

*Rhizoctonia solani*에 의한 인삼 모잘록병 방제용 종자처리 약제 선발

신정섭^{1,2} · 이승환¹ · 조혜선¹ · 조대휘¹ · 김경주¹ · 홍태균¹, 박철수¹ · 이성계¹ · 정희영^{2*}¹한국인삼공사 R&D본부, ²경북대학교 응용생명과학부

Screening of Seed Treatment Fungicide for Control of Damping-off caused by *Rhizoctonia solani* on *Panax ginseng*

Jeong-Seop Shin^{1,2}, Seung-Hwan Lee¹, Hye-Sun Cho¹, Dae-Hui Cho¹, Kyoung-Ju Kim¹, Tae-Kyun Hong¹, Chol-Soo Park¹, Seong-Kye Lee¹ and Hee-Young Jung^{2*}¹R & D Headquarters, Korea Ginseng Corporation, Daejeon, 34128, Korea²School of Applied Biosciences, Kyungpook National University, Daegu, 41566, Korea

(Received on October 28, 2015. Revised on December 11, 2015. Accepted on December 23, 2015)

Abstract Damping-off is a critical disease on ginseng seedling, which caused by the fungal pathogen *Rhizoctonia solani*. The disease has been prevented by tolclofos-methyl for the last 20 years. However, the tolclofos-methyl usually detected on the harvested roots of 6-year-old ginseng. Herein, we tried to select an alternative pesticide which not only must be safe but also efficiently inhibits the fungal pathogen. Four fungicides (fludioxonil, flutolanil, pencycuron, and thifluzamide) were applied to their inhibition efficacy against the pathogen. In *in vitro* test, fludioxonil treatment showed 80% inhibition activity for 25 days. Thifluzamide and flutolanil showed the activity for 10 days. Pencycuron showed for 1 days. In addition, the fludioxonil was more effective to control the pathogen comparing to other three fungicides in field. The incidence of damping-off was reduced to 71% by fludioxonil treatment. The level of the fungicide residue in seedling was 0.44 mg/kg, which value will be a negligible level in final products after 5 years. Consequently, the fludioxonil is a conceivable alternative for tolclofos-methyl to cope with *R. solani*.

Key words Damping-off, Fludioxonil, *Panax ginseng*, *Rhizoctonia solani*, Seed treatment

서 론

인삼은 오갈피과에 속하는 작물로서 종자과중 후 1년간 재배된 묘삼을 이식하여 3~5년간 재배하고 있다. 종자과중 후 재배되는 묘포에서는 1칸당 약 1800개 이상의 종자가 밀식되어 재배되므로 유묘기의 모잘록병 발생은 큰 수량감소를 유발한다. 인삼에 발생하는 모잘록병은 *Rhizoctonia solani*와 *Pythium ultimum*에 의해 발생한다고 알려져 있으나, 이들은 발생시기와 방제방법이 서로 다르기 때문에 각각의 증상을 구분할 필요가 있다. *R. solani*의 발병시기는 4월 중하순에 시작하여 5월 상순에 걸쳐 발생하며 땅에 접한 줄기 부위가 암갈색으로 마르면서 쓰러지는 증상을 보인다(Cho

et al., 2007). 하지만 *P. ultimum*은 5월 하순 이후 발생하고 줄기부위가 흐물거리며 물러 썩는 증상을 보인다. 또한 *P. ultimum*의 방제는 이 시기에 역병 방제를 겸하여 metalaxyl을 처리하면 방제가 되어 출아기에 발생하는 모잘록병은 거의 대부분 *R. solani*에 의해 발생된다. *R. solani*에 의한 인삼 모잘록병의 발병된 부위는 주변이 집단적으로 쓰러지며 둥글게 퍼져 나가는 발병 특징을 보이며, 토양 속에 있는 병원균이 발아 직후 어린 줄기를 침입하여 출아가 되지 못하는 출아 전 모잘록병과 출아 후 땅에 접한 줄기 부위가 암갈색으로 마르면서 쓰러지는 증상을 보인다(Cho et al., 2007). 또한 *R. solani*의 생육특성과 유전적 형질을 구분하는 균사융합군(Anastomosis Group, AG)을 분류한 결과 AG 2-1으로 보고되었다(Cho et al., 2004). *R. solani*에 의한 모잘록병 방제를 위해 사용된 약제는 과거 PCNB로부터 tolclofos-methyl로 대체되어 약 20년간 사용되어 왔으나(Yu

*Corresponding author

E-mail: heeyoung@knu.ac.kr

Table 1. Fungicides used in this study

Fungicides	Formulation ^{a)}	Application rate (mg/l)
Fludioxonil	SC 20%	3,000
Flutolanil	EC 15%	1,000
Pencycuron	SC 25%	2,000
Thi fluzamide	SC 20%	2,000

^{a)}SC=suspension concentrate, EC=emulsifiable concentrate.

et al., 1989) 국내 잔류허용기준에는 문제가 되지 않았다. 하지만 최근 미국 등 해외 국가의 잔류기준에 적용할 경우 수출 시 부적합 문제가 발생할 우려가 있어 신규 방제약제의 선발이 시급한 사항으로 대두되었다. 따라서 국내에 등록되어 있는 인삼 본포 잘록병 약제를 대상으로 종자분의 처리시 약효 및 잔류성 검토를 통한 신규 방제약제 선발과정을 보고하고자 한다.

재료 및 방법

시험약제

본 실험을 위해 사용한 약제는 인삼 본포 잘록병 약제로 등록되어 있는 fludioxonil, flutolanil, pencycuron, thi fluzamide 4종을 사용하였으며, 각 약제별 처리농도는 인삼 잘록병 방제 시 사용되는 농도를 기준으로 효과를 검증하였다(Table 1).

약제별 약효 지속 기간 조사

약제별 생육 억제효과 조사를 위해 사용한 Cho et al. (2005)의 방법은 실제 산지에서 모잘록병 발생이 약 20일 전후로 발생함에 따라 실내에서 토양에 처리된 약제별로 약효 지속기간을 간이 검증하기 다음과 같이 수행하였다. 2 mm체를 통과한 토양을 시험관에 5, 10 g씩 각각 멸균한 후, 10 g의 토양이 있는 시험관에 각 약제별로 4 ml씩 처리한 후 3개의 균사체 절편을 넣고, 5 g의 토양으로 덮어 25°C에서 24시간 처리하였다. 이후 균사체 절편을 꺼내어 멸균수에 세척한 후 멸균된 여과지에 물기를 흡수시켜 제거하고, PDA배지에서 25°C, 3일간 배양한 후 균사생장 정도를 측정하였다. 시험약제별 약효지속기간은 상기 방법으로 시험관에 시험 약제를 모두 처리한 후 1, 3, 5, 7, 10, 14, 20, 25, 30일 간격으로 시험균주를 3반복 처리한 후 약제별 균사생육 억제효과를 조사하였다.

포장에서 약제별 약효조사

포장에서 모잘록병 효과검정을 위해 약제별 종자처리 방법은 인삼 묘포 칸당(1칸; 1.8 m × 0.9 m = 1.62 m²) 2 l씩 관주처리되는 약제별 희석배수에 해당되는 처리약량의 약 50% 정도의 물을 소량 첨가하여 종자에 분의처리하고, 그늘에서 음건한 후 파종하였다. 접종원은 도정하지 않은 종자

용 호밀을 24시간 물에 불린 다음 121°C에 3회 멸균 후 *R. solani*의 균총을 접종하여 25°C 인큐베이터에서 30일간 배양한 것을 사용하였다. 배양된 접종원은 묘포 1칸당 상면 깊이 5 cm 부위 토양에 50 g씩 3반복으로 처리한 후 약제가 처리된 종자를 파종하여 효과를 조사하였다. 조사방법은 묘포 1칸당 1800개의 종자를 각 약제별로 분의처리후 파종하고, 이듬해 출아률을 조사하여 방제효과를 산출하였다. 통계 처리는 SAS 8.01을 이용하여 Bonferroni 다중 비교 분석을 통해 $P < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다.

선발약제의 산지 적용 시 효과조사

실내시험 후 병원균 접종포장에서 가장 높은 효과를 보인 fludioxonil의 산지적용 가능성을 검토하기 위해 경기 연천, 경북 상주, 전남 나주 3개소에서 종자에 fludioxonil의 분의 처리 구와 무처리 구를 각 100칸씩 3반복으로 파종한 후, 이듬해 출아률을 조사하여 방제효과를 산출하였다.

시험 약제별 묘상에서의 잔류성 조사

시험 약제별 처리된 종자는 파종 후 11개월이 지난 이듬해 10월경 묘상을 채취하여 처리별로 잔류량을 분석하였다. 약제별 잔류량 분석은 AOAC법을 응용하였으며, 균질화된 묘상 시료 10 g을 혼합추출기 병에 넣었다. 이후 아세토니트릴(CH₃CN) 50 mL를 가한 후 고속추출기에서 15,000 rpm으로 3분간 고속추출하였다. 혼합추출기병에 염화나트륨(NaCl) 10~20 g을 넣고 2분간 진탕 후 원심분리기 3,000 rpm으로 5분간 -4°C에서 원심분리하였다. 분리된 상등액 20 mL을 흡 피펫을 사용하여 분취 후 50 mL 시험관에 넣고 40°C 이하의 수욕조에서 질소가스를 통과시키면서 용매가 소량 남을 때까지 농축하였다. 정제는 아민 흡착카트리지(NH₂ 1 g, 6 mL)를 사용하였으며, 최종 농축액을 메탄올 2 mL에 재용해하여 여과(0.2 μm) 한 후 UPLC-MS/MS로 분석하였다.

결과 및 고찰

시험약제 4종에 대해 모잘록병 병원균의 약효지속기간을 조사한 결과 fludioxonil은 대조약제 tolclofos-methyl과 25 일차까지 대등한 효과를 나타내었으나, 30일차에서는 약효가 다소 떨어진 70%의 억제효과를 보였다. 그러나 모잘록병 발생은 포장에서 약 20일 전후로 발생하므로 tolclofos-methyl을 대체하여 사용이 가능할 것으로 판단되었다. Thi fluzamide, flutolanil의 경우 10일차 이후로는 80% 이하의 억제율을 나타내 30일차에서는 약 67%의 효과를 보였으며, pencycuron의 경우는 5일차 이후 70% 이하로 감소하여 30일차에는 약 45%로 가장 낮은 억제효과를 보였다(Fig. 1).

병원균 접종포장에서 시험약제 4종의 방제효과를 조사한

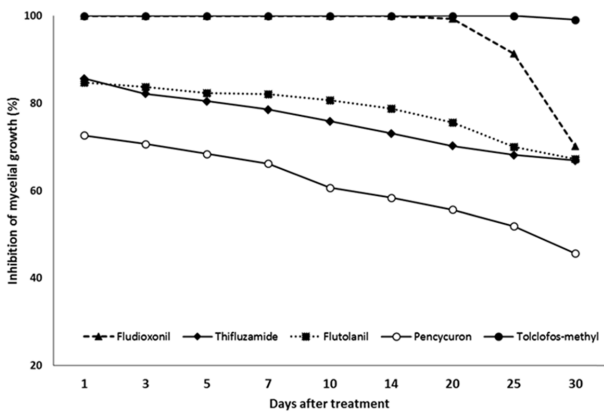


Fig. 1. *In vitro* effect of fungicides on mycelial growth of *Rhizoctonia solani* according to the days after treatment.

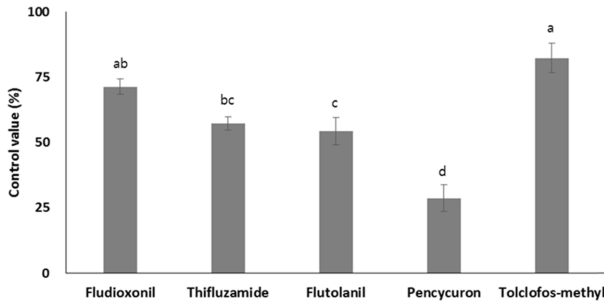


Fig. 2. Effect of fungicides on damping-off caused by *Rhizoctonia solani* in plot of 1 year-old ginseng field by artificial inoculation of the pathogen. Treatments with the same letter are not significantly ($P=0.05$) different according to Bonferroni method. The datum was mean of three replicates and standard deviation.

결과 실내검정에서 보인 효과 보다는 다소 낮은 fludioxonil 71%, thifluzamide 57%, flutolanil 54%, pencycuron 29%, 대조약제인 tolclofos-methyl은 82%로 조사되었으나(Fig. 2), 실내검정 결과에서 보인 효과와 비슷한 순으로 포장에서 방제효과를 나타내었다. 따라서 실내검정에 사용된 방법은 향후 토양 병원균에 대한 방제제 선발 시 약제의 지속기간 검토 등에 효과적으로 사용될 수 있을 것으로 판단된다. 실내 및 병원균 접종포장에서 가장 높은 방제효과를 보인 fludioxonil의 산지에서 적용 가능성 검토를 위해 지역별 3개소에서 파종 시 fludioxonil 분의처리 구와 무처리 구에 대해 출아율을 각각 비교 조사한 결과, 연천 83%, 25%, 상주 95%, 40%, 나주 92%, 52%로 나타나 인삼 모잘록병 방제제로 tolclofos-methyl을 대체하여 사용이 가능할 것으로 판단되었다(Fig. 3, Fig. 4).

시험약제별 종자처리 후 11개월이 경과한 시점에서 묘삼을 채취하여 잔류량을 조사한 결과 fludioxonil, thifluzamide, flutolanil, pencycuron은 각 0.44, 0.11, 1.63, 0.06 mg/kg으로 조사되었다. 약제별 회수율 첨가수준은 각각 0.02 mg/kg과 0.1 mg/kg으로 처리하였으며, 시험결과 Fludioxonil은

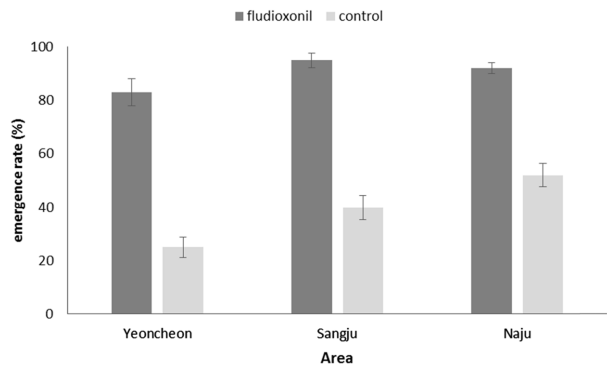


Fig. 3. Effect of fludioxonil treatment on seed emergence of 1-year-old ginseng field. The datum was mean of three replicates and standard deviation.

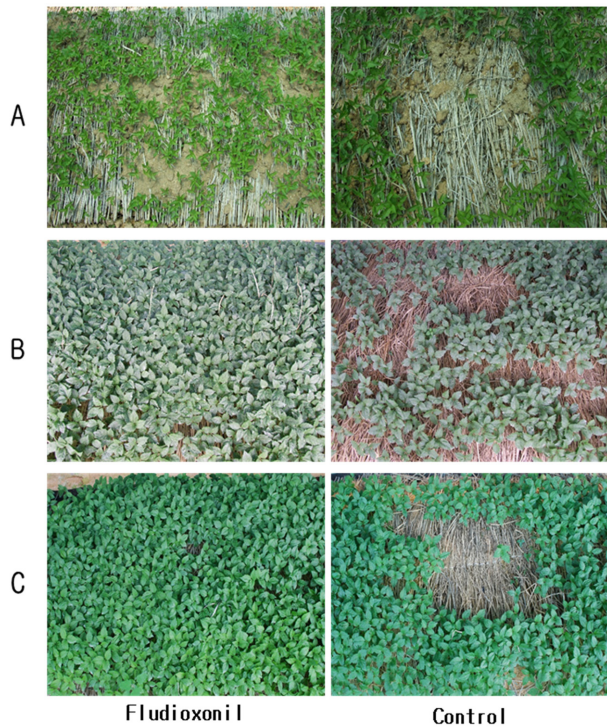


Fig. 4. Effect of fludioxonil application on emergence of 1-year-old ginseng seedlings in Yeoncheon (A), Sangju (B), and Naju (C).

98.4-113.9%, Thifluzamide는 91.3-100.1%, Flutolanil은 83.0~89.0%, Pencycuron은 96.7-98.4%를 나타내었다. 변이계수 (coefficient of variation, CV)는 1.7-6.2% 수준을 보여, 잔류농약 회수율 시험결과에 대한 국제적인 요구수준인 70-120%, 변이계수 10% 미만을 만족하였다.

실내검정 및 포장검정에서 가장 높은 효과를 보인 fludioxonil은 국내 및 해외에서도 잔류 허용 기준이 모두 설정되어 있고, 재배된 묘삼이 6년생이 되면 근중이 약 100배 증가된다고 할 때 단순 중량비로 잔류량이 0.44 mg/kg에서 0.004 mg/kg 수준으로 낮아지게 되어 국내뿐만 아니라 해외의 잔류허용기준에도 문제가 발생하지 않을 것으로 판단된다.

상기 결과를 바탕으로 본포 잘록병에 등록되어 있는 4종의 시험약제 중 tolclofos-methyl을 대체할 약제로는 fludioxonil이 가장 적합할 것으로 보여지며, 파종 시 종자에 분의처리하는 방법으로 단 1회 처리만으로도 인삼 묘포에 발생하는 *R. solani*에 의한 모잘록병 방제가 충분할 것으로 판단된다.

Literature Cited

- Cho, D. H., J. Y. Kang and Y. H. Yu (2004) Anastomosis group, pathogenicity and growth characteristics of *Rhizoctonia solani* causing damping off on *Panax ginseng*. Korean J. Ginseng Res. 28(4):183-190.
- Cho, D. H. and Y. H. Yu (2005) Effect of fludioxonil, flutolanil, and thifluzamide on suppression of damping-off caused by *Rhizoctonia solani* on *Panax ginseng*. Korean J. Ginseng Res. 29(4):185-191.
- Lehotay, S. J., A. de Kok, M. Hiemstra and P. Van Bodegraven (2005) Validation of a fast and easy method for the determination of residues from 229 pesticides in fruits and vegetables using gas and liquid chromatography and mass spectrometric detection. J. AOAC. Int. 88(2):595-614.
- Na, E. S., Y. J. Lee, K. J. Kim, S. S. Kim and K. S. Lee (2013) Establishment of pre-harvest Residue Limits of clothianidin and thiacloprid in ginseng. Korean J. Pestic. Sci. 17(3):155-161.
- Yu, Y. H., D. H. Cho and S. H. Ohh (1989) Effect of tolclofos-methyl on damping-off of ginseng seedlings incited by *Rhizoctonia solani*. Korean J. Ginseng Res. 13:114-118.
- Cho, D. H., H. S. Cho, J. S. Shin and D. W. Park (2007) Control of damping-off and ginseng stem fungus gnat of ginseng. KT&G Ginseng research report. pp. 28-33.

Rhizoctonia solani에 의한 인삼 모잘록병 방제용 종자처리 약제 선별

신정섭^{1,2} · 이승환¹ · 조혜선¹ · 조대휘¹ · 김경주¹ · 홍태균¹, 박철수¹ · 이성계¹ · 정희영^{2*}

¹한국인삼공사 R&D본부, ²경북대학교 응용생명과학부

요 약 *Rhizoctonia solani*에 의해 발생하는 잘록병은 인삼 묘포에서 가장 중요한 병이다. 이 병을 방제하기 위해 사용된 tolclofos-methyl은 약 20년간 사용되어 왔다. 이 약제는 6년생 수삼에서도 잔류가 되어 안전하고 병원균 방제에 효과적인 약제를 선별하기 위해 4종 (fludioxonil, flutolanil, pencycuron, thifluzamide)의 살균제의 약효를 검정하였다. 실내에서 시기별로 80% 이상의 생육억제 효과를 조사한 결과, fludioxonil 25일, thifluzamide, flutolanil 10일, pencycuron 1일로 조사되었으며, 포장시험에서 방제효과는 fludioxonil, thifluzamide, flutolanil, Pencycuron에 대해 각각 71%, 57%, 54%, 29%의 효과를 보였다. 가장 높은 효과를 보인 Fludioxonil의 경우 국내 및 해외에 등록되어 있으며, 잔류성 조사 결과 묘삼에서 0.44 mg/kg으로 조사되어 이후 5년간 재배 시 영향이 없을 것으로 조사되었다. 따라서 Fludioxonil은 Toltclofos-methyl을 대체하여 사용할 수 있을 것으로 판단된다.

색인어 모잘록병, 인삼, 종자처리, Fludioxonil, *Rhizoctonia solani*