

# 클로버씨스트선충과 사탕무씨스트선충 알과 유충에 대한 약제 반응 비교

정문기<sup>1,2</sup> · 이동운<sup>1\*</sup><sup>1</sup>경북대학교 생태과학과, <sup>2</sup>농협케미칼 연구소

## Comparative Responses of Sugar Beet Cyst Nematode, *Heterodera schachtii* and Clover Cyst Nematode, *H. trifolii* to Different Nematicides

Mungi Jeong<sup>1,2</sup> and Dong Woon Lee<sup>1\*</sup><sup>1</sup>Department of Ecological Science, Kyungpook National University, Sangju 37224, Korea<sup>2</sup>Research Institute, NongHyup Chemical, Okcheon 29008, Korea

**ABSTRACT:** This study aimed to investigate the differences in the effects of nematicidal materials (*Burkholderia rinojensis*, fluazaindolizine, fluopyram, fosthiazate, hydrogen peroxide, and imicyafos) on eggs and larvae of the sugar beet cyst nematode, *Heterodera schachtii* and clover cyst nematode, *H. trifolii*, which have recently become problematic in highland Chinese cabbage cultivation areas in Korea. Comparison of the hatching rates according to the test materials showed differences between treatments. In the treatment with fluopyram, fosthiazate, and imicyafos, a very high hatching inhibitory effect of 99% was observed in both nematodes, and there was no difference in the efficacy of treatments between nematode species except for that with hydrogen peroxide. Regarding the nematocidal activity of treatments against hatched larvae, only the fluazaindolizine treatment, despite showing a high hatching inhibitory effect, showed a low nematocidal effect of less than 30% against both nematodes, whereas a mortality rate of more than 90% was observed in the other treatments. There was no difference between nematode species in the reactions of the 2nd instar juveniles to all nematicidal test materials after 24 and 48 h of treatment. Although there are limitations to the laboratory experiment, the reaction to the nematicidal materials of the two cyst nematodes that damage the same host was similar, and simultaneous control is suggested in the areas where the two nematodes occur together.

**Key words:** Bioassay, Cyst nematode, Egg hatching, Mortality, Nematicide

**초 록:** 본 연구는 우리나라 고랭지 배추재배지에서 근래에 문제되고 있는 *Heterodera*속의 사탕무씨스트선충(*H. schachtii*)과 클로버씨스트선충(*H. trifolii*)에 대한 살선충 물질(*Burkholderia rinojensis*, fluazaindolizine, fluopyram, fosthiazate, hydrogen peroxide, imicyafos)들의 알과 유충에 대한 약제 반응 차이를 알아보기 위하여 수행하였다. 실험 물질에 따른 부화율 비교 결과 부화율은 처리 약제별에 따라 차이를 보였는데 fluopyram, fosthiazate, imicyafos 처리에서는 두 선충 모두 99%의 매우 높은 부화억제 효과를 보였으며 선충간 약효차이는 hydrogen peroxide를 제외하고는 없었다. 부화유충에 대한 처리별 살선충 활성은 부화 억제효과 실험에서 높은 부화억제 효과를 보였던 fluazaindolizine 처리에서만 두 선충 모두에 대하여 30%미만의 낮은 살선충 효과를 보였고, 나머지 처리에서는 90%이상의 치사율을 보였다. 처리 24시간 후와 48시간 후 모든 실험물질에 대한 2령충들의 약제반응은 중간 차이를 보이지 않았다. 실내 실험에서 동일한 기주를 가해하는 두 씨스트선충들의 살선충제들에 대한 약제 반응이 동일하게 나타나 두 선충 혼생지에서 동시방제가 가능할 것으로 판단된다.

**검색어:** 생물검정, 씨스트선충, 부화, 치사율, 살선충제

씨스트선충은 뿌리혹선충(*Meloidogyne* spp.), 뿌리썩이선충(*Pratylenchus* spp.), *Radopholus siminalis*, 마늘줄기선충

(*Ditylenchus dipsaci*), 소나무재선충(*Bursaphelenchus xylophilus*), *Rotylenchulus reniformis*, *Xiphinema index*, *Nacobbus aberrans*, 벼일선충(*Aphelenchoides besseyi*)과 더불어 세계에서 과학적, 경제적으로 중요한 10대 식물기생선충의 한 그룹이다(Jones et al., 2013). 씨스트선충은 씨스트선충아과(Heteroderinae)에

\*Corresponding author: [whitegrub@knu.ac.kr](mailto:whitegrub@knu.ac.kr)

Received August 11 2020; Revised October 20 2020

Accepted November 3 2020

8개 속으로 구성되어 있는데 씨스트를 형성하는 속에 속하는 *Heterodera*와 *Globodera* 두 속의 선충이 경제적으로 가장 중요한 종들이 속해있다(Moens et al., 2018). *Globodera*속에는 *G. pallida*와 *G. rostochiensis*, *G. tabacum* 세 종이 경제적으로 피해를 주는 주요 종이며 *Heterodera*속에는 *H. avenae*, *H. filipjevi*, *H. latipons*, *H. cruciferae*, 콩씨스트선충(*H. glycines*), 사탕무씨스트선충(*H. schachtii*), 클로버씨스트선충(*H. trifolii*) 이 온대지역에서 주요 피해를 일으키는 종이고, *H. cajani*, *H. oryzicola*, *H. sacchari*, *H. sorghi*, *H. zaeae*는 열대지방에서 피해를 주는 주요 종들이다(Moens et al., 2018).

우리나라에서는 이들 중에서 콩씨스트선충과 사탕무씨스트선충, 클로버씨스트선충이 발생하여 피해를 주고 있는데 특히 사탕무씨스트선충과 클로버씨스트선충은 근래에 고랭지 배추 재배지를 중심으로 매년 피해가 확산되고 있다(Kwon et al., 2018; Mwamula et al., 2018; Kim and Lee, 2019).

사탕무씨스트선충과 클로버씨스트선충은 범세계적 분포를 하는 종으로 분포범위가 넓은데(Moens et al., 2018) 사탕무씨스트선충은 국가간 검역대상 선충으로 관리되고 있다(Pickup et al., 2018). 두 선충 모두 기주 범위가 넓고, 각종 경제작물에 대한 피해가 심한데(Evans and Rowe, 1998) 사탕무씨스트선충의 피해를 받은 방울다다기양배추나 양배추, 브루콜리, 꽃양배추 등의 작물에서는 선충의 밀도가 높을 경우 50%이상의 수량 감소가 발생하기도 하며(Hallmann and Meressa, 2018) 우리나라 고랭지 배추 재배지에서도 토양 300 cc당 씨스트가 60 개 이상 검출된 경우 배추생육이 위축되고, 결구가 불량해져 상품성이 없는 배추의 비율이 40-50%에 이르는 피해를 주었다(Kwon et al., 2018). 클로버씨스트선충의 밀도가 높은 우리나라 고랭지 배추 재배지에서도 사탕무씨스트선충의 피해와 동일한 양상의 피해가 나타났고(Kwon et al., 2018) 클로버씨스트선충 발생지에 약제 방제를 하였을 경우 무처리구에 비하여 배추수량이 최대 2.5배 증수되어(Lee et al., 2018) 클로버씨스트선충에 의한 작물 피해도 높았다. 특히 우리나라 고랭지 배추 재배지에서는 사탕무씨스트선충이나 클로버씨스트선충 단일 종이 발생하여 피해를 주기도 하지만 일부 포장에서는 두 종이 혼재하여 발생하고 있다(Kwon et al., 2018).

이러한 씨스트선충을 방제하는 방법으로는 휴경이나 윤작, 저항성 품종 재배나 살선충제와 같은 화학적 방제법 적용, 미생물이나 식물추출물, 유기물 등 생물적 방제법을 적용하는 방법 등이 있다(Riggs and Schuster, 1998; Back et al., 2018; Davies et al., 2018). 우리나라에서는 고랭지 배추 재배지에서 매년 씨스트선충의 발생 유무를 조사하여 발생이 확인 될 경우 화이트 머스타드(*Sinapis alba*)나 오일래디쉬(*Raphanus sativus* spp.

*oleiferus*)를 파종 하여 선충의 밀도를 1차적으로 감소시킨 뒤 추가적인 휴경이나 비기주 작물 식재를 통해 밀도가 피해 허용 수준 이하일 경우 기주 작물 재배를 추천하고 있다(Lee and Ko, 2017). 이러한 방법은 씨스트선충을 관리하는 장기 방제 대책으로 씨스트선충의 종합적 관리 차원에서 접근할 수 있는 방법이다(Back et al., 2018). 그러나 이러한 장기적 방제법이나 종합적 방제법을 효율적으로 적용하기 위해서는 화학적 방제제의 적용과 같은 단기적 방제방법을 강구하는 것이 필수적인데 특히 우리나라의 고랭지 채소 재배지와 같이 경지면적이 제한적이고, 작물 경작 가능 기간이 짧아 대체 가능 작물의 선택에 제한이 있거나 다른 고소득 대체 작물이 없는 경우 단기적 방제가 가능한 살선충제나 살선충 물질의 개발이 절실한 실정이다.

현재 우리나라의 고랭지 배추 재배지의 경우 클로버씨스트선충과 사탕무씨스트선충이 혼재하여 발생하고 있어 살선충 물질을 개발하는 측면에서는 두 대상 선충 종에 대한 유사한 효과를 보이는 살선충 물질 개발이 필요한데 이러한 것을 확인하기 위해서는 각각의 선충에 대한 생물검정이 필수적이다. 기존에 우리나라 고랭지 배추 재배지의 씨스트선충 방제를 목적으로 한 연구는 Lee et al. (2018)이 클로버씨스트선충을 대상으로 혼증성 및 비혼증성 살선충제의 효과를 검토하였고, 살선충제인 이미시아포스와(Kim et al., 2017) 한련초 추출물을 이용한 살선충 활성 검정을(Kim et al., 2019) 감염 포장에서 분리한 씨스트선충을 대상으로 실내 시험과 야외시험을 수행하였는데 두 선충의 혼생지에서 시험이 수행되어 선충간 방제 효과의 차이 여부를 파악할 수 없었다.

선충의 종류에 따라 살선충제의 효과는 상이하게 나타날 수 있다(Back et al., 2018). 특히 *Heterodera*속 씨스트선충은 씨스트 내에서 보호를 받는 상태로 토양 속에서 월동 후 부화하는데 씨스트선충의 부화는 온도와 습도, 기주식물의 뿌리 분비물질 등 다양한 요인에 영향을 받으며 생존에 불리한 환경이 되면 토양 속에서 부화하지 않고, 씨스트 내에서 몇 년간 휴면상태로 있다가 적절한 환경이 되면 부화하여 다른 일반적인 식물기생성선충과 상이한 생활사를 가진다(Koenning and Sipes, 1998). 이러한 씨스트 보호막으로 인해 살선충제들의 살선충 효과가 일반적인 식물기생성선충과 상이하게 나타난다.

살선충 활성을 실내 생물검정 방법으로는 알에 대한 영향을 평가하기 위하여 알에서 부화가 억제되는 정도를 평가하거나 유충이나 성충에 대한 살선충 활성 검정을 위해 이들을 대상으로 약제 노출 시 치사 반응을 평가하는 방법들을 주로 이용한다(Kim et al., 2016; 2019).

현재 우리나라에서 씨스트선충에 대해 등록된 약제는 혼증제인 메탐소듐 액제와 다조멧 입제, 플루오피람 입제 뿐인데

(KCPA, 2020) 훈증제를 이용한 선충 방제는 처리 후 비닐 피복을 필요로 하는데 고랭지 배추 재배지의 경우 산지에 위치해 경사도가 높은 경우가 많아 훈증제 처리를 위한 비닐피복 작업이 매우 제한된다. 따라서 이들 지역에서는 적용 가능한 비훈증성 살선충제의 개발이 지속적으로 필요하다. 이러한 살선충제의 생물검정을 위해서는 실내 검정과 야외 포장 시험이 수행되는데 개발 초기 단계에서는 다양한 살선충 활성 물질의 선발이 필요하다. 본 연구에서는 현재 우리나라 고랭지 배추 재배지에 흔재하여 피해를 주고 있는 사탕무씨스트선충과 클로버씨스트선충에 대해 적용 가능성 높은 비훈증성 살선충제의 발굴을 위하여 살선충제로 활용되고 있는 물질들을 대상으로 동일 속의 두 종에 대한 살선충 활성 비교를 씨스트와 유충을 대상으로 검정하였다.

## 재료 및 방법

### 씨스트선충의 채취 및 분리

실험에 사용된 씨스트는 선행연구를 통해 확인된(Mwamula et al., 2018) 사탕무씨스트선충 감염지인 강원도 정선군 화암면 건천리 147-1(북위 37°33'31.13, 동경 128°84'64.76)과 클로버씨스트선충의 감염지인 강원도 태백시 창죽동 190(북위 37°23'41.59, 동경 128°94'84.04)의 배추 재배지에서 토양을 채취한 후 실내에서 분리하였다.

씨스트선충의 분리를 위해 채취한 토양에서 돌들을 제거한 후, 고루 섞은 다음 10 L 비커에 토양 300 cc를 넣고, 5 L의 물을 넣은 후 교반 시킨 뒤 20 mesh와 60 mesh 체를 사용해 60 mesh 체에 통과하지 못한 씨스트를 걸러내었다(Doney et al., 1970).

직경 150 mm 여과지(Filter paper #2, ADVEANTEC, Japan)를 직경 8 cm 유리 깔때기에 부착되도록 4등분으로 접어 삽입한 후, 60 mesh 체에 걸려있는 부유물을 여과지 위로 부어준 뒤 해부현미경(Nikon SM1000, Nikon, Japan) 하에서 건전한 씨스트만을 선택하여 실험에 사용하였다.

### 씨스트선충 부화유충 및 알 확보

씨스트선충 유충을 대상으로 한 살선충 효과의 검정을 위해서 분리된 씨스트로부터 유충을 부화시켜 사용하였다. 씨스트에서 유충을 부화시키기 위해 기주 식물인 배추의 뿌리 침출액을 사용하였다. 뿌리 침출액은 수확기의 배추를 뿌리째 뽑아 물로 씻어 흙을 제거한 후 대형 플라스틱 용기에 물 10 L를 붓고, 20개의 배추 뿌리가 물에 잠기도록 하여 24시간 동안 담가둔 다음 뿌리를 담가 두었던 물을 150 mm 여과지(Filter paper #2, ADVEANTEC, Japan)와 깔때기를 통해 부유물과 잔여물을 제거한 뒤 냉장고에 보관하면서 실험에 사용하였다.

부화유충은 Baermann의 깔때기법을 이용하여 분리하였으며 위에서 제조한 배추 뿌리 침출액을 사용하였다. 깔때기 설치 후, 김와이퍼(Wipers Medium 200's, KIMTECH SCIENCE, Korea) 2장을 깔고 배추 뿌리 침출액을 충분히 넣어준 다음 건전한 씨스트를 넣어주었다. 그 후 깔때기에 알루미늄 호일(Lotte Aluminum Co., Korea)을 씌워 빛이 들어가지 않게 하여 25°C의 식물생장상(HB 303 DH-0, Hanbaek, Korea)에서 부화시키며 부화한지 24시간 이내의 유충만을 실험에 사용하였다.

씨스트선충의 알은 위에서 분리한 건전한 씨스트를 Polytron PT 1300D sonicator (Kinematica AG, Switzerland)를 8,000 rpm으로 하여 분리하였으며 분리된 알은 물과 함께 있는 상태의 '알 현탁액'을 만들어 사용하였다.

### 클로버씨스트선충과 사탕무씨스트선충에 대한 약제 반응 비교

#### 실험물질

실험에 사용된 물질들은 기존에 식물기생선충에 대해 살선충 효과가 있다고 알려진 물질들을 사용하였다(Table 1). 시험 물질들은 시중의 농약 판매점에서 구입하여 사용하거나 농약 회사로부터 입수하여 사용하였다.

**Table 1.** List of nematicidal materials tested

Nematicide	Active ingredient (%)	Tested rate	Classes
<i>Burkholderia rinojensis</i>	94.46	500 ppm	Microorganism
Fluazaindoline SC	20	1000, 500 ppm	Organophosphate
Fluopyram SC	40	75 ppm	Organophosphate
Fosthiazate SL	30	75 ppm	Organophosphate
Hydrogen peroxide	5	250 ppm	Bleaching
Imicyafos SL	30	75 ppm	Organophosphate

## 부화억제효과 실험

부화억제 효과검정을 위해 15 ml 코니칼튜브(Conical tube, SPL, Korea)의 뚜껑부분을 이용하여 씨스트가 통과할 수 없는 미세한 망을 씌워 작은 체를 만들어 사용하였다(Fig. 1). 위의 과정으로 만든 작은 체 위에 각 10개의 씨스트를 넣은 후, 12 well multi-well plate (Multi-well plate, SPL, Korea)의 각 well에 삽입 하였다. 그 후 피펫(Finn pipette F1 100 ~ 10000 ul, Thermo, China)을 사용하여 배추 뿌리 침출액 1ml와 각 실험물질 1 ml를 넣어준 후, 빛이 들어가지 않게 가정용 알루미늄 호일(Lotte Aluminum Co., Korea)을 씌워 25°C 식물성장상(HB 303 DH-0, Hanbaek, Korea)에 보관하면서 24시간 간격으로 클로버씨스트선충은 20일 동안, 사탕무씨스트선충은 17일 동안 해부현미경(Nikon SM1000, Nikon) 하에서 부화한 유충의 수를 조사하였다. 매 조사 시 마다 체를 들어내어 새로운 well plate로 옮겨 침출액과 실험물질을 새것으로 갈아주었으며 기존의 well에 담겨있는 유충수도 조사하였다. 실험은 하나의 well을 한 반복으로 4반복으로 수행 하였다.

## 살선충효과 비교

Baermann의 깔때기법과 배추 뿌리 침출액을 이용해 부화시킨 씨스트선충의 유충을 250 ml 비이커에 담아 교반기(CORNING PC-420D, LABORATORY STIRRER, USA)에서 75 rpm으로 100마리/ml의 밀도가 되도록 만든 다음, 피펫(Finn pipette F1

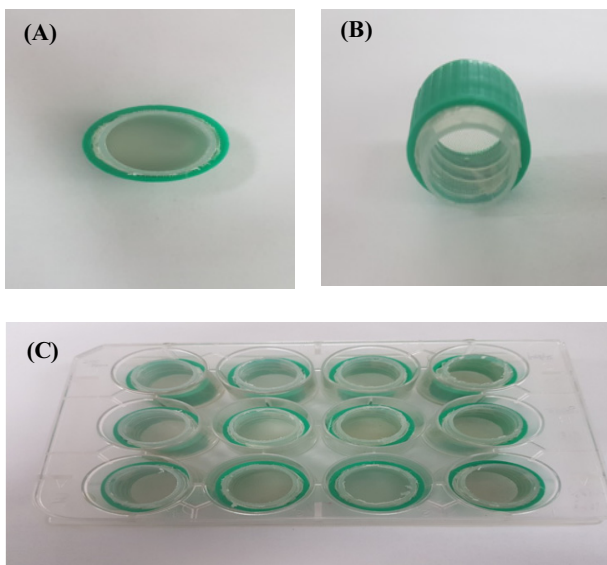


Fig. 1. Small sieve used in this experiment. (A) and (B), Small sieve. (C), Small sieve in a multi-well plate.

100 ~ 10000 ul, Thermo, China)을 사용하여 12 well multi-well plate (Multi-well plate, SPL, Korea)의 각 well에 1ml씩 넣어준 후, 각 실험물질을 1 ml씩 넣고 빛이 들어가지 않게 가정용 알루미늄 호일(Lotte Aluminum Co.)을 씌워 25°C 식물성장상(HB 303 DH-0, Han Baek, Korea)에 보관하고, 24시간 간격으로 2일간 해부현미경(Nikon SM1000, Nikon)을 통해 유충의 치사여부를 조사하였다. 유충의 치사여부는 유충의 몸체를 핀으로 자극하였을 때 아무런 반응이 없는 경우 죽은 것으로 간주 하였으며 실험은 4반복으로 수행 하였다.

## 통계분석

각 처리제의 부화억제 효과와 살선충 효과는 부화억제율과 보정사충율 등을 구하여 각각의 조사 항목들은 처리 평균간 차이를 Tukey's Studentized Range (HSD) Test 를 이용하여 분산 분석 하였으며 각 조사 항목별 두 선충간 효과 차이도 Tukey's Studentized Range (HSD) Test 를 이용하여 분산분석 하였다 (PROC ANOVA, SAS/STAT® 9.3 user's guide, 2011). 모든 자료는 평균±표준편차로 표기하였다.

## 결과 및 고찰

### 부화억제효과 실험

실험 물질에 따른 부화율 비교 결과 총 누적 부화율은 처리 약제에 따라 차이를 보였다(사탕무씨스트선충;  $df = 6, 21, F = 3.46, P = 0.0155$ , 클로버씨스트선충;  $df = 6, 21, F = 46.21, P < 0.0001$ ) (Table 2).

Fluopyram SC, fosthiazate SL, imicyafos SL 처리에서는 두 선충 모두 99%의 매우 높은 부화억제 효과를 보였으며 fluzaindolizine SC의 경우 1000 ppm에서는 두 선충에 대해 높은 부화억제 효과를 보였지만 500 ppm에서는 효과가 없었다 (Table 2).

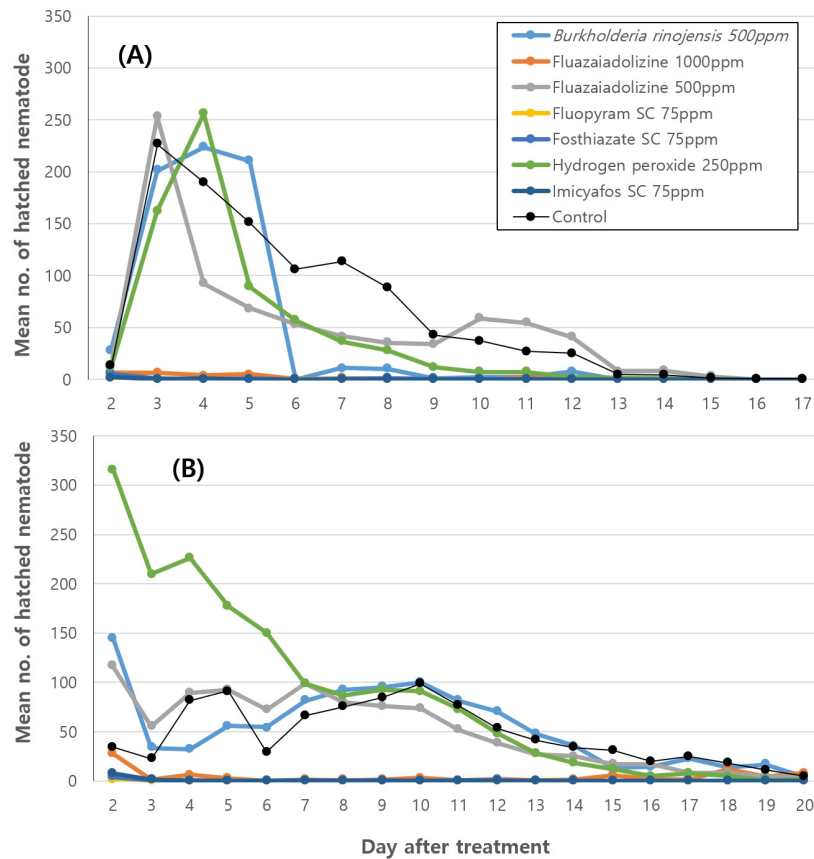
Hydrogen peroxide은 사탕무씨스트선충에 대해서는 효과가 없었으며 클로버씨스트선충에 대해서는 부화 촉진 효과를 보였다(Table 2).

두 선충간 부화율은 부화 초기인 처리 3 ~ 7일 후의 경우 사탕무씨스트선충의 부화 유충수가 클로버씨스트선충에 비해 통계적으로 유의하게 높게 나타났다(3일;  $df = 1, 6, F = 21.85, P = 0.0034$ , 7일;  $df = 1, 6, F = 10.02, P = 0.0194$ )(Fig. 2). 하지만 최종 누적 부화 수는 두 종간 차이를 보이지 않았다( $df = 1, 6, F = 0.32, P = 0.5943$ )(Table 3).

**Table 2.** Mean correlated hatching rate of *Heterodera schachtii* and *Heterodera trifolii* according to nematocide in multi-well plate

Treatment	Mean correlated hatching rate (%) ± standard deviation							
	3 days after treatment		7 days after treatment		14 days after treatment		20 days after treatment	
	<i>H. schachtii</i>	<i>H. trifolii</i>	<i>H. schachtii</i>	<i>H. trifolii</i>	<i>H. schachtii</i>	<i>H. trifolii</i>	<i>H. schachtii</i>	<i>H. trifolii</i>
<i>B. rinojensis</i> 1000 ppm	95.63 ± 62.64Aa	312.23 ± 357.84Ba	84.21 ± 53.20Aa	123.35 ± 98.76BCa	67.59 ± 42.61Aa	117.23 ± 56.05Ba	67.42 ± 42.51Aa	112.22 ± 47.99Ba
Fluazaiadolizine 1000 ppm	5.31 ± 3.25Ba	51.09 ± 48.23Ba	2.93 ± 1.33Aa	12.02 ± 12.37CDa	2.57 ± 0.87Aa	6.27 ± 4.90Ca	2.56 ± 0.87Ab	9.25 ± 4.28Ca
Fluazaiadolizine 500 ppm	111.15 ± 31.15Aa	300 ± 326.70Ba	65.20 ± 12.13Aa	160.80 ± 83.08Ba	73.84 ± 13.49Aa	113.58 ± 32.19Ba	73.95 ± 13.42Aa	106.25 ± 22.82Ba
Fluopyram 75 ppm	1.15 ± 1.29Ba	4.80 ± 3.60Ba	0.37 ± 0.39Aa	0.92 ± 0.75Da	0.32 ± 0.29Aa	0.38 ± 0.31Ca	0.31 ± 0.29Aa	0.33 ± 0.27Ca
Fosthiazate 75 ppm	2.60 ± 0.92Ba	8.73 ± 5.14Ba	0.91 ± 0.41Aa	1.84 ± 1.39Da	0.92 ± 0.36Aa	1.11 ± 0.92Ca	0.92 ± 0.36Aa	1.00 ± 0.85Ca
Hydrogen peroxide 50 ppm	72.5 ± 72.17ABb	919.65 ± 333.57Aa	76.46 ± 110.70Ab	361.03 ± 42.92Aa	64.99 ± 93.42Ab	204.91 ± 19.45Aa	64.86 ± 93.18Ab	183.45 ± 22.56Aa
Imicyafos 75 ppm	1.04 ± 0.54Ba	15.72 ± 12.84Ba	0.41 ± 0.28Aa	2.83 ± 2.39Da	0.32 ± 0.22Aa	1.17 ± 0.99Ca	0.31 ± 0.21Aa	1.03 ± 0.87Ca

\*Means followed by same uppercase letters within the column and same lowercase letters within the row in each nematode species are not significantly different (Tukey's Test,  $P < 0.05$ ).

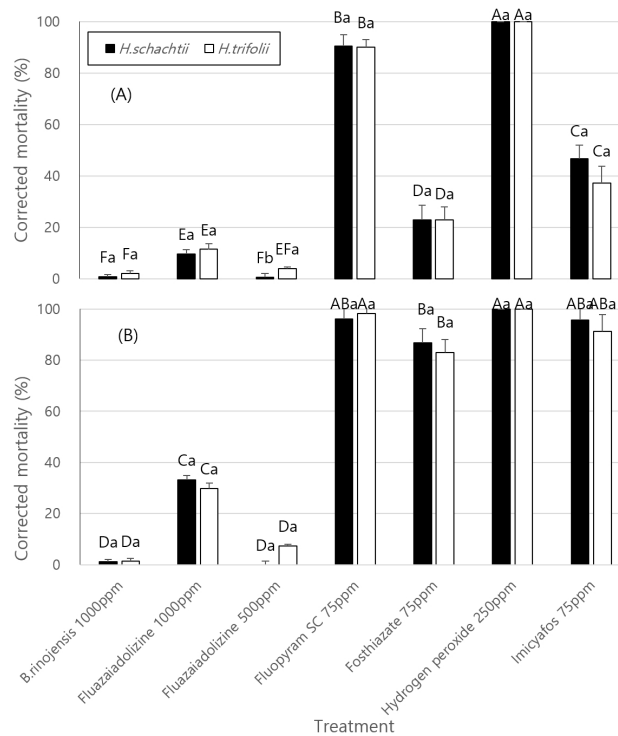


**Fig. 2.** Mean number of infective juveniles of (A) *Heterodera schachtii* and (B) *H. trifolii* recovered from cysts treated with different nematocides. Cysts were soaked in each nematocide along with Chinese cabbage root extract.

**Table 3.** Number of hatched nematodes according to immersion nematicide in multi-well plate

Treatment	Mean cumulated number of total hatched juveniles/10cysts ± standard deviation							
	3 DAT		7 DAT		14 DAT		20 DAT	
	<i>H. schachtii</i>	<i>H. trifolii</i>	<i>H. schachtii</i>	<i>H. trifolii</i>	<i>H. schachtii</i>	<i>H. trifolii</i>	<i>H. schachtii</i>	<i>H. trifolii</i>
<i>B.rinojensis</i> 1000 ppm	229.5 ± 150.34Aa	178.75 ± 204.9Ba	674.5 ± 426.1Aa	402.8 ± 322.5BCa	697 ± 439.43ABa	925.5 ± 442.54a	697 ± 439.43ABa	1010.3 ± 432.0Ba
Fluazaiadolizine 1000 ppm	12.75 ± 7.80Ba	29.25 ± 27.61Ba	23.5 ± 10.63Aa	39.25 ± 40.38CDa	26.5 ± 9.00Ba	49.5 ± 38.66Ca	26.5 ± 9Bb	83.25 ± 38.53Ca
Fluazaiadolizine 500 ppm	266.75 ± 74.75Aa	171.75 ± 187.0Ba	522.25 ± 97.2Aa	525 ± 271.26Ba	761.5 ± 139.1ABa	896.75 ± 254.2Ba	764.5 ± 138.76ABa	956.5 ± 205.4Ba
Fluopyram 75 ppm	2.75 ± 3.10Ba	2.75 ± 2.06Ba	3 ± 3.16Aa	3 ± 2.45Da	3.25 ± 2.99Ba	3 ± 2.45Ca	3.25 ± 2.99Ba	3 ± 2.45Ca
Fosthiazate 75 ppm	6.25 ± 2.22Ba	5 ± 2.94Ba	7.25 ± 3.30Aa	6 ± 4.55Da	9.5 ± 3.70Ba	8.75 ± 7.27Ca	9.5 ± 3.70Ba	9 ± 7.62Ca
Hydrogen peroxide 250 ppm	174 ± 173.21ABb	526.5 ± 190.97Aa	612.5 ± 886.7Aa	1178.8 ± 140.1Aa	670.3 ± 963.4ABa	1617.8 ± 153.6Aa	670.5 ± 963.3ABa	1651.5 ± 203.08Aa
Imicyafos 75 ppm	2.5 ± 1.29Ba	9 ± 7.35Ba	3.25 ± 2.22Aa	9.25 ± 7.80Da	3.25 ± 2.22Ba	9.25 ± 7.80Ca	3.25 ± 2.22Ba	9.25 ± 7.8Ca
Control (root extract)	240 ± 75.70Aa	57.25 ± 19.60Bb	801 ± 258.53Aa	326.5 ± 151.7BCDb	1031.3 ± 352.0Aa	789.5 ± 264.04Ba	1033.8 ± 353Aa	900.25 ± 317.67Ba

\*Means followed by same uppercase letters within the column and same lowercase letters within the row in each nematode species are not significantly different (Tukey's Test,  $P < 0.05$ ).



**Fig. 3.** Mean corrected mortality of *Heterodera schachtii* and *Heterodera trifolii* (A) 24 h and (B) 48 h after treatment with different nematicides. Bars ( $\pm$  SD) with the same uppercase letters within a treatment are not significantly different (Tukey's test,  $P < 0.05$ ) and bars ( $\pm$  SD) with the same lowercase letters between the same treatment are not significantly different (Tukey's test,  $P < 0.05$ ). (A) *H. schachtii* ( $df = 6, 21, F = 559, P < 0.0001$ ), *H. trifolii* ( $df = 6, 21, F = 553.42, P < 0.0001$ ). (B) *H. schachtii* ( $df = 6, 21, F = 447.03, P < 0.001$ ), *H. trifolii* ( $df = 6, 21, F = 517.49, P < 0.0001$ ).

## 살선충효과 비교

살선충효과 검정 결과 처리 24시간 후 fluopyram SC는 사탕무씨스트선충과 클로버씨스트선충에 대해 각각 90.5%, 90.1%로 높은 살선충 효과를 보였고, hydrogen peroxide는 두 종 모두에 대해 100%의 살선충 효과를 보였다(Fig. 3A).

처리 48시간 후 fosthiazate SL와 imicyafos SL도 fluopyram SC와 비슷한 수준의 살선충 효과를 보였다. Fosthiazate SL는 사탕무씨스트선충과 클로버씨스트선충에 대해 86.7%, 83%의 살선충 효과를 보였고, imicyafos SL는 95.6%와 91.3%의 살선충 효과를 보였다(Fig. 3B).

부화억제효과 실험에서 높은 부화억제효과를 보였던 fluazaindolizine SC 1000 ppm은 두 종 모두에 대하여 30%미만의 낮은 살선충 효과를 보였다(Fig. 3). 또한, 처리 24시간 후와 48시간 후 사탕무씨스트선충과 클로버씨스트선충의 모든 실험물질에 대한 반응은 중간 차이를 보이지 않았다(Fig. 3).

*Heterodera*속 씨스트선충에 감염된 강원도 배추 재배지가 2013년에 39.6 ha, 2014년에 57.2 ha, 2015년에 77.0 ha, 2016년에 101.8 ha, 2017년에 133.1 ha로 감염 포장이 급격히 증가하고 있으며 이에 따라 강원지역 고랭지 배추 재배농가의 피해가 커지고 있다(Kweon et al., 2018).

현재 고랭지 지역에 큰 문제가 되는 클로버씨스트선충과 사탕무씨스트선충을 방제하기 위한 방법으로는 화이트머스타드(*Sinapis alba*) 등의 녹비작물을 이용해 밀도를 감소시키는 방법(Lee and Ko, 2017)과 윤작, 휴경 등의 재배적 방법이 있지만 녹비작물의 경우 농민들이 요구하는 충분한 방제 효과를 얻지 못하며, 재배적인 방법에 의한 관리는 고랭지 지역의 기후적 특성으로 인해 경작가능 기간이 짧아 재배할 수 있는 작물의 제한성과 작기가 짧아 적용이 어렵다(Kim et al., 2016; Lee et al., 2018).

씨스트선충에 대한 감수성이 높은 배추를 대체하여 강원도 고랭지 지역에서 재배하기 적합한 작물을 찾기 위해 씨스트선충의 기주범위를 검정한 연구도 있지만(Kim et al., 2016), 고랭지 지역이 여름배추 재배지의 87.9%를 차지하고 있는 점을 고려하면 배추 재배를 포기하기는 어려운 현실이기 때문에 화학적인 방제법이 요구되는 상황이다. 또한, 비닐피복 없이 강원도 고랭지 배추 재배지에서 발생하는 씨스트선충을 효과적으로 방제하기 위한 약제를 탐색하고, 같은 속에 속하는 두 종의 씨스트선충 간 약제 반응성의 차이를 검정하기 위해서 살선충 효과가 있다고 알려진 fluazaindolizine, hydrogen peroxide, *Burkholderia rinojensis*와 기존에 뿌리혹선충의 방제제로 등록되어 사용되고 있는 fluopyram, fosthiazate, imicyafos를 사용하여 사탕무

씨스트선충과 클로버씨스트선충에 대한 살선충 효과와 부화억제효과를 비교 검정하였다.

Fluazaindolizine은 식물기생선충에 대하여 살선충 효과가 있다는 연구결과가 있으며(Lahm et al., 2017), hydrogen peroxide는 토양 선충에 대하여 살선충 효과를 보인다는 연구결과가 있다(Jansen et al., 2002; Ramadan, 2008). 또한, *Burkholderia rinojensis*는 천연 미생물 방제제로 토양에 처리 시 살선충 효과를 기대할 수 있다(Asolkar et al., 2011).

Fluopyram은 입제로, fosthiazate와 imicyafos는 입제와 액제의 제형으로 국내 뿌리혹선충에 대한 살선충제로 등록되어 있다(KCPA, 2020).

두 종의 씨스트선충의 부화율을 검정한 결과 부화 초기인 3~7일에 사탕무씨스트선충의 부화가 클로버씨스트선충에 비해 높게 나타났지만 최종 누적 부화수는 유사하였다. 이 결과를 미루어 보아 사탕무씨스트선충이 클로버씨스트선충에 비해 조금 더 빠르게 부화하지만 두 종의 씨스트 내 알 수와 최종 부화율은 차이가 없다는 것을 알 수 있었으며, 일별 부화 유충수를 통해 두 선충 종의 부화양상을 확인 할 수 있었다. Steele et al. (1982)는 사탕무 뿌리 삼출액과 염화아연( $ZnCl_2$ ) 처리에서 사탕무씨스트선충이 클로버씨스트선충에 비해 부화속도가 빠르고, 부화 수도 많은 것으로 보고하였는데 본 실험결과 14일차 조사 시까지는 선행연구와 비슷한 경향을 보였으나 이후에는 부화율에 있어 두 종간에 차이를 보여 차이를 보였다. 한편 Steele et al. (1982)은 동일 연구의 다른 실험에서 기주식물의 종류에 따라 다른 부화 반응을 보이고 있어 본 실험의 결과도 선행연구와 다른 기주식물을 사용함으로써 생긴 차이로 생각된다. 아울러 두 선충의 계통에 의한 차이도 있을 것으로 생각된다.

두 종의 씨스트선충에 대한 6가지 실험 물질의 부화 억제 효과를 검정한 결과 fluopyram SC, fosthiazate SL, imicyafos SL은 사탕무씨스트선충과 클로버씨스트선충 모두에 대하여 99%의 부화 억제 효과를 나타냈고, fluazaindolizine SC의 경우 1000 ppm 농도에서 두 선충에 대해 90%이상의 높은 부화 억제 효과를 보여 위의 4개 물질은 씨스트선충의 방제제로 사용할 수 있는 가능성을 보였다.

Hydrogen peroxide는 사탕무씨스트선충에 대해서는 부화 억제 효과가 없었으나 클로버씨스트선충에 대해서는 오히려 부화 촉진 효과를 보였는데 아연과 같은 물질들이 씨스트선충의 부화 촉진을 시키는 것으로 알려져 있는데(Clarke and Shepherd, 1966) hydrogen peroxide가 이러한 역할을 하는지에 대해서는 추가적인 조사가 필요할 것으로 생각된다.

사탕무씨스트선충과 클로버씨스트선충에 대하여 6가지 실험

물질의 살선충 효과를 검정한 결과 처리 24시간 후에 fluopyram SC와 hydrogen peroxide는 두 종의 씨스트선충에 대해 90 ~ 100%의 높은 살선충 효과를 보였고, 처리 48시간 후에는 fosthiazate SL와 imicyafos SL도 90 ~ 96%의 높은 살선충 효과를 보였다. Fluopyram SC, fosthiazate SL, hydrogen peroxide, imicyafos SL은 두 종의 씨스트선충에 대해서 높은 부화억제효과와 살선충 효과를 보여 강원도 고랭지 배추 재배지에서 비닐 피복 없이 효과적으로 씨스트선충을 방제할 수 있는 새로운 방제제로서의 가능성을 보였다. 반면, 부화 억제효과 실험에서 높은 부화억제 효과를 보였던 fluazaindolizine SC 1000 ppm은 두 종 모두에 대하여 30%미만의 낮은 살선충 효과를 보여 직접 살선충 효과보다는 부화억제를 통한 차세대 밀도 억제 효과가 높을 것으로 생각된다. 따라서 토양 내에서 선충 밀도 증식 효과가 있는지에 대한 추가 조사가 필요할 것으로 생각된다.

살선충 효과 검정에 사용된 6가지 실험물질은 처리 24시간 후와 48시간 후 사탕무씨스트선충과 클로버씨스트선충에 대하여 두 종간 약제 반응성의 차이를 보이지 않았다. 이를 볼 때 살선충 효과 실험에 있어 한 종의 선충에 대한 결과를 같은 속에 속하는 다른 종 선충에 적용할 수 있을 것으로 판단된다.

본 연구는 높은 경사도로 인해 비닐피복이 제한되는 강원도 고랭지 배추 재배지에서 발생하는 씨스트선충에 효과적으로 방제하기 위한 약제를 탐색하고, 같은 속에 속하는 두 종 선충간 약제 반응성의 차이를 검증하기 위해 수행하였는데 씨스트 선충의 부화억제와 유충에 대해 방제 가능성을 가진 4가지 약제를 선발하였다. 또한, 살선충 실험에 있어 동일 속의 여러 종 선충에 대해 같은 효과를 보이는 것을 확인하였다. 이는 채집 및 확보가 어려운 선충을 동일 속의 타 선충을 이용해 살선충 실험을 진행할 수 있도록 하여, 추후 씨스트선충 뿐만 아니라 타 선충들에 대한 실험에 대해서도 기초자료로 활용할 수 있을 것으로 판단된다.

## 사 사

본 연구는 농촌진흥청 연구사업 “기후변화에 따른 고랭지 배추 사탕무씨스트선충 확산방지 기술개발(과제번호: PJ010774)”의 지원에 의해 수행되었음. 야외 씨스트선충 채집, 분리 및 약제 반응 실험 등에 도움을 준 김현국, 안현정, 차운석, 나희민, Mwamula Abraham Okki, Md. Faisal Kabir에 감사를 포함합니다.

## 저자 직책 & 역할

정문기 : 경북대 및 농협케미컬, 석사; 실험수행, 자료분석,

## 원고작성

이동운 : 경북대, 교수; 실험설계, 자료분석, 원고작성

모든 저자는 원고를 읽고, 투고에 동의하였음.

## Literature Cited

- Asolkar, R.N., Koivunen, M.E., Cordova-Kreylos, A.L., Huang, H., Chanbusarakum, L., Marrone, P.G., 2011. New pesticidal compounds from *Burkholderia* sp. Abstr. 242<sup>nd</sup> ACS Nat. Meet. Expo., Denver, CO, 28 August-1 September 2011.
- Back, M.A., Cortada, L., Grove, I.G., Taylor, V., 2018. Field management and control strategies, in: Perry, R.N., Moens, M., Jones, J.T. (Eds.), Cyst nematodes. CABI, Oxfordshire, pp. 305-336.
- Clarke, A.J., Shepherd, A.M., 1966. Inorganic ions and the hatching of *Heterodera* spp. Ann. Appl. Biol. 58, 497-508.
- Davies, K.G., Mohan, S., hallmann, J., 2018. Biological control of cyst nematodes through microbial pathogens, endophytes and antagonists. in: Perry, R.N., Moens, M., Jones, J.T. (Eds.), Cyst nematodes. CABI, Oxfordshire, pp. 305-336.
- Doney, D.L., Fife, J.M., Whiney, E.D., 1970. The effect of the sugarbeet nematode *Heterodera schachtii* on the free amino acids in resistant and susceptible *Beta* species. Phytopathology 60, 1727-1729.
- Evans, K., Rowe, J.A., 1998. Distribution and economic importance, in: Sharma, S.B. (Ed.), The cyst nematodes. Kluwer Academic Publishers, Boston, pp. 1-30.
- Hallmann, J., Meressa, B.H., 2018. Nematode parasites of vegetables, in: Sikora, R.A., Coyne, D., Hallmann, J., Timper, P. (Eds.), Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. CABI, Oxfordshire, pp. 346-410
- Jansen, W.T.M., Bolm, M., Balling, R., Chhatwal, G.S., Schnabel, R., 2002. Hydrogen peroxide-mediated killing of *Caenorhabditis elegans* by *Streptococcus pyogenes*. Infect. Immun. 70, 5202-5207.
- Jones, J.T., Haegeman, A., Danchin, E.G.J., Gaur, H.S., Helder, J., Jones, M.G.K., Kikuchi, T., Manzanilla-López, R., Palomares-Rius, J.E., Wesemael, W.M.L., Perry, R.N., 2013. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. Mol. Plant Pathol. 14, 946-961.
- Kim, D.H., Cho, M.R., Yang, C.Y., Kim, H.H., Kang, T.J., Yun, J.B., 2016. Host range screening of the sugar beet nematode, *Heterodera schachtii* Schmidt. Korean J. Appl. Entomol. 55, 389-403.
- Kim, J., Jeong, M.G., Kim, Y., Kabir, M., F., Okki, M.A., Ahn, H., Kim, H., Lee, J., Kwon, S., Lee, D.W., 2017. Efficacy of imicyafos SL against cyst nematode, *Heterodera* spp., depending on time and periodic number of applications in Chinese cabbage. Korean J. Pestic. Sci. 21, 503-509.
- Kim, J.E., Choi, Y., Lee, D.W., 2019. Control efficacy of *Eclipta prostrata* extract against cyst nematode, *Heterodera* spp.. Korean J.



- Pestic. Sci., 23, 26-32.
- Kim, J.E., Mwamula, A.O., Kabir, F., Shin, J.H., Choi, Y.H., Lee, J.K., Lee, D.W., 2016. Efficacy of different nematicidal compounds on hatching and mortality of *Heterodera schachtii* infective juveniles. Korean J. Pestic. Sci., 20, 293-299.
- Kim, Y.J., Lee, D.W., 2019. Plant parasitic nematode fauna of *Heterodera glycines* and *H. sojae*, and soil characteristics of soybean fields in gangwon-do and Chungcheongbuk-do. Korean J. Appl. Entomol. 58, 37-47.
- Koenning, S.R., Sipes, B.S. 1998. Biology, in: Sharma, S.B. (Ed.), The cyst nematodes. Kluwer Academic Publishers, Boston, pp.158-190.
- Korea Crop Protection Association (KCPA), 2020. Crop protection agent guidelines. Korea Crop Protection Association, Seoul. <https://www.koreacpa.org> (accessed on 9 Aug. 2020).
- Kwon, S.B., Park, D.K., Won, H.S., Moon, Y.G., Lee, J.H., Kim, Y.B., Choi, B.G., Seo, H.T., Ko, H.R., Lee, J.K., Lee, D.W., 2018. Spread of cyst nematodes in highland Chinese cabbage field in Gangwon-do. Korean J. Appl. Entomol. 57, 339-345.
- Lahm, G.P., Desaegeer, J., Smith, B.K., Pahutski, T.F., Rivera, M.A., Meloro, T., Kucharczyk, R., Lett, R.M., Daly, A., Smith, B.T., Cordova, D., Thoden, T., Wiles, J.A., 2017. The discovery of fluazaindolizine: a new product for the control of plant parasitic nematodes. Bioorg. Med. Chem. Lett. 27, 1572-1575.
- Lee, J.K., Ko, H.R., 2017. Damage diagnosis and control of sugar beet cyst nematode. Munhyeongdang Co. Jeonju, Korea.
- Lee, J.K., Ko, H.R., Lee, D.W., 2018. Efficacy of some nematicides against clover cyst nematode, *Heterodera trifolii* in Chinese cabbage field of highland area. Korean J. Pestic. Sci. 22, 69-77.
- Moens, M., Perry, R.N., Jones, J.T., 2018. Cyst nematodes-life cycle and economic importance, in: Perry, R.N., Moens, M., Jones, J.T. (Eds.), Cyst nematodes. CABI, Oxfordshire, pp. 1-26.
- Mwamula, A.O., Kim, Y., Kim, Y.H., Lee, J.K., Ko, H.R., Lee, D.W., 2018. Morphological and molecular characterization of *Heterodera schachtii* and the newly recorded cyst nematode, *H. trifolii* associated with Chinese cabbage in Korea. Plant Pathol. J. 34, 297-307.
- Pickup, J., Roberts, A.M.I., den Nijs, L.J.M.F., 2018. Quarantine, distribution patterns and sampling, in: Perry, R.N., Moens, M., Jones, J.T. (Eds.), Cyst nematodes. CABI, Oxfordshire, pp. 128-153.
- Ramadan, K.M., 2008. Interaction of root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) and tomato as affected by hydrogen peroxide. J. Plant Protec. Res. 48, 181-187.
- Riggs, R.D., Schuster, R.P., 1998. Extraction, culturing and microscopy, in: Sharma, S.B. (Ed.), The cyst nematodes. Kluwer Academic Publishers, Boston, pp. 388-416.
- SAS/STAT® 9.3 user's guide, 2011. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Steele, A.E., Toxopeus, H., Heijbroek, W., 1982. A comparison of the hatching of juveniles from cyst of *Heterodera schachtii* and *H. trifolii*. J. Nematol. 14, 588-592.