

Fungicide selections for control of chili pepper stem rot caused by *Sclerotium rolfsii* using an agar dilution method

Soo Min Lee, Jiyoung Min, Heung Tae Kim*

Department of Plant Medicine, College of Agriculture, Life and Environment Science, Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk 28644, Korea

*Corresponding author: htkim@cbnu.ac.kr

Abstract

Sclerotium rolfsii causing southern blight on numerous vegetable and fruit crops was isolated from stems of chili peppers showing wilting symptoms. The pathogen was identified by morphological observation and DNA sequencing analysis of ITS region. To select an effective fungicide for control of southern blight, we investigated the inhibition efficacy of thirty fungicides included in nine groups of fungicides with different mechanisms of action. A fungal growth inhibition assay was conducted through an agar dilution method by using mycelial discs and sclerotia of the pathogen as inoculum, respectively. When mycelial discs were used as an inoculum, several fungicides showed good inhibitory activity against the mycelial growth of *S. rolfsii* 12-6. All DMI fungicides tested had a good inhibition except for prochloraz which had low inhibitory effect. All strobilurin fungicides tested except for kresoxim-methyl and all SDHI fungicides tested except for boscalid and fluopyram, had a good inhibition. Also, fludioxonil, a protective fungicide and fluazinam had a good inhibitory effect. Interestingly, when sclerotia were used as an inoculum, inhibition efficacy was increased for fluopyram, a SDHI fungicide, and for some protective fungicides such as propineb, chlorothalonil, dithianon, and folpet. All the fungicides selected in this study should be tested in the field for their control activities against stem rot for practical use in chili pepper cultivation.

Keywords: chili pepper, fungicide, *in vitro* test, stem rot



click for updates

OPEN ACCESS

Citation: Lee SM, Min J, Kim HT. 2017. Fungicide selections for control of chili pepper stem rot caused by *Sclerotium rolfsii* using an agar dilution method. Korean Journal of Agricultural Science 44:339-347.

DOI: <https://doi.org/10.7744/kjoas.20170034>

Editor: Sang-Keun Oh, Chungnam National University, Korea

Received: June 1, 2017

Revised: June 23, 2017

Accepted: June 28, 2017

Copyright: © 2017 Korean Journal of Agricultural Science.



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Introduction

고추는 타작물에 비해 재배기간이 길어 다양한 병원균에 의한 피해가 많고 이에 따른 병 방제에 있어 병원균에 따라 서로 다른 방법을 사용해야 하는 어려움이 있다. 특히 고추 생산성에 큰 영향을 미치는 시들음 증상은 난균문에 속하는 역병균과 같은 유사진균부터 자낭균에 속하는 진균뿐만 아니라 세균까지 매우 다양한 병원균에 의해 발생한다. 과거에는 난균문에 속하는 *Phytophthora capsici*가 일으키는 역병에 의한 피해가 매우 컸지만, 역병 저항성 품종이 보급되어 사용하면서 포장에서 역병의 발생은 현저하게 감소한 반면에, 세균에 속하는 *Ralstonia*

*solanacearum*에 의한 풋마름병의 발생이 증가하고 있다. 또한, 남부 지역의 시설재배지를 중심으로 발생하던 식물 병원진균인 *Sclerotium rolfsii*에 의한 흰비단병도 시설재배지가 아닌 노지 포장에서 발견되기 시작하였고, 기온 상승으로 인하여 남부 지역뿐만 아니라 중부 내륙 지방에서도 발생하기 시작하였다(Kwon and Park, 2004).

고추 흰비단병균인 *S. rolfsii*는 500여종의 다양한 기주에서 모잘록, 줄기꺾양, 밑동마름, 뿌리썩음 등을 일으키는 것으로 알려져 있는데, 열대 및 아열대 기후와 같이 온도가 높은 지역에서 발생하는 병으로 알려져 있다. 우리나라에서는 2004년에 강낭콩, 딸기, 수박, 양파 등 다양한 기주에서 *S. rolfsii*에 의해 발생하는 병이 보고되기 시작하였고(Kwon and Park, 2004, 2009; Kwon et al., 2011; Kwon et al., 2012) 고추에서는 2002년 7월 경남 하동군 노지 재배 고추 포장과 2003년 10월 진주의 비닐하우스 축성재배 포장에서 발생하였다(Kwon and Park, 2004). 하지만 흰비단병에 대한 발생 현황, 발생 생태, 방제 등에 대한 다양한 연구는 아직까지 미미한 실정이다.

경종적 방제 방법 중의 하나로 고추와 귀리를 서로 윤작할 경우 포장에서 토양 100 g당 *S. rolfsii*의 균핵의 수가 8.22개에서 4.17개로 감소하면서 병 발생도 줄어들었다(Leoni et al., 2014). 해바라기를 재배하기 전에 비닐 멀칭을 하여 표토 부분의 병원균의 균핵 밀도를 줄이고자 하였으나 괄목할만한 효과를 보기는 어려웠다(Duffand and Connolly, 1993; Fouzia and Saleem, 2009) 미생물을 이용하는 식물병의 생물적 방제를 위해서 태국에서는 방선균인 *Streptomyces philanthi* RL-1-178을 포장에 처리하여 병 발생을 57.8% 억제하였다(Boukaew et al., 2011). Eslami et al. (2015)은 땅콩 유전자원을 이용하여 *S. rolfsii*에 대한 저항성 검정을 G140의 저항성 라인을 선발하였지만, 저항성 정도가 높지 않았다. 이와 더불어 살균제를 토양에 처리하는 화학적 방제 방법조차도, 토양 병원균에 대해 효과가 우수한 PCNB (pentachloro-nitrobenzene)가 내분비 교란물질로 지정된 후 사용이 금지되어 사용할 수 없다 보니, 다른 살균제의 선발이 필요한 실정이다(Stevens et al., 2003). 이처럼 다양한 방제 방법에 대한 연구가 진행되고 있지만, 흰비단병을 일으키는 병원균이 토양병원균이다 보니 병 방제가 매우 어렵다.

최근 기상 변화에 따라 기온이 상승하면서 새롭게 문제가 되는 병들이 나타나기 시작하는데, 흰비단병도 고추에서 새롭게 문제가 되기 시작하는 병 가운데 하나이다. 하지만 이 병을 신속하고 효율적으로 방제할 수 있는 다양한 살균제가 등록되어 있지 않아 살균제 사용에 어려움이 있어 기존 살균제의 새로운 활성과 기작을 탐색하여 병의 방제에 적용해야 할 필요가 있다. 이미 많은 살균제의 작용 기작이 규명되어 있지만, 아직까지 작용기작을 확실하게 규명하지 못한 살균제도 있고, 이미 작용 기작이 알려져 있었다고 하더라도 전혀 다른 기작과 활성이 알려지면서, 새로운 병을 방제하는데 사용하는 살균제도 있다. 예를 들어 Validamycin은 벼 잎집무늬마름병의 방제 살균제인데, 채소에 처리할 경우 유도 저항성을 일으켜서 *Fusarium oxysporum*에 의한 시들음병을 방제하는데 사용된다(Ishikawa et al., 2005; McGovern, 2015).

따라서 본 연구에서는 기온 상승으로 인하여 발생지역이 확대되고, 시설재배지 뿐만 아니라 노지 포장에서조차 발생이 확인되는 흰비단병균을 분리, 동정하고, 실내 검정을 통하여 흰비단병균에 대한 다양한 살균제의 균사생장 억제효과를 조사함으로써, 고추 흰비단병에 대해서 방제 가능성이 높은 살균제를 선발하고자 하였다.

Materials and Methods

병원균 분리

2012년 충남 태안군 안면도와 경북 영양군, 청송군 등에서 고추 시들음 증상을 보이는 고추를 채집하여 병원균을 분리하였다. 시들음 증상을 보이는 고추 줄기의 지체부를 두께 2 mm 정도로 잘라 흐르는 물에 30분간 세척하고 건조시킨 후, 1% NaOCl을 이용하여 1분간 표면 살균하였다. 다시 멸균수로 2회 세척하고 무균상 안에서 풍건시킨 후, PDA 배지에 접종하여 25°C에서 배양하였다. 병든 조직으로부터 성장한 균사 선단을 떼어 물찬천 배지에서 배양한 후, 단균사를 분리하여 순수배양체를 확보하였다. 분리한 병원균은 25°C의 PDA 사면 배지에서 배양한 후, 4°C에서 보관하며 실험에 사용하였다.

병원균 동정

순수 분리한 병원균의 ITS (internal transcribed spacer) 영역을 증폭하여 유전자 수준에서 병원균을 동정하였다. 유전자 증폭을 위하여 ITS1 (5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3')과 ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3')를 primer로 사용하여 PCR을 수행하였다. PCR의 반응조건은 희석된 50 ng DNA 1 μ L, 10 \times Taq buffer 2 μ L, 2 mM dNTP 3 μ L, 10 pmole ITS1 primer 1 μ L, 10 pmole ITS4 primer 1 μ L, Taq polymerase (5 unit/ μ L, KAPA bio) 1 unit에 총 20 μ L가 되도록 멸균수를 첨가하였다. PCR 조건은 95 $^{\circ}$ C에서 4분간 pre-denaturation을 수행한 후, 95 $^{\circ}$ C에서 1분간 denaturation, 58 $^{\circ}$ C에서 1분간 annealing, 72 $^{\circ}$ C에서 1분 동안 extension의 과정을 30회 반복하였으며, 72 $^{\circ}$ C에서 5분간 반응시킨 후 종료하였다. 여기서 얻은 PCR 산물들은 1 \times TAE buffer를 이용하여 제작한 1.5% agarose gel에서 50 V/cm²에서 70분간 전기영동 한 후, UV transilluminator를 이용하여 증폭된 산물을 확인하였다. PCR 산물은 Solgent사에 염기서열을 분석을 의뢰하였다. 분석한 염기서열은 NCBI에서 BLAST search를 통해 일치도가 가장 높은 종을 확인하였고, 각 isolate들의 염기서열을 MEGA 5.1에서 alignment 후 계통수를 작성하였다.

Table 1. List of fungicides used in this study.

Groups	Fungicides	Active ingredient (%)	Formulation ²
ergosterol biosynthesis inhibitors	difenoconazole	10	WG
	fluquinconazole	10	WP
	simeconazole	20	WP
	tebuconazole	20	SC
	hexaconazole	2	WG
	prochloraz	25	EC
benzimidazoles	benomyl	50	WP
	carbendazim	60	WP
	thiophanate-methyl	70	WP
	carbendazim + diethofencarb	25 + 25	WP
strobilurins	azoxystrobin	20	SC
	kresoxim-methyl	50	WP
	trifloxystrobin	22	SC
	pyraclostrobin	20	EC
succinate dehydrogenase inhibitors	flutolanil	15	EC
	fluopyram	40	SC
	fluxapyroxad	15.3	SC
	isopyrazam	12.57	
	boscalid	49.3	WG
dicarboximides	procymidone	50	WP
	iprodione	43	SC
protective fungicides	propineb	67	WG
	chlorothalonil	82.5	WG
	dithianon	66	WG
	folpet	50	WP
	iminocadine tri-albesilate	40	WP
	fluazinam	50	WP
others	fludioxonil	20	SC
	isoprothiolane	40	EC

²WG; water dispersible granule, WP; wettable powder, SC; suspension concentrate, SG; water soluble granule, EC; emulsifiable concentrate.

실험에 사용한 살균제

실험에는 총 29종의 살균제를 선발하여 사용하였다. 선발한 살균제는 각각의 작용기작과 화학구조를 고려하여 선발하였는데, Table 1에서 보는 것과 같이 에르고스테롤 생합성을 저해하는 6종, tunbulin 단백질의 중합을 저해하는 4종, 미토콘드리아 호흡에 관여하는 cytochrome bc₁ 효소복합체 활성을 억제하는 strobilurine계 살균제 4종, succinate dehydrogenase 활성을 저해하는 5종, 세포막의 산화를 유도하는 dicarboximide계 살균제 2종, 그리고 6종의 예방 살균제와 기타 기작을 갖는 2종의 살균제 등 총 29종의 살균제를 선발하여 실험에 사용하였다.

한천희석법을 이용한 균사생장 억제효과 조사

고추 흰비단병균의 균사와 균핵을 접종원으로 사용하여 살균제의 균사생장 억제효과를 조사하였다. 접종원인 균사와 균핵은 실험에 사용한 10개의 균주를 PDA배지에 배양하여 준비하였다. 균사의 경우는 병원균을 PDA 배지에 접종하여 25°C에서 4일간 배양한 후 균총의 선단에서 직경 3 mm의 균사 조각을 떼어내어 접종원으로 사용하였으며, 균핵의 경우는 병원균을 25°C의 PDA 배지에서 3주간 배양한 후 형성된 균핵을 사용하였다. 살균제의 균사생장 억제효과를 조사하기 위해서 실험에 사용한 모든 살균제를 PDA배지에 최종 농도가 0.1, 1.0, 10, 100 µg/mL이 되도록 첨가하였다. 이 때 모든 PDA 배지에는 세균 오염을 방지하기 위해서 300 µg/mL의 streptomycin을 첨가하였다. 살균제를 정해진 농도로 첨가한 PDA 배지에 병원균의 균사 혹은 균핵을 접종하고, 균사의 경우는 25°C에서 2일간, 균핵의 경우에는 동일한 배양 조건에서 3일간 배양한 후 균총의 직경을 측정하였다. 살균제의 균사생장 억제효과는 살균제를 첨가하지 않은 PDA 배지 상에서의 병원균 균총의 직경과 살균제 첨가 PDA 배지 상에서의 균총의 직경을 조사하여 아래와 같은 식으로 계산하였다.

$$\text{균사생장 억제효과(\%)} = \left(1 - \frac{\text{살균제 배지에서의 균총의 직경}}{\text{살균제 무처리 배지에서의 균총의 직경}}\right) \times 100$$

Results and Discussion

병원균 분리 및 동정

2012년에 분리한 고추 흰비단병균은 충남 태안군 안면도에서 7균주, 경북 영양군에서 2균주, 경북 청송군에서 1균주로 총 10균주가 분리되었다. 병원균을 PDA 배지에 병원균을 접종하고 25°C에서 2주간 배양 후부터 배지 상에 균핵이 형성되었다(Fig. 1A). 균핵은 암갈색을 띠는 구형으로, 크기는 1 - 3 mm인 것이 특징이다. 균사는 폭은 4.3 - 8.7 µm로 Kwon and Park (2004)이 보고한 균사보다는 폭이 약간 적었다. 또한 광학현미경으로 담자균류에서만 특징적으로 관찰할 수 있는 클램프 연결고리를 관찰할 수 있었다(Fig. 1B).

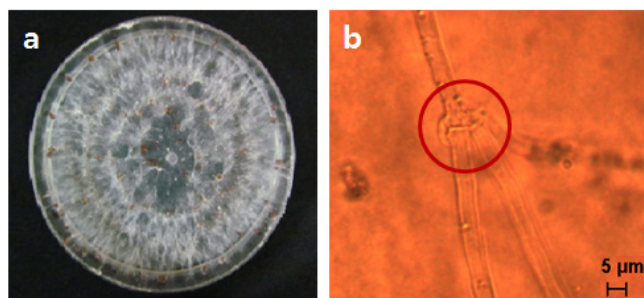


Fig. 1. Sclerotinia (a) and clamp connection (b) of *Sclerotium rolfsii* causing pepper stem rot grown on PDA at 25°C after incubation for 2 weeks.

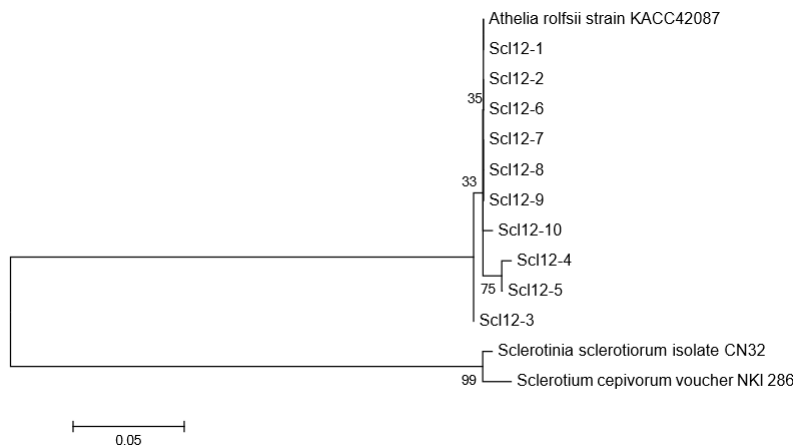


Fig. 2. Phylogenetic tree derived from rDNA-ITS sequence of *Sclerotium rolfsii*. The Maximum Likelihood model was used for analysis with a Bootstrap test of 2,000 runs.

병원균의 형태적 특징 외에 정확한 균동정을 위해 ITS1과 ITS4로 ITS 영역의 유전자를 증폭한 결과, 684 bp의 PCR 산물을 얻었으며, 염기서열 분석 후 blast 조사와 계통수를 작성한 결과, 분리한 병원균은 모두 *S. rolfsii*임을 확인하였다(Fig. 2). Kwon and Park (2004)이 흰비단병을 보고할 때만 하여도 남부 지방의 노지와 하우스 축성재배 포장에서 발견되었지만, 2012년도에는 서해안의 안면도 지역뿐만 아니라 중부 산간지대라고 할 수 있는 청송과 영양에서조차 분리함으로써, 기온이 높은 남부지역에서 주로 발생하던 흰비단병이 이제는 기온이 낮은 중부 산간 지대에서도 분리될 수 있을 정도로 전반되어 있음을 보여 주었다. 이제는 흰비단병이 전국적으로 발생하는 병이 되었기 때문에, 포장에서 병 방제에 사용할 수 있는 효과가 우수한 다양한 살균제 선발이 필요하다.

***Sclerotium rolfsii* 12-6에 대한 살균제의 균사생장 억제효과**

다양한 그룹의 여러 살균제에 대한 *S. rolfsii* 12-6 균주의 반응을 조사하였다(Fig. 3). 병원균의 ergosterol 생합성 과정에서 C14의 메틸기를 제거하는 demethylase의 활성을 저해하여 궁극적으로 ergosterol의 생합성을 저해하는 살균제(demethylase inhibiting fungicides, DMI fungicides) 그룹에 속하는 6종의 살균제는 *S. rolfsii* 12-6의 균사생장을 효과적으로 억제하였다. 특히 hexaconazole의 경우는 0.1 µg/mL 처리구에서도 균사가 전혀 생장하지 못하였다. 하지만 triazole계에 속하는 5종의 살균제와는 다르게, imidazole계에 속하는 prochloraz는 다른 DMI 살균제와 다르게 10 µg/mL의 처리 농도에서 균사생장 억제효과가 35.5%로 급감하였다. 미토콘드리아의 탈수소효소의 활성을 억제하는 것으로 알려진 살균제 그룹(succinate dehydrogenase inhibiting fungicides, SDHI fungicides) 중에서는 pyridine-carboxamides계에 속하는 boscalid와 pyridinyl-ethylbenzamides계에 속하는 fluopyram이 *S. rolfsii* 12-6에 대한 균사생장 억제효과가 떨어진데 비하여, phenyl-benzamides계에 속하는 flutolanil과 pyrazole-4-carboxamides계에 속하는 isopyrazam과 fluxapyroxadms는 1.0 µg/mL의 농도에서도 억제효과가 각각 100%, 78%, 87%로 효과가 우수하였다. Dicarboximide계에 속하는 procymidone과 iprodione의 경우 procymidone은 100 µg/mL 처리 농도에서조차 억제효과가 47%로 미미하였으나, iprodione은 10 µg/mL와 100 µg/mL로 처리농도가 높아지면 72%와 100%로 효과가 증가하였다. 다양한 작용점을 지닌 것으로 알려져 있는 보호 살균제의 경우 dithianon, iminocadine, chlorothalonil은 100과 100 µg/mL 처리구의 균사생장 억제효과가 50% 미만으로 저조하였다. Propineb와 folpet은 낮은 처리농도에서의 저조했던 효과가 100 µg/mL로 높아지면 95%와 89%로 증가하였다.

하지만 benzimidazole계 살균제인 benomyl, carbendazim, thiophanate-methyl은 *S. rolfsii* 12-6의 균사생장을 전혀 억제하지 못하였으며, benzimidazole계 살균제와 역상관 교차저항성 관계에 있는 diethofencarb를 혼합한 혼합제 역

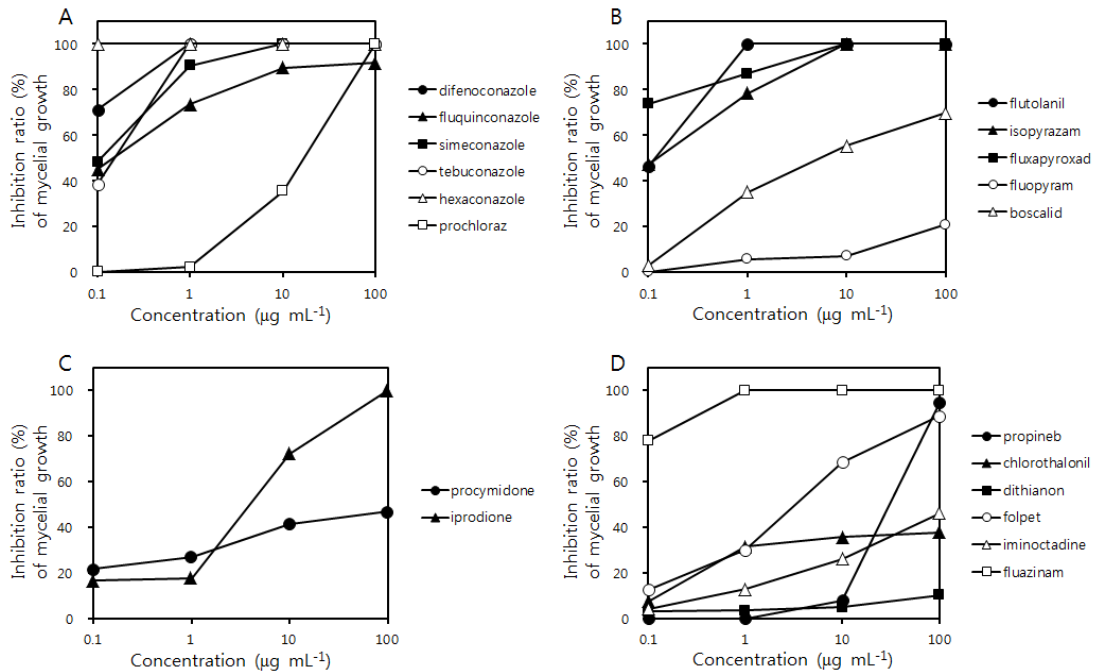


Fig. 3. Effects of various fungicides on the mycelial growth of *Sclerotium rolfsii* 12-6 on PDA amended with indicated concentrations. *S. rolfsii* 12-6 was incubated on PDA at 25°C, and the diameter of the colony area was measured 2 days after inoculation. A; inhibitors of the demethylase in ergosterol biosynthesis, B; inhibitors of the succinate dehydrogenase in mitochondria, C; dicarboxamide fungicide group, and D; fungicide group possessing multi-site contact activity.

시 전혀 효과가 없었다. Benzimidazole계 살균제의 효과는 Fouzia and Saleem (2006)의 결과와도 부합하는 결과로, benzimidazole계 살균제는 토양 병원균인 *S. rolfsii*의 방제에 사용하기 어려운 것으로 나타났다(data not shown).

Strobilurin계 살균제 균사생장 억제효과

미토콘드리아의 cytochrome bc₁ 복합체의 활성을 저해하는 것으로 알려진 strobilurin계 살균제는 인공배지에서 한천희석법으로 그 효과를 조사하고자 할 때, 병원균의 대체호흡 경로가 활성화되어 병원균의 균사생장을 효과적으로 억제하지 못한다(Kim et al., 2014). 작물에 잣빛곰팡이병을 일으키는 *Botrytis cinerea*에 대한 strobilurin계의 균사생장 억제효과를 조사하고자 할 때에는 실험하고자 하는 배지에 대체호흡을 억제하는 salicylhydroxamic acid

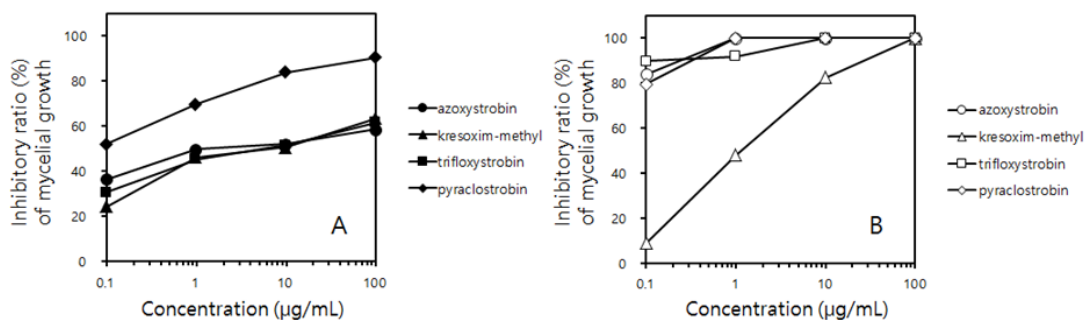


Fig. 4. Effect of salicylhydroxamic acid (SHAM) on the inhibitory activity of strobilurin fungicides against the mycelial growth of *Sclerotium rolfsii* 12-6 on PDA amended with each fungicide. Inoculum of *S. rolfsii* 12-6 was inoculated on fungicide-amended PDA without (A) or with 100 µg/mL of SHAM (B). They were incubated at 25°C for 2 days before the colony diameter was measured.

(SHAM)을 100 µg/mL를 살균제와 같이 첨가하고 실험하여야 정확한 효과를 얻을 수 있다(Kim et al., 2014). 고추 흰비단병의 병원균인 *S. rolfsii*의 경우도 대체호흡 억제제인 SHAM을 실험 배지에 첨가하지 않을 경우 strobilurin계 살균제의 *S. rolfsii*에 대한 효과는 SHAM을 처리하였을 때에 비하여 낮았다(Fig. 4). SHAM을 첨가하지 않고서 각 살균제에 대한 병원균의 EC₅₀값을 구하여 보면 pyraclostrobin이 0.044 µg/mL로 가장 낮았고, azoxystrobin, trifloxystrobin, kresoxim-methyl의 순으로 각각 4.305, 5.981, 6.681 µg/mL이었다. 하지만 PDA 배지에 100 µg/mL의 SHAM을 첨가하게 되면 각 살균제에 대한 *S. rolfsii* 12-6의 EC₅₀값은 크게 감소하여, kresoxim-methyl에 대한 EC₅₀값은 1.510 µg/mL이었고 나머지 세 살균제에 대한 EC₅₀값은 모두 0.001 µg/mL 이하로 크게 떨어졌다. *S. rolfsii*의 경우도 잣빛곰팡이병인 *B. cinerea*처럼 대체호흡 저해제를 같이 처리해주어야 PDA 배지에서 병원균의 균사생장을 억제하는 살균제의 효과를 정확하게 검정할 수 있었다.

병원균의 균사와 균핵 접종에 따른 살균제의 균사생장 억제효과 변화

본 실험에서는 분리하였던 10개의 균주를 모두 사용하여 한천희석법의 접종원으로 병원균의 균사를 사용하였을 때와 균핵을 사용하였을 때에 살균제 효과가 동일한 지를 조사하였다(Table 2).

사용한 살균제 중에서 보호 살균제의 반응은 다른 종류 살균제에 비해서 크게 변화하였다. Fluazinam은 균사를 접종하였을 때 평균 EC₅₀값이 0.012 µg/mL로서 우수한 효과를 보였고 더불어 균핵을 접종원으로 사용하였을 때에도 평균 EC₅₀값이 0.341 µg/mL로 여전히 우수한 효과를 보였다. 하지만 fluazinam을 제외한 나머지 5종의 보호 살균제들의 균사생장 억제효과는 접종원으로 균사를 사용하였을 때보다 균핵을 사용하였을 때에 더 우수하였다. 접종원으로 균사를 사용하였을 때 *S. rolfsii*의 평균 EC₅₀값은 folpet이 26.955 µg/mL (3.156 - 45.924 µg/mL)이고 나머지는 모두 100 µg/mL 이상이였지만, 균핵을 접종원으로 사용하여 균사생장 억제효과를 조사한 경우, iminoctadine을 제외한 나머지 4종의 보호 살균제인 propineb, chlorothalonil, dithianon, folpet의 평균 EC₅₀값이 0.090, 0.117, 0.159, 0.410 µg/mL로 균사를 접종원으로 실험하였을 때와 비교하여 급감하였다. 즉 낮은 처리 농도에서 균핵의 발아와 발아 후 균사생장을 크게 억제하였다. 이러한 결과는 *Colletotrichum*에 대해서 보호 살균제가 병원균의 균사생장보다는 포자 발아에 대한 억제 효과가 우수하다는 결과와 부합한다(Kim et al., 2003). 담자균류에 속하는 *S. rolfsii*는 무성세대의 포자가 알려지지 않은 식물병원균인데, 균사와 균사로 만들어진 월동기관인 균핵에 대한 보호 살균제의 반응이 식물병원성 곰팡이의 균사와 포자에 대한 반응과 매우 유사하다. 또한 *S. rolfsii*의 균핵으로 접종하였을 때 보호 살균제에 대한 반응이, 포자로 접종하였을 때와 같이 균핵의 발아를 완전히 억제하거나, 발아하여 나온 균사의 생장을 억제하는 것을 보면, 병원성 곰팡이의 포자발아와 균핵발아는 유사한 기작을 통해서 이루어질 수 있다고 생각된다. 이러한 결과를 바탕으로 토양에서 월동하고 기주식물을 침입하는 1차 전염원의 역할을 하는 *S. rolfsii*의 균핵을 보호 살균제를 이용하여 방제한다면 병원균의 일차 전염원 양을 감소시킬 수 있기 때문에 병 방제 효과를 높일 수 있을 것으로 생각한다.

DMI계 살균제는 균사로 접종하였을 때와 효과가 거의 유사하였는데 Prochloraz의 효과가 가장 낮았으며, 나머지 살균제의 효과는 균사로 접종하였을 때와 유사한 경향을 보였다. Benzimidazole계에 속하는 3종의 살균제와 역상관 관계가 있는 diethofencarb의 혼합제는 균핵을 접종하였을 때에도 전혀 억제효과가 없었다. Strobilurin계 살균제 중에서도 kresoxim-methyl을 제외한 나머지 3종의 살균제는 접종원의 종류에 관계없이 우수한 억제효과를 보였다. 균사로 접종하였을 때 azoxystrobin, trifloxystrobin, pyraclostrobin의 EC₅₀값은 0.020, 0.051, 0.073 µg/mL이었지만, 균핵으로 접종하였을 때에는 0.006, 0.005, 0.001 µg/mL로, 더 낮은 농도에서 병원균의 균사생장을 억제하였다. SDHI계 살균제의 경우에는 화학구조상 pyridine-carboxamides계에 속하는 boscalid는 여전히 효과가 저조하였지만, pyridinyl-ethylbenzamides계에 속하는 fluopyram은 균핵으로 접종하여 실험하였을 경우 균사생장 억제 효과에 대한 EC₅₀값이 0.001 µg/mL로 크게 감소하였다.

Table 2. EC₅₀ value of *Sclerotium rolfsii* causing pepper stem rot against fungicides in agar dilution method.

Groups	Fungicides ^z	Mycelial disc			Sclerotium		
		Min.	Mean	Max.	Min.	Mean	Max.
ergosterol biosynthesis inhibitors	difenoconazole	< 0.001	0.054	0.159	< 0.001	0.020	0.090
	fluquinconazole	0.079	0.302	0.639	< 0.001	0.180	0.717
	simeconazole	< 0.001	0.022	0.117	< 0.001	0.055	0.199
	tebuconazole	0.013	0.024	0.034	< 0.001	0.007	0.028
	hexaconazole	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.005	0.016
	prochloraz	9.577	14.739	19.438	< 0.001	6.905	24.657
benzimidazoles	benomyl	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
	carbendazim	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
	thiophanate-methyl	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
	carbendazim + diethofencarb	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
strobilurins	azoxystrobin	< 0.001	0.020	0.099	< 0.001	0.006	0.032
	kresoxim-methyl	0.075	1.658	5.574	0.642	51.479	> 100
	trifloxystrobin	< 0.001	0.051	0.421	< 0.001	0.005	0.057
	pyraclostrobin	< 0.001	0.073	0.585	0.001	0.001	0.004
succinate dehydrogenase inhibitors	flutolanil	< 0.001	0.002	0.008	< 0.001	0.003	0.010
	fluopyram	62.328	> 100	> 100	< 0.001	< 0.001	0.002
	fluxapyroxad	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
	isopyrazam	< 0.001	0.158	1.142	< 0.001	0.001	0.012
	boscalid	1.127	1.350	1.580	0.307	15.885	35.014
dicarboximides	procymidone	> 100	> 100	> 100	< 0.001	> 100	> 100
	iprodione	2.861	3.969	11.759	0.015	2.748	8.944
protective fungicides	propineb	8.049	> 100	> 100	0.003	0.090	0.261
	chlorothalonil	75.168	> 100	> 100	< 0.001	0.117	0.821
	dithianon	> 100	> 100	> 100	0.007	0.159	0.798
	folpet	3.156	26.955	45.924	< 0.001	0.410	1.283
	iminocadine tri-albesilate	> 100	> 100	> 100	< 0.001	> 100	> 100
	fluazinam	0.005	0.012	0.018	< 0.001	0.341	1.125
others	fludioxonil	0.004	0.046	0.095	0.038	0.143	0.294
	isoprothiolane	11.060	19.773	37.890	0.599	95.803	> 100

^zEach fungicide was amended into PDA by indicated concentrations.

Conclusion

2012년 고추 재배지역에서 채집한 시들음 증상이 있는 고추의 원인균으로 흰비단병균인 *S. rolfsii*를 분리하여, 남부지역 이외의 경북 영양과 청송지역에서도 흰비단병이 발생하는 것을 확인하였다. 분리한 흰비단병균에 대한 다양한 살균제의 균사생장 억제효과를 조사하기 위해서 병원균의 균사와 균핵을 접종원으로 사용하여 한천희석법으로 조사하였다. 균사를 접종원으로 사용하였을 때 prochloraz를 제외한 DMI계 살균제, kresoxim-methyl을 제외한 strobilurin계 살균제, boscalid와 fluopyram을 제외한 SDHI계 살균제, 보호 살균제인 fluazinam, 그리고 fludioxonil이 *S. rolfsii* 12-6의 균사생장에 대한 억제효과가 우수하였다. 하지만 균사로 접종하였을 때 균사생장 억제효과가 저조하였던 SDHI계의 fluopyram과 보호 살균제인 propineb, chlorothalonil, dithianon, folpet 등은 균핵을 접종원으로 사용하였을 때, 균사생장 억제효과가 증가하였다. 선발된 살균제는 고추 흰비단병균에 대한 억제효과를 확인하였기 때문에 포장 검정을 통하여 발생 지역이 증가하는 흰비단병의 방제에 사용할 수 있을 것으로 기대한다.

Acknowledgements

이 논문은 농촌진흥청의 아젠다 프로그램[연구과제: 지역 맞춤형 노지 고추의 주요 병해 종합적 방제 체계 구축 (PJ009324)]에 의한 연구비 지원을 통하여 진행된 연구 결과로, 연구비의 지원에 감사드립니다.

References

- Boukaew S, Chuenchit S, Petcharat V. 2011. Evaluation of *Streptomyces* spp. for biological control of *Sclerotium* root and stem rot and *Ralstonia* wilt of chili pepper. *Biocontrol* 56:365-374.
- Duffand JD, Connelly MI. 1993. Effect of solarisation using single and double layers of clear plastic mulch on *Pythium*, *Phytophthora* and *Sclerotium* species in a nursery potting mix. *Australasian Plant Pathology* 22:28-35.
- Eslami AA, Khodaparast SA, Mousanejad S, Dehkaei FP. 2015. Evaluation of the virulence of *Sclerotium rolfsii* isolates on *Arachis hypogaea* and screening for resistant genotypes in greenhouse conditions. *Hellenic Plant Protection Journal* 8:1-11.
- Fouzia Y, Saleem S. 2006. Effect of fungicides on *in vitro* growth of *Sclerotium rolfsii*. *Pakistan Journal Botany* 38:881-883.
- Fouzia Y, Saleem S. 2009. Effect of solar heating by polyethylene mulching on sclerotial viability and pathogenicity of *Sclerotium rolfsii* on mungbean and sunflower. *Pakistan Journal Botany* 41:3199-3205.
- Ishikawa R, Shirouzu K, Nakashita H, Lee HY, Motoyama T, Yamaguchi I, Teraoka T, Arie T. 2005. Foliar spray of validamycin A or validoxylamine A controls tomato Fusarium wilt. *Phytopathology* 95:1209-1216.
- Kim AH, Kim SB, Han KD, Kim HT. 2014. Monitoring for the resistance of strobilurin fungicide against *Botrytis cinerea* causing gray mold disease. *The Korean Journal of Pesticide Science* 18:161-167.
- Kim JJ, Kim JT, Park SW, Park ES, Kim HT. 2003. Development of assay method for the activities of new compounds, and the effect of several fungicides against spore germination, adhesion and mycelial growth of *Colletotrichum* sp. causing red pepper anthracnose. *The Korean Journal of Pesticide Science* 7:159-168.
- Kwon JH, Kang DW, Lee ST, Choi O, Shen SS. 2011. Stem rot of *Stachys sieboldii* caused by *Sclerotium rolfsii*. *Research in Plant Disease* 17:399-401. [in Korean]
- Kwon JH, Kim H, Lee YH, Shim HS. 2012. Sclerotium rot of sponge gourd caused by *Sclerotium rolfsii*. *Research of Plant Disease* 18:54-56. [in Korean]
- Kwon JH, Park CS 2004. Stem rot of *Capsicum annuum* caused by *Sclerotium rolfsii* in Korea. *Research of Plant Disease* 10:21-24. [in Korean]
- Kwon JH, Park CS 2009. Occurrence of fruit rot of watermelon (*Citrullus lanatus*) caused by *Sclerotium rolfsii*. *Research of Plant Disease* 15:51-53. [in Korean]
- Leoni C, Braak CJF, Gilsanz JC, Dogliotti S, Rossing WAH, van Bruggen AHC. 2014. *Sclerotium rolfsii* dynamics in soil as affected by crop sequences. *Applied Soil and Ecology* 75:95-105.
- McGovern RJ. 2015. Management of tomato diseases caused by *Fusarium oxysporum*. *Crop Protection* 73:78-92.
- Stevens C, Khan VA, Rodriguez-Kabana R, Ploper LD, Backman PA, Collins DJ, Brown JE, Wilson MA, Igwegbe ECK. 2003. Integration of soil solarization with chemical, biological and cultural control for the management of soilborne diseases of vegetables. *Plant and Soil* 253:493-506.