

벚나무 빗자루병균 (*Taphrina wiesneri*)에 대한 살균제의 방제효과

서상태* · 김경희 · 신창훈¹ · 이상현 · 김영말 · 박종한² · 신상철

국립산림과학원, ¹한라수목원, ²국립원예특작과학원

Control Efficacy of Fungicides on Cherry Witches' Broom Caused by *Taphrina wiesneri*

Sang-Tae Seo*, Kyung-Hee Kim, Chang-Hoon Shin¹, Sang-Hyun Lee, Young-Mal Kim, Jong-Han Park² and Sang-Chul Shin

Korea Forest Research Institute, Seoul 130-712, Korea

¹Halla Arboretum, Jeju 690-816, Korea

²National Institute of Horticultural and Herbal Science, Suwon 441-440, Korea

(Received on October 11, 2008)

In April 2008, cherry (*Prunus yedoensis* Matsumura) in Jeju exhibited severe disease of branches forming numerous twigs. Five isolates from diseased leaves were identified as *Taphrina wiesneri* on the basis of biological and genetic characteristics. Twenty one commercial fungicides were tested for control of the disease *in vitro*. Of the 21 fungicides, triazole compounds (difenoconazole, propiconazole and tebuconazole) showed relatively good antimicrobial activities. Results from the planta bioassays indicated that triazole compounds reduced the witches' broom disease showing control value 25.7~52.8% compared with the nontreated controls.

Keywords : Fungicide, *Taphrina wiesneri*, Witches' broom

벚나무속(*Prunus* L.)은 장미과(Rosaceae)에 속하는 식물로 조경수 등에 이용되며, 전 세계에 약 400여 종 이상이 보고되어 있다(Roland와 Wain, 1984). 국내에도 20여 종이 보고되어 있으며(이, 1980), 특히 제주를 비롯한 남부지방에서는 왕벚나무(*Prunus yedoensis* Matsumura)가 가로수를 비롯한 조경수 등으로 널리 식재되어 있다.

벚나무에 발생하는 주요병해로는 *Mycosphaerella cerasella*에 의한 갈색무늬구멍병, *Septobasidium tanakae*에 의한 갈색고약병, *Valsa ambiens*에 의한 암종병, 그리고 *Taphrina wiesneri*에 의한 빗자루병 등이 보고되어 있다(한국식물병명목록, 2004). 이중 빗자루병은 벚나무에 가장 큰 피해를 주고 있는 병으로 매년 봄이 되면 방송매체 등에서 보고되고 있다. 이 병원균은 세포생장을 촉진하는 auxin과 세포분열에 관여하는 cytokinin을 생산하여서 식물체에 이

상증상을 일으키는 것으로 보고되어 있다(Johnston과 Trione, 1973). 일반적으로 *Taphrina*에 의한 식물병은 잎이 모두 떨어진 늦은 가을이나 잎이 나오기 전인 이른 봄에 한번의 살균제 살포로 방제되는 것으로 알려져 있다. 가장 널리 사용하고 있는 약제는 보르도액과 chlothalonil 합제로 알려져 있다. 하지만 국내의 경우 아직 이에 대한 연구가 거의 진행되지 않고 있는 실정이다.

본 연구에서는 벚나무 빗자루병의 화학적 방제를 위하여 먼저 제주도 왕벚나무로부터 병원균을 분리하여 동정하였으며, 이 병원균에 대한 실내 약제방제 효과와 야외 실험을 실시한 결과를 보고한다.

재료 및 방법

병원균 분리. 병원균은 제주도의 가로수로 심겨져 있는 왕벚나무 이병잎으로부터 낙하법을 이용하여 분리하였다. 감자한천배지(potato dextrose agar: PDA, Difco)가 담겨져 있는 petri-dish의 뚜껑 안쪽에 이병잎을 바셀린으

*Corresponding author

Phone) +82-2-961-2667, Fax) +82-2-961-2679

E-mail) stseo@forest.go.kr

로 고정시킨 후 잎의 자낭포자가 배지로 위로 떨어지게 하였다. 배양은 colony가 형성될 때까지 실온에서 배양하였으며, 흰색에서 옅은 핑크색의 단일 colony를 새로운 PDA 배지에 옮겨 순수 분리 배양하였다. 분리된 균들은 4°C에 보관하면서 시험에 이용하였다.

DNA 분리 및 유전적 특성조사. 분리된 5개 균주의 DNA는 DNeasy tissue kit(Qiagen)를 이용하여 분리하였고, internal transcribed spacer(ITS) 지역의 염기서열 분석을 위하여 universal primer인 ITS1과 ITS4를 이용하여 PCR을 실시하였다. PCR 용액의 조성은 최종농도 10 mM Tris-HCl(pH 8.5), 40 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 200 nM dNTPs이었으며, 각 10 pmole의 primer 와 10 ng의 주형 DNA를 첨가하고 *Taq* DNA polymerase(Takara) 0.1 unit를 사용하여 총 반응용량을 50 μ l로 맞추었고, PCR 조건은 94°C에서 5분간 초기 DNA 변성 후, 94°C 1분, 55°C 1분, 72°C 1분에서 30 cycle 반응시킨 후 마지막으로 72°C에서 7분간 처리한 후 4°C에서 보관하였다. 증폭된 유전자는 PCR purification kit(QIAGEN)를 사용하여 정제 후 염

기서열 분석에 이용하였다. 염기서열 분석은 ALF-Express automatic sequencer(Pharmacia Biotech, Lyon, France)를 이용하였고, 염기서열 비교분석은 NCBI BLAST search 프로그램을 활용하였다.

살균제 항균력 검정. 국내에서 판매되는 농약 중 21가지의 약제(Table 1)를 선발하여 제주도에서 분리한 *T. wiesneri* 균에 대해 실내 항균력 검정을 실시 하였다. PDA 배지에 균 현탁액 100 μ l(2×10^8 cfu/ml)를 spreading 한 후 8 mm 크기의 paper disc를 치상하였다. paper disc에는 4단계(표준농도, 표준농도의 1/10배, 표준농도의 1/100배, 표준농도의 1/1000배)의 농약 희석액을 각각 35 μ l씩 흡수시킨 후 25°C 배양기에서 4일간 배양한 후 형성된 저지원(inhibition zone)의 길이를 측정하여 항균력을 검정하였다.

야외실험. 4월 1일 제주도의 가로수로 식재된 왕벚나무를 대상으로 농약을 수간주입 처리하였고, 약효조사는 약 3주 후인 4월 21일 실시하였다. 농약은 실내실험에서 항균효과가 우수하였던 2약종 tebuconazole과 propiconazole

Table 1. Fungicides used in this study and effects of fungicides on yeast like growth of *Taphrina wiesneri* isolate

Common name	Formulation ^a	Recommend dose(20 l)	Inhibition zone (mm)			
			1	×10	×100	×1000
Benomyl	50% WP	13 g	0	0	0	0
Captan	50% WP	40 g	21±3	0	0	0
Chlorothalonil	75% WP	25 g	0	0	0	0
Copper oxychloride metalaxyl-M	35%+7.5%WP	13 g	0	0	0	0
Copper oxychloride(Cu) metalaxyl	35%+15% WP	29 g	0	0	0	0
Copper hydroxide	77% WP	40 g	0	0	0	0
Copper hydroxide oxadixyl	62%+8% WP	40 g	0	0	0	0
Dithianon	75% WP	25 g	0	0	0	0
Dimethomorph	25% WP	20 g	0	0	0	0
Difenoconazole	5% EW	20 ml	63±5	46±3	24±4	0
Ethaboxam	15% SC	20 ml	0	0	0	0
Fenamidone fosetyl-Al	4.2%+63.3% WG	20 g	0	0	0	0
Fosetyl-Al	80% WP	50 g	0	0	0	0
Hymexazol	30% SC	20 ml	0	0	0	0
Mancozeb	60% WP	33 g	42±6	12±2	0	0
Mandipropamid	21.8% SC	10 ml	0	0	0	0
Oxadixy copper hydroxide	8%+62% WP	40 g	0	0	0	0
Propamocarb hydrochloride	66.5% SL	29 ml	0	0	0	0
Propiconazole	25% EC	6.7 ml	36±2	15±3	0	0
Tebuconazole	25% EW	10 ml	62±7	43±2	19±2	0
Thiophanate-methyl	70% WP	20 g	0	0	0	0

^a WP, Wettable powder; SC, Suspension concentrate; EC, Emulsifiable concentrate; EW, Emulsion in water; WG, Water dispersible granule; SL, Soluble concentrate.

을 기준량과 배량으로 처리하였으며, 수간 주입량은 1 l로 하여 1~2일간에 모두 주입될 수 있도록 조절하였다. 물만 처리한 대조구 3주, 2약종의 기준량, 배량 각각 3주씩 처리하였다. 약효조사는 농약처리 3주 후 1주당 임의로 가는가지 3개를 선택해 잎의 병징 유무를 조사하였다.

결과 및 고찰

벚나무 빗자루병은 감염된 잎에서는 기공이 충분히 열리지 못하기 때문에 증산과 광합성이 저하되어 수세를 약하게 하는 것으로 알려져 있다(Ikeda, 1998). 이러한 빗자루병의 방제법으로는 병원균인 *T. wiesneri*의 포자가 형성되기 전인 겨울부터 이른 봄에 걸쳐서 감염원이 되는 이병지를 제거하는 것이 가장 효과적인 방제법으로 알려져 있다(陳野, 1977). 우리는 벚나무 빗자루병의 화학적 방제를 위한 기초연구로서 2008년 3월부터 이 연구를 수행하게 되었다.

제주도의 왕벚나무 이병잎으로부터 낙하법을 이용하여 5개의 균을 순수분리하였다. 분리균들은 PDA 배지상에서

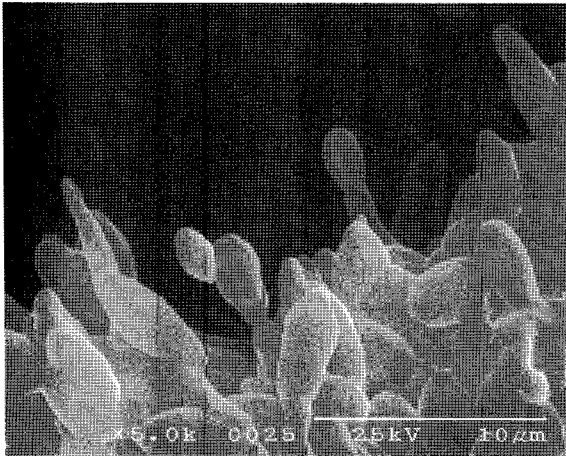


Fig. 1. Scanning electron microscopy of yeast like culture of *Taphrina wiesneri* isolate.

처음에는 흰색의 colony로 보이다 시간이 지남에 따라 연한 핑크색의 colony로 변하였으며, 배지상에서는 효모와 같은 모양으로 존재하였다(Fig. 1). 5개 분리균주의 DNA로부터 증폭된 ITS 유전자의 염기서열을 분석하기 위해 NCBI BLAST search 결과 *T. wiesneri* (DQ497616)와 99%의 상동성을 나타내어, 현미경 관찰과 유전적 조사 결과 분리균들은 *T. wiesneri*로 동정하였다. *T. wiesneri*균의 병원성 검정은 감수성 품종에 접종을 하여도 발병율이 매우 낮아 극히 병원성 재현이 어려운 병중 하나로 알려져 있는데(Yamamoto 등, 2007), 이번 연구에서는 아직 병원성 검정이 확인되지는 않았지만 이번 분리균이 병원균이라면 *T. wiesneri*에 의한 왕벚나무의 빗자루병은 국내에 처음보고 되는 것이다.

국내 시판중인 살균제 21종에 대한 빗자루병원균에 대한 실내 항균력 검정결과 tebuconazole, difenoconazole, propiconazole과 같은 triazole계 계통의 살균제가 가장 높은 항균력을 나타내었고, captan과 mancozeb도 항균효과를 나타내었다(Table 1). Tebuconazole과 difenoconazole 살균제의 경우 표준농도의 1/100배 희석에서도 항균효과를 나타내어 21개 농약 중 가장 우수한 효과를 나타내었다. Triazole계의 농약은 pyrimidine계와 함께 대표적인 에르고스테롤 생합성 저해제(ergosterol biosynthesis inhibitor, EBI)로 알려져 있으며, 식물 친화성과 침투이행성이 높아 예방 및 치료효과가 우수한 약제로 알려져 있다(Tomlin, 1997).

2008년 4월 제주도의 가로수로 식재된 왕벚나무를 대상으로 triazole계 농약 중 2개(propiconazole, tebuconazole)를 선택하여 기준량과 배량으로 수간주사한 후 3주 후에 방제효과를 조사하였다. *Taphrina*속의 균들은 일반적으로 기주식물의 조직내에서 균사상태로 존재하기 때문에(Mix, 1949; Yamamoto 등, 2007) 방제효율을 높이기 위해서 수간주사법을 이용하였다. Propiconazole은 기준량에서 25.7%, 배량에서 36.8%의 방제가를 나타냈으며, tebuconazole은

Table 2. Control efficiencies of two fungicides against cheery witches' broom disease in Jeju

Fungicides	Concentration	Degree of disease incidence ^a				Control value ^b
		1st	2nd	3rd	Av.	
Propiconazole	6.7 ml/20 l	17.3	55.6	77.6	50.2b ^c	25.7
	13.4 ml/20 l	30.7	64.8	32.7	42.7bc	36.8
Tebuconazole	10 ml/20 l	44.6	22.7	47.6	38.3bc	43.3
	20 ml/20 l	15.2	19.6	61.0	31.9c	52.8
Control	-	82.1	69.6	51.1	67.6a	-

^a 100 × (number of diseased leaves / total number of leaves).

^b [(disease incidence of control - disease incidence of treatment group) / disease incidence of control] × 100%.

^c Mean separation by DMRT at 5% level.

기준량에서 43.3%, 배량에서 52.8%의 방제가를 나타내었으며, 약해는 관찰되지 않았다(Table 2). *Taphrina*에 의한 식물병의 경우 늦은 가을이나 이른 봄, 즉 잎이 없는 상태에서 엽면분무 살포에 의해 방제되는 것으로도 보고되어 있는데, 추후에 수간주입 방법과 엽면분무 살포에 의한 방제 방법의 비교할 예정이다.

일본에서는 유전적 분석을 통해 전국적으로 빗자루병균은 6개의 type이 존재한다고 보고하였는데(Matsushita 등, 2006), 우리도 앞으로 전국적으로 균주를 수집하여 국내 빗자루병균의 다양성을 확인하고, 그에 따른 방제법을 적용하여 연구할 계획에 있다.

요 약

2008년 4월 제주도의 왕벚나무 빗자루병 이병염으로부터 5개의 균을 분리하여 생리학적 방법과 유전학적 방법을 이용해 동정한 결과 *Taphrina wiesneri*로 동정되었다. 21개의 농약을 이용하여 실내 항균력을 검정한 결과 tebuconazole, difenoconazole, propiconazole과 같은 triazole계의 농약이 우수한 항균효과를 나타내었다. Triazole계의 농약을 처리한 야외 실험 결과 25.7~52.8%의 빗자루병 방제효과를 나타내었다.

참고문헌

한국식물병리학회. 2004. 한국식물병명명목록. pp. 449-450.

- Ikeda, T. 1998. Ecophysiological characteristics of leaves on twig of *Prunus yedoensis* suffering from witches' broom disease caused by *Taphrina wiesneri*. *Abst. 7th Inter. Cong. Plant Pathol.* 3: 76.
- Johnston, J. C. and Trione, E. J. 1974. Cytokinin production by the fungi *Taphrina cerasi* and *T. deformans*. *Can. J. Bot.* 52: 1583-1589.
- 이창복. 1980. 대한식물도감. 향문사. pp. 450-456.
- Matsushita, N., Kanehira, K. and Suzuki, K. 2006. Genetic diversity of *Taphrina wiesneri* in Japan as revealed by PCR-RFLP analysis of the rDNA-IGS1 region. *Tree and Forest Health.* 10: 11-18.
- Mix, A. J. 1949. A monograph of the genus *Taphrina*. *Univ. Kansas Sci. Bull.* 33: 3-167.
- Roland, J. and Wain, H. K. 1984. The nomenclature of cultivated Japanese flowering cherries (*Prunus*). The Satozakura group.
- Tomlin, C. D. S. 1997. *A world compendium: The pesticide manual.* 11th ed., British Crop Protection Council. Surrey GU97PHG, UK.
- Yamamoto, A., Matsuda, Y. and Ito, S. I. 2007. Toward the establishment of control system on witches's broom of cherry-past knowledge and future direction of the study. *Tree and Forest Health.* 11: 115-120.
- 陳野好之. 1977. 櫻の天狗菓病の被害とその對策. 今月の農藥. 21: 102-105.