Weed Turf. Sci. 1(4):69~75, 2012
http://dx.doi.org/10.5660/WTS.2012.1.4.069
ISSN 2287-7924

Weed & Turfgrass Science
The Korean Society of Weed Science and The Turfgrass Society of Korea

Research Articles | Open Access

설부소립균핵병균 *Typhula incarnata*의 살균제 감수성

이승준[1] · 이동운[2] · 장태현[1]*
[1]경북대학교 생태환경시스템학부 식물자원환경전공, [2]경북대학교 생태환경관광학부 생물응용전공

Sensitivity to Fungicides of *Typhula incarnata* Isolates Causing Gray Snow Mold

Seong Jun Lee[1], Dong Woon Lee[2] and Taehyun Chang[1]*
[1]Divison of Ecology and Enviromental System, Major of Plant Resources and Environment, Kyungpook National University, Sangju, Gyeongbuk, 742-711, Korea
[2]School of Environmental Ecology and Tourism, Major of Applied Biology, Kyungpook National University, Sangju, Gyeongbuk, 741-711, Korea

ABSTRACT. In response of fungicides for control of gray snow mold, isolates of *Typhula incarnata* were collected from three golf courses in 2012 Yongpyeong, Korea and tested for sensitivity to propiconazole, tebuconazole and azoxystrobin fungicides. Four discriminatory concentrations were used to detect in vitro sensitivity of 50 isolates. Mean 50% effective concentration inhibiting mycelial growth (EC_{50}) values for tebuconazole was the lowest among the three fungicides. The EC_{50} value of tebuconazole ranged from 0.0005 μg ml^{-1} to 0.014 μg ml^{-1} with a mean of 0.0048 μg ml^{-1}. The mean EC_{50} values of propiconazole in triazole family was 0.5825 (0.78-1.651) μg ml^{-1}. EC_{50} value of azoxystrobin ranged from 0.0017 μg ml^{-1} to 0.131 μg ml^{-1} with a mean of 0.0278 μg ml^{-1}. There was no correlation among EC_{50} values for propiconazole, azoxystrobin and tebuconazole indicating no cross-resistance relationships with each other. Results of this study were confirmed no resistance isolates in vitro sensitivity of *T. incarnata* of three fungicides in Yongpyeong.

***Key words*:** Azoxystrobin, Gray snow mold, Propiconazole, Tebuconazole, *Typhula incarnata*

서 론

Typhula spp.에 의한 병은 Typhula blight로 겨울철 적설 아래서 *Typhula incarnata* 와 *Typhula ishikariensis*에 의해 발병하여 봄철 눈이 녹은 직후 에 피해가 나타난다(Smith and Reiter, 1976; Smith et al., 1989). 이 병은 전 세계적으로 북반구에 위치한 국가에서 중요한 병으로 미국(Steve, 1999; Stienstra, 1980; Gould et al., 1977), 캐나다(Hsiang et al., 1999), 유럽(Smith et al., 1989)등의 골프장에서 매년 큰 피해를 주고 있다(Smith and Reiter, 1976; Smith et al., 1989).

Typhula blight는 *T. incarnata*에 의한 병인 gray snow mold 과 *T. ishikariensis*에 의한 병 speckled snow mold로 구분 하는데, 국내에서는 설부소립균핵병을 일으키는 *T. incarnata*에 의한 병만 보고 되었다(Chang and Lee, 2012; Lee and Kim, 1992). 이들 병원균에 의해 발병하는 병은 외관상 증상은 구별하기가 어려운데, 적설아래서 균핵으로부터 자라나온 흰색의 균사가 거미줄처럼 자라면서 휴면기의 잔디 지제부를 침입하여 발병이 되지만(Smith et al., 1989), 발병 환경에는 큰 차이가 있다. *T. ishikariensis*는 주로 적설기간이 100일 이상인 조건에서 발병이 되고 (Hsiang et al., 1999), *T. incarnata*는 적설 이 없는 곳에서도 발병이 되지만, 보통 65일 이상의 적설기간이 유지되었을 때 많이 발생한다(Smith and Reiter, 1976).

Typhula spp.의 생물학적 특성은 균사의 경우 포자를 형성하지 않고, 불리한 환경조건에서 균핵을 형성하여 균핵과 균사로서 토양이나 잔디 뗏취층(thatch)에서 여름을 보내며 생존한다(Smith and Reiter, 1976). 균핵은 휴면상태로 장기간 생존할 수 있으며, 보통 적설아래서 균핵으로부터 발아한 균사가 주요 전염원이 되어(Hsiang et al.,

*Corresponding author; Taehyun Chang
Tel: +82-54-530-1204, Fax: +82-54-530-1204
E-mail: thchang@knu.ac.kr
Received : October 15, 2012, Revised : October 30, 2012, Accepted : November 12, 2012

1999) 잎의 기공이나 상처를 통해서 침입을 하기도 하지만(Burpee and Goultry, 1984), *T. incarnata* 균사는 주로 뿌리에 감염을 한다(Hsiang et al., 1999).

*T. incarnata*에 의한 설부소립균핵병의 증상은 이른 봄에 눈이 녹은 직후에 작은 원형이나 부정형의 패취로 나타나며, 눈이 녹고 있는 지역에는 패취위에 거미줄 같은 흰색 균사가 자라는 것을 볼 수 있고(Chang and Lee, 2012), 밀집색과 흰 회색으로 나타나며 패치의 크기는 직경 2-10 cm에 이른다(Smith and Reiter, 1976).

설부소립균핵병의 방제는 저항성 종과 품종을 사용하거나(Chang et al, 2011), 화학적 방제 방법이 있다(Chang et al., 2011, Smiley, 1983). Bentgrass에서 저항성 종은 creeping bentgrass와 colonial bentgrass 종이 velvet bentgrass 종보다 저항성을 보인다고 한다(Chang et al., 2011). 그러나 병 발생이 심한 유럽과 미국은 주로 살균제에 의존하고 있지만(Vargas, 1972; Chang et al., 2011), 국내 골프장의 경우 관리비를 줄이기 위하여 피해가 심한 그린에는 약제를 사용하지만, 피해가 심하지 않은 그린의 경우 겨울철에 그린 위에 폴리에칠렌 보온덮개를 덮어두기도 한다(Chang and Lee, 2012).

설부소립균핵병 방제에 사용하는 살균제는 활성의 범위와 작용 기작이 다르다. 미국은 보호살균제인 PCNB(Chang et al., 2011)와 가격이 저렴한 침투성 유기염소계 살균제인 chlorothalonil을 비롯하여 iprodione, flutolanil, propiconazole, tebuconazole triadimefon 및 가격이 비싼 azoxystrobin 살균제까지 사용하고 있다(Burpee, 1994; Smith et al., 1989; Stienstra, 1980; Chang et al., 2011). Strobilurins계 살균제인 azoxystrobin은 여러 식물병원성 곰팡이의 침입 전 생장과 발아를 저해하고(Godwin et al., 1994), triazole계로 dimethylene inhibitor (DMI)제제인 propiconazole과 tebuconazole은 초기 감염 후에는 일반적으로 곰팡이 성장을 저해하지 않는 살균제이다(Hanssler and Kuck, 1987).

국내에서는 설부소립균핵병과 동전마름병 방제에 사용하는 살균제들중 triazole 계통인 propiconazole과 tebuconazole은 곰팡이 세포막에 중요한 ergosterol 생합성을 저해하는 것으로 demethylation inhibitors (DMI)제로 알려져 있으며, strobilurin계에는 azoxystrobin 등 10종이 등록이 되어 있다(Vargas et al., 1992). 이들 약제들은 대부분 여름철에 발생하는 라이족토니아와 관련된 병들인 동전마름병(dollor spot)과 갈색잎마름병(Brown patch) 등을 동시에 방제할 수 있는 농약으로 여름철 골프장에서 자주 사용하는 농약이다(http://www.koreacpa.org). 그러므로 이들 약제들은 용평지역 3곳 골프장(용평, 버치힐 및 알펜시아)에서 여름철 병 방제를 위하여 늦은 봄부터 늦여름까지 여러 번 살포하고 있는 살균제이다. 이들 중에서 DMI 살균제인 propiconazole 과 tebuconazole은 미국에서 1992년부터 동전마름병에 저항성이 보고되어 있다(Vargas et al., 1992).

본 연구는 여름철에 빈번히 사용하는 tebuconazole, propiconazole 및 azoxystrobin 살균제를 이용하여 설부소립균핵병 방제 효과를 예측하기 위하여 골프장에서 분리한 *T. incarnata* 균주에 대한 감수성을 평가하여 기초적인 자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

샘플채집 및 병원균의 분리

강원도 횡계면 대관령에 위치한 3곳의 골프장(용평, 버치힐 및 알펜시아)에 눈이 녹은 직후인 2012년 4월 10일-11일에 설부소립균핵병이 많이 발생한 그린 주변과 페어웨이에서 설부소립균핵병이 발생한 패취에서 샘플을 채집하였다. 3곳 골프장의 잔디는 페어웨이와 그린주변은 한지형 잔디인 Kentucky bluegrass로 식재 되어 있었다. 병원균의 샘플은 각 골프장에서 50개씩 분리하였다. 샘플을 채집한 골프장은 여름철에 propiconazole, azoxystrobin 및 tebuconazole 살균제를 2번 이상 사용하였다.

병원균의 순수분리를 위해 샘플에서 분리한 균핵을 0.5% sodium hypochloride 용액에서 30초간 살균하고, 다시 70% 알코올에서 30초간 살균하였다. 표면 살균을 한 균핵은 멸균수에 침지하여 세척한 후, streptomycin 100 mg과 ampicillin 1000 mg L^{-1}을 첨가한 PDA(potato dextrose agar: Difco Laboratories) 배지 위에 1개의 균핵을 올려 놓았다. 균핵을 치상한 petri dishes는 파라 필름으로 밀봉하여 12ºC 인큐베이터에서 14일간 배양하였다. 순수분리를 위하여 균핵에서 자라는 균사의 가장자리에서 5 mm 크기의 균사조각을 잘라내어 위와 동일한 항생제가 함유된 PDA배지에 재 접종하여 배양하였다. 1차적으로 육안으로 균사와 균핵의 형태적인 관찰을 통하여 시험용 균주를 선별한 후 최종 균주의 동정을 위하여 임의적으로 5 균주를 선발하여 DNA를 추출한 뒤 rRNA ITS 지역의 ITS5와 ITS4 프라이머를 이용 염기서열분석을 통하여 최종적으로 확인하였다. 본시험에서 50개 균주(용평: 20균주, 버치힐: 15균주, 알펜시아: 15균주)를 사용하였으며, 시험 중에 균주는 PDA 사면배지에서 배양하여 4ºC에서 보관하면서 사용하였다.

살균제의 감수성 조사

본 실험에서는 사용한 살균제는 골프장에서 여름철병 방제용으로 자주 사용하는 Triazole 계통인 propiconazole (a.i. 25%: 프로피코나졸 유제)와 tebuconazole(a.i. 25%: 테브코나졸 유제) 살균제 및 strobilurin계인 azoxystrobin(a.i. 20%: 아족시스트로빈 액상수화제) 살균제를 사용하였다

Table 1. List of fungicides used in this study.

Common name	Trade name and rates	Mode of action	Fungicide group (Family)
Propiconazole	Banner-25% (1 L m^2)	biosynthesis of ergosterol inhibitor (demethylation inhibitors (DMI))	Triazole
Azoxystrobin	Heritage - 20% (1 L m^2)	Respiration inhibitor	Strobilurin
Tebconazole	Horicure-25% (1 L m^2)	biosynthesis of ergosterol inhibitor (demethylation inhibitors (DMI))	Triazole

(Table 1). 골프장에서 분리한 50개 균주에 대한 감수성을 조사하기 위하여 PDA 배지에 혼용할 살균제는 실제 골프장에서 사용하는 살균제로 멸균수에 농도에 맞게 희석하여 준비하였다. 살균제 혼용 PDA 배지를 만드는데 사용하는 살균제는 주성분 함량이 20-25%로 유사하여 3종의 살균제의 최종농도를 동일하게 0.001, 0.01, 0.1, 1.0 μg a.i. ml^{-1} 되게 하였다. 이때 PDA 배지에 세균의 오염을 방지하기 위하여 streptomycin(300 μg ml^{-1})을 첨가하였다. 살균제 혼용 PDA배지는 PDA를 먼저 살균 후 살균제 주성분의 분해를 방지하기 위하여 PDA배지의 온도가 60ºC 식힌 후에 멸균수에 희석하여 준비한 살균제를 넣고 잘 혼용하였다. 병원균의 접종은 12ºC에서 14일간 배양한 균총의 가장자리로부터 직경 5 mm 크기의 균사 조각으로 떼어 내어 살균제 혼용 배지에 올려놓고 밀봉 후 12ºC 인큐베이터에서 14일간 배양 후에 균총의 직경을 측정하였다. 균총의 크기는 가로와 세로를 측정하여 평균값을 구하여 사용하였으며, 모든 시험은 5반복으로 2번 실시하였다. 상대적인 균사생장 값은 살균제 첨가배지에서 자란 균사 생장 값에 무첨가 배지에서 자란 균사생장 값으로 나누어서 구하였다. 균사 생장 억제율(%) 값은 살균제를 첨가하지 않은 배지상에서 균총의 직경과 살균제를 첨가한 배지에서 균총의 직경을 구하였다. 각 살균제에 대한 균주의 EC_{50} 값은 균총의 생장을 효과적으로 50%까지 억제하는 살균제의 농도는 SAS 프로그램을 이용하여 구하였다.

균사생장 억제율(%) = (무처리군의 균사생장지름 – 처리군의 균사생장지름)/ 무처리군 균사생장지름 × 100

통계 분석

T. incarnata 균주를 3종의 살균제에 대한 상대적인 균사생장억제 효과를 조사하여 통계 분석 하였다. 모든 데이터는 SAS(Statistical Analysis System: program, SAS Institute Inc., 2003) 프로그램을 이용하여 3종의 살균제에 대하여 상대적인 균사생장을 효과적으로 억제하는 농도(EC_{50})를 구하였으며, Fit Y by X 모델에서 one way 분석을 위하여 평균(means)/ ANOVA 분석/ T-test와 표준편차 및 all pairs, Tukey HSD($P \leq 0.05$) 분석을 하였고, 각각 살균제에 대한 상대적인 균사생장에 대한 분석을 EC_{50} 값으로 t-검정을 하였으며, 살균제 간에 상관관계도 분석을 EC_{50} 값으로 검정하였다.

결과 및 고찰

설부소립균핵병 균주에 대한 살균제 감수성

설부소립균핵병원균에 대한 살균제의 감수성 정도를 조사하기 위하여 50개 균주에 대한 DMI 살균제인 propiconazole와 tebuconazole 과 strobilurin계 살균제인 azoxystrobin을 이용하여 균사의 상대적인 생장을 효과적으로 50%을 억제하는 농도인 EC_{50} 값을 조사하였다(Table 2).

3종의 살균제 중에서 tebuconazole에서 EC_{50} 값이 낮았다. 평균 EC_{50} 농도는 0.0048±0.0026 μg ml^{-1} 이었으며, 최소와 최대 EC_{50} 값의 범위는 0.0005 μg ml^{-1} - 0.014 μg ml^{-1} 이었다. 반면, propiconazole의 평균 EC_{50} 농도는 0.5825± 0.3391 μg ml^{-1} 이고, EC_{50} 범위는 0.078 μg ml^{-1} 에서 1.651 μg ml^{-1}이었다. Azoxystrobin은 평균 EC_{50} 0.0278± 0.0304 μg ml^{-1} 이고, 최소와 최대 EC_{50} 범위는 0.0017 μg ml^{-1} 에서 0.131 μg ml^{-1}이었다.

설부소립균핵병원균 50개 균주에 대한 3종의 살균제에 대하여 4개 농도에서 상대적인 균사 생장에 대한 감수성 반응분포도를 조사한 결과는 Fig. 1과 같다. 살균제 종류에 대한 균주의 균사 생장 반응에 큰 차이를 보였다. Propiconazole에 대하여 50개 균주 중에 EC_{50} 0.5 μg ml^{-1} 이하 농도에서 29개 균주로 전체 균주 중 58%를 차지하여 감수성이 낮게 나타났으며, 1.0 μg ml^{-1} 이상의 농도에 해당하는 균주수도 6개로(12%), 3종의 살균제 중에서 EC_{50} 이 가장 높아 감수성이 크게 낮았다. 반면, 동일한 triazole 계통의 살균제인 tebuconazole은 50개 균주 모두가 EC_{50} 이 0.01 μg ml^{-1} 이하 농도에 감수성을 보여 propiconazole 살균제와는 대조를 보였다. Azoxystrobin에 대해서 모든 균주의 EC_{50} 은 0.5 μg ml^{-1}으로 propiconazole에 비하여 상대적으로 감수성을 보였다.

3종 살균제에 대한 감수성의 연관성을 살균제 함유 배지와 무 함유배지에 대한 상대적인 균사생장 값과 EC_{50}

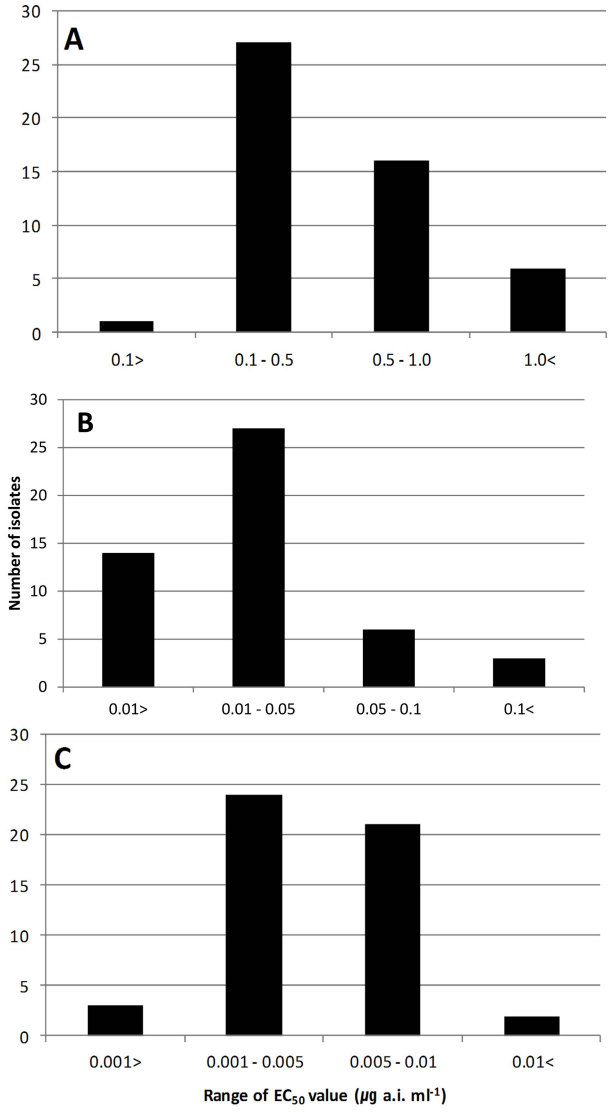

Fig. 1. Frequency distributions of fungicide concentration resulting in 50% growth inhibition (EC_{50}) to (A) propiconazole; (B) azoxystrobin; and (C) tebconazole for 50 isolates of *Typhula incarnata* from three golf courses in Yongpyeong, Korea as determined by growth on potato dextrose agar amended with four serial concentrations of fungicide. Sensitivity to each fungicide was analyzed separately for each experimental run (graph bars).

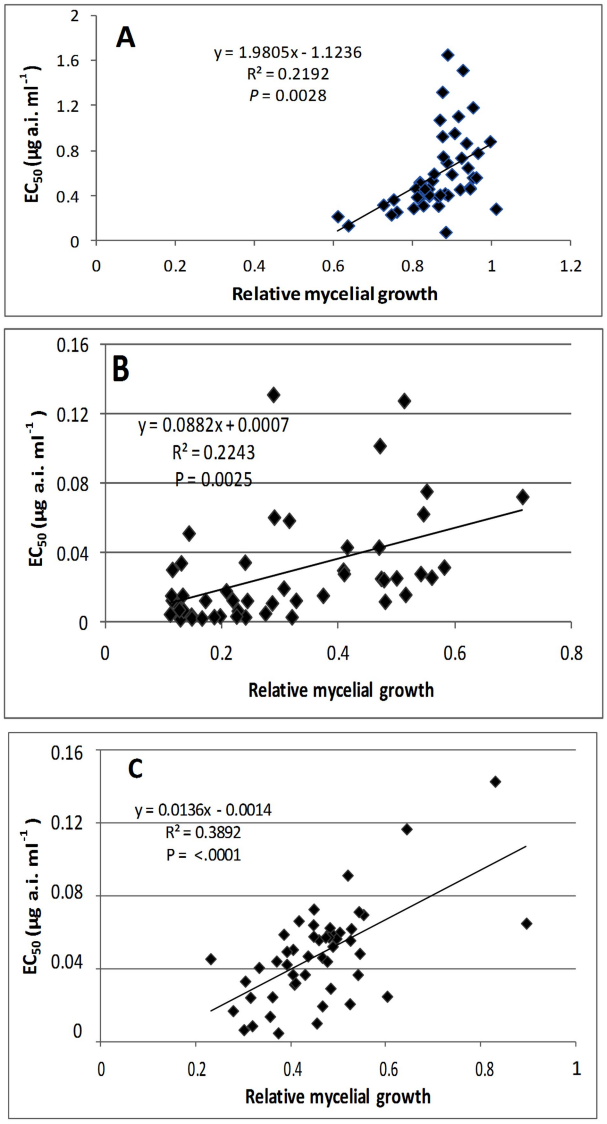

Fig. 2. Relationship between fungicide concentration resulting in 50% growth inhibition (EC_{50}) values and relative mycelial growth of *T. incarnata* on potato dextrose agar amended with a discriminatory concentration of (A) propiconazole (0.1 μg a.i. ml^{-1}); (B) azoxystrobin (0.1 μg a.i. ml^{-1}); and C: tubconazole (0.01 μg a.i. ml^{-1}). Relative mycelial growth was calculated after 48 h by dividing the mean colony diameter of *T. incarnata* on PDA amended with propiconazole, azoxystrobin and tubconazole by the mean diameter of isolates grown on non-amended PDA.

의 분산분석을 한 결과는 Fig. 2과 같이 통계적으로 연관성을 보였다. 각각 살균제를 EC_{50} 값이 평균에 해당하는 농도에서 상대적인 균사 생장 값으로 분산분석을 한 결과, 상대적 균사 생장과 EC_{50} 사이에 상관관계가 있는 것으로 나타났다. Propiconazole은 0.1 μg a.i. ml^{-1}농도에서 상대적인 균사생장 값은 평균 0.86±0.080로 EC_{50} 과의 상관관계가 0.468로 통계적인 유의성($P = 0.0028$)의 차이가 있었고 (Fig. 2(A)), azoxystrobin은 상대적인 균사 생장 평균 값이 0.307±0.164로 EC_{50} 과의 상관관계가 0.474로 통계적인 유의성($P = 0.0025$)의 차이가 있었다(Fig. 2(B)). Tebuconazole도 0.01 μg a.i. ml^{-1}에서 평균 0.458±0.119로 EC_{50} 과의 상관관계가 0.624로 통계적인 유의성($P = <.0001$)의 차이가 있었다(Fig. 2(C)).

상대적인 균사생장을 효과적으로 저해하는 농도인 EC_{50}

을 실내에서 결정하는 것은 포장에서 병 방제를 위한 살균제의 효과를 예측할 수 있는 좋은 방법이다(Jo et al., 2006). 설부소립균핵병 *T. incarnata*에 대한 감수성 baseline이 아직 국내에는 설정이 되어 있지 않지만, 추후 병 방제를 위한 살균제의 효과를 예측하고, 또한 년차적으로 이들 살균제의 효과를 모니터링하거나, 감수성의 정도를 관찰하는데 중요한 기준이 될 것으로 생각한다. 본 시험에서 분리하여 사용한 50개 균주에 대한 평균 EC_{50}은 이미 이들 살균제에 노출이 된 균주에 대한 감수성의 정도를 확인할 수 있게 됨으로써 추후 포장에서 병 방제를 위한 살균제의 선택과 사용농도에도 중요한 기초자료가 될 것으로 생각한다.

Propiconazole 살균제는 EC_{50}이 타 살균제 보다 높다는 것은 설부소립병원균과 동전마름병원균과 관련된 연구가 필요할 것으로 생각된다. Jo et al.(2006)에 의하면 propiconazole 살균제를 사용한 50개의 골프장에서 분리한 동전마름병 균주에 대한 propiconazole에 대한 평균 EC_{50} 값이 0.17 μg ml^{-1} 로 baseline 균주 보다 100-200배 정도 감수성이 낮은 것으로 보아 포장에서 살균제의 효과를 저하시킬 수 있으며, Putman et al.(2010)은 동전마름병에 propiconazole 살균제에 대한 baseline 균주의 EC_{50}이 0.0016 μg ml^{-1}이었지만, 동일 살균제가 노출된 골프장에 EC_{50}이 높게 분포 함으로서 저항성이 나타날 가능성을 제시하였으며, 또한 동일 골프장에서 살균제의 감수성 정도가 다양하다고 하였다.

설부소립균핵병 방제용 살균제인 propiconazole, azoxystrobin 및 tebuconazole의 작용기작은 모두 지상부 침투성 살균제이다. Triazole계인 propiconazole과 tebuconazole 살균제는 sterol 생합성을 저해하는 작용 기작을 갖고 있고, strobilurin계인 azoxystrobin 살균제는 호흡저해제이다(Table 1). 이들 침투성 살균제는 장기간 사용하면 대상 병원균에 따라 약제에 대한 저항성을 유발하여 방제효과가 낮아지게 된다(Burpee, 1994; Smith et al., 1989).

본 시험에서 사용한 약제 중 propiconazole 살균제는 국내 설부소립균핵병 방제약제로는 아직 등록이 되어 있지 않으나, 미국에서는 등록되어 보편적으로 사용하는 약제이다. 그러나 propiconazole 살균제는 국내에서 여름철 동전마름병 등 봄부터 여름철에 발생하는 잔디 병에 대한 방제를 위해 3곳의 골프장에서 사용하는 약제이다. 그 외 다른 2종의 약제도 여름철 병 방제를 위하여 년 2회 이상 사용하는 약제로 겨울철 설부소립균핵 병원균에 대해서도 약제 감수성이 낮은 것으로 생각 되었으나, 감수성 조사에서 아주 감수성이 높게 나타 남으로서 아직 이들 약제에 대한 저항성은 나타내는 기준인 EC_{50}이 높게 나타나지 않은 것으로 보아 병원균에 대한 저항성 균은 출현하지 않아 병 방제에 효과적일 것으로 생각한다.

Table 2. EC_{50} (effective concentration inhibiting by 50% of mycelial growth) values of three fungicides to the mycelial growth of *Typhula incarnata* isolates[a].

Fungicide	EC_{50}[b]		
	Minimum	Average	Maximum
Propiconazole	0.0784	0.5825±0.3391	1.6519
Azoxystrobin	0.0017	0.0278±0.0304	0.1312
Tebconazole	0.0005	0.0048±0.0026	0.0143

[a] Total of 50 isolates collected from three golf courses in Yongpyeong
[b] Figures was EC_{50} value (μg a.i. ml^{-1}).
The sensitivity of *T.incarnata* to fungicides was investigated through the agar dilution method

그러나 3종의 살균제 중 propiconazole은 모든 균주에 대하여 효과적으로 균사생장을 억제하는 EC_{50} 값이 다른 2종의 약제보다 높게 나타난 것으로 보아 추후 년차적으로 모니터링 할 필요할 있을 것으로 생각한다. 외국에서도 *T. incarnatar*에 대한 propiconazole에 저항성은 보고된 것이 없다.

저항성 살균제의 등장은 포장에서 병 방제 효과를 줄이고, 관리비용을 높인다. 초기 골프장에서 자낭균류인 동전마름병(*S. homoeocarpa*)에 대한 살균제의 저항성은 1960년 후반에 benzimidazoles계의 살균제가 소개되면서 benomyl과 thiophanate-methyl 살균제에 대한 동전마름병에 대한 저항성 균주가 미국 여러 주에서 발견되었다(Cole et al., 1968). 그 이후 새로운 계통의 살균제인 dicarboximides에 대한 동전마름병에 대한 저항성이 1980년대에 보고 되었고(Detweiler et al., 1982), demethylation inhibitors(DMIs) 살균제에 대한 저항성 보고는 이 살균제가 나오고 10년 뒤인 1990년대에 처음보고가 되었다(Vargas et al., 1992).

Chang and Lee (2012)가 용평 골프장에서 Kentucky bluegrass 종에서 실시한 설부소립균핵병 방제시험에서 80% 이상 방제 효과를 보였지만, 미국에서 실시한 Typhula blight 방제시험에서 propiconazole을 사용한 결과 90%이상 방제 효과가 있어(Chang et al., 2011) 두 시험간에 차이를 보였으므로 국내에서 propiconazole을 사용한 병 방제 효과에 대한 추가적인 연구가 필요 할 것 생각한다.

살균제 간의 상관관계

3종의 살균제를 서로 다른 계통과 동일 계통간에 감수성 정도에 대한 상관 관계를 조사하고자 두 그룹 간의 상관관계를 비교분석을 하였다(Fig. 3). Triazole계인 propiconazole과 strobiluin계인 azoxystrobin 간의 R^2 값이 0.0526으로 상관관계가 나타나지 않았고(Fig. 3(A)), 동일 계통인 propiconazole

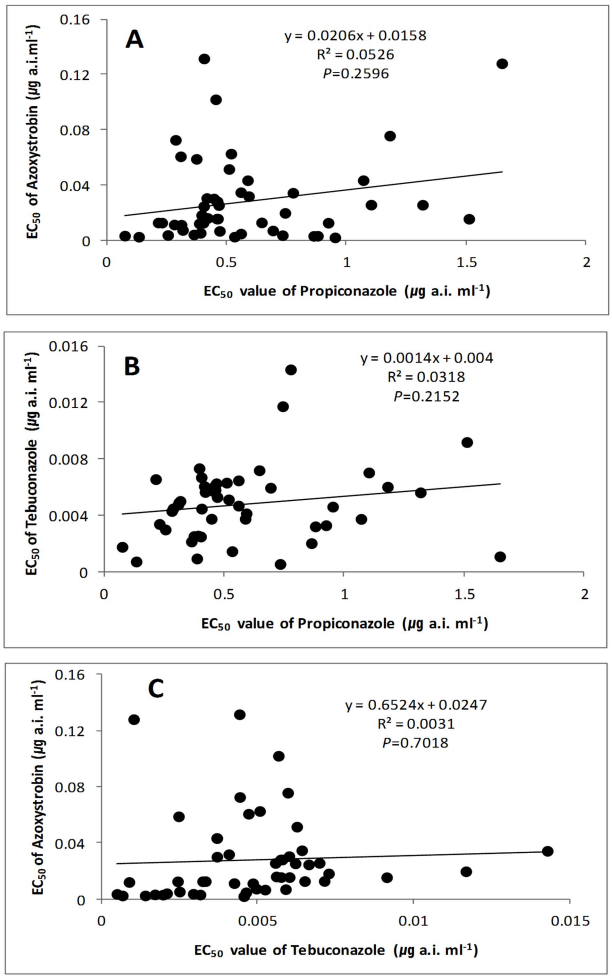

Fig. 3. Relationship between EC_{50} and EC_{50} values for (A) propiconazole and azoxystrobin; (B) propiconazole and tebconazole; (C) azoxystrobin and tebconazole fungicides against 50 isolates of *Typhula incarnata*. R^2 value was the correlation value for the relationship. Relative mycelial growth of *T. incarnata* on potato dextrose agar amended with fungicides of several concentrations.

과 tebuconazole 간에도 상관관계가 없었으며(Fig. 3(B)), tebuconazole 과 azoxystrobin 간에도 R^2 값은 0.0031로 상관관계가 없었다(Fig. 3(C)).

본시험에서 3종의 살균제에 대한 감수성 정도 간에 상관 관계가 있는 지를 살펴봄으로써 두 그룹 간의 교차 저항성 발현 여부 가능성을 알아 볼 수 있었다. 계통이 다른 약제 간에 혼용에 의한 조사대상 균주에 대한 감수성의 정도에서 상관관계가 나타나지 않음으로써 여름철 빈번히 사용하는 약제들이 아직은 설부소립균핵 병원균에 대하여 교차 저항성을 반응이 보이지 않고 있음을 알 수 있었다.

Hsiang et al.(1997)은 동전마름병 균주에서 propiconazole 과 tebuconazole 두 약제간에 교차저항성은 나타나지 않았으나, tebuconazole 과 mycobutanol 및 mycobutanol 과 propiconazole 살균제 사이에서는 교차저항성이 나타났다. 이들 DMI 살균제인 propiconazole 과 tebuconazole은 미국이나 캐나다에서 잔디에 사용 등록이 되어 많이 사용하고 있으며, 이들 살균제는 오랫동안 사용함에 따라 교차저항성을 나타냄으로 동전마름병에 대한 살균제 반응 baseline 과 살균제 감수성 모니터링 연구가 많이 수행되어 가치 있는 정보를 제공하고 있을 뿐만 아니라 살균제 저항성 작용 위원회에서 별도 분리가 되어 있을 정도로 중요하게 다루어지고 있는 살균제이다(Brent, 1995).

국내 골프장에서 설부소립균핵병이 발생되는 골프장수는 몇 개가 되지 않지만, 이들 약제들은 여름철 동전마름병을 비롯한 다른 병 방제를 위하여 자주 사용하는 살균제임으로 아직까지는 저항성균이 발견은 없지만, 동전마름병과 갈색잎마름병과 같이 병원균이 다를 경우 저항성 발현에 대한 보고가 전혀 다르기 때문에, 이들 병원균에 대한 살균제 저항성 모니터링도 필요할 것으로 생각 된다. 또한 본 실험에서 확보한 균주는 이들 살균제에 대한 감수성 평가에 있어 중요한 자료가 될 것으로 생각한다

본 연구 결과 용평 3곳 골프장에서 채집한 *T. incarnata* 균주는 triazole계인 propiconazole 과 tebconazole 및 strobiluin계인 azoxystrobin 대하여 실내감수성 시험에서 저항성 균주가 없다는 것을 확인할 수 있었으며 이들 약제를 이용한 설부소립균핵병 방제는 효과가 있을 것으로 생각한다.

요 약

설부소립균핵병 방제를 위한 살균제 반응을 조사하기 위하여 *Typhula incarnata* 균주를 2012년 용평에 3곳 골프장에서 채집하여 propiconazole, tebuconazole 및 azoxystrobin 살균제에 대하여 감수성을 평가하였다. 50개의 균주에 대한 실내에서 감수성을 평가를 위하여 4개의 다른 농도로 수행하였다. 균사생장을 효과적으로 50%까지 억제하는 농도인 EC_{50} 은 tebuconazole이 가장 낮았다. Triazole 계인 tebuconazole의 평균 EC_{50} 은 0.0048 μg ml^{-1} 이며, 최소 EC_{50} 은 0.0005 μg ml^{-1} 농도이며, 최대 EC_{50} 의 농도는 0.014 μg ml^{-1} 이었다. 반면, Propiconazole의 평균 EC_{50} 은 0.5825 μg ml^{-1} 이고, EC_{50} 의 범위는 0.078 μg ml^{-1} 에서 1.651 μg ml^{-1}이었다. Strobilurin 계인 azoxystrobin은 평균 EC_{50} 은 0.0278 μg ml^{-1} 이고, 최소와 최대 EC_{50} 은 범위는 0.0017 μg ml^{-1} 에서 0.131 μg ml^{-1}이었다. Propiconazole, azoxystrobin 및 tebuconazole 살균제간의 EC_{50} 사이에 상관 관계가 나타나지 않았으며, 이들 균주와 이들 살균제 간에 교차저항성도 없었다. 이 연구 결과 용평에서 채집한 *T. incarnata* 균주는 3종의 살균제에 대

하여 실내감수성 시험에서 저항성 균주가 없다는 것을 확인할 수 있었다.

주요어: Azoxystrobin, 설부소립균핵병, Propiconazole, Tebuconazole, *Typhula incarnata*

References

Brent, K.J. 1995. Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed. FRAC Monograph 1:1-48.

Burpee, L.L. 1994. Interactions among low-temperature - tolerant fungi: Prelude to biological control. Car. Plant Pathology 16:247-250.

Burpee, L.L. and Goultry, L.G. 1984. Evaluation of fungicides for control of pink and gray snow mold on creeping bentgrass. Turfgrass Res., Ann Rept. Ont. Agric. Coll., Univ. Guelph, ontario, Canada. pp. 6-7.

Chang, T.H., Chang, S.W. and Jung, G. 2011. Evaluation of fungicides, nozzle type, and spray volume on control of typhula blight on cool season turfgrass. Asian J. Turfgrass Sci. 25(2):160-170.

Chang, T.H. and Lee, S.J. 2012. Evaluation of fungicides for control of gray snow mold caused by *Typhula incarnata* on cool season turfgrass. Asian J. Turfgrass Sci. 26(2):102-109. (In Korean)

Cole, H., Taylor, B. and Duich, J. 1968. Evidence of differing tolerances to fungicides among isolates of *Sclerotinia homoeocarpa*. Phytopathology 58:683-686.

Detweiler, A. R., Vargas, J. M., Jr. and Danneberger, T. K. 1983. Resistance of *Sclerotinia homoeocarpa* to iprodione and benomyl. Plant Dis. 67:627-630.

Fungicide list in Korea. 2012. http://www.koreacpa.org (Accessed Nov. 10, 2012).

Godwin, J.R., Young, J.E. and Hart, C.A. 1994. Effects on development of cereal pathogens. Proceedings of the brighton crop protection conference. British Crop Protection Council, Farnham, UK. pp. 253-258.

Gould, C.J., Goes, R.L., Ensign, R.D. and Law, A.G. 1977. Snow mold control on turf grass with fungicides in the Pacific Northwest. Pullman,Wash. State Univ., Coll. Agric. Res. Center 849:1-7.

Hanssler, G. and Kuck, K.H. 1987. Microscopic studies on the effect of folicur on pathogenesis of brown rust of wheat (*puccinia recondita*. sp. *tritici*). Pflanzenschutz-Nachr. Bayer 40:153-180.

Hsiang, T., Matsumoto, N. and Millett, S.M. 1999. Biology and management of *Typhula* snow mold of turfgrass. Plant Dis. 83:788-798.

Hsiang, T., Yang, L. and Barton, W. 1997. Baseline sensitivity and cross-resistance to demethylation-inhibiting fungicides in Ontario isolates of *Sclerotinia homoeocarpa.* European J. Plant Pathol. 103:409-416.

Jo, Y.-K., Niver, A. L., Rimelspach, J. W. and Boehm, M. J. 2006. Fungicide sensitivity of *Sclerotinia homoeocarpa* from golf courses in Ohio. Plant Dis. 90:807-813.

Lee, D.H. and Kim, J.W. 1992. Identification and ecology of occurrence of typhula snow mold of graminous plants 1.characters and pathogenicity of *Typhula incarnata* isolated from diseased turfgrass of snow mold disease. Korean J. Plant Pathol. 8(2):101-106. (In Korean)

Putman, A.I., Jung, G. and Kaminski, J.E. 2010. Geographic distribution of fungicide-insensitive *Sclerotinia homoeocarpa* isolates from golf courses in the northeastern United States. Plant Dis. 94:186-195.

Smiley, R.W. 1983. Compendium of Turfgrass Diseases. American Pythopathological Society St. Paul, MN. p. 102.

Smith, J.D. and Reiter, W.W. 1976. Snow mold control in bentgrass turf with fungicide 1975. Can. Plant Dis. Surv. 56:104-108.

Smith, J.D., Jackson, N. and Woolhouse, A.R. 1989. Fungal diseases of amenity turfgrasses. E. & F. N. Spon, New York, USA. pp. 75-89.

Steve, M. 1999. Distribution, biological and molecular characterization, and aggressiveness of Typhula snow molds of Wisconsin golf course. Degree of PhD, Univ. of Wisconsin - Madison.

Stienstra, W.C. 1980. Snow molds on Minnesota golf greens. In Proc. 3rd Int. Turfgrass Res. Conf. (ed, J.M. Beard), Am. Soc. Agron., Crop Sci. Soc. Am., Soil Sci. Soc. Am. and Int. Turfgrass Soc. pp. 271-274.

Vargas, J.M., Beard, J.B. Jr. and Payne, K.T. 1972. Comparative incidence of typhula blight and Fusarium patch on 56 Kentucky bluegrass cultivars. Plant Dis. Rep. 56:32-34.

Vargas, J.M., Jr., Golembiewski, R. and Detweiler, A.R. 1992. Dollar spot resistance to DMI fungicides. Golf Course Manage. 60(3):50-54.