

계면활성제가 살균제 Dimethomorph의 오이 엽면 침투성과 오이 노균병 방제 효과에 미치는 영향

유주현* · 최경자 · 임희경 · 김정환¹ · 조광연

한국화학연구원 농약스크리닝팀, 서울대학교 농생명공학부

(2001년 1월 18일 접수, 2001년 2월 23일 수리)

살균제 dimethomorph의 오이 엽면 침투율이 오이 노균병에 대한 방제 효과에 미치는 영향을 구명하고 dimethomorph의 약효를 증진시키기 위하여, Congo red를 추적물질로 사용한 엽면 침투율 측정법으로 6종의 비이온성 계면활성제에 의해 유도되는 dimethomorph의 오이 엽면 침투율을 측정하고, 증진된 dimethomorph의 엽면 침투율에 따른 오이 노균병에 대한 방제 효과를 검증하였다. 아세톤 수용액(20%)에 녹인 dimethomorph 수화제는 250 µg/ml의 농도에서 오이 잎에 거의 침투되지 않았으며, 오이 노균병에 대한 치료 효과도 거의 없거나 미약하였다. 반면에 dimethomorph 수화제 현탁액에 아세톤 20%와 비이온성 계면활성제를 1,000 µg/ml 첨가하였을 때 최고 59.7%의 엽면 침투율을 나타내었으며, 오이 노균병에 대한 치료 효과도 침투율에 비례하여 증진되었다. 비이온성 계면활성제중 polyoxyethylene cetyl ether를 함유하는 시험용 dimethomorph 분산성 액체는 계면활성제 함량이 증가할수록 dimethomorph의 오이 엽면 침투율과 오이 노균병 치료 효과가 증진되었으나, 예방 효과는 점차 감소하는 경향을 보였다. 또한 dimethomorph와 polyoxyethylene cetyl ether가 1:2(w/w)의 비율로 함유되어 있어도 희석 배율이 증가할수록 엽면 침투율은 감소하였다. 따라서 dimethomorph 분산성 액체 중에 침투성 증진 효과가 큰 비이온성 계면활성제를 첨가하고, 그 비율을 적절하게 조절할 경우 오이 노균병에 대한 예방 효과를 유지하면서 치료 효과를 크게 증진시킬 수 있을 것이다.

Key words : dimethomorph, 오이, 엽면 침투율, Congo red, 계면활성제, 노균병

서 론

Dimethomorph{(E,Z)-4-[3-(4-chlorophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)acryloyl]morpholine}는 두 개의 이성질체로 구성되어 있는 살균제로, 근부로부터 흡수 이행되며, 엽면에서의 잔류 기간이 길어서 오이와 포도의 노균병, 고추, 감자 및 토마토의 역병에 대한 방제 효과가 우수한 것으로 알려져 있다. 그러나 이 살균제는 경엽에 대한 침투 이행성이 작아서 주로 보호용 살균제로 사용되고 있다.¹⁾

식물병에 대한 치료 효과는 주로 농약이 식물체 내로 침투 이행됨으로써 발생되며, 살포액의 조제시 계면활성제 등의 침투성 증진제를 가용할 경우 많은 농약의 식물 엽면 침투성이 증대되는 것으로 알려져 있다. Grayson 등의 연구^{1,4)}에 따르면 Genapol C series(polyoxyethylene lauryl ether) 등의 계면활성제를 dimethomorph 제제와 혼합 처리하였을 때 포도 노균병에 대한 치료 효과가 크게 향상되었으며, 유효성분과 침투성 증진제의 비율은 1:6 내지 1:9가 적당하였다. 또한 C₁₂/C₁₄ alcohol ethoxylate는 dimethomorph의 감자 역병에 대한 치료 효과도 크게 향상시킬 수 있었다고 하였다. 그러나 Dehne 등⁵⁾은 이러한 계면활성제가 dimethomorph의 병 방제 효과를 향상 증진시키지는 못할 뿐만 아니라 종종 약해를 유발한다고 하였으며, 보다 안정적으로 병 방제 효과를 증진시킬 수 있는 약효

증진제로써 리놀레인산 등의 지방산 혹은 지방산 에스테르를 제시하기도 하였다.

이러한 연구에서는 엽면 침투성 증진제의 선발에 식물병에 대한 치료 효과를 측정하는 생물 검정법을 적용함으로써 농약의 식물체내 침투성을 간접적으로 예측하였으나, 침투성 증진제에 의한 dimethomorph의 포도 엽면 침투율을 직접 측정하지는 않았으므로 포도 노균병에 대한 치료 효과와 엽면 침투율과의 상관관계에 관한 직접적인 실험적 증거는 없었다.

농약의 엽면 침투율과 엽면 침투를 촉진하는 침투성 증진제의 종류는 식물에 따라 다르다는 사실은 널리 알려져 있다.^{6,10)} 국내에서 dimethomorph는 포도 노균병보다 오이 노균병의 방제에 더 널리 사용되고 있지만, dimethomorph의 오이 잎에 대한 침투성과 방제 효과에 미치는 영향에 관해서는 아직 알려진 바가 없다.

농약의 식물체내 침투성 측정에는 일반적으로 동위원소로 표지된 농약이 사용되고 있지만,¹¹⁻¹⁵⁾ 본 연구자들은 추적물질로 수용성 색소인 Congo red를 농약과 혼합하여 처리하고, 잎 표면에 부착되어 있는 Congo red와 농약을 수용성 용매 수용액으로 세척, 정량함으로써 농약의 식물 엽면 침투율을 정밀하게 측정할 수 있는 방법을 개발한 바 있다.^{16,17)} Congo red는 농약의 엽면 침투성을 증진시키는 것으로 알려져 있는 여러 가지 비이온성 및 음이온성 계면활성제의 존재 하에서도 식물 잎에 거의 흡수되지 않으며, 암상태의 상온에서 휘발되거나 분해되지 않을 뿐만 아니라 20%(v/v) 이상의 아세토니트릴 수용액으로 세척하였을 때 전량 회수될 수 있다. 따라서 농약 용액에

*연락처자

Phone : 82-42-860-7438; Fax : 82-42-861-4913

E-mail : jhyu@kriict.re.kr

추적물질로써 Congo red를 혼합하고 식물 잎에 처리한 후 처리 직후와 일정 시간 후에 잎을 세척하고 세척액 중 농약과 Congo red의 함량비를 산출 비교함으로써 엽면적과 관계없이 농약의 엽면 침투율을 측정할 수 있다. 이 Congo red 방법은 살아있는 식물에 농약용액을 분무 처리하므로 보다 실용적인 연구 결과를 얻을 수 있을 뿐만 아니라, 비교적 단시간에 적은 비용으로 많은 연구를 수행할 수 있으므로 엽면 침투성을 증진하여 약효를 증대시킬 수 있는 침투성 증진제의 선발에 특히 유리하다.^{16,17)}

따라서 본 연구에서는 Congo red를 추적물질로 사용한 엽면 침투율 측정법으로 6종의 비이온성 계면활성제에 의해 유도되는 dimethomorph의 오이 엽면 침투율을 측정하고, 계면활성제에 의해 증진된 dimethomorph의 오이 엽면 침투율이 오이 노균병의 치료 효과에 미치는 영향을 조사하였다. Dimethomorph의 오이 엽면 침투율을 현저하게 증진하면서 오이 노균병에 대한 치료 효과를 강화시키는 계면활성제를 선별하여 제제화하고, 제제 중의 계면활성제 첨가비가 오이 노균병의 방제 효과에 미치는 영향을 조사하여 침투성 증진용 계면활성제에 의해 약효가 증진된 dimethomorph 제제와 그의 이용 방법에 관한 실용적인 자료를 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

농약 및 계면활성제. Dimethomorph 수화제[상표명: 포름, 유효성분함량 25%, (주)동방아그로 제품]는 시판 제품을 구입하여 사용하였으며, dimethomorph 원제(순도 98.5%)는 한국바스프 아그로(주)로부터 분양받았다. Congo red(97%)는 Aldrich Chemical Company(USA)로부터 구입하였다. 침투성 증진용 비이온성 계면활성제는 모두 지방족 알콜 혹은 지방산을 친유기로 가지면서 친수기 polyoxyethylene이 평균 ethylene oxide(EO) 중합도를 중심으로 보다 크거나 작은 물수의 ethylene oxide 중합물로 이루어진 polydisperse surfactant이며, LE-5(polyoxyethylene lauryl ether, EO 5몰), CE-7(polyoxyethylene cetyl ether, EO 7몰), CE-12(polyoxyethylene ether, EO 12몰), SE-10(polyoxyethylene stearyl ether, EO 10몰), SA-9(polyoxyethylene stearate, EO 9몰), 및 OE-6(polyoxyethylene oleyl ether, EO 6몰)를 한농화성으로부터 분양 받았다. Dimethomorph 원제를 N-methyl-2-pyrrolidone에 용해시키고, 엽면 침투성 증진용 계면활성제 CE-12를 첨가하여 CE-12 함량이 각각 8.3%, 16.7% 및 25.0%인 시험용 dimethomorph 분산성 액제(유효성분 8.3%)를 제제한 다음 실험에 사용하였다.

오이 재배. 오이 종자[백미 백다다기, 동부한농종묘(주) 제품]를 부농상토 5호(부농산업사 제품)에 파종하여 1엽기까지 재배하였다. 유묘를 부농상토 5호가 담겨 있는 1회용 수지컵(내경 66 mm, 높이 66 mm)에 옮겨 심고, 4 내지 5엽기까지 온실 조건에서 수돗물을 분무 관수하여 재배하였다. 오이는 컵에 심겨진 그대로 실험에 사용하였으며, 농약의 오이 엽면 침투율 측정과 오이 노균병 방제 효과 측정에는 성숙한 오이 잎의 모양을 가장 먼저 나타내는 제 2엽을 사용하였다.

Dimethomorph의 엽면 침투율 측정을 위한 분무용 농약액의 조제. 계면활성제 6종과 Congo red를 증류수에 용해시켜서 각각 5,000 µg/ml, 500 µg/ml 수용액을 조제하였다. Dimethomorph 원제의 대용품으로 dimethomorph 수화제를 물에 현탁시켜서 625 µg/ml(유효성분 기준)의 현탁액을 조제하였다. 현탁액 중의 dimethomorph를 모두 용해시키기 위해서 아세톤을 첨가하고 계면활성제와 Congo red 수용액을 혼합하여 dimethomorph 250 µg/ml, 계면활성제 1,000 µg/ml, Congo red 50 µg/ml 및 아세톤 20%(v/v)를 함유하는 시료 용액을 조제하였다.

CE-12를 각각 8.3%, 16.7% 및 25.0% 함유하는 시험용 dimethomorph 분산성 액제(유효성분 8.3%)를 물에 희석하고 Congo red 수용액을 첨가하여 Congo red 50 µg/ml, dimethomorph 250 µg/ml, CE-12를 각각 250, 500 및 750 µg/ml 함유하는 분무용 용액을 조제하였다.

또한 dimethomorph 원제를 아세톤에 녹이고 CE-12, Congo red 및 물을 첨가하여 dimethomorph 250 µg/ml, CE-12 500 µg/ml, Congo red 50 µg/ml 및 아세톤 20%를 함유하는 수용액을 조제하여 원액으로 하였다. 이 원액의 일부를 취하여 다시 20% 아세톤 수용액으로 희석하여 희석 배율이 1, 2, 4 및 8배인 시료 용액을 조제하였다.

Dimethomorph의 오이 엽면 침투율 측정. Dimethomorph의 오이 엽면 침투율 측정에는 Congo red 방법¹⁶⁾을 사용하였다. 오이 8주를 spray booth(Model SB-6, 8001VS 수압노즐, R & D Sprayers Inc., USA)에 넣고 상기의 농약 용액을 오이 제 2엽에 100 l/ha의 수준으로 분무하였다. 분무 직후 오이 4주의 잎을 각각 취하여 시험관(내경 32 mm, 길이 200 mm)에 넣고 아세토니트릴 수용액(30%, v/v) 12 ml를 가한 후 마개를 막고 60회/분의 속도로 2분간 도립 진탕하였다. 나머지 오이 4주는 온도 20~25°C, 상대습도 60~90%로 조절된 암소에 보관하면서 24시간 내지 67시간 후에 동일한 방법으로 세척한 후 분석용 시료로 사용하였다.

잎 세척액을 HPLC[검출기: Waters(USA) Model 2487 Dual λ Absorbance Detector, 주입기: Waters 717_{plus} Autosampler, 펌프: Waters 510, 검출과장: Congo red 497 nm, dimethomorph 243 nm, 컬럼: Nova-Pak[®] C₁₈, 3.9×300 mm, 이동상: 물/아세토니트릴 = 62/38(v/v), 유속: 1.5 ml/min., 시료 주입량: 20 µl, 용출시간: Congo red 1.3분, dimethomorph 8.9분 및 10.2분]로 분석하여 Congo red와 dimethomorph peak의 면적을 조사한 다음 식 (1)에 의해 침투율을 산출하였다.

$$\text{Dimethomorph의 엽면 침투율(\%)} = 1 - [(A_{pp}^t/A_{pc}^t)/(A_{pp}^0/A_{pc}^0)] \times 100 \quad (1)$$

'A_{pp}^t': t시간 후 오이 잎 세척액 중 dimethomorph의 peak 면적

'A_{pc}^t': t시간 후 오이 잎 세척액 중 Congo red의 peak 면적

'A_{pp}⁰': 분무 직후 오이 잎 세척액 중 dimethomorph의 peak 면적

'A_{pc}⁰': 분무 직후 오이 잎 세척액 중 Congo red의 peak 면적

오이 노균병 방제 효과 측정용 약제 용액의 조제 및 살포. 계면활성제에 의한 오이 노균병 치료 효과를 조사하기 위해서 계면활성제를 증류수로 희석하여 1,000 µg/ml 수용액을 조제하였다.

Dimethomorph 수화제를 증류수로 희석하고 아세톤과 6종의 비이온성 계면활성제 수용액을 첨가하여 dimethomorph 250 µg/ml, 계면활성제 1,000 µg/ml 및 아세톤 20%인 용액을 각각 조제하였다. 이 용액을 아세톤 수용액(20%)으로 희석하여 dimethomorph 농도가 각각 83.3, 27.8 및 9.3 µg/ml인 분무 용액을 조제하였다. 대조 약제용액은 수화제만을 20% 아세톤 수용액으로 희석하여 조제하였다.

CE-12 함량이 서로 다른 시험용 dimethomorph 분산성 액제(유효성분 8.3%)를 증류수로 희석하여 유효성분 함량이 각각 125, 83 및 62.5 µg/ml인 수용액을 조제하였다.

오이 노균병 치료 효과 측정용 계면활성제 수용액은 손분무기를 이용하여 이미 오이 노균병 포자가 접종된 3엽기의 오이 제 2엽에 흘려내릴 정도로 살포하였다. Dimethomorph를 함유하는 약액은 spray booth를 이용하여 3엽기 오이의 제 2엽에 250 l/ha 수준으로 살포하였다.

오이 노균병 치료 효과 및 예방 효과의 측정. 노균병(*Pseudoperonospora cubensis*)이 발생한 오이 하우스에서 병든 잎을 채취하고 24시간 동안 암상태의 습실상(상대습도 100%)에 보관하여 포자를 형성시킨 후 살균 증류수로 포자를 수확하였다. 포자 현탁액을 만든 후 광학현미경 하에서 hemacytometer를 사용하여 포자 농도를 $3\sim4 \times 10^4$ zoospores/ml로 조정하였다. 유리 하우스에서 재배한 3엽기 오이를 온실에 설치한 습실상(상대습도 95~100%)에 넣고 제 2엽에 포자 현탁액을 분무 접종한 다음 밀폐하였다. 습실상에 17시간 내지 20시간 보관한 오이는 상온에 2시간 내지 3시간 두어 잎 표면의 수분을 건조시켰다. 이 오이의 제 2엽에 계면활성제 수용액 혹은 약액을 살포하고 평균 온도 26°C, 평균 상대습도 80%인 항온 항습실에 24시간 동안 두었다가 온실로 옮겨서 재배하였다. 병 접종 6일 후에 제 2엽의 병반 면적을 달관 조사하고 식(2)에 의해 dimethomorph의 오이 노균병 치료 효과를 산출하였다. 각 처리구에는 4주의 반복을 두었다.

$$\text{노균병 방제효과}(\%) = [(A-B)/A] \times 100 \quad (2)$$

A; 무처리구 잎의 병반 면적

B; 약제를 처리한 잎의 병반 면적

Dimethomorph의 오이 노균병에 대한 예방 효과를 측정하기 위하여 오이의 제 2엽에 약액을 분무하고 온실에서 7일간 재배하였다. 이 오이를 온실 내의 습실상에 넣고 오이 노균병 포자 현탁액을 분무하였다. 습실상에 17시간 내지 20시간 보관한 후 온실로 옮겨서 재배하였다. 병 접종 6일 후에 제 2엽의 병반 면적을 달관 조사한 다음 식(2)에 의해 노균병 예방 효과를 산출하였다.

분무한 약액중 dimethomorph의 농도를 자연대수화하고, 약제의 농도와 오이 노균병 방제 효과를 회귀 계산하여 병을 50% 억제하는 농도(EC₅₀)를 산출하였다.

결과 및 고찰

Dimethomorph의 오이 엽면 침투율과 오이 노균병 치료 효과. 농약의 식물 엽면 침투성은 약제의 물에 대한 용해도,

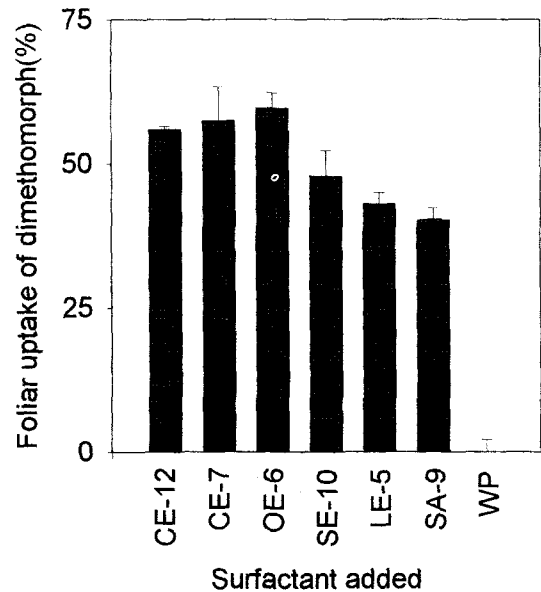


Fig. 1. Effect of surfactant on foliar uptake of dimethomorph into cucumber plant 67 hours after spraying of aqueous acetone solution containing 250 µg/ml dimethomorph WP, 1,000 µg/ml surfactant, and 20% acetone.

octanol/water 분배계수(K_{ow}), cuticle/water 분배계수(K_{cw}) 등 농약의 이화학적 특성과 많은 관계가 있지만, 아직 명확한 상관관계가 밝혀져 있지는 않다.¹⁸⁾ 그러나 잎의 표면에 가해진 농약이 분자상태로 확산되어 내부로 침투해 들어간다는 이론에는 대부분의 학자들이 동의하고 있다.¹⁹⁾ Dimethomorph의 수용해도는 18 mg/l(pH 7)이며, 제제용 비극성 유기용매에 대한 용해도가 크지 않아서 현재 수화제로 생산 판매되고 있다. 따라서 dimethomorph 수화제를 물에 희석하여 250 µg/ml의 현탁액을 조제하였을 때 대부분의 유효성분은 고체 입자로써 존재한다. 그러나 dimethomorph는 20%(v/v) 아세톤 수용액 중에서는 완전히 용해되어 안정된 용액상태를 유지하였으며, 20% 아세톤 수용액은 오이에 약해를 유발하지 않았다. 본 연구에서는 계면활성제에 의해 유도되는 dimethomorph의 오이 엽면 침투율을 측정할 때 침투성을 극대화하기 위해서 dimethomorph 수화제-아세톤 수용액 혹은 dimethomorph 원제-아세톤 수용액을 사용하였다.

Dimethomorph 수화제가 250 µg/ml(유효성분 기준)의 농도로 함유되어 있는 아세톤 수용액은 침투성 증진용 계면활성제가 첨가되지 않았을 때 분무 67시간 후에도 $0.1 \pm 2.1\%$ 의 침투율을 나타내어 오이 잎에 거의 침투되지 않을 뿐만 아니라 휘발 등의 다른 소실 요인도 없는 것으로 나타났다(Fig. 1). 음이온성 계면활성제에 의해 유도되는 dimethomorph의 오이 엽면 침투성은 동일한 농도의 비이온성 계면활성제에 의한 것보다 훨씬 작다.²⁰⁾ Dimethomorph 수화제에는 이미 calcium lignosulfonate 등 2종의 음이온성 계면활성제가 분산제로써 소량 함유되어 있지만, 250 µg/ml의 유효성분 농도로 희석하였을 때 희석액 중 음이온성 계면활성제의 농도는 50 µg/ml 내외에 불과하며, 이로 인하여 dimethomorph의 침투성에는 거의 영향을 미칠 수 없다는 것을 확인할 수 있었다. 여러 문헌에는

Table 1. Curative effect of surfactant to cucumber downy mildew

| Surfactant ¹⁾ | Control value ²⁾ (%) |
|--|---------------------------------|
| Polyoxyethylene cetyl ether (EO 12 mole) | 2 ^a |
| Polyoxyethylene cetyl ether (EO 7 mole) | 0 ^a |
| Polyoxyethylene oleyl ether (EO 6 mole) | 5 ^a |
| Polyoxyethylene stearyl ether (EO 10 mole) | 0 ^a |
| Polyoxyethylene lauryl ether (EO 5 mole) | 0 ^a |
| Polyoxyethylene stearate (EO 9 mole) | 0 ^a |

¹⁾Surfactant concentration: 1,000 µg/ml.

²⁾Mean infected leaf area of control was 57%.

Control values with the same letter are not significantly different.

dimethomorph가 국부적인 침투 이행성(local systemic)이 있는 것으로 표기되어 있다.²¹⁾ 그러나 본 연구에서와 같이 dimethomorph 자체의 오이 잎에 대한 침투율이 매우 작은 것으로 볼 때, 이러한 문헌에서 특정한 농약에 대하여 침투 이행성이 있다는 표기가 식물 엽면을 통한 침투 이행성에 의해서 충분한 식물병 방제 효과를 나타낼 수 있다는 것을 의미하는 것은 아니라는 것을 알 수 있다.²²⁾ 반면에 6종의 비이온성 계면활성제가 1,000 µg/ml 첨가되었을 때는 dimethomorph의 오이 엽면 침투율이 크게 증진되어 최고 59.7±2.6%(OE-6)에 달하였으며, 계면활성제의 종류에 따라서 침투율이 매우 다르게 나타나서 OE-6>CE-7>CE-12>SE-10>LE-5>SA-9 등의 순이었다. 이들 중 SA-9을 제외한 4종의 계면활성제들은 Grayson 등¹¹⁾이 dimethomorph의 포도 노균병에 대한 치료 효과를 가장 증진시킨 계면활성제로 선발하였던 LE-5보다 높은 오이 엽면 침투율을 보여 주었다.

계면활성제 수용액은 1,000 µg/ml의 농도에서 오이 노균병에 대한 치료 효과가 거의 없었다(Table 1). 또한 오이 잎에서 계면활성제 수용액의 살포에 따른 약해 증상도 전혀 관찰되지 않았다. Dimethomorph-아세톤 수용액도 오이 노균병에 대한 치료 효과가 거의 없었던 반면에 dimethomorph-아세톤 수용액에 계면활성제가 첨가되었을 때는 dimethomorph 250 µg/ml에서 모두 80% 이상의 치료 효과를 나타내어 침투성 증진용 계면활성제에 의해 오이 노균병 치료 효과가 크게 증진되었다(Table 2). 이보다 낮은 농도에서는 치료 효과가 계면활성제에 따라 현저한 차이를 보였는데, 오이 노균병을 50% 억제하는 농도(EC₅₀, µg/ml)는 dimethomorph 250 µg/ml의 농도에서 계면활성제

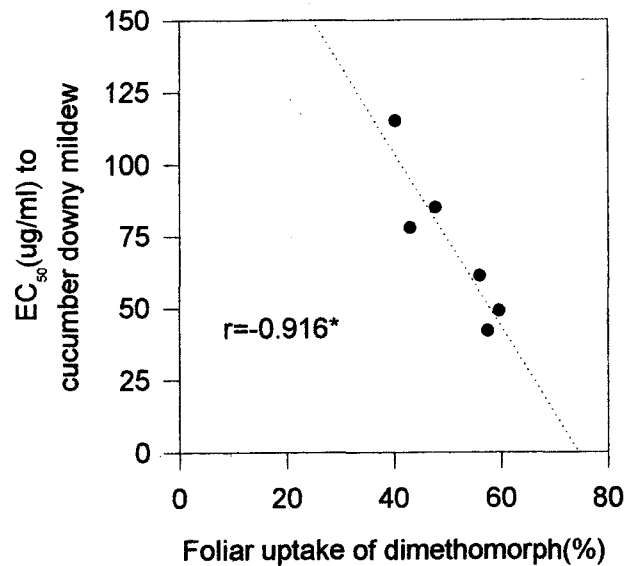


Fig. 2. Correlation between foliar uptake of dimethomorph into cucumber plant and EC₅₀ to cucumber downy mildew.

1,000 µg/ml에 의해 유도된 오이 엽면 침투율(Fig. 1)과 유의한 부의 상관관계(r = -0.916*)를 나타내었다(Fig. 2). 이는 오이 노균병에 대한 dimethomorph의 치료 효과가 dimethomorph의 오이 엽면 침투율에 비례한다는 것을 의미한다.

CE-12를 함유하는 시험용 dimethomorph 분산성 액제의 오이 엽면 침투율과 오이 노균병 방제효과. 오이 엽면 침투율을 증진하는 계면활성제 중에서 오이 노균병 방제 효과를 가장 크게 높이는 것으로 나타난 CE-12를 dimethomorph 액상 제제에 첨가할 약효 증진용 계면활성제로 선발하고, 이 계면활성제의 첨가비에 따른 오이 엽면 침투율과 노균병 방제효과의 변화를 보다 상세히 시험하였다. Dimethomorph 원제를 N-methyl-2-pyrrolidone에 용해시키고 CE-12를 원제량의 1배(8.3%), 2배(16.7%) 및 3배(25.0%) 첨가하여 제제한 시험용 dimethomorph 액상 제제(유효성분 8.3%)는 물에 희석하였을 때 CE-12의 첨가비에 관계없이 24시간 동안 맑은 수용액 상태를 유지하였지만 그 후에는 점차 결정이 석출되기 시작하여 분산성 액제의 성질을 나타내었다. 이 시험용 제제들의 희석액(dimethomorph 125 µg/ml)을 조제 직후에 오이 잎에 분무하고 67시간 후에 엽

Table 2. Curative effect of dimethomorph containing surfactant to cucumber downy mildew¹⁾

| Dimethomorph (µg/ml) | Control value (%) | | | | | | |
|--|-------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | Control | CE-12 | CE-7 | OE-6 | SE-10 | LE-5 | SA-9 |
| 9.3 | 0 | 0 | 6 | 1 | 1 | 6 | 0 |
| 27.8 | 1 | 40 | 21 | 16 | 1 | 8 | 0 |
| 83.3 | 0 | 84 | 78 | 79 | 69 | 56 | 24 |
| 250 ²⁾ | 6 | 93 | 92 | 84 | 88 | 84 | 87 |
| EC ₅₀ (µg/ml) ³⁾ | - | 42 | 49 | 61 | 78 | 85 | 115 |
| Correlation coefficient (r) | - | 0.971 | 0.966 | 0.897 | 0.951 | 0.988 | 0.968 |

¹⁾Mean infected leaf area of control: 90%.

²⁾Composition of spray solution was 250 µg/ml dimethomorph WP, 1,000 µg/ml surfactant, 20% acetone, and water. An aliquot of this solution was diluted by adding 20% aqueous acetone solution for preparing specified solutions.

³⁾EC₅₀: median effective concentration.

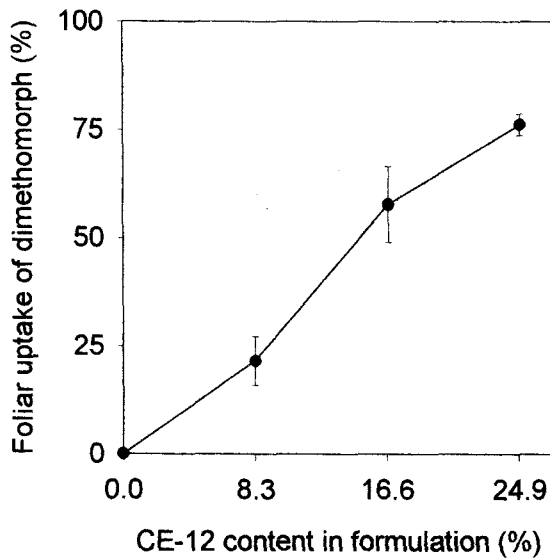


Fig. 3. Effect of CE-12 content of liquid formulation containing 8.5% dimethomorph on foliar uptake into cucumber plant 67 hours after spray.

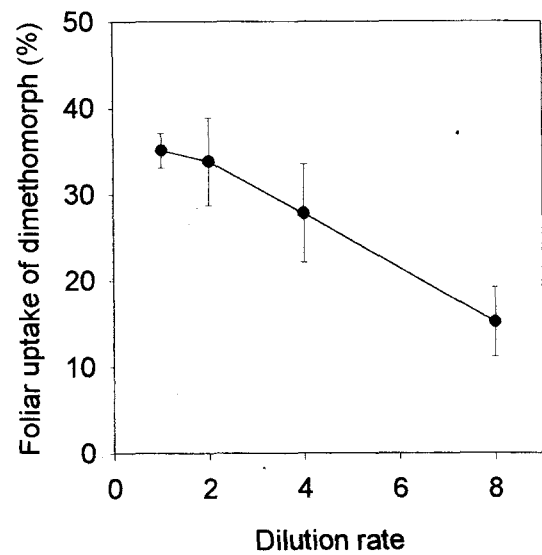


Fig. 4. Influence of dilution rate of formulation containing 8.5% dimethomorph, and 16.7% CE-12 on foliar uptake of dimethomorph into cucumber plant 24 hours after spray.

면 침투율을 측정하였을 때 제제 중 CE-12의 첨가비가 증가할수록 오이 엽면 침투율이 거의 비례적으로 증가하여 CE-12의 첨가비가 25.0%인 시험 제제는 76.2±2.5%의 높은 침투율을 보였다(Fig. 3).

대조 약제인 dimethomorph 수화제는 125 µg/ml의 농도에서 약제처리 7일 후에도 오이 노균병에 대하여 78%의 예방 효과를 보여 주었다(Table 3). 반면에 침투성 증진제로 CE-12를 함유하는 시험용 dimethomorph 분산성 액제(8.3%)는 CE-12의 첨가비가 8.3%인 제제에서 86%의 예방 효과를 나타내어 동일한 농도의 수화제보다 방제 효과가 우수하였지만, CE-12의 첨가비가 증가할수록 오이 노균병 예방 효과가 점차 감소하는 것으로 나타났다. 이는 침투성 증진제로 CE-12가 첨가된 시험용 dimethomorph의 침투성이 증진된 결과 표면에 남아서 노균병 포자의 발아를 억제할 수 있는 유효성분 농도가 급격하게 감소하는 데에 원인이 있는 것으로 보인다.

한편, 다른 시기에 재배한 오이를 사용하여 오이 노균병에 대한 치료 효과를 시험하였을 때 대조구용 dimethomorph 수화제는 83~250 µg/ml의 농도에서 50% 정도의 오이 노균병에 대한 치료 효과를 나타냈는데, 이는 아세톤이 20% 첨가된 수화

제의 치료 효과가 거의 없었던 것과는 매우 다른 결과였다. 이와 같은 결과는 오이를 재배하는 동안 흐린 날씨가 계속되어 일조량 부족과 과습으로 인하여 오이 잎 표면의 왁스층 두께가 얇아졌을 뿐만 아니라(dimethomorph의 오이 엽면 침투율은 오이 잎 표면의 왁스층에 반비례함),²⁰⁾ 노균병 포자 접촉 후 병의 발생을 돕기 위해서 온실 내에서 습실 처리할 때에도 흐린 날씨가 계속되어 잎 표면이 습한 상태로 유지되어 일부 dimethomorph가 잎 내부로 침투한 데에 원인이 있는 것으로 사료되었다. 이러한 결과로 볼 때 dimethomorph는 식물 생육 환경에 따라서 어느 정도의 식물병 치료 효과를 나타낼 수 있지만, 그 효과가 안정적이지는 않은 것으로 추정된다. 이에 비하여 침투성 증진제로 CE-12가 첨가된 시험용 dimethomorph 분산성 액제의 오이 노균병 치료 효과는 수화제에 비하여 월등하게 높게 나타났으며, 원제에 대한 CE-12의 비율이 증가할수록 오이 노균병 치료 효과가 증가하는 경향을 보여 주었다. 그러나 dimethomorph 83 µg/ml 이하의 농도에서는 제제들 간의 치료 효과 차이를 구분할 수 없었다.

원제와 CE-12를 각각 250 µg/ml와 500 µg/ml를 함유하는 dimethomorph-아세톤 수용액은 희석 배율이 증가할수록 오이

Table 3. Fungicidal activity of dimethomorph formulation (8.5%) containing CE-12 as an activator to cucumber downy mildew

| Dimethomorph (µg/ml) | Protective effect ¹⁾ (%) | | | | Curative effect ²⁾ (%) | | | |
|----------------------------|-------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | WP | 1:1 ³⁾ | 1:2 ³⁾ | 1:3 ³⁾ | WP | 1:1 ³⁾ | 1:2 ³⁾ | 1:3 ³⁾ |
| 62.5 | - | 78 | 70 | 66 | - | 54 | 64 | 55 |
| 83 | 76 | 86 | 80 | 52 | 50 | 66 | 66 | 71 |
| 125 | 78 | 86 | 74 | 72 | 55 | 84 | 86 | 93 |
| 250 | 90 | - | - | - | 52 | - | - | - |
| LSD (P>0.05) ⁴⁾ | 10.5 | | | | 11.5 | | | |

¹⁾Plants were inoculated with zoospore suspension (4×10⁴ zoospores/ml) 7 days after application of dimethomorph.

²⁾Plants were sprayed with dimethomorph 1 day after inoculation.

³⁾Ratio of CE-12 to dimethomorph in liquid formulation (AI 8.5%).

⁴⁾LSD = least significant difference.

엽면 침투율이 비례적으로 감소하였다(Fig. 4). 이는 dimethomorph 제제가 침투성 증진용 계면활성제를 함유하더라도 고농도에서는 뚜렷하게 치료효과를 증진시키지만, 희석배율이 크게 증가하였을 때 종종 증진된 치료 효과를 보여주지 못하는 원인으로 사료되었다. 따라서 침투성 증진제가 첨가된 dimethomorph 제제의 엽면 침투율을 유지하면서 유효성분 처리량을 가감할 때에는 희석 배율로 농도를 가감하는 것보다 Grayson 등¹⁾의 연구에서와 같이 분무량을 조절하는 것이 유리할 것이다.

이상의 연구에 의하면 원예용 살균제 dimethomorph는 오이 잎에 거의 침투되지 않아서 오이 노균병에 대한 치료 효과가 거의 없거나 미흡하였지만, polyoxyethylene cetyl ether 등의 비이온성 계면활성제를 첨가함으로써 오이 엽면 침투율을 크게 증진시키고 오이 노균병에 대한 치료 효과도 침투율에 비례적으로 증진시킬 수 있었다. 그러나 오이 엽면 침투율이 어느 수준 이상으로 증가할 경우 오이 노균병에 대한 예방 효과가 다소 감소하는 경향을 나타내었다. 따라서 포장 시험을 통하여 dimethomorph 분산성 액제 중의 원제와 침투성 증진제의 비율을 적절하게 조절할 경우 오이 노균병에 대한 방제 효과가 크게 개선된 제제를 개발할 수 있을 것이다.

참고문헌

- Grayson, B. T., Webb, J. D., Batten, D. M. and Edwards, D. (1996) Effect of adjuvants on the therapeutic activity of dimethomorph in controlling vine downy mildew. I. Survey of adjuvant types. *Pestic. Sci.* **46**, 199-206.
- Grayson, B. T., Boyd, S. L. and Walter, D. (1996) Effect of adjuvants on the therapeutic activity of dimethomorph in controlling vine downy mildew. II. Adjuvant mixtures, outdoor-hardened vines and one-pack formulations. *Pestic. Sci.* **46**, 207-213.
- Grayson, B. T., Batten, D. M. and Walter, D. (1996) Adjuvant effects on the therapeutic control of potato late blight by dimethomorph wettable powder formulations. *Pestic. Sci.* **46**, 355-359.
- Grayson, B. T. (1992) Fungicidal Compositions, European Patent Application 0520585A1.
- Dehne, H.-W. (1997) Enhancement of the Efficacy of Fungicides, European Patent Application 0806141A1.
- Stevens, P. J. G. and Baker, E. A. (1987) Factors affecting the foliar absorption and redistribution of pesticides. 1. Properties of leaf surfaces and their interactions with spray droplets. *Pestic. Sci.* **19**, 265-281.
- Stevens, P. J. G., Baker, E. A. and Anderson, N. H. (1988) Factors affecting the foliar absorption and redistribution of pesticides. 2. Physicochemical properties of the active ingredient and the role of surfactant. *Pestic. Sci.* **24**, 31-53.
- Holloway, P. J., Wong, W. W. C., Partridge, H. J., Seaman, D. and Perry, R. B. (1992) Effects of some nonionic polyoxyethylene surfactants on uptake of ethirimol and diclobutrazol from suspension formulations applied to wheat leaves. *Pestic. Sci.* **34**, 109-118.
- Grayson, B. T., Boyd, S. L. and Walter, D. (1995) Reinvestigating adjuvants for the wild oat herbicide, flumprop-m-isopropyl. I: glasshouse trials. *Pestic. Sci.* **43**, 147-155.
- Murphy, M. W., Craven, M. L. and Grayson, B. T. (1995) Reinvestigating adjuvants for the wild oat herbicide, flumprop-m-isopropyl. II: Field performance. *Pestic. Sci.* **43**, 157-162.
- Field, R. J. and Bishop, N. G. (1988) Promotion of stomatal infiltration of glyphosate by an organosilicone surfactant reduces the critical rainfall period. *Pestic. Sci.* **24**, 55-62.
- Buick, R. D., Bruce, R. and Field, R. J. (1992) A mechanistic model to describe organosilicone surfactant promotion of triclopyr uptake. *Pestic. Sci.* **36**, 127-133.
- Schreiber, L. and Schonherr, J. (1992) Analysis of foliar uptake of pesticides in barley leaves: role of epicuticular waxes and compartmentation. *Pestic. Sci.* **36**, 13-22.
- Roggenbuck, F. C., Penner, D., Burow, R. F. and Thomas, B. (1993) Study of the enhancement of herbicide activity and rainfastness by an organosilicone adjuvant utilizing radiolabelled herbicide and adjuvant. *Pestic. Sci.* **37**, 121-125.
- Lrke, P. E. and Streibig, J. C. (1995) Foliar absorption of some glyphosate formulations and their efficacy on plant. *Pestic. Sci.* **44**, 107-116.
- Cho, K. Y., Yu, J. H., Lim, H. K., Choi, G. J. and Kim, J. H. (1999) Composition and Method for Measuring the Foliar Uptake of Agrochemicals. PCT Patent Application PCT/KR 99/00342.
- Yu, J. H., Lim, H. K., Choi, G. J., Cho, K. Y. and Kim, J. H. (2001) A New evaluation method for foliar uptake of fungicides using Congo red as a tracer. *Pest Manag. Sci.* (in press).
- Stock, D. and Holloway, P. J. (1993) Possible mechanisms for surfactant-induced foliar uptake of agrochemicals. *Pestic. Sci.* **38**, 165-177.
- Bauer, P., Grayson, B. T. and Schonherr, J. (1997) Polydispersed ethoxylated fatty alcohol surfactants as accelerators of cuticular penetration. 1. Effect of ethoxy chain length and size of penetrants. *Pestic. Sci.* **51**, 131-152.
- Yu, J. H. (2000) Evaluation of Foliar Uptake of Pesticide: Method Development and Application, Ph.D. Thesis, Seoul National University, School of Agricultural Biotechnology, Suwon, Korea.
- Tomlin, C. D. S. (2000) In *The Pesticide Manual* 12th ed., 311, British Crop Protection Council, Surrey, UK.
- Hassall, K. A. (1990) In *The Biochemistry and Uses of Pesticides*, 2nd ed., Chap. 12, Macmillan Press LTD, London, UK.

Influence of Surfactants on Foliar Uptake of Dimethomorph into Cucumber Plant and Fungicidal Activity to Cucumber Downy Mildew

Ju Hyun Yu*, Gyung Ja Choi, He Kyoung Lim, Jeong Han Kim¹ and Kwang Yun Cho (*Agrochemical Screening Team, Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon 305-600, Korea; ¹School of Agricultural Biotechnology, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea*)

Abstract : The foliar uptake of dimethomorph induced by several nonionic surfactants was measured in order to study the correlations between the uptake rate of dimethomorph and the fungicidal activity to cucumber downy mildew. Dimethomorph was not absorbed in cucumber leaf in the absence of activator surfactant. And the curative effect of dimethomorph WP to cucumber downy mildew was very low under the concentration of 250 µg/ml. But dimethomorph uptake was remarkably enhanced by addition of nonionic surfactants, such as polyoxyethylene cetyl ether, polyoxyethylene oleyl ether, and polyoxyethylene stearyl ether. And the curative effect to cucumber downy mildew was enhanced with proportion to uptake rate of dimethomorph. The protective effect to cucumber downy mildew, however, tends to decrease with the increase of foliar uptake of dimethomorph. The uptake rate of dimethomorph to cucumber leaf was proportional to the content of polyoxyethylene cetyl ether in formulation, but was decreased with dilution.

Key words : dimethomorph, cucumber, uptake, Congo red, surfactant, downy mildew

*Corresponding author