과 benomyl은 현재 작물에 사용되어고 있지만 내분비계 장애 추정 농약관리대상으로 지정되어 신규 및 변경등록이 어렵다는 농약 전문가의 의견에 따라 적용확대가 불가능하여 약제방제 포장시험에는 propiconazole을 이용하여 방제효과를 검증하였다.

약제방제 효과 포장시험. 포장시험은 2013년 5월 22일에 경기도 과천의 신갈나무림에서 수행하였으며, 사용약제는 미국에서 등록되어 사용중인 propiconazole(Alamo®, Syngenta)을 구입하여 이용하였다(Blaedow 등, 2010; Davies, 1992). 광릉긴나무좀이 침입하지 않은 건전한 신갈나무를 선목하여 흉고직경에 따라 18 cm 미만 3곳, 18–24 cm 미만 4곳을 직경 8 mm 목공용 드릴을 이용하여 8 cm 깊이로 천공하였다. 선정목에는 살균제 나무주사 대상목 2본에는 propiconazole 10배액이 담

겨진 200 ml 병을 천공에 꽂아 자연중력식으로 약제가 주입되게 하였고, 대조목 2본에는 증류수가 담긴 200 ml 병을 처리하였다. 각각 처리된 나무는 2013년 9월 11일 매개충에 의한 천공수를 조사하였으며, 매개충에 의한 천공수가 비교적 많은 propiconazole 처리목과 대조목 1본씩을 선정하여 병원균 분리율을 비교하기 위하여 별채하였고, 2014년 5월 16일 나머지 propiconazole 처리목과 대조목을 별채하여 병원균 분리율을 비교하였다. 병원균 분리율은 드릴 천공 부위로부터 5 cm 위와 150 cm 위 높이의 원판을 채취하여 조사하였다. 각 원판별 60개의 조직(0.2 \times 0.2 \times 0.2 cm)을 멸균된 면도칼을 이용하여 분리하였으며, 분리된 조직은 PDA 배지에 치상한 후 25°C에서 배양하면서 병원균 생장 여부를 관찰하였다.

2013년 시험결과 드릴 천공 부위로부터 5 cm 높이에서 병원균 분리율은 propiconazole 처리목이 5%로 대조목 40% 비해 낮은 분리율을 나타내어 병원균 방제효과가 87.5%로 높게 나타났다(Table 4). 150 cm 높이에서의 분리율은 propiconazole 처리목이 26.7%로 대조목 18.3% 보다 오히려 높게 나타났는데 이는 propiconazole 처리목이 대조목보다 매개충에 의한 피해를 더 많이 받아 병원균 자연접종 밀도에 영향을 주었을 것이라고 판단되었다. Propiconazole 나무주사 1년 후인 2014년 시험결과 드릴 천공 부위로부터 5 cm 높이에서 병원균 분리율은 propiconazole 처리목이 5%로 대조목 15%에 비해 낮은 분리율을 나타내어 병원균 방제효과가 66.7% 이었다. 150 cm 높이에서의 분리율은 propiconazole 처리목이 5%로 대조목 11.7%에 비해 낮은 분리율을 나타내어 57.3%의 방제효과를 보였다.

Table 4. Colonization rate of the *Raffaelea quercus-mongolicae* in trees injected with propiconazole fungicide prior to fungal infection

Year	Injection treatment	DBH ^a (cm)	Number of punch	Number of attacked	Height (cm)	Number of sample	Number of positive isolation	Colonization rate (%) ^b	Control value (%)
2013	Propiconazole	18	4	358	5	60	3	5.0	87.5
	Control	16	3	221	150	60	16	26.7	0
2014	Propiconazole	20	4	25	5	60	3	5.0	66.7
	Control	14	3	23	150	60	3	5.0	57.3
					5	60	9	15.0	–
					150	60	7	11.7	–

^aDiameter at breast height.

^bNumber of positive isolation/number of sample × 100.

^c(Colonization rate of control-colonization rate of propiconazole)/colonization rate of control × 100.

위 시험결과 5 cm 높이에서 150 cm에서보다 높은 방제효과를 나타내었는데 이는 약제 주입부위로 부터의 거리와 약제 농도가 관련 있을 것이라고 판단되었다. Blaedow 등(2010)도 propiconazole을 나무주사 한 후 약제 농도를 조사한 결과 주입부위로부터 거리가 멀어질수록 농도가 감소한다고 보고하였다. Propiconazole의 약효지속 기간은 최대 2년 정도로 보고되어 있으며(Appel과 Kurdyla, 1992; Blaedow 등, 2010), Armstrong(1999)은 느릅나무에서 propiconazole 처리 한 후 가스 크로마토그래피를 이용하여 조사한 결과 1년 후에는 검출되지 않았다고 보고하였다. 이번 시험에서는 약제처리 1년 후에도 병원균 분리율이 낮은 것으로 나타나 약효지속 기간이 적어도 1년 이상인 것으로 판단되었다.

이번 연구는 우리나라에서 참나무 시들음병을 방제할 수 있는 살균제 시험에 관한 첫 보고로 나무주사에 의한 방제 가능성을 시사하였다. 보다 정확한 약량, 처리시기, 약효지속 기간, 방제효율 등을 밝히기 위해 보다 많은 반복시험과 추가시험이 필요하며 일부 시험은 현재 진행 중에 있다.

요 약

참나무 시들음병(병원균 *Raffaelea quercus-mongolicae*)은 2004년 국내에 처음 발견되어 그 피해가 증가하고 있는 추세이다. 이번 연구에서는 참나무 시들음병 방제를 위한 나무주사용 살균제를 선별하기 위해 실내시험과 포장시험을 실시하였다. 실내검정에서는 10종의 살균제와 1종의 항생제를 이용하여 국내균주 *R. quercus-mongolicae*와 일본균주 *R. quercivora*에 대한 생육억제효과를 조사하였다. 국내균주에 대해서는 chlorothalonil, benomyl, propiconazole 순으로 생육억제효과가 높게 나타났으며, 일본균주에 대해서는 propiconazole, benomyl, bitertanol 순으로 나타났다. 국내균주와 일본균주에 대하여 실내 항균효과가 우수하였던 약제 중 침투이행성이 우

수한 propiconazole을 이용하여 약제방제 포장시험을 실시하였다. 그 결과 나무주사 처리 당해 연도 방제효과는 87.5%, 처리 다음 연도 방제효과는 66.7%까지 나타나 약제처리 효과는 적어도 1년 이상이었다.

References

- Appel, D. N. and Kurdyla, T. 1992. Intravascular injection with propiconazole in live oak for oak wilt control. *Plant Dis.* 76: 1121–1124.
- Armstrong, S. D. 1999. Microwave-assisted extraction for the isolation of trace systemic fungicides from woody plant material. Ph.D. thesis. Dept. Chemistry. Virginia Polytechnic Institute and State University. Blacksburg.
- Blaedow, R. A., Juzwik, J. and Barber, B. 2010. Propiconazole distribution and effects on *Ceratocystis fagacearum* survival in roots of treated red oaks. *Phytopathology* 100: 979–985.
- Davies, C. S. 1992. Environmental management of oak wilt disease in central Texas. *Environ. Manage.* 16: 323–333.
- Kawashima, D., Kinuura, H. and Saito, S. 2009. A control example of Japanese oak wilt by fungicide injection. *J. Tree Health* 13: 162–163.
- Kim, K. H., Choi, Y. J., Seo, S. T. and Shin, H. D. 2009. *Raffaelea quercus-mongolicae* sp. nov. associated with *Platypus koryoensis* on oak in Korea. *Mycotaxon* 110: 189–197.
- Korea Forest Service. 2014. Forest pest surveillance and control plan.
- Kubono, T. and Ito, S. 2002. *Raffaelea quercivora* sp. nov. associated with mass mortality of Japanese oak, and the ambrosia beetle (*Platypus quercivorus*). *Mycoscience* 43: 255–260.
- Suh, D. Y., Son, S. Y., Kim, S. H., Seo, S. T., Kim, K. H. and Ko, H. K. 2012. Investigation of fungi in pesticide fumigated oak wilt-diseased logs. *Korean J. Mycol.* 40: 288–291.