식물병연구
Res. Plant Dis. 9(4) : 224-228 (2003)

Research in Plant Disease
©The Korean Society of Plant Pathology

Metalaxyl 저항성 담배역병균(*Phytophthora nicotianae*) 방제를 위한 약제 선발

강여규* · 정윤화
KT&G 중앙연구원 원료기술연구소

Chemical screening for control of Metalaxyl-resistant tobacco black shank disease

Yue-Gyu Kang* and Yun-Hwa Chung
KT&G Central Research Institute Agro-tech Research Group 434 Dangsudong Suwon 441-480, Korea
(Received on October 15, 2003)

Five commercial chemicals, Dimethomorph, Foseyl-Al, Oxadixyl + Mancozeb, Propamocarb hydrochloride, and Metalaxyl, were tested for control of tobacco black shank (*Phytophthora nicotianae*) and/or delaying buildup of the resistant population to Metalaxyl which has been used for control of the disease in Korean tobacco farms. Propamocarb hydrochloride seemed to have a cross-resistance to the Metalaxyl resistant isolates showing similar response with Metalaxyl *in vitro*. Meanwhile, Dimethomorph+Mancozeb and Oxadixyl+Mancozeb were selected to be the promising chemicals which are able to be alternative to Metalaxyl for the black shank control in accordance with *in vitro* and in field trial.

Keywords: **Metalaxyl resistant *Phytophthora nicotianae*, Tobacco, Chemical control**

담배역병(*Phytophthora nicotianae*)은 전세계적으로 발생되는 토양 전염성 진균병으로 잎담배 생산에 있어서 가장 피해가 큰 병해 중의 하나이다(Lucas, 1975; Sew와 Lucas, 1991). 이 병의 방제를 위하여 지금까지 수행된 많은 연구로 최근에는 윤작, 저항성품종의 재배 및 약제처리법 등을 이용한 종합방제 체계수립으로 방제가 가능한 것으로 알려지고 있다(Melton, 1997; Shoemaker 등, 1997). 특히 Metalaxyl 약제처리법은 저항성품종의 보급과 함께 가장 효과적인 방제수단의 하나이다(Kannwischer and Miitchell, 1978; Reilly, 1980). 우리 나라에서는 주로 버어리종 담배 산지인 전남, 전북 및 충남지역에 해마다 발생하여 1~5% 정도의 피해를 주고 있으며 최근에는 Metalaxyl 처리가 계속되고 있음에도 불구하고 역병발생이 점차 증가하고 있다. 따라서 본 연구는 최근 버어리종 담배 산지에서 발생하는 담배역병균을 수집하여 Metalaxyl 약제에 대한 저항성을 조사한 결과 $ED_{50} \geq 100$ μg/m*l*인 Metalaxyl 저항성균이 조사되어(Kang, 2000) 현재 담배재배농가에서 주로 사용하고 있는 Metalaxyl 약제를 대체할 수 있는 방제약제를 선발하고자 수행하였다.

*Corresponding author
Phone)+82-31-400-1554, Fax)+82-31-419-4127
E-mail)ygkang@ktng.com

재료 및 방법

사용균주. 이전의 보고(Kang, 2000)에서 버어리종담배 재배지인 충남, 전북, 전남지역의 농가포장에서 수집 분리한 균주들 중 Metalaxyl 감수성균주($ED_{50} \leq 10$ μg/m*l*)인 P97-2, P97-8, P97-18, Metalaxyl 저항성균주($ED_{50} \geq 100$ μg/m*l*)인 P97-22와 P92-61 균주를 Oatmeal agar에서 배양하면서 시험균주로 사용하였다.

사용약제. 시중 농약상에서 판매되고 있는 Dimethomorph (E,Z)-4-[3-(4-chlorophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)acryloyl] morpholine, 25%), Metalaxyl + Mancozeb[(Methyl N-(methoxyacetyl)-N-(2,6,-xylyl)-DL-alaninate 7.5% + Manganese

ethylene bis (dithiocarbamate) (polymeric) complex with zinc sault, 56%)], Fosetyl-Al (ethyl hydrogen phosphonate, 80%), Oxadixyl + Mancozeb[2-Methoxy-N-(2-oxo-1,3-oxazolidin-3-yl)-aceto-2',6'-xylidide, 8% + Manganese ethylene-bis-(dithiocarbamate) polymeric complex with zinc sault, 56%)], Propamocarb hydrochloride (Propyl 3-(dimethylamino) propylcarbamate hydrochloride, 66.5%), Metalaxyl (Methyl N-(2-methoxyacetyl)-N-(2,6,-xylyl)-DL-alaninate, 25%)를 구입하여 사용하였다.

병원균의 약제에 대한 감수성조사 및 약제 선발. 시험약제가 각각 0.01, 0.1, 1, 10, 100 μg/m*l*가 포함 되도록 만들어진 Corn Meal Agar(Difco사 제품)에 시험균주의 균총(7 mm)을 접종하여 28°C에서 7일간 배양 후 자란 균총의 직경을 조사하고(Kang, 2000) 이 자료를 균사생장저지율로 환산하여 Probit 분석을 실시하여 ED_{50}를 산출하였다(Finney, 1971). 실내 약제 선발은 Cornmeal agar 및 V8 juice agar 평판 각각 5개에 항생제 검정용 직경 8 mm Paper Disk(Toyo Seisakusho사 제품)를 평판배지의 중앙에 붙이고 Micropipette을 이용하여 각 약제의 추천농도 수용액을 50 μ*l*씩 떨어뜨려 Paper Disk에 흡착시키고 중앙에서 3 cm 떨어진 곳 사방에 Oatmeal agar에서 28°C로 7일간 배양한 균주의 생장부위에서 직경 6 mm의 cork borer로 균총을 떼어 약제별 각각 10개의 평판에 접종하여 28°C에서 10일간 배양 후 저지원의 직경을 조사하였다(Csino, 1994; Mitchell 등, 1986).

약효비교 포장시험. 상기의 시험약제 중 Dimethomorph 수화제(추천농도: a.i. 250 μg/m*l*), Metalaxyl + Dimethomorph 수화제(추천농도: a.i. 250 μg/m*l*), Oxadixyl + Mancozeb 수화제(추천농도: a.i. 1280 μg/m*l*), Dimethomorph + Mancozeb 수화제(추천농도: a.i. 1484 μg/m*l*), Propamocarb hydrochloride (추천농도: a.i. 964 μg/m*l*) 및 대조약제 Metalaxyl 수화제(추천농도: a.i. 125 μg/m*l*) 등을 시험용 담배묘(Burley 21)가 구당 40주가 이식된 시험구에 추천농도로 희석된 시험약액을 각각 담배 포기당 250 m*l*씩 이식시 및 배토시 담배 근권 토양에 관주처리 하였다. 모든 처리는 난괴법 3반복으로 실시하였다. 발병조사는 이식후 45일 및 60일경에 각각 담배역병에 감염된 이병주율을 조사하였다.

결 과

Metalaxyl 약제 저항성 담배역병균에 대한 Metalaxyl를 대체할 수 있는 약제를 선발하기 위하여 시판중인 역병방제용 약제들 중에 Dimethomorph 수화제, Metalaxyl + Dimethomorph 수화제, Oxadixyl + Mancozeb 수화제, Dimethomorph + Mancozeb 수화제, Fosetyl-Al 수화제, Propamocarb hydrochloride 액제 및 대조약제 Metalaxyl 수화제 등을 구입하고 이들의 배양기 내에서의 Metalaxyl 감수성균주와 Metalaxyl 저항성 균주의 반응을 조사한 결과 Table 1에서와 같이 Propamocarb hydrochloride를 제외한 모든 약제가 균사생장 저지효과를 보여 Metalaxyl를 대체하여 사용할 수 있는 약제로 조사되었다. 그러나 Propamocarb hydrochloride는 Metalaxyl 감수성 균주에서도 다른 약제들에 비해 ED_{50} 값이 높게 나타났을 뿐만 아니라 저항성 균에서는 더욱 높게 나타나 Metalaxyl 저항성균의 반응과 유사한 즉 교차저항성을 보였다(Table 1, Fig. 1).

상기에서 Metalaxyl 대체 가능성 있는 약제로 선발된 약제들 중 시판되고 있는 약제들의 추천된 사용농도에서 배양기상에서 균사생장저지효과를 조사한 결과 Fig. 1에서와 같이 일반적으로 Metalaxyl 감수성 균주들은 저항성 균주들에 비해 높은 균사생장 저지율을 보였다(Fig. 2).

Table 1. Sensitivity of Metalaxyl-sensitive and -resistant *Phytophthora nicotianae* strains against chemicals used for screening

	ED_{50} (μg/m*l*)[a]				
	Metalaxyl sensitive			Metalaxyl resistant	
Chemicals	P97-2	P97-8	P97-18	P97-22	P97-61
Dimethomorph	0.41 a[b]	0.80 b	0.22 a	0.65 a	0.28 a
Oxadixyl + Mancozeb	1.77 b	0.57 a	0.67 ab	3.25 a	1.05 a
Metalaxyl + Mancozeb	0.27 a	0.38 a	0.50 ab	0.91 a	0.29 a
Fosetyl-Al	1.95 b	8.22 d	1.56 c	5.47 a	3.87 a
Propamocarb hydrochloride	8.89 c	1.86 c	12.97 d	45.03 b	28.08 b
Metalaxyl	0.85 a	0.55 a	3.07 c	237.08 c	158.43 c

[a]Tested on Corn meal agar included chemicals followed by Kang (2000).
[b]Means in a column followed by a same letter are not significantly different at the 5% level in Duncan's multiple range test.

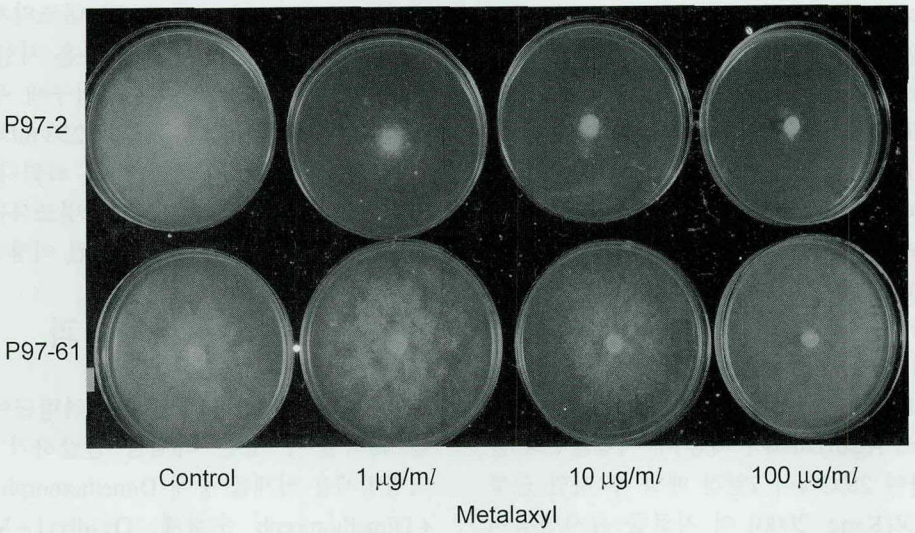

Fig. 1. Growth of metalaxyl resistant (P97-61) and sensitive (P97-2) strains of *Phytophthora nicotianae* on cornmeal agar plate included metalaxyl at several concentration.

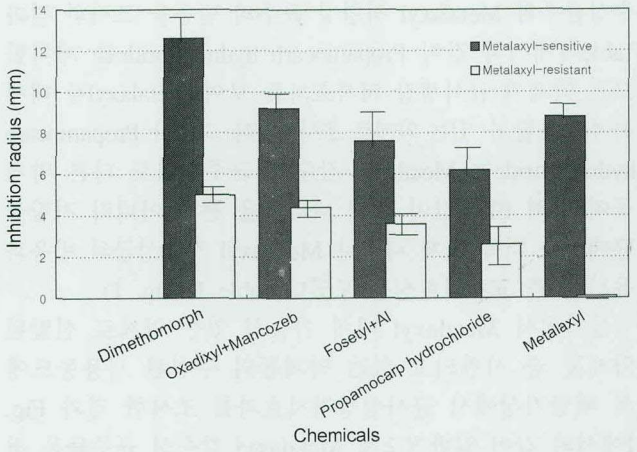

Fig. 2. *In vitro* sensitivity of metalaxyl-sensitive and -resistant *Phytophthora nicotianae* strains to several chemicals.

실내에서 선발된 약제 중 시중 농약상에서 구입할 수 있는 약제들에 대한 포장시험 결과 Table 2에서 보는 바와 같이 포장의 역병오염도가 낮은 수원시험장(경기도 수원시 당수동 434)에서 실시한 시험에서는 시험한 약제 모두 방제율 94%~72%로 통계적으로 같은 수준의 약효를 보였으나 역병오염 정도가 높고 10여 년간 Metalaxyl약제가 사용되어온 전주시험장(전북 완주군 이서면 이문리 711)에서는 Oxadixyl + Mancozeb 및 Dimethomorph + Mancozeb가 70% 이상의 방제율을 보였으며 Metalaxyl약제의 방제율이 30% 미만으로 낮았으며 시험약제 중 Propamocarb hydrochloride는 방제율이 20% 정도로 가장 낮았다(Table 2).

Table 2. Effect of fungicides for the control of tobacco black shank in fields[a]

Chemicals	Diseased plants (%)[b]		
	Field I	Field II	Field III
Oxadixyl + Mancozeb	0.9 a[c]	1.7 a	22.1 a
Dimethomorph + Mancozeb	1.7 a	2.6 a	26.9 a
Metalaxyl + Dimethomorph	0.8 a	3.4 a	36.6 ab
Dimethomorph	3.2 a	8.4 a	---
Propamocarb hydrochloride	---	---	77.2 c
Metalaxyl	0.8 a	4.3 a	69.1 bc
Control	22.2 b	30.3 b	97.6 c

[a]250 ml of each chemical suspension was drenched into soil at tobacco planting and molding time.
[b]All field trials were carried out at black shank infested fields. Field I and Field II had been treated with metalaxyl for one and two years, respectively and Field III for over ten consecutive years.
[c]Means in a column followed by a same letter are not significantly different at the 5% level in Duncan's multiple range test.

고 찰

Metalaxyl은 역병균과에 속하는 진균류의 RNA 합성을 저해하는 특이적 살균효과를 나타내는 Phenylamide계 살균제로서(Shattock, 1988), 지금까지 여러 종류의 병원균에서 약제 저항성균 출현이 보고된 바 있다(Ferrin과 Kabashima, 1991; Timmer 등, 1998). 담배역병 방제를 위한 Metalaxyl의 토양관주 처리는 지금까지 효과적으로 사용되어 왔다(Melton, 1997; Shoemaker와 Shew, 1996). 그러나 Shew (1985)는 미국의 North Carolina주의 담배 재배지에서 담

배역병 방제를 위하여 수년간 계속 Metalaxyl이 처리된 포장에서는 무처리 포장에 비해 그 포장에서 분리되는 역병균주들이 Metalaxyl에 대한 감수성이 떨어짐을 조사하고 처리하는 약제의 종류를 주기적으로 변경하는 방안을 제안한 바 있다. 우리 나라에서 담배역병 방제를 위한 Metalaxyl 처리는 1981년부터 시작되었으며 다른 약제들에 비해 약효가 우수하여 농민들의 선호로 오랜 기간 담배포장에 처리되어 왔다. 그 동안 Metalaxyl이 단일 약제로서 장기간 담배역병 방제에 사용될 수 있었던 것은 담배 이식 시 또는 복토 시에 1~2회 토양관주처리(주당 250 ml)로 처리약량 및 처리횟수가 제한되어 약제 저항성균의 출현이 지연되었기 때문으로 생각된다. 그러나 버어리종 담배 재배산지인 전남 북 및 충남지방에 Metalaxyl 저항성균 발생이 조사되어 이에 대한 대책이 요구되고 있다(Kang, 2000). 한편 Metalaxyl을 비롯한 Phenylamide계 살균제에 대한 약제 저항성을 저지시키기 위하여 보호살균제(Protectant fungicide)와 혼합제를 만들어 처리하는 것이 저항성균을 방제 하는데 상승효과가 있음이 보고된 바 있다(Erwin과 Ribeiro, 1996; Samoucha와 Gisi, 1987). 그리고 약제 사용시에도 동일한 작용기작을 가진 단일 약제의 계속 사용을 피하고 혼합제를 사용하거나 여러 종류의 약제를 교호로 처리하는 것이 새로운 약제 저항성균의 출현을 억제하는 효과적인 방법으로 알려지고 있다(Skylakakis, 1983; Staub, 1991; Staub and Sozzi, 1984). 따라서 지금까지 약제 저항성 병원균의 출현을 억제하기 위하여 오랜 기간 담배역병 방제를 위하여 Metalaxyl을 처리해온 포장은 Metalaxyl 사용을 중지하고 본 시험에서 선발된 Oxadixyl + Mancozeb와 Dimethomorph + Mancozeb 등의 약제로 대체하여 사용하는 것이 역병방제를 위한 효과적인 약제 방제법으로 판단된다. 지금까지의 보고에 의하면 동일 작용계 약제는 교차저항성이 있어서 대체처리효과가 거의 없는 것으로 알려지고 있지만(Delp, 1980) 본 시험에 사용된 Metalaxyl 저항성 균주들은 같은 Phenylamide계인 Oxadixyl과 교차저항성이 없는 것으로 조사되었다. 결과적으로 담배역병의 효과적인 방제를 위해서는 종합방제의 틀 속에서 다른 여러 방제수단과 연계하여 약제방제가 실시되어야 할 것이다. 따라서 약제방제에 있어서도 단일약제의 계속사용을 지양하고 약제 저항성균의 출현을 억제하면서 약효를 최대한 유지될 수 있는 즉 약제처리 횟수와 처리하는 약량을 최소화 할 수 있는 방제체계가 구축되어야 할 것이다.

요 약

우리 나라 농가에서 담배역병 방제약제로 사용되고 있는 Metalaxyl의 약제 저항성균 발생억제 및 방제를 위한 대체 약제를 선발하기 위하여 시중에서 판매되고 있는 역병방제용 약제 중 Dimethomorph를 비롯한 5종의 약제를 구입하여 시험하였다. 실내 시험에서는 Propamocarb hydrochloride는 Metalaxyl과 유사한 반응을 보여 서로 교차저항성이 있는 것으로 조사되었으며 Oxadixyl + Mancozeb, Dimethomorph + Mancozeb 등이 실내시험 및 포장시험 결과 약효가 우수하여 Metalaxyl 대체약제로 선발되었다.

참고문헌

Csino, A. S. 1994. Distribution of *Phytophthora parasitica* var. nicotianae races and their sensitivity to Metalaxyl in Georgia. *Plant Dis.* 78: 471-474.

Delp, C. J. 1980. Coping with resistance to plant disease. *Plant Dis.* 64: 652-657.

Erwin, D. C. and Ribeiro, O. K. 1996. Chemical control. In: *Phytophthora* Disease worldwide pp. 211-238. The American Phytopathological Society. Minnesota, USA.

Ferrin, D. M. and Kabashima, J. N. 1991. In vitro insensitivity to Metalaxyl of isolates of *Phythophthora citricola* and *Phytophthora parasitica* from ornamental hosts in Southern California. *Plant Dis.* 75: 1041-1044.

Finney, D. J. 1971. Probit analysis. 3rd ed. Cambridge University Press., UK., 333pp.

Kang, Y.-G. 2000, In vitro sensitivity to Metalaxyl of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* isolates from burley tobacco in Korea. *Plant Pathol. J.* 16(4): 222-226.

Kannwischer, M. E. and Miitchell, D. J. 1978. The influence of a fungicide on the epidemiology of black shank of tobacco. *phytopathology* 68: 1760-1765.

Lucas, G. B. 1975. Disease of Tobacco. 3rd ed. Howard E. Parker & Sons, Fuquay-Varina, NC. U.S.A., 621 pp.

Melton, T. A. 1997. Disease management. in: 1997 flue-cured tobacco information. p. 83-109. N.C. State Univ. Raleigh N.C. USA.

Mitchell, D. J., Kannwischer-Mitchell, M. E. and Zentmyer, G. A. 1986. Isolation, identifying, and producing inoculum of *Phytophthora* spp. p. 63-66 In: Methods for evaluating pesticides for control of plant pathogens. Kenneth D. Hickey ed. The American Phytopathological Society, St. Paul, Mn. 312 p.

Reilly, J. J. 1980. Chemical control of black shank of tobacco. *Plant Disease* 64: 274-277.

Samoucha, Y. and Gisi, U. 1987. Use of two and three-way mixtures to prevent build-up of resistance to phenylamide fungicides against *Phytophthora* and *Plasmopora*. *Phytopathology* 77: 1405-1409.

Shattock, R. C. 1988. Studies on the inheritance of resistance to

Metalaxyl in *Phytophthora infestans*. *Plant Pathol.* 37: 4-11.

Shew, H. D. 1984. In vitro growth response of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* isolates to Metalaxyl. *Plant Dis.* 68: 764-766.

Shew, H. D. and Lucas, G. B. 1991. Compendium of tobacco disease. The American Phytopathological Society. Mn. USA. p. 68.

Shoemaker, P. B., Shew, H. D. and Main, C. E. 1997. Disease management. in: 1997 burley tobacco information. p. 62-76. N.C. State Univ. Raleigh N.C. USA.

Skylakakis, G. 1983. Theory and strategy of chemical control. *Ann. Rev. Phytopathol.* 21: 117-135.

Staub, T. 1991. Fungicide resistance: Practical experience with antiresistance strategies and the role of integrated use. *Ann. Rev. Phytopathol.* 29: 421-442.

Staub, T. and Sozzi, D. 1984. Fungicide resistance continuing challenge. *Plant Dis.* 68: 1026-1031.

Timmer, L. W., Graham, J. H. and Zitko, S. E. 1998. Metalaxyl-resistant isolates of *Phytophthora nicotianae* : Occurrence, sensitivity, and competitive parasitic ability on citrus. *Plant Dis.* 82: 254-261.