농약과학회지 (Korean J. Pestic. Sci.)
Vol. 24, No. 1, pp. 82-90 (2020)
Open Access https://doi.org/10.7585/kjps.2020.24.1.82
ORIGINAL ARTICLES

Online ISSN 2287-2051
Print ISSN 1226-6183
Check for updates

콩 균핵마름병을 일으키는 *Macrophomina phaseolina*에 대한 살균제 효과 검정

고영미[1] · 최지영[2] · 최경자[3] · 김흥태[2,*]

[1]화성시농업기술센터, [2]충북대학교 농업생명환경대학 식물의학과, [3]한국화학연구원

Evaluation of Fungicides for the Control of *Macrophomina phaseolina* Causing the Charcoal Rot of Soybean

Young Mi Ko[1], Jiyoung Choi[2], Gyueng Ja Choi[3], Heung Tae Kim[2,*]

[1]Hwaseong-si Agricultural Technology Center, SaemMaeul 1-7, Bongdam-eum, Hwaseong-si, Gyeonggi-do 18316, Korea
[2]Department of Plant Medicine, College of Agriculture, Life & Environment Sciences, Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk 28644, Korea
[3]Korea Research Institute of Chemical Technology, 141 Gajeong-ro, Yuseong-gu, Daejeon 34114, Korea

(Received on March 9, 2020. Revised on March 16, 2020. Accepted on March 19, 2020)

Abstract A fungicide selection was carried out through a laboratory and a greenhouse test to control the charcoal rot caused by *Macrophomina phaseloina*. The agar dilution method was used to evaluate the activity of 30 fungicides against the mycelial growth of *M. phaseloina*. Among them, 5 fungicides such as benomyl, fluazinam, fludioxonil, tebuconazole, and azoxystrobin, which showed excellent efficacy, and a mixture of thiophanate-methyl and triflumizole, which are already used for controlling leaf diseases of soybean. In the seed coating inoculation test, when the seeds were immersed in each fungicide solution for 1 hour immediately before inoculation with *M. phaseloina*, all of the 6 fungicides tested had excellent control efficacy. The seeds were inoculated with the pathogen and then sown in plastic pots. When the fungicide was subjected to soil drenching one day after sowing and tested for curative effect, the efficacy of azoxystrobin and tebuconazole was excellent. However, there was a limit to the use as a candidate of fungicide, because of the phytotoxicity of tebuconazole decreasing a seed germination rate and a plant growth even at low concentrations.

Key words Azoxystrobin, Charcoal rot of soybean, *Macrophomina phaseolina*, Seed soaking treatment.

서 론

*Macrophomina phaseolina*에 의해서 발생하는 콩 균핵마름병(가칭)은 국내에서 처음 보고하는 병으로(투고 중), 소립균핵을 만들고, 토양이나 종자 오염을 통해서 전반되는 것으로 알려져 있다(Khan, 2007). *M. phaseolina*의 생장 적온은 30-37°C로 알려져 있으며, 포장에서도 일반적인 식물병이 발생하는 기상 조건보다는 더 고온인 28-35°C의 건조한 조건에서 발생하는 것으로 알려져 있다(Dhingra and Sinclair, 1978; Smith and Wyllie, 1999). *M. phaseolina*에 의한 병을 방제하는 방법으로 파종 날짜의 조정, 윤작, 재식밀도 축소, 토양 수분 관리 등 다양한 경종적인 방법이 제안되었지만, 현장에서 실효성이 떨어지는 경우가 많았다(Almeida et al., 2008; Bowen and Schapaugh, 1989; Francl et al., 1988; Todd, 1993; Wrather et al., 2008). 그러다 보니 저항성 품종을 재배하는 것이 병 방제에 있어서 효율적이라는 제안과 더불어 저항성 품종 육종에 대한 연구가 실행되었다. 하지만, 저항성 품종을 육성하기가 쉽지 않을 뿐만 아니라, 육성하기까지도 상당한 시간을 필요로 하기 때문에

*Corresponding author
E-mail: htkim@cbnu.ac.kr

현장에 대한 적용성이 떨어지는 단점이 있다(Mengistu et al., 2007; Mengistu et al., 2011; Pearson et al., 1984; Smith and Carvil, 1997). 대부분의 식물병은 방제하는 특별한 방법이 있지 않다면, 살균제를 사용하여 방제하는 방법이 실행도 용이하며, 효과적이다(Gautam, 2014; Saxena et al., 2016).

콩 균핵마름병 방제를 위한 살균제 선발은 실험실 내에서 병원균을 직접 사용하여 병원균의 생장 억제효과를 조사하는 *in vitro* 검정법과 식물체를 사용하는 온실과 포장 검정법 등이 있다. *in vitro* 검정법은 병원균 생장에 대한 살균제의 억제효과를 직접 검정할 수 있는 장점이 있는데, *in vitro* 검정법 중의 하나인 한천희석법을 이용하여 benomyl과 carbendazim과 같은 benzimidazole계 살균제가 *M. phaseolina*의 균사생장을 효과적으로 억제한다는 것이 알려져 있다(Chaudhary et al., 2017; Tonin et al., 2013). Parmar et al.(2017)의 결과를 보더라도 100 μg/ml의 carbendazim을 처리하면, 피마자에서 분리한 *M. phaseolina*의 균사생장이 85.7% 억제되었을 뿐만 아니라, 소립균핵 형성도 완전히 억제되었다. 또한 비침투이행성 살균제인 propineb와 mancozeb를 2,000 μg/ml의 농도로 처리하였을 때에도 균사생장과 소립균핵의 형성이 거의 100% 억제되었다. Benzimidazole계 살균제가 아닌 difenoconazole과 trifloxystrobin은 참깨에서 분리한 *M. phaseolina*에 대해서 250 μg/ml 처리구에서 균사생장을 84.6%와 86.2% 억제하였으며, 온실과 포장에서는 병 발생을 각각 78.6%와 85.0%, 그리고 83.7%와 88.6%씩 억제하였다(Bashir et al., 2017).

최근 국내의 기후가 고온건조해지면서 콩 재배지에서 *M. phaseolina*에 의한 균핵마름병이 처음 보고되었다(투고 중). 처음 보고된 병이기는 하지만, 이미 미국과 캐나다의 콩 주요 재배지에서는 생산량을 감소시키는 중요한 병원균으로 보고되어 있고, 국내의 기후 변화가 계속 진행되어 고온 건조한 기후가 지속된다면, 우리나라도 균핵마름병에 의한 피해가 가속화될 가능성이 높기 때문에, 균핵마름병과 병원균인 *M. phaseolina*에 대한 방제 연구가 진행되어야 한다. 본 연구에서는 다양한 방제 방법 중에서 살균제를 사용하는 화학적 방법에 대한 정보를 제공하고자 하였다. 작용기작이 다른 30종의 살균제를 선발하여 병원균에 대한 균사생장 억제효과를 조사하였으며, 우수한 효과를 보인 몇 가지의 살균제에 대해서는 온실에서 병 방제 효과를 조사하여 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험에 사용한 병원균

포장에서 균핵마름 증상을 보이는 콩, 참깨, 팥, 고추 등에서 분리한 *M. phaseolina* HSW16-141(콩), HSM16-108(참깨), HAB18-048(팥), HCV18-056(고추) 균주를 사용하여 살균제의 균사생장 억제실험과 온실에서 병 방제효과 실험을 진행하였다. 선발한 4개의 균주는 30°C의 PDA (Potato Dextrose Agar) 사면 배지에서 배양한 후, 4°C에서 보관하며 실험에 사용하였다.

실험에 사용한 살균제

실험에 사용한 살균제는 Table 1과 같이 총 30종이었다. 각각의 살균제는 작용기작별로 세포 분열을 억제하는 3종의 살균제(나1군, 나2군), 미토콘드리아에서 세포호흡을 저해하는 11종 살균제(다2군, 다3군, 다4군, 다5군), 삼투압 신호전달을 저해하는 3종 살균제(마2군, 마3군), 에르고스테롤의 생합성을 저해하는 7종 살균제(사1군, 사3군), 그리고 보호살균제 5종(카군)과 혼합제 1종(나1군+사1군)을 선발하여 병원균의 균사생장 억제효과를 검정하였다. 본 실험에서 사용한 살균제 그룹은 농촌진흥청 농사로 사이트에 나와 있는 '국내 등록농약의 성분별 작용기작 분류 및 포장제 표시제'의 작용기작별 분류 기준을 따라서 사용하였다(Mode of action, 2020).

살균제의 균사생장 억제효과

한천희석법으로 *M. phaseolina*의 균사생장 억제효과를 조사하였다. 모든 살균제는 PDA 배지에 0.01, 0.1, 1.0, 10.0, 100.0 μg/ml가 되도록 첨가하였으며, 살균제를 첨가하기 전에 세균에 의한 오염을 방지하기 위해서 300 μg/ml의 streptomycin을 첨가하였다. 선발한 *M. phaseolina* 균주 4개를 30°C의 PDA배지에서 3일간 배양하여 접종원으로 사용하였다. *M. phaseolina*의 균총 선단에서 직경 5 mm의 균사 조각을 떼어내어 준비한 살균제 배지에 균사 면이 배지 쪽으로 가도록 뒤집어서 접종하고, 30°C에서 2일간 배양하였다. 살균제의 균사생장 억제효과는 살균제 첨가 및 무첨가 PDA배지에서 균총의 직경을 조사하여 아래 식으로 계산하였다.

$$\text{균사생장 억제효과(\%)} = \left(1 - \frac{\text{살균제 첨가 PDA배지에서 균총의 직경}}{\text{살균제 무첨가 PDA배지에서 균총의 직경}}\right) \times 100$$

처리한 각 살균제 농도의 균사생장 억제효과를 구한 후에 엑셀 프로그램을 이용하여 살균제 농도와 억제효과 간의 회귀직선을 구하였다. 회귀식을 이용하여 병원균의 균사생장을 50% 억제하는 농도를 구하여, 각 살균제의 효과를 비교하였다.

온실 검정에 사용한 병원균, 살균제와 기주식물

온실 검정에는 콩에서 분리한 *M. phaseolina* HSW16-141

Table 1. List of fungicides used in this study

Target site	Fungicides	MOA[a] code	Active ingredient (%)	Formulation[b]
β-tubulin assembly in mitosis	benomyl	B1	50	WP
	thiophanate-methyl	B1	70	WP
	carbendazim + diethofencarb	B1+B2	25+25	WP
succinate-dehydrogenase (complex II)	isopyrazam	C2	12.57	EC
	fluxapyroxad	C2	15.3	SC
	floupyram	C2	40	SC
	flutolanil	C2	15	EC
cytochrome bc_1 at Qo site (complex III)	pyraclostrobin	C3	22.9	EC
	azoxystrobin	C3	21.7	SC
	kresoxim-methyl	C3	50	WG
	trifloxystrobin	C3	22	SC
cytochrome bc_1 at Qi site (complex III)	cyazofamid	C4	10	SC
	amisulbrom	C4	13.5	SC
uncouplers of oxidative phos phorylation	fluazinam	C5	50	WP
MAP/Histidine Kinase in osmotic signal transduction (*os-2, HOG1*)	fludioxonil	E2	20	SC
MAP/Histidine Kinase in osmotic signal transduction (*os-1, Daf1*)	iprodione	E3	50	WP
	procymidone	E3	50	WP
C14-demethylase	difenoconazole	G1	10	SC
	metconazole	G1	20	SC
	tebuconazole	G1	20	SC
	hexaconazole	G1	2	SC
	fluquinconazole	G1	25	WP
	prochloraz	G1	25	EC
Keto-reductase Inhibitors	fenhexamid	G3	50	WP
Multi site contact activity	chlorothalonil	M	75	WP
	iminoctadine tris-albesilate	M	40	WP
	propineb	M	70	WP
	folpet	M	50	WP
	dithianon	M	75	WP
Mixture	thiophanate-methyl + triflumizole	B1+G1	45+15	WP

[a]MOA was abbreviated for the mode of action (FRAC code list, 2020).
[b]Abbreviations indicating the formulation of the fungicides are as follows. WP; wattable powder, EC; emulsifiable concentrate, SC; suspension concentrate, WG; water dispersible granule.

균주를 사용하였다. 한천희석법의 결과를 참고로 하여 총 6종의 살균제를 선발하였는데, 선발한 살균제는 benomyl (a.i. 50%, WP), azoxystrobin (a.i. 21.7%, SC), fluazinam (a.i. 50%, WP), fludioxonil (a.i.20%, SC), tebuconazole (a.i. 20%, SC) 그리고 콩 자주무늬병과 점무늬병에 등록되어 사용되고 있는 thiophanate-methyl과 triflumizole 혼합제 (a.i. 45%+15%, WP) 등이었다. 온실 검정에는 연풍콩을 사용하였다. 콩의 재배를 위하여 원예용 상토(부농 원예용 상토 하이 상토2호)를 121°C에서 60분간씩 2회 멸균하여 플라스틱 폿트(직경; 6 mm, 높이; 5 mm)에 담고, 충분히 관수한 후, 폿트 중앙에 깊이 4 cm 정도의 구멍을 내어 콩 종자를 파종하였다. 콩 종자는 육안으로 건전한 연풍콩을 선별하여 2% NaOCl용액에 2분간 표면소독한 후, 증류수로 다시 3회 세척하여 사용하였다.

병원균 접종 및 병 발생

셀로판지를 121°C에서 15분간 멸균한 후 PDA 배지에 올려놓고, 30°C의 PDA 배지에서 3일간 배양한 *M. phaseolina* HSW 16-141 균사 선단에서 직경 7 mm의 균사 조각을 떼어내어 균사 면이 아래로 가도록 뒤집어서 셀로판지를 올려

놓은 PDA 배지 중앙에 접종하였다. 병원균은 30°C의 암조건에서 2일간 배양한 후, 균핵 형성을 촉진하기 위해서 25°C로 옮겨서, 다시 7일간 암조건에서 배양하였다. 배지 위에 형성된 소립균핵을 멸균한 붓을 사용하여 조심스럽게 수확하고 멸균수를 부어 배지 위의 남은 소립균핵을 수거하였다. 수확한 균핵은 페트리 접시에 담은 후, 30°C에서 4일간 건조시켰다. 수확한 소립균핵은 무게를 잰 후 4°C에서 보관하면서 접종원으로 사용하였다. 준비한 병원균의 전염원은 콩 종자에 분의 처리하여 접종하였다. 종자 분의 접종을 위해서 연풍콩을 멸균수에 1시간 동안 침지한 후 꺼내어 표면의 수분을 제거하고, 종자 1개 당 접종원으로 준비한 소립균핵을 6.25 mg씩 분의 접종하였다. 접종한 콩은 준비한 폿트에 파종하고, 온실로 옮겨서 2일 후부터 관수하며 병 발생을 유도하였다.

발병도 조사

병원균을 접종하고 14일(제1본엽 출현기) 후에 발병 정도를 Table 2와 같은 발병지수로 조사한 후에 발병도를 계산하였다. 온실에서 *M. phaseolina*에 의한 균핵마름병의 발생은 Fig. 1에서 보는 것과 같이 병 발생 초기에는 콩의 떡잎에 갈변된 반점이 나타나기 시작하고, 시간이 지남에 따라서 병징이 나타난 떡잎이 탈락하였다. 병이 진전되면서 떡잎 부위 밑으로 줄기를 타고 수침상의 병징이 발생하다가 갈변하며 마르기 시작하였다. 심한 경우 유묘기에 잘록 증상을 보이며 고사하였다. 이 후 줄기의 마른 부위에 소립균핵이 형성되었다. 이런 일련의 발병 과정을 가지고 Table 2와 같은 발병지수를 만들어 병 조사를 실시하였고, 아래식으로 발병도를 계산하였다.

$$\text{발병도 (\%)} = \frac{\Sigma(\text{발병 개체수} \times \text{발병지수})}{4 \times N} \times 100$$

살균제 처리

선발한 6종의 살균제를 예방과 치료 처리하여 병 방제 효과를 검정하였다. 살균제의 예방처리를 위해서 파종 전에 콩 종자를 정해진 농도의 살균제 용액에 각각 1시간씩 침지하였다. 침지한 종자는 종이타월로 물기를 가볍게 제거하고 병원균의 소립균핵을 종자에 묻혀서 접종한 후, 파종하였다. 살균제 치료 처리는 파종 후 토양 관주처리로 진행하였는데, 콩 종자를 멸균수에 1시간 먼저 침지한 후 병원균을 분의 접종하고, 플라스틱 폿트에 파종하였다. 파종 후 접종원으로 사용한 소립균핵의 발아 등을 고려하여 2일간은 관수를 금지하면서 관리하였다. 파종 1일 후에 정해진 농도로 조제한 살균제 용액을 폿트 당 10 ml씩 관주 처리하였다.

*M. phaseolina*의 살균제에 대한 저항성 모니터링

모니터링에 사용한 살균제는 benomyl, fluazinam, metconazole을 사용하여 한천희석법으로 모니터링을 실시하였다. 실험에는 병든 콩, 참깨, 팥, 고추에서 분리한 총 65개의 *M. phaseolina* 균주를 사용하였다.

통계 처리

살균제 효과를 조사하기 위한 실험실과 온실 검정의 모든 처리는 3반복으로 진행하였으며, 각 처리별 평균간 차이를

Table 2. Disease index to assess charcoal rot caused by *Macrophomina phaseolina*

Disease index	Symptoms
0	No symptom
1	Brownish spots or lesions on cotyledons
2	Falling off of cotyledons and browning where the cotyledon has fallen
3	Progressing of water-soaked symptom and stem blight to the stem near the ground
4	Development of damping-off and formation of microsclerotia on cotyledon, stem and root

Fig. 1. Disease index of charcoal rot caused by *Macrophomina phaseolina.* The numbers indicate the disease index do charcoal rot. The criteria for the incidence index are described in Table 2.

Table 3. EC_{50} values (μg/ml)[a] of fungicides against *Macrophomina phaseolina*[b] isolated from several crop plants

Fungicides	MOA code	HSM16-108	HSW16-141	HAB18-048	HCV18-056
benomyl	B1	0.18	0.09	0.14	0.09
thiophanate-methyl	B1	2.52	2.03	1.23	1.08
carbendazim + diethofencarb	B1/B2	0.07	0.06	0.08	0.05
isopyrazam	C2	0.19	0.32	0.17	0.22
fluxapyroxad	C2	20.29	1.33	0.30	0.68
floupyram	C2	7.30	1.50	0.72	0.94
flutolanil	C2	>100.00	>100.00	22.03	>100.00
pyraclostrobin	C3	0.06	0.11	0.29	0.08
azoxystrobin	C3	7.95	1.27	5.83	10.92
kresoxim-methyl	C3	>100.00	>100.00	>100.00	39.29
trifloxystrobin	C3	2.27	1.86	2.16	1.46
cyazofamid	C4	>100.00	>100.00	>100.00	73.13
amisulbrom	C4	>100.00	>100.00	>100.00	>100.00
fluazinam	C5	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
fludioxonil	E2	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
iprodione	E3	0.53	0.51	0.37	0.39
procymidone	E3	0.20	0.21	0.14	0.16
difenoconazole	G1	0.02	0.02	0.01	0.03
metconazole	G1	0.11	0.10	0.01	0.06
tebuconazole	G1	0.11	0.22	0.07	0.09
hexaconazole	G1	0.41	1.18	0.61	0.92
fluquinconazole	G1	>100.00	>100.00	>100.00	>100.00
prochloraz	G1	0.07	0.17	0.06	0.18
fenhexamid	G3	>100.00	>100.00	77.88	78.06
chlorothalonil	M	1.10	0.55	0.62	0.73
iminoctadine tris-albesilate	M	0.32	0.02	<0.01	0.14
propineb	M	6.45	3.92	4.06	5.60
folpet	M	11.88	6.77	1.85	3.58
dithianon	M	95.39	78.62	53.21	>100.00
thiophanate-methyl + triflumizole	M	0.02	0.03	0.09	0.06

[a]EC_{50} values refer to the concentration of fungicides that inhibit 50% mycelial growth of pathogenic fungi.
[b]4 isolates of *M. phaseolina* obtained from infected soybean (HSW16-141), sesame (HSM16-108), red bean (HAB18-048), pepper (HCV18-056) were used in this study to evaluate the efficacy of fungicides against the mycelial growth through an agar dilution method.

분산분석하였고, 각 처리간의 차이는 Duncan's multiple range test로 분석하였다(IBM SPSS Statistics 24).

결과 및 고찰

살균제의 균사생장 억제효과

작용기작이 다른 30종의 살균제를 선발하여 PDA에서 균사생장 억제효과를 조사하였다(Table 3). Benzimidazole계 살균제가 속하는 나군의 균사생장 억제효과는 우수하였다. 세포호흡을 저해하는 다군의 살균제는 살균제의 작용점과 화학 구조에 따라서 효과에 차이가 있었다. 다군 살균제 중에서는 다5군인 fluazinam의 효과가 가장 우수하였는데, 실험에 사용한 4종의 *M. phaseolina* 균주에 대한 EC_{50}값이 모두 0.01 μg/ml 이하였다. 가장 낮은 처리 농도인 0.01 μg/ml에서 조차 콩에서 분리한 *M. phaseolina* HSW16-141의 균사생장을 73.3% 억제하였으며, 참깨에서 분리한 HSM16-108, 팥에서 분리한 HAB18-048, 고추에서 분리한 HCV18-056 균주에 대한 억제율도 82.1, 66.6, 82.5%이었다. 다2군과 다3군에 속하는 isopyrazam과 pyraclostrobin의 효과도 우수하였다. 동일하게 다2군과 다3군에 속하는 다른 살균제들의 EC_{50}값은 isopyrazam과 pyraclostrobin에 비하며 매우 높게 나타나 균사생장에 대한 억제효과가 낮음을 알 수

있었다. 하지만, Kumar et al. (2016)은 trifloxystrobin을 tebuconazole과 혼합하여 만든 혼합제(a.i. 25% + 50%, WG)를 *M. phaseolina*에 25 μg/ml을 처리하였을 때, 균사생장 억제효과가 76.3%이었으며, 15 μg/ml에서는 60.4%에 지나지 않았지만, 입자의 직경이 1.3-3.0 μm이었던 혼합제의 입경을 108-130 nm의 나노 입자 크기로 만들어 *M. phaseolina*에 처리하였을 경우, 균사생장 억제효과가 상승하여 25 μg/ml와 15 μg/ml에서 억제효과가 100%와 99.6%까지 상승하였다고 보고한 바 있고, 이러한 결과는 살균제의 입자 크기를 나노 입자 크기로 제조하여 병원균에 처리하게 되면, 기존의 살균제와는 다르게 *M. phaseolina*의 균사와 소립균핵에 미세한 입자가 부착하여 형태적인 이상이 초래되면서 살균제의 효과가 상승한 것이라고 해석하였다. 이 결과는 살균제의 제형이 병원균 억제에 효과를 미칠 수 있다는 결과이기 때문에 다양한 제형에서의 연구가 필요할 것으로 본다. 다군 중에서 다4군 살균제인 cyazofamid와 amisulbrom의 효과는 매우 저조하였다. 신호전달체계에 작용하는 마군 살균제인 fludioxonil, iprodione, procymidone의 효과는 우수하였으며, 특히 마2군인 fludioxonil의 효과가 우수하였다. 사군 살균제는 사3군인 fenhexamid와 사1군에 속하는 fluquinconazole을 제외한 나머지 살균제의 균사생장 억제효과는 우수하였다. 카군인 보호살균제 중에서 iminoctadine tris-albesilate와 chlorothalonil의 균사생장 억제효과는 우수하였지만, 나머지 다른 살균제의 균사생장 억제효과는 저조하였다. 한천희석법을 이용한 본 연구를 통해서 다양한 기작의 살균제가 *M. phaseolina*의 생장을 억제하는 것을 알 수 있었다. 실내 검정의 결과가 포장에서 효과와 부합하지 않는 경우도 있지만, 새롭게 문제가 되는 병원균에 대한 우수한 방제제를 개발하기 위해서는 좋은 정보가 될 것이라고 생각한다.

온실 실험을 통한 살균제 효과 검정

온실 검정에서는 병든 콩에서 분리한 *M. phaseolina* HSW16-141을 사용하여 종자 분의 접종 하였으며, 모든 살균제는 병원균을 접종하기 전과 후에 종자 침지와 토양 관주를 통하여 각각 예방 및 치료 처리하였다. 병원균을 종자 분의 접종한 경우 무처리구의 발병도는 42%이었다. 병원균을 접종하기 직전에 살균제 용액에 종자를 침지 처리한 경우, fludioxonil을 제외한 모든 살균제는 가장 낮은 처리농도였던 1.0 μg/ml에서도 80% 이상의 병 방제 효과를 보였다 (Fig. 2). 병원균을 종자에 분의 접종하여 파종한 후, 살균제를 토양에 관주처리한 경우에는 종자를 살균제 용액에 침지 처리하였을 때보다 방제효과가 감소하였다. 100 μg/ml의 benomyl, fluazinam, fludioxonil의 효과는 60% 미만으로 감소하였지만, 100 μg/ml의 azoxystrobin, tebuconazole, thiophanate-methyl과 triflumizole 혼합제의 병 방제 효과는 78, 84, 73%이었다.

콩 균핵마름병균인 *M. phaseolina*는 토양 병원균이다. 일차 전염원은 토양 중이나 오염된 종자, 또는 병든 식물체에 생존하는 소립균핵으로, 28-35°C의 온도에서 발아하며 식물

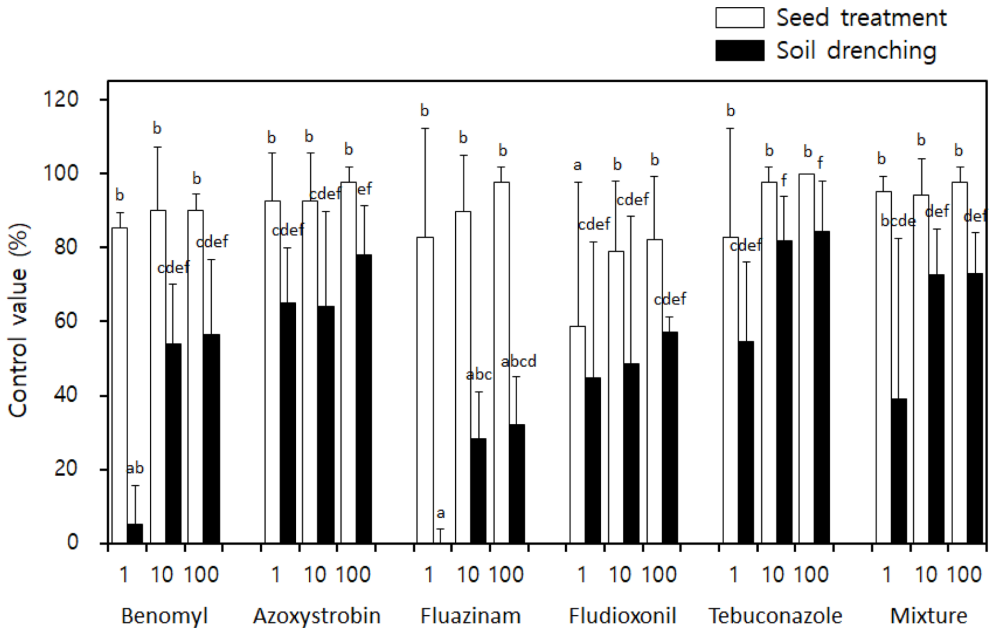

Fig. 2. Control activity of 6 fungicides against the charcoal rot caused by *Macrophomina phaseolina*. Fungicides were treated by soaking soybean seeds for 1 hour in the fungicide solution one day before the inoculation of the pathogen, or they were poured into the soil by 10 ml/pot one day after sowing soybean seed inoculated with the pathogen. The investigation of disease incidence was conducted 14 days after inoculation. All treatment values were marked with standard deviation. The bar with the same letter on it is not significantly different $P < 0.01$ by Duncan's multiple range test.

체 뿌리의 표피를 침입한다(Kaur et al., 2012). 포장에서 균핵마름병이 발생하는 양상을 고려한다면, 병원균을 종자 분의 접종하는 방법이 포장 발병 양상과 유사할 것이기 때문에, 살균제의 효과를 검정할 때에도 종자 분의 접종법이 적합할 것으로 생각한다. 종자 분의 접종법을 이용한 살균제 검정에서 azoxystrobin과 tebuconazole은 종자 침지와 토양 관주 처리에서 모두 우수한 효과를 보였다. 하지만 tebuconazole의 경우에는 모든 처리구에서 콩의 생장이 심하게 저해되는 약해 증상을 보여 병 방제를 위해서 종자 처리나 유묘에 토양 관주 처리용으로 사용하는데 한계가 있었다. 하지만 azoxystrobin과 같이 strobilurin계에 속하는 살균제는 종자 처리 및 토양 관주 처리에 사용이 가능할 것으로 생각한다. Bradley (2008)도 2003년과 2004년에 걸쳐서 11개소의 실험 포장에서 strobilurin계 살균제인 azoxystrobin과 metalaxyl 혼합제를 콩에 종자 처리한 결과, 5개소 이상의 포장에서 뿌리에서 병반 형성이 억제되었고, 콩 생산량이 증가하였다. 또한 trifloxystrobin과 metalaxyl, azoxystrobin과 mefenoxan, fludioxonil 혼합제를 콩에 종자 처리하였을 때, *Pythium* sp, *Rhizoctonia solani* 등과 같은 종자와 토양 전반하는 병원균의 방제가 가능하였다(Urrea et al., 2013). Strobilurin계 살균제는 종자 처리뿐만 아니라 토양 관주 처리에서도 사용하는 경우가 있다. Azoxystrobin을 토양에 관주 처리한 결과, 딸기 leather rot과 감자 검은무늬썩음병(black scurf)에 대한 방제 효과가 우수하였다(Rebollar-Alviter et al., 2005; Rahman et al., 2016). 하지만 azoxystrobin을 토양에 처리할 경우 토양 중에 서식하는 진균의 다양성을 파괴할 수 있는 가능성이 있기 때문에 토양에 직접 처리하는 것은 여러 실험을 통해서 결정하는 것이 타당할 것으로 본다(Adetutu et al., 2008; Vuyyuru et al., 2018). 하지만 종자 침지 처리의 효과를 검정하기 위한 처리 시간, 처리 후 병원균 접종 시간과 방법 등에 대해서는 많은 연구를 진행한다면 더 효율적인 처리 방법을 제공할 수 있을 것으로 생각한다.

*M. phaseolina*의 살균제에 대한 저항성 발현

나군, 다군, 사군에 속하는 benomyl, fluazinam, metconazole 등 3종의 살균제를 선발하여 여러 기주식물에서 분리한 병원균 중에서 저항성균의 존재 여부를 조사하였다.

Fig. 3에서 보는 것과 같이 benomyl, fluazinam, metconazole에 대한 평균 EC_{50}값은 0.202 μg/ml (0.131-0.290 μg/ml), 0.030 μg/ml (0.027-0.048 μg/ml), 0.229 μg/ml (0.193-0.415 μg/ml)였으며, 모든 살균제에서 저항성균의 출현은 없었다. 기존에 benomyl은 다양한 식물병원균에서 저항성균의 발현이 보고되어 있어, 만약 benomyl에 대해서 저항성균인 *M. phaseolina*가 발견된다면, 콩 균핵마름병 방제를 위해서 benomyl을 토양 관주 처리용 살균제로 사용하기 어렵게 된다. 하지만 화성, 연천, 정읍, 당진, 김제, 부안, 남해 등에서 채집한 병든 콩, 참깨, 팥, 고추로부터 분리한 64개 균주에 대한 저항성 검정을 실시한 결과를 보면, benomyl에 대한 저항성균이 발견되지 않았고, Fig. 2에서 보는 것과 같이 100 μg/ml의 benomyl을 병원균을 접종한 후에 토양 관주 처리하여, 우수한 치료 효과를 얻을 수 있었기 때문에, benomyl을 토양 관주용 살균제로 사용할 수 있을 것으로 생각한다.

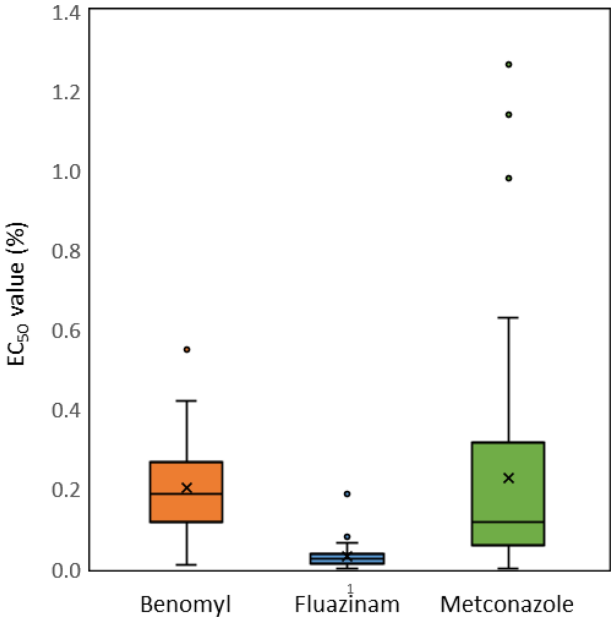

Fig. 3. Distribution of EC_{50} values of *Macrophomina phaseolina* against a fungicide as benomyl, fluazinam and metconazole. X marks mean EC_{50} values of all isolates of *M. phaseolina* tested for each fungicide.

콩 균핵마름병은 최근 기후 변화와 관련되어 새롭게 문제병으로 떠오를 가능성이 많다. 이미 미국 남부 지역에서는 2010년부터 2012년까지 연 3년간 *M. phaseolina*가 일으키는 charcoal rot에 의한 콩 생산량 감소 피해가 가장 컸다는 보고가 있으며(Allen et al., 2017), 국내의 기후도 점점 고온 건조해지면서 *M. phaseolina*처럼 고온 건조한 조건에서 새로운 병을 유발할 수 있는 병원균의 밀도가 높아질 것으로 판단한다. 따라서 새롭게 문제 병으로 발전할 가능성이 높은 병에 대한 포장 조사와 새로운 방제의 방법, 적용 가능한 살균제의 선발과 효과 검정 등에 대한 현장의 연구가 필요해지고 있다. 본 연구는 이런 점에서 새롭게 보고한 고온성 식물병인 콩 균핵마름병에 대한 방제 살균제를 선발하여 실험실과 온실에서 실험하였고 선발하여 실험하였고, 병 방제를 위해서는 종자 침지 처리와 토양 관주 처리가 중요하며, 총 30개 살균제 중에서 azoxystrobin의 효과가 우수하다는 결과를 얻었다. Azoxystrobin은 다3군에 속하는 살균제인데, Table 3에서 보면 동일한 다3군의 살균제 중에서 pyraclos-

trobin과 trifloxystrobin의 균사생장 억제효과가 azoxystrobin보다 우수하였다. 따라서 더 우수한 살균제를 선발하기 위해 다3군의 다른 살균제를 이용하여 온실과 포장에서의 병 방제 효과를 검정해야 할 것으로 생각한다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ014956022020)의 지원에 의하여 수행되었습니다.

Literature Cited

Adetutu EM, Ball1 AS, Osborn AM, 2008. Azoxystrobin and soil interactions: degradation and impact on soil bacterial and fungal communities. J. Appl. Microbiol. 105(6):1777-1790.

Allen TW, Bradley CA, Sisson AJ, Byamukama E, Chilvers MI, et al., 2017. Soybean yield loss estimates due to diseases in the United States and Ontario, Canada, from 2010 to 2014. Plant Health Prog. 18(1):19-27.

Almeida AMR, Sosa-Gomez DR, Binneck E, Marin SRR, Zucchi, MI, et al., 2008. Effect of crop rotation on specialization and genetic diversity of *Macrophomina phaseolina*. Trop. Plant Pathol. 33(4):257-264.

Bashir MR, Mahmood A, Sajid M, Zeshan MA, Mohsan M, et al., 2017. Exploitation of new chemistry fungicides against charcoal rot of sesame caused by *Macrophomina phaseolina* in Pakistan. Pak. J. Phytopathol., 29(2):257-263.

Bowen CR, Schapaugh WT, 1989. Relationships among charcoal rot infection, yield, and stability estimates in soybean blends. Crop Sci. 29(1):42-46.

Bradley CA, 2008. Effect of fungicide seed treatments on stand establishment, seedling disease, and yield of soybean in North Dakota. Plant Dis. 92(1):120-125.

Chaudhary DH, Pathak DM, Chaudhary MM, 2017. I*n vitro* efficacy of fungicides against dry root rot (*Macrophomina phaseolina*) of soybean. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci 6(8):1298-1301.

Dhingra OD, Sinclair JB, 1978. Effect of temperature on growth, In Biology and pathology of *Macrophomina phaseolina*. Dhingra, O. D. and J. B. Sinclair, Eds; Publisher: Vicosa, Brasil, pp 50-86.

FRAC code list, 2020. http://https://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2020-final.pdf?sfvrsn=8301499a_2

Francl LJ, Wyllie TD, Rosenbrock SM, 1988. Influence of crop rotation on population density of *Macrophomina phaseolina* in soil infected with *Heteroderma glycines*. Plant Dis. 72(9):760-764.

Gautam AK, 2014. *Colletotrichum gloeosporioides*: Biology, Pathogenicity and Management in India. J Plant Physiol. Pathol. 2(2) DOI:10.4172/2329-955X.1000125.

Infantino A, Kharrat M, Riccioni L, Coyne CJ, McPhee KE, et al., 2006. Screening techniques and sources of resistance to root diseases in cool season food legumes. Euphytica 147(1):201-221.

Kaur S, Dhillon GS, Brar SK, Vallad GE, Chand R, et al., 2012. Emerging phytopathogen *Macrophomina phaseolina*: biology, economic importance and current diagnostic trends. Critical Rev. Microbiol. DOI: 10.3109/1040841X.2011.640977.

Khan SN, 2007. *Macrophomina phaseolina* as causal agent for charcoal rot of sunflower. Mycopathology 5(2):111-118.

Kumar GD, Natarajan N, Nakkeeran S, 2016. Antifungal activity of nanofungicide Trifloxystrobin 25% + Tebuconazole 50% against *Macrophomina phaseolina.* African J. Microbio Res. 10(4):100-105.

Mengistu A, Arelli PA, Bond JP, Shannon GJ, Wrather AJ, et al., 2011. Evaluation of Soybean Genotypes for Resistance to Charcoal Rot. Plant Health Prog. DOI:10.1094/PHP-2010-0926-01-RS.

Mengistu A, Ray JD, Smith JR, Paris RL, 2007. Charcoal rot disease assessment of soybean genotypes using a colony-forming unit index. Crop Sci. 47(6):2453-2461.

Mode of action, 2020 http://http://pis.rda.go.kr/registstus/agchmRegistStus/modeOfAction.do

Parmar HV, Kapadiya HJ, Bhaliya CM, 2017. Efficacy of different fungicides against *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid causing castor root rot. Inter. J. Chem. Studies 5(5):1807-1809.

Pearson CAS, Schwenk FW, Crowe FJ, Kelley K, 1984. Colonization of Soybean Roots by *Macrophomina phaseolina*. Plant Dis. 68(1):1086-1088.

Rahman MM, Rahman MF, Ali MA, Dey TK, Ahmad MU, et al., 2016. Evaluation of some chemicals for soil drenching in controlling stem canker and black scurf of potato. Bangladesh J. Plant Pathol. 32(1&2):83-88.

Rebollar-Alviter A, Madden LV, Ellis MA, 2005. Efficacy of azoxystrobin, pyraclostrobin, potassium phosphite, and mefenoxam for control of strawberry leather rot caused by *Phytophthora cactorum*. Plant Health Prog. DOI:10.1094/PHP-2005-0107-01-RS.

Saxena A, Raghuwanshi R, Gupta VK, Singh HB, 2016. Chilli anthracnose: The epidemiology and management. Front. Microbiol. 7:1-18.

Smith GS, Carvil ON, 1997. Field screening of commercial and experimental soybean cultivars for their reaction to *Macrophomina phaseolina*. Plant Dis. 81(4):363-368.

Smith GS, Wyllie TD, 1999. Charcoal rot. In Compendium of soybean diseases. Hartman, G. L., J. B. Sinclair and J. C. Rupe, Eds; American Phytopathological Society, St. Paul, MN. pp 29-31.

Todd TC, 1993. Soybean planting date and maturity effects on *Heterodera glycines* and *Macrophomina phaseolina* in

southeastern Kansas. Suppl. J. Nematol. 25(4S):731-737.
Tonin RFB, Avozani A, Danelli ALD, Reis EM, Zoldan SM, et al., 2013. *In vitro* mycelial sensitivity of *Macrophomina phaseolina* to fungicides. Pesq. Agropec. Trop. 43(4):460-466.
Urrea K, Rupe JC, Rothrock CS, 2013. Effect of fungicide seed treatments, cultivars, and soils on soybean stand establishment. Plant Dis. 97(6):807-812.
Vuyyuru M, Sandhu HS, McCray JM, Raid RN, 2018. Effects of soil-applied fungicides on sugarcane root and shoot growth, rhizosphere microbial communities, and nutrient uptake. Agronomy DOI:10.3390/agronomy8100223.
Wrather JA, Shannon JG, Carter TE, Bond JP, Rupe JC, et al., 2008. Reaction of drought-tolerant soybean genotypes to *Macrophomina phaseolina*. Plant Health Prog. DOI:10.1094/PHP-2008-0618-01-RS.

콩 균핵마름병을 일으키는 *Macrophomina phaseolina*에 대한 살균제 효과 검정

고영미[1] · 최지영[2] · 최경자[3] · 김흥태[2,*]

[1]화성시농업기술센터, [2]충북대학교 농업생명환경대학 식물의학과, [3]한국화학연구원

요 약 실험실과 온실에서 *Macrophomina phaseloina*에 의한 콩 균핵마름병(가칭)의 방제를 위한 살균제 선발 실험을 실시하였다. 한천희석법을 사용하여 30종의 살균제의 *Macrophomina phaseloina*에 대한 균사생장 억제효과를 조사하였다. 그 중에서 우수한 효과를 보인 benomyl, fluazinam, fludioxonil, tebuconazole, azoxystrobin 등 5종의 살균제와, 이미 콩의 지상부 병 방제를 위해 사용하고 있는 thiophanate-methyl과 triflumizole의 혼합제를 선발하여 온실에서 병 방제 효과를 실험하였다. 종자 분의 접종 검정에서, 병원균을 접종하기 직전에 각 살균제 용액에 종자를 1시간씩 침지하여 예방 처리하였을 때, 실험한 6종의 살균제 모두 방제 효과가 우수하였다. 병원균을 종자에 분의 접종한 다음 파종하고, 1일 후에 살균제를 토양 관주 처리하여 치료효과를 검정하였을 때, azoxystrobin과 tebuconazole의 효과가 우수하였다. 하지만 tebuconazole 낮은 농도에서조차 발아율 저하와 절간 생장이 억제되는 약해 증상이 나타났기 때문에 방제제로 사용하기에 제한이 있었다.

색인어 Azoxystrobin, 콩 균핵마름병, *Macrophomina phaseolina*, 종자 침지 처리.