



국내 사과탄저병균의 다양성 및 살균제 감수성 모니터링

남영주^{1,2} · 박수빈^{1,3} · 남 문⁴ · 정희영^{2*}¹글로벌농업컨설팅㈜, ²경북대학교 식물의학과, ³충북대학교 식물의학과, ⁴바이오투Diversity and Fungicide Sensitivity of *Colletotrichum* spp. Causing Apple Bitter Rot in KoreaYoung Ju Nam^{1,2}, Su Bin Park^{1,3}, Moon Nam⁴, and Hee-Young Jung^{2*}¹Global Agro-Consulting Corporation, Suwon 16614, Republic of Korea²Department of Plant Medicine, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea³Department of Plant Medicine, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea⁴BIOTO Incorporated, Building B, Migun Techno World 2, 187 Techno 2-ro, Yuseong-gu, Daejeon 34025, Republic of Korea

(Received on March 9, 2026. Revised on March 30, 2026. Accepted on March 31, 2026)

Abstract In Korea, apple bitter rot caused by diverse *Colletotrichum* species is managed primarily through fungicide applications, yet comprehensive fungicide monitoring data remain limited. We evaluated the sensitivity of *Colletotrichum* spp. causing apple bitter rot to four fungicides: benomyl, fluazinam, pyraclostrobin, and tebuconazole. From 2022 to 2024, we collected a total of 2,440 isolates from major apple-producing regions across five provinces in Korea. Among the four fungicides tested, fluazinam (86.8%) and tebuconazole (97.2%) maintained high sensitivity. Benomyl sensitivity was 54.3%, with a gradual decline from 56.7% in 2022 to 50.0% in 2024. Pyraclostrobin sensitivity was the lowest at 19.9%, with a marked increasing trend from 9.8% in 2022 to 28.6% in 2024. Isolates from Gangwon and Gyeonggi provinces were more sensitive to benomyl and pyraclostrobin than those from Jeolla Province. The dominant species were *C. fructicola* (46.7%) and *C. siamense* (40.8%). Although *C. siamense* isolates exhibited relatively higher sensitivity to benomyl and pyraclostrobin than *C. fructicola*, 46.4% of *C. siamense* isolates showed moderate resistance to pyraclostrobin. Mutation analysis using KASP (Kompetitive Allele-Specific PCR) revealed that pyraclostrobin resistance was associated with the G143A mutation in the *cytochrome b* gene; however, this mutation was not detected in isolates showing moderate resistance. By elucidating annual sensitivity changes, regional distributions of dominant species, and interspecific differences among *Colletotrichum* isolates causing apple bitter rot in Korea, these findings provide essential baseline data for developing region-specific fungicide management strategies.

Key words: Apple bitter rot, *Colletotrichum fructicola*, *C. siamense*, Fungicide sensitivity, KASP (Kompetitive Allele-Specific PCR)

서론

사과 탄저병은 *Colletotrichum* 속 병원균에 의해 발생하며, 수확기 전후 및 저장 중에 발생하여 심각한 경제적 피해를 유발한다(Chen and Jeon, 2015). 미국, 유럽, 중국 등 주요

생산지에서도 *Colletotrichum* spp.에 의한 사과 탄저병 발생이 지속적으로 보고되고 있으며, 병원균의 다양성과 약제 저항성에 대한 연구가 이루어지고 있다(Sutton et al., 1990; Chen et al., 2022). 국내에서는 1960년대 사과 탄저병에 대한 살균제 효과에 대한 보고 이후, 탄저병균의 종에 따른 살균제 계통별 저항성 차이에 대해 지속적으로 보고되었다(Kim et al., 2006; Lee et al., 2007; Kim et al., 2023). 최근에는 *C. fructicola*의 strobilurin계 살균제 저항성이 보고되면서(Jang et al., 2023;

*Corresponding author
E-mail: heeyoung@knu.ac.kr

Abdullahi, 2025) 탄저병균의 종별 약제 감수성의 차이가 확인됨에 따라 지역별 우점종의 파악이 방제 전략 수립에 있어서 중요할 것으로 생각된다. 최근 기후변화로 사과 탄저병 발병 시기가 앞당겨지고 있는 것으로 보고됨에 따라 (RDA, 2023), 사과 재배 농가는 예방적 방제와 더불어 장기적인 방제에 대한 부담이 커질 수 있다. 현재 국내 사과에 등록된 농약은 benzimidazole계 (MBC, Methyl Benzimidazole Carbamate), strobilurin계 (QoI, Quinone outside Inhibitor), triazole계 (DMI, Demethylation Inhibitor), uncouplers of oxidative phosphorylation 계 등이 있으며 약 15~25일 간격으로 살포 프로그램에 따라 방제하는 것이 일반적이다(Lee et al., 2008, 2009). 그러나, 동일 계통 약제의 반복적 사용은 저항성 발현을 촉진하여 방제 효과를 저하시킬 수 있으므로 (Brent and Hollomon 2007) 병원균 집단의 감수성 수준을 지속적으로 모니터링하는 것은 효과적인 병해 관리 전략 수립에 필수적이다. 병원균의 약제 저항성 평가는 일반적으로 한천희석법을 통한 균사 생장억제율을 조사하는 방법이 이용되어 왔다. 그러나 Isa et al. (2022)은 신속한 저항성 검정을 위하여 allele-specific PCR이나 PCR-RFLP를 활용하여 저항성 관련 유전자의 유무에 따라 밴드의 증폭 여부를 확인하는 방법을 제안하였다. 본 연구에서는 대량의 시료를 보다 효율적으로 모니터링 하기 위해 KASP (Kompetitive Allele-Specific PCR)를 사용하였다. KASP는 대립 유전자의 형광 신호로 저항성 유무를 판별하는 방법으로 기존 allele-specific PCR보다 대량의 시료를 검정하기에 용이하며 분석 결과의 높은 정확도로 작물 육종이나 저항성 모니터링에 이용되고 있다(Semagn et al., 2014; Rasheed et al., 2016). 최근에는 털비름(*Amaranthus retroflexus*)을 대상으로 한 diphenyl ether계 제초제 포메사펜(fomesafen) 저항성 연구(Zhang et al., 2025)를 통해 약제 저항성 모니터링에 효과적인 진단법임이 확인되었다. 이에 본 연구에서는 2022년부터 2024년까지 3년간 국내 주요 사과 재배지에서 탄저병 이병과를 매년 900개 이상 채집하여 분리한 탄저병균 2,440균주를 대상으로 한천희석법을 이용하여 4종 살균제(benomyl, fluazinam, pyraclostrobin, tebuconazole)에 대한 감수성을 평가하고 KASP를 이용하여 benomyl과 pyraclostrobin 저항성과 관련된 유전자 변이를 확인하였다. 이러한 결과를 바탕으로 전국 단위의 살균제

감수성 패턴과 지역별, 연도별 변화 및 사과탄저병균 종에 따른 살균제 감수성 차이를 규명함으로써 탄저병 방제를 위한 합리적 약제 선택과 장기적 관리 전략 수립에 필요한 기초 자료를 제공하고자 하였다. 나아가 benomyl과 pyraclostrobin 저항성 모니터링에는 KASP를 이용한 유전자 변이 검정을 활용하는 것이 효율적인 방법이 될 것으로 판단된다.

재료 및 방법

시료 채집 및 병원균 분리

사과 탄저병 시료채집을 위하여 2022년부터 2024년까지 3년간 권역별(강원도, 경기도, 충청도, 전라도, 경상도) 각 6개 시·군에서 시·군 당 3개 이상의 과수원을 선정하였다. 사과 표면에 흑갈색의 점무늬와 함께 가운데가 움푹 패이는 증상을 보이는 이병과를 수집하여 수돗물로 세척 후 70% 에탄올로 표면을 소독하였다. 화염 살균한 메스로 병징 부위의 껍질을 제거 후 병반과 건전부의 경계 조직을 절취하였다. 절취한 조직은 멸균 여과지 위에서 건조한 후 potato dextrose agar (PDA; Difco, Sparks, MD, USA) 배지에 치상하여 25°C에서 7일간 배양하였다. 배지에서 형성된 포자를 멸균수에 현탁하여 포자현탁액 20 µL를 water agar (WA; Difco, Sparks, MD, USA)에 도말하고 25°C에서 24시간 배양 후 해부현미경을 이용하여 단일포자를 떼어내어 새로운 PDA에 계대 배양하여 보관하고 이후 실험에 활용하였다.

한천희석법을 이용한 살균제에 대한 저항성 조사

사과탄저병균의 4종 살균제(benomyl 50% WP, fluazinam 50% WP, pyraclostrobin 20% WG, tebuconazole 25% EC)에 대한 저항성 검정을 위하여 한천희석법(agar dilution method)을 이용하였다(Table 1). 대규모 모니터링을 위한 단일 농도 설정은 선행 연구와 예비실험 결과를 바탕으로 결정하였다. 예비실험에서 12 균주의 주요 살균제 4종에 대한 농도별 균사 생장 억제율을 조사한 결과, benomyl은 특정 농도에서 감수성 집단과 저항성 집단이 명확히 양분되는 양상을 보인 반면, pyraclostrobin은 억제율이 점진적으로 증가하는 연속적인 반응을 나타내었다. Fluazinam과 tebuconazole은 농도 증가에 따라 모든 균주가 일관된 감수성 곡선을 나타내었다. 이를

Table 1. List of fungicides used in this study and their FRAC classification

Frac group (code)	Common name	Active ingredient (%)	Product label doses (µg/ml)	Screening doses (µg/ml)
MBC (1)	Benomyl	50	250	20
DMI (3)	Tebuconazole	25	200	50
QoI (11)	Pyraclostrobin	20	67	10
Uncouplers of oxidative phosphorylation (29)	Fluazinam	50	205	10

토대로 대규모 모니터링에서 감수성과 저항성을 효과적으로 변별할 수 있는 농도인 benomyl (20 µg/mL), fluazinam (10 µg/mL), pyraclostrobin (10 µg/mL), tebuconazole (50 µg/mL) 을 판별 농도로 설정하여 150 mm 페트리디쉬에 분주하여 사용하였다. 접종원은 PDA배지에 접종 후 25°C에서 7일간 배양하여 직경 5 mm cork border로 균총을 떼어내어 약제 배지와 무처리배지에 각각 접종하고 25°C, 암조건에서 5일간 배양하였다. 균사 생장 억제율은 약제배지와 무처리배지에서 자란 균총의 직경을 측정하여 무처리 대비 약제배지의 균사 생장 길이를 비교하여 계산하였다.

균사생장 억제율(%) =

$$\left(1 - \frac{\text{살균제 첨가 배지의 균총의 직경}}{\text{살균제 무첨가 배지의 균총의 직경}}\right) \times 100$$

저항성 판별 기준은 청송 지역 사과탄저병균의 살균제 감수성 조사에서 살균제 사용 권장농도에서의 균사생장 억제율을 기준으로 감수성(80% 이상), 중도저항성(60% 이상 80% 미만), 저항성(60% 미만)으로 보고한 이전 연구(Kim et al., 2023)와 동일한 기준으로 검정하였다.

다중유전자를 이용한 염기서열 분석

사과탄저병균의 정확한 종 동정을 위하여 ITS (Internal Transcribed Spacer), *GAPDH* (Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase), *CHS-1* (Chitin synthase I), *ACT* (Actin), *TUB2* (β -tubulin) 등 5개 유전자 영역을 대상으로 다중 유전자 분석을 수행하였다. genomic DNA는 HiGene™ Genomic DNA Prep Kit (BIOFACT, Korea)를 사용하여 제조사의 매뉴얼에 따라 추출하였으며, 각 유전자 영역은 ITS1F/ITS4, GDF/GDR, ACT512F/ACT783R, T1/T2, CHS79F/CHS345R primer 조합을 사용하여 증폭하였다(Table 2). PCR 조건은 ITS영역의 경우, 95°C에서 30초간 변성(denaturation), 52°C에서 30초간 결합(annealing), 72°C에서 30초간 신장(extension) 과정을

35회 반복하였으며, 이후 72°C에서 10분간 최종 신장 반응을 실시하였다. *GAPDH*영역은 60°C, *ACT*, *CHS-1*영역은 58°C, *TUB2*영역은 55°C에서 각각 30초간 결합 반응을 수행하였다. 증폭된 PCR 산물 (5 µL)은 ExoSAP-IT (Applied Biosystems™ (Thermo Fisher Scientific Inc., USA) 시약 2 µL 를 첨가하여 정제한 후, 바이오팩트(BIOFACT Co., Korea)에서 염기서열을 분석하였다. 획득한 5개 유전자(ITS, *GAPDH*, *CHS-1*, *ACT*, *TUB2*)의 염기서열을 연결한 연합 데이터셋(concatenated dataset)을 구축하였으며, NCBI (National Center for Biotechnology Information, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 데이터베이스에 등록된 표준 균주의 서열과 비교 분석하여 최종적으로 균주를 동정하였다.

KASP (Kompetitive Allele-Specific PCR)를 이용한 유전자 변이 분석

QoI 계 및 benzimidazole 계 살균제에 대한 저항성 검정을 위해 KASP (Kompetitive Allele-specific PCR) 분석을 수행하였다. QoI 계 살균제는 *cytochrome b* 유전자의 G143A 변이(Grasso et al., 2006), benzimidazole 계 살균제는 β -*tubulin* 유전자의 E198A 변이(Ma and Michailides 2005)를 검정하였다. 두 유전자의 염기서열 내 변이 부위를 포함하는 보존 영역을 바탕으로 KASP 프라이머를 설계하였으며, 각 마커는 2개의 allele-specific forward primer와 1개의 common reverse primer로 구성하였다. 감수성(wild type) 대립유전자는 FAM 형광, 저항성(mutant type) 대립유전자는 HEX 형광으로 표지하였다(Table 3). 프라이머의 특이성 및 *Tm* (58–62°C), 2차 구조 형성 여부는 OligoAnalyzer (LGC Genomics)를 통해 검증하였다. KASP 반응은 총 부피 10 µL로, KASP Master Mix 5 µL, 프라이머 혼합물 0.14 µL (12 µM 의 allele-specific forward primer 및 30 µM 의 reverse primer 포함), 그리고 주형 DNA 4.86 µL (30 ng/µL)를 사용하였다. KASP 반응은 LGC Genomics의 표준 프로토콜에 따라 CFX Opus96

Table 2. Primer sequences used for amplification of multilocus genes in *Colletotrichum* species

Target Gene	Primer Name	Sequence (5'→3')	Reference
ITS	ITS1	CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA	Gardes & Bruns (1993)
	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	White et al. (1990)
GAPDH	GDF	GCCGTCAACGACCCCTTCATTGA	Templeton et al. (1992)
	GDR	GGGTGGAGTCGTACTTGAGCATGT	
ACT	ACT-512F	ATGTGCAAGGCCGGTTTCGC	Carbone & Kohn (1999)
	ACT-783R	TACGAGTCCTTCTGGCCCAT	
TUB2	T1	AACATGCGTGAGATTGTAAGT	O'Donnell & Cigelnik (1997)
	T2	TAGTGACCCTTGGCCCAAGTTG	
CHS-1	CHS-79F	TGGGGCAAGGATGCTTGGAAGAAG	Carbone & Kohn (1999)
	CHS-345R	TGGAAGAACCATCTGTGAGAGTTG	

Table 3. KASP (Kompetitive Allele Specific PCR) assay primers targeting E198A and G143A mutation associated with fungicide resistance in *Colletotrichum* spp.

Target mutation	Primer	Sequence
E198A	Primer_Allele1	CTCGTTGTCAATGCAGAAGGTCT ^T
	Primer_Allele2	CTCGTTGTCAATGCAGAAGGTCT ^G
	Primer_Common	CGTCCACCAGCTGGTCGAGAA
G143A	Primer_Allele1	CCTTATGGRCAAATGTCATTATGAG ^G
	Primer_Allele2	CCTTATGGRCAAATGTCATTATGAG ^C
	Primer_Common	CCAATTCAGGGGATAGCACTTATAAGGTT

E198A, a point mutation in β -tubulin gene associated with resistance to benzimidazole; G143A, a point mutation in cytochrome b gene associated with resistance to QoI; Allele 1, wild-type (fungicide-sensitive); Allele 2, mutant-type (fungicide-resistant). SNP positions are indicated in red.

Table 4. Number of *Colletotrichum* isolates used for fungicide resistance assays according to year and region, collected from apple orchards in Korea during 2022–2024

Year	Gangwon-do	Gyeonggi-do	Chungcheong-do	Jeolla-do	Gyeongsang-do	Total
2022	142	149	141	115	180	727
2023	175	177	175	173	167	867
2024	172	167	167	170	170	846
Total	489	493	483	458	517	2,440

Real-Time PCR 시스템(Bio-Rad, USA)을 이용하여 수행하였다. PCR 조건은 94°C 에서 15분간 초기 변성 후, 94°C, 20초 및 61°C, 1분의 touchdown 사이클을 10회 반복하였으며, 이어서 94°C, 20초 및 57°C, 1분의 증폭 사이클을 26회 실시하였다. 반응 종료 후 형광 데이터(Relative Fluorescence Units, RFU)는 CFX Maestro Software (Bio-Rad, USA)를 이용하여 FAM 형광 신호가 우세한 경우 감수성(wild type), HEX 형광 신호가 우세한 경우 저항성(mutant type), 두 신호가 공존할 경우 혼합형(hetero type)으로 판정하였다. 일반적인 allele-specific PCR이 전기영동을 통한 산물의 증폭 유무 및 크기로 유전자형을 판별하는 것과 달리, KASP는 증폭된 형광 신호의 비율을 2차원 산점도(scatter plot) 상의 클러스터(cluster) 분포로 시각화하여 각 균주의 유전자형을 직접 구분하였다. 분석의 신뢰도를 확보하기 위해 음성 대조구(NTC, no-template control)와 감수성 및 저항성 대조 균주를 포함하여 모든 실험을 3 반복으로 수행하였다.

결과 및 고찰

병원균 분리 및 주요 살균제에 대한 저항성 검정

2022년부터 2024년까지 3년간 총 3,500개 이상의 탄저병 균을 분리하고 이 중 오염 균주 및 탄저병균 포자가 확인되지 않은 균주를 제외하여 총 2,440균주를 살균제 저항성 검정에 사용하였다(Table 4). 이들 분리균에 대하여 한천희석법

을 이용한 균사생장 억제율을 조사한 결과, benomyl에 대한 감수성 균주는 54.3%, 저항성은 43.7%로 나타났으며, 중도 저항성 균주는 1.9%로 낮아 병원균의 분포가 감수성과 저항성으로 나누어져 분포하고 있었다. 반면, pyraclostrobin에 대한 감수성 균주는 19.9%, 중도 저항성은 28.5%, 저항성은 51.7%로 확인되어 benomyl이 감수성과 저항성으로 양분되는 양상을 보이는 것과 달리 pyraclostrobin은 저항성과 중도저항성 균주의 분포 비율이 높았다. 한편 fluazinam과 tebuconazole에 대한 감수성 균주의 비율은 각각 86.8%, 97.2%로 높게 나타났다(Fig. 1). Kim et al. (2023)의 연구에서도 청송 지역에서 분리한 사과탄저병균이 strobilurin계 살균

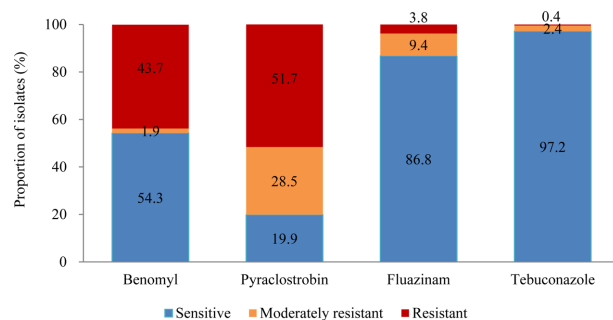


Fig. 1. Sensitivity distribution of *Colletotrichum* spp. isolates to four fungicides (tebuconazole, fluazinam, benomyl, and pyraclostrobin) based on mycelial growth inhibition rates determined by the agar dilution method.

제에 저항성을 나타내는데 반하여 fluazinam과 tebuconazole에 대해서는 감수성으로 확인된 바 있다. 따라서, fluazinam과 tebuconazole은 탄저병 방제에 유효할 것으로 보이나 benomyl과 pyraclostrobin은 방제 효과가 저하되었을 가능성이 있어 살포 횟수를 줄이거나 다른 계통의 약제와 교호 살포하는 등 관리가 요구된다. 한편 Lee et al. (2006)은 1992년부터 2000년까지 경북과 전북 지역 사과원의 주요 병해 조사에서 탄저병 발생이 1997년 최초 발병 확인 이후 해마다 증가하였으며, 이는 검무늬썩음병 및 갈색무늬병 중심의 기존 방제 프로그램과 재배 품종의 확대에 의한 변화로 보고하였다. 따라서 탄저병균의 살균제 계통에 따른 감수성 차이를 고려한 살균제 선택으로 기존 방제 프로그램의 수정이 요구된다.

주요 살균제에 대한 연도별 군사 생장 억제율 변화

사과탄저병균의 4종 살균제에 대한 연도별 군사생장 억제율을 살펴 본 결과(Fig. 2), benomyl에 대한 감수성 균주의 비율은 2022년 56.7%에서 2023년에는 56.3%로 비슷한 수준이었으나 2024년에는 50%로 감소하여 저항성 비율(49.1%)과 비슷한 수준으로 확인되었다. 이러한 결과는 Lee et al. (2007)이 경북, 전북, 경기에서 분리한 *C. gloeosporioides* 집단이 benomyl에 대해서 감수성으로 보고하였던 것과는 대조적이었다. 따라서, 본 연구 결과를 바탕으로 할 때 국내 사과탄저병균 집단의 benomyl에 대한 감수성이 점진적으로 감소하고 있으며, 향후 저항성 비율이 증가할 가능성이 높음을 시사한다. Pyraclostrobin에 대한 감수성 균주는 2022년에는 9.8%, 2023년에는 21.2%, 2024년에는 28.6%로 감수성이 증가하는 경향을 보였고 저항성 균주는 2022년 66.2%,

2023년 43.3%, 2024년 45.6%로 다시 증가하였다. 또한, pyraclostrobin에 대한 병원균의 반응은 감수성과 저항성으로 구분되는 benomyl과 달리 군사생장 억제율 60%~80% 사이의 중도저항성 구간의 비중이 높은 특징을 나타냈다. 중도저항성 균주는 2022년에 24.1%에서 2023년 35.5%로 증가하였다가 2024년 25.8%로 다소 감소하였으나 비율이 여전히 높으므로 이들에 대한 살균제 반응 추이를 관찰할 필요가 있을 것으로 생각된다. 따라서, 장기적인 방제체계 구축 시 연도별 병원균 집단의 변화를 고려한 살균제 선택이 요구되며 pyraclostrobin에 대한 중도저항성 균주 집단의 지속적인 모니터링을 통한 살균제 반응의 변화를 관찰하여 이들의 저항성 획득에 대한 예방적 관리 전략이 필요할 것으로 생각된다. Fluazinam의 경우 2022년에 70.4%의 감수성을 보였으나 2023, 2024년 모두 90%이상의 감수성을 유지하였고 tebuconazole 역시 2022년부터 2024년까지 90% 이상의 높은 감수성을 유지하는 것으로 확인되어 두 약제 모두 탄저병균에 대한 유효한 효과를 확인하였다. 그러나 Abdullahi (2025)의 보고에 따르면 2015, 2016년에 분리한 균주에 비해 2022, 2023년 분리균이 tebuconazole 감수성이 낮아진 것으로 확인되어 DMI계 살균제에 대해서도 지속적인 관리와 모니터링이 필요할 것으로 보인다.

Benomyl과 pyraclostrobin에 대한 지역별 저항성 분포

4종 살균제 중 저항성 비율이 상대적으로 높았던 benomyl과 pyraclostrobin에 대하여 지역별로 저항성 균주의 분포를 분석하였다(Fig. 3). Benomyl은 benzimidazole 계 살균제로 β -tubulin 유전자의 점돌연변이에 의해 아미노산이 치환되며 살균제와의 결합력이 저하되는 것이 저항성의 주요 원인이며,

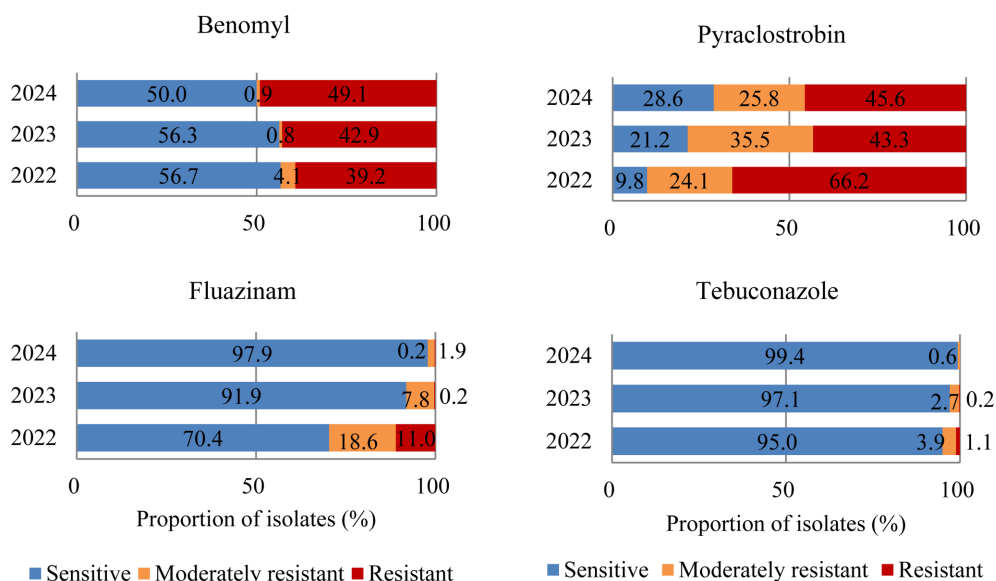


Fig. 2. Temporal changes in the proportions of sensitive, moderately resistant and resistant *Colletotrichum* spp. isolates to four fungicides (benomyl, pyraclostrobin, fluazinam, and tebuconazole) from 2022 to 2024.

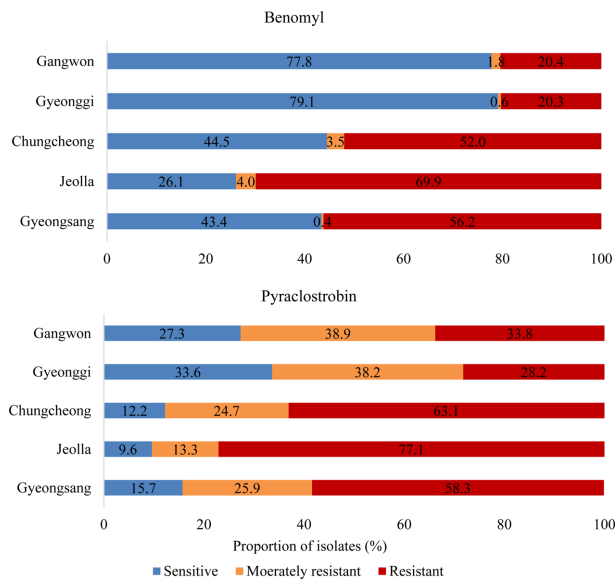


Fig. 3. Regional distribution of sensitivity to benomyl and pyraclostrobin among *Colletotrichum* spp. isolates collected from five apple-producing provinces in Korea (Gangwon, Gyeonggi, Chungcheong, Jeolla, and Gyeongsang) from 2022 to 2024.

strobilurin계 pyraclostrobin은 *Cytochrome b* 유전자의 변이에 의해 살균제와의 결합이 저하되는 것으로 알려져 있다(Cortaga et al., 2023; Karim et al., 2024). 이러한 유전자 변이에 의한 질적 저항성 문제로 benomyl은 탄저병 방제 약제로 사용이 제한되고 있으며, pyraclostrobin 역시 사용에 주의가 필요한 실정이다. 본 연구에서는 두 약제의 감수성에 대한 뚜렷한 지역간 차이가 확인되었다. Benomyl의 경우, 강원도와 경기도의 분리균이 각각 77.8%, 79.1%로 높은 감수성을 보인 반면, 전라도에서 분리한 균주는 26.1%로 감수성이 가장 낮았다. Pyraclostrobin 역시 감수성 균주의 비율이 강원도와 경기도가 각각 27.3%, 33.6%로 상대적으로 높았고 전라도가 가장 낮은 9.6%로 나타나 전라도 지역에서 분리한 균주는 benomyl과 pyraclostrobin 모두에 대해서 조사 지역 중 가장 낮은 감수성을 나타냈다. 이러한 결과는 두 약제에 대한 일률적인 사용 제한보다는 지역별 감수성 수준을 고려한 맞춤형 방제 전략이 필요함을 시사한다. 강원도와 경기도의 경우 benzimidazole계 약제를 이용한 탄저병 방제가 가능할 것으로 보이며, 다른 계통의 약제와 혼용하거나 교호 처리하는 방법을 통해 감수성 수준을 유지하고 저항성 발달을 억제할 수 있는 방제 전략을 세울 필요가 있을 것이다. 반면, pyraclostrobin 에 대해서는 중도저항성 균주의 분포 비율이 높은 만큼 strobilurin계 살균제의 사용을 제한하고, 지속적인 모니터링과 함께 저항성 증가를 억제할 장기적인 관리 전략이 요구된다. 지역 간 감수성 차이는 방제시기와 약제 처리 방법, 기후 요인 등의 복합적인 영향으로 추정되며, 향후 구체적인 원인 규명을 통한 정밀 방제 체계를 구축할 필요가 있다.

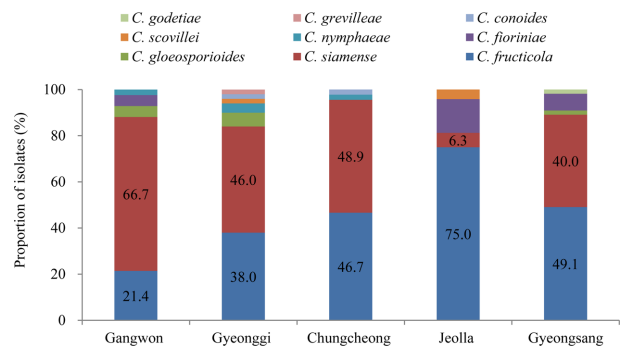


Fig. 4. Regional distribution of *Colletotrichum* species isolated from apple bitter rot across five provinces in Korea from 2022 to 2024. The total number of isolates per region was as follows: Gangwon, n = 42; Gyeonggi, n = 47; Chungcheong, n = 44; Jeolla, n = 41; Gyeongsang, n = 50.

Colletotrichum 종에 따른 살균제 감수성 차이

실험에 사용한 2,440균주 중 연도별(2022년, 2023년, 2024년), 지역별(강원도, 경기도, 충청도, 전라도, 경상도)로 채집 포장 당 1균주씩 무작위로 선발하여 총 240균주에 대하여 다중유전자(ITS, *GAPDH*, *CHS-1*, *ACT*, *TUB2*) 분석을 이용한 종 동정을 수행하였다. 240균주를 동정한 결과, *C. fructicola* (46.7%)와 *C. siamense* (40.8%)가 주요 우점종으로 확인되었다. 지역별로는 강원도에서는 *C. siamense*, 전라도에서는 *C. fructicola* 가 우점종으로 나타나 지역 간 분포 차이가 뚜렷하였다(Fig. 4). 이러한 지역별 우점종의 차이는 선행 연구에서도 확인된 바 있는데, 북부 지역에서는 *C. siamense*가 우점하고 비교적 온난한 남부 지역에서는 *C. fructicola*가 우점하는 경향이 보고되어(Abdullahi, 2025; Tan et al., 2022) 본 연구 결과와 유사하며, 이는 지역별 종 분포 차이가 기후 요인과 관련이 있음을 시사한다. 그 외 *C. fioriniae* (5.4%), *C. gloeosporioides* (2.5%), *C. nympheae* (1.7%), *C. scovillei* (1.3%), *C. conoides* (0.8%), *C. grevilleae* (0.4%), *C. godetiae* (0.4%)가 확인되었다. 특히, 본 연구를 통해 분리한 *C. scovillei* 는 고추 탄저병을 유발하는 주요 종으로 알려져 있으며(Oo et al., 2017), 사과에서는 보고가 되지 않았던 종이었으나 국내 사과 탄저병에서 분리됨으로써 추후 더 많은 균주를 확보하여 이 종에 대한 살균제 반응 특성을 조사할 필요가 있을 것이다. 사과 탄저병의 주요 우점종인 *C. fructicola*와 *C. siamense*를 대상으로 저항성이 높은 benomyl과 pyraclostrobin에 대한 감수성 차이를 확인하기 위하여 균사 생장 억제율을 분석한 결과, *C. fructicola* 는 benomyl에 대하여 감수성 48.2% (n = 53), 저항성 51.8% (n = 57)로 나타나 감수성과 저항성으로 명확히 양분되는 분포 양상을 보였다. 지역별로는 경기도 분리균의 94.7% (n = 18)가 감수성으로 지역 중 가장 높았고 전라도는 16.7% (n = 6)로 가장 낮아 동일 종 내에서도 지역에 따른 감수성 차이가 뚜렷하였다. Pyraclostrobin에 대해서는 감수성 36.4% (n = 40), 중도 저항성 8.2% (n = 9), 저항성

Table 5. Benomyl and pyraclostrobin sensitivity of *C. fruticola* isolates causing apple bitter rot in Korea

Provinces	Benomyl			Pyraclostrobin		
	Resistant	Moderately resistant	Sensitive	Resistant	Moderately resistant	Sensitive
Gangwon-do	55.6	0.0	44.4	77.8	11.1	11.1
Gyeonggi-do	5.3	0.0	94.7	10.5	10.5	78.9
Chungcheong-do	38.1	0.0	61.9	38.1	0.0	61.9
Jeolla-do	83.3	0.0	16.7	86.1	11.1	2.8
Gyeongsang-do	52.0	0.0	48.0	52.0	8.0	40.0

55.5% (n = 61)로 나타나 감수성, 중도저항성, 저항성 균주의 연속적인 분포 양상을 보였다. 지역별로는 경기도가 78.9% (n = 15)로 가장 높은 감수성을 나타냈고 전라도는 2.8% (n = 1)로 가장 낮았다(Table 5). 이러한 지역별 감수성 차이는 두 지역에서 우점하는 종 구성과 밀접하게 관련된 것으로 판단된다. 경기도에서는 감수성이 상대적으로 높은 *C. siamense*의 비율이 높은 반면, 전라도에서는 두 약제에 대해 저항성이 높은 *C. fruticola*가 우점하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 지역 간 살균제 감수성 차이가 *Colletotrichum* 종 구성의 차이와 부분적으로 상관성을 가질 수 있음을 시사한다. *C. fruticola*는 benomyl에 대해 pyraclostrobin 보다 상대적으로 높은 감수성을 보였고, 두 살균제 모두에 대해 50% 이상의 저항성을 나타내는 것으로 확인되었다. *C. fruticola*의 이들 두 약제에 대한 높은 저항성은 사과탄저병균 222균주의 모니터링 결과, benomyl과 pyraclostrobin에 대해 2015, 2016, 2022년 균주는 90%이상의 저항성을 나타내고 2023년 균주도 70% 이상의 저항성을 나타낸다고 보고한 Abdullahi (2025)의 연구에서도 확인되었다. *C. fruticola*의 약제 감수성은 분리 지역에 따라서도 차이가 있었으며 경기도 분리균이 두 약제에 대해 높은 감수성을 보인 반면 전라도 분리균은 두 살균제 모두에 대해 가장 낮은 감수성을 나타내어 분리 지역에 따른 살균제 반응의 차이가 뚜렷하게 나타났다. 이러한 결과는 Karim et al. (2024)이 중국의 복숭아 탄저병 연구에서 Guangdong에서 분리한 *C. fruticola*는 carbendazim에 대해 저항성, Guizhou 균주는 감수성으로 나타나 분리 지역

에 따른 저항성 편차를 보인다고 보고한 것과 일치하였다. 즉, *C. fruticola*는 동일 종 내에서도 지역에 따라 감수성 편차가 크지만, 본 연구 결과를 종 수준에서 비교하면 *C. fruticola*가 전반적으로 benomyl과 pyraclostrobin에 대해 *C. siamense*보다 낮은 감수성을 보였다. 이는 지역별 저항성 분포가 우점 종 구성과 종 내 지역별 편차가 복합적으로 작용한 결과일 수 있음을 보여준다. 한편 *C. siamense*는 benomyl에 대해 전체적으로 높은 감수성을 나타내 전체 균주의 96.9% (n = 94)가 감수성으로 확인되었고, 저항성 균주는 3.1% (n = 3)로 매우 낮았다. 지역적으로는 경상도 지역에서 확인된 3균주를 제외한 모든 지역의 균주가 benomyl에 대해서 감수성으로 확인되었다. Pyraclostrobin에 대해서는 감수성 40.2% (n = 39), 중도저항성 46.4% (n = 45), 저항성 13.4% (n = 13)로 확인되어 중도저항성 균주가 가장 높은 비율을 차지하였다. 지역별로는 전라도 지역이 66.7% 감수성을 보였으나 이 지역의 *C. siamense* 분리균이 3균주로 타 지역에 비해 상대적으로 적어 향후 추가적인 균주 확보를 통한 검증이 필요할 것으로 판단된다. 다음으로 경기도 47.8% (n = 11), 강원도 46.4% (n = 13)로 감수성이 높았으나 이 지역의 중도저항성 균주의 비율도 동일함에 따라 지속적인 모니터링과 관리를 통해 저항성 집단으로의 이동을 억제할 필요가 있을 것이다(Table 6). 이상의 결과를 종합하면 benomyl과 pyraclostrobin 두 살균제에 대해 *C. siamense*가 *C. fruticola*에 비하여 상대적으로 높은 감수성을 보였으며, 특히 benomyl에 대해서는 대부분의 *C. siamense* 균주가 감수성으로 확인되어 종에 따른 살균제 반응의 뚜렷

Table 6. Benomyl and pyraclostrobin sensitivity of *C. siamense* isolates causing apple bitter rot in Korea

Provinces	Benomyl			Pyraclostrobin		
	Resistant	Moderately resistant	Sensitive	Resistant	Moderately resistant	Sensitive
Gangwon-do	0.0	0.0	100.0	7.1	46.4	46.4
Gyeonggi-do	0.0	0.0	100.0	4.3	47.8	47.8
Chungcheong-do	0.0	0.0	100.0	23.8	47.8	28.6
Jeolla-do	0.0	0.0	100.0	0.0	33.3	66.7
Gyeongsang-do	13.6	0.0	86.4	22.7	56.5	31.8

한 차이가 확인되었다. 이러한 결과는 benomyl에 대해 *C. siamense*가 *C. fructicola*보다 상대적으로 높은 감수성을 유지한다는 Yokosawa et al. (2017)의 보고와 일치하였다. Abdullahi (2025)의 보고에서는 *C. siamense*의 benomyl과 pyraclostrobin에 대한 저항성이 확인되지 않았으나 본 연구를 통해 경상도 지역 분리균에서 일부 저항성 균주가 확인됨에 따라 이 지역 우점종에 대한 지속적인 모니터링과 더불어 benzimidazole계 약제 관리를 통한 저항성 확대를 방지할 필요가 있을 것이다. 또한 *C. siamense*는 pyraclostrobin에 대한 저항성 비율이 13.4%로 상대적으로 낮았으나 중도저항성 비율이 46.4%로 높은 만큼 고저항성으로의 이동을 방지하기 위한 예방적 관리가 필요할 것이다. Benomyl과 pyraclostrobin에 대해 비교적 감수성이 높은 강원도와 경기도 지역은 두 약제를 이용한 방제가 가능할 것으로 보이나, 전라도 지역은 이들 살균제와 동일한 계통의 살균제 사용을 피하는 것이 탄저병 방제에 보다 효과적일 것으로 판단된다. 중별 약제 반응에 관한 선행 연구로 Kim et al. (2020)은 *C. fructicola*가 benzimidazole계 thiophanate-methyl에 대해 높은 EC_{50} 값을 보인 반면 *C. siamense*는 carbendazim에 대해 낮은 EC_{50} 값을 나타내어 동일 계통 살균제 내에서도 중간 감수성 차이를 보고하였다. 또한, Jang et al. (2023)은 경북 지역 사과탄저병균을 대상으로 한 연구에서 *C. fructicola*가 azoxystrobin, carbendazim, thiophanate-methyl에 대해 상대적으로 낮은 감수성을 보인다고 보고하여 본 연구에서 확인된 종에 따른 약제 반응의 차이와 일관된 경향을 보였다. 결과를 종합할 때, *Colletotrichum* 종에 따른 계통별 살균제 반응의 차이뿐만 아니라 동일 종 내에서도 지역별 감수성 편차가 확인됨에 따라 사과 탄저병 방제를 위해서는 각 지역의 우점종 분포를 정확하게 파악하는 것이 필요하며, 이러한 지역별, 중별 특성을 반영한 차별화된 약제 선택이 요구된다.

KASP (Kompetitive Allele-Specific PCR)를 이용한 살균제 저항성 검정

KASP (Kompetitive Allele-Specific PCR)를 이용한 benomyl과 pyraclostrobin 저항성 검정은 고도 저항성을 일으키는

것으로 보고된 β -tubulin 유전자의 E198A 변이와 cytochrome b 유전자의 G143A 변이(Vela-Corcía et al., 2018; Gisi et al., 2002; Fungicide Resistance Action Committee, 2025)를 확인하는 것으로 검정하였다. 각 균주의 유전자형은 FAM과 HEX 형광 신호의 강도에 따라 독립적인 클러스터로 명확하게 나누어졌으며, 이를 기반으로 점돌연변이 여부를 판독한 결과, benomyl에 대한 감수성은 62.1% (n = 131), 저항성은 37.4% (n = 79), 혼합형은 0.5% (n = 1)로 나타났고 pyraclostrobin은 감수성 59.8% (n = 150), 저항성 38.2% (n = 96), 혼합형 2.0% (n = 5)로 확인되었다(Fig. 5). 이러한 결과는 한천희석법을 이용한 benomyl(감수성 54.3%, 저항성 43.7%, 중도저항성 1.9%)과 pyraclostrobin(감수성 19.9%, 저항성 51.7%, 중도저항성 28.5%) 검정 결과보다 감수성 비율이 높게 나타났다. 특히 pyraclostrobin의 경우, 한천희석법을 통한 검정에서 중도저항성 비율이 높았으나 KASP 검정 결과에서는 이 균주들의 유전자 변이가 나타나지 않아 감수성으로 확인되었다. 이러한 불일치는 G143A 이외의 표적 부위의 변이 가능성을 고려할 필요가 있음을 보여 준다. 본 연구에서 사용한 KASP 마커는 G143A 변이만을 검출하도록 설계되었으나 QoI 저항성과 관련된 cytochrome b 유전자 변이로는 G143A 외에도 F129L과 G137R 등이 보고되어 있으며, 이들 변이는 일반적으로 G143A와 같은 고도 저항성보다는 중등도 수준의 저항성과 관련되는 것으로 알려져 있다(Fernández-Ortuño et al., 2008; FRAC 2025). 특히 Widiastuti et al. (2025)은 *Colletotrichum asianum*에서 F129L 변이가 낮은 수준의 pyraclostrobin 저항성과 연관됨을 보고하였고, 이러한 결과를 고려할 때 본 연구에서 관찰된 중도저항성 집단에서 G143A가 검출되지 않은 현상은 F129L과 같은 다른 cytochrome b 변이에 기인했을 가능성이 있다. 따라서 향후에는 추가적인 cytochrome b 서열 분석을 통한 G143A 이외의 표적 부위 돌연변이 존재 여부를 확인할 필요가 있다. 이러한 유전자 변이와 관련하여 Vielba-Fernández et al. (2018)은 *Podosphaera xanthii*의 QoI 저항성에 관한 연구에서 감수성형 G143 allele과 저항성형 A143 allele이 동일 균주 내에 공존하는 heteroplasmy를 보고하였으며, 두 allele의 상대적 비율에 따라 저항성 수준이

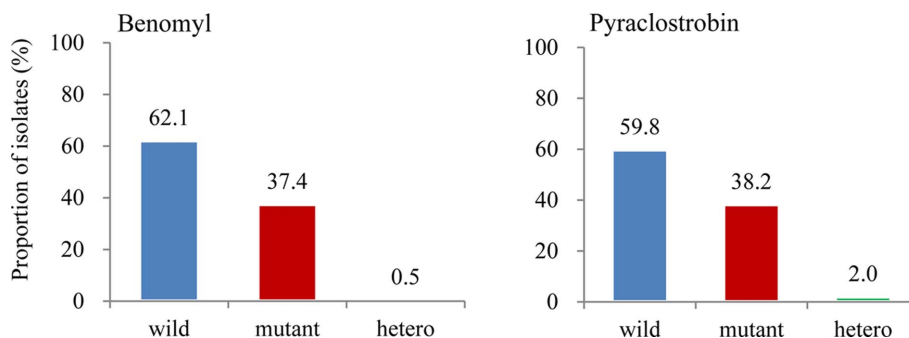


Fig. 5. Sensitivity distribution of *Colletotrichum* spp. isolates to benomyl (n = 211) and pyraclostrobin (n = 251) by KASP (Kompetitive Allele-Specific PCR).

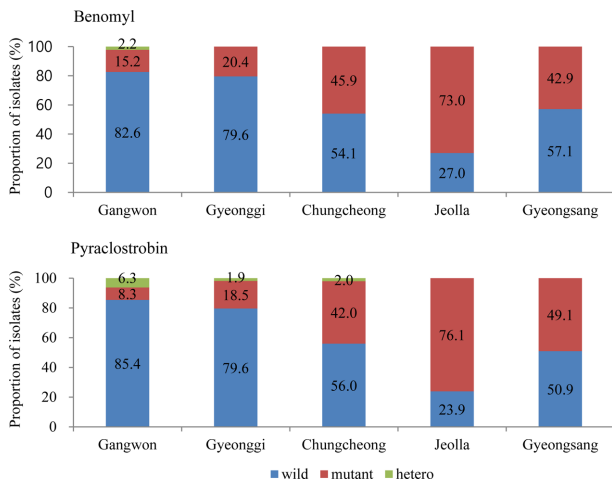


Fig. 6. Regional distribution of benomyl and pyraclostrobin sensitivity determined by KASP (Kompetitive Allele-Specific PCR) in *Colletotrichum* spp. isolates collected from five provinces (Chungcheong, Gangwon, Gyeonggi, Jeolla, and Gyeongsang) during 2022-2024.

달라질 수 있음을 확인하였다. 이와 같은 결과는 QoI 저항성이 단순히 G143A 변이의 유무만으로 설명되지 않을 수 있으며, 상대적 빈도가 저항성에 영향을 줄 수 있음을 시사한다. 따라서 한천희석법에서 중도저항성으로 분류되었으나 G143A가 검출되지 않은 균주들의 경우, heteroplasmy에 따른 allele 빈도를 정량적으로 평가할 수 있는 방법을 이용한 추가 검증으로 이러한 가능성을 확인할 수 있을 것으로 보인다. QoI계 살균제는 미토콘드리아 전자전달계의 cytochrome bc1 complex를 저해함으로써 작용하지만, 일부 진균에서는 alternative oxidase 경로를 활성화하여 해당 저해를 부분적으로 우회할 수 있는 것으로 알려져 있다(Fernández-Ortuño et al., 2008; Wood and Hollomon 2003). 그러나 Avila-Adame and Köller (2003)는 *Colletotrichum graminicola*의 QoI 저항성 연구에서 대체호흡 경로의 특이적 억제제로 사용되는 SHAM (alicylhydroxamic acid)을 처리하였을 때 저항성 4균주 중 1균주에서 azoxystrobin에 대한 감수성이 증가하였으나, 높은 수준의 저항성은 유지되었다고 보고하며 대체호흡 경로는 높은 저항성 유도에 직접적인 원인이 아니라고 해석하였다. 또한 Kim et al. (2019)의 연구에서도 *C. acutatum* 감수성 균주와 저항성 균주의 pyraclostrobin에 대한 균사생장 억제 효과 검증에서 SHAM처리 유무가 균사생장 억제효과에 영향을 미치지 않았으며 한천희석법을 통한 strobilurin계 살균제의 균사생장 억제효과 실험에 대체호흡 억제제를 첨가할 필요가 없다고 보고하였다. 따라서 탄저병균의 경우 대체호흡 경로가 저항성에 관여하였을 가능성은 희박할 것으로 보이나 이들에 대한 확인이 필요할 것이다. 마지막으로, 단일 농도를 기반으로 한 조사의 한계 역시 함께 고려되어야 한다. 본 연구에서는 대량의 균주를 효율적으로 검정하기 위하여 단일 농도의 한천희석법을 적용하였

으나, 이러한 방법은 중간 수준의 저항성을 보이는 균주를 정밀하게 구분하는 데 한계가 있을 수 있다. 특히 저항성이 연속적인 양상으로 나타나거나 F129L과 같이 효과가 상대적으로 작은 변이에 의해 형성되는 경우에는 표현형 분류와 유전자형 결과 사이에 불일치가 발생할 가능성이 있다. 따라서, 본 연구에서 관찰된 중도저항성 집단과 KASP 결과 간의 차이는 단일 요인보다는 다양한 저항성 기작과 검정법의 한계가 복합적으로 작용한 결과일 가능성이 높다. 지역별로는 benomyl과 pyraclostrobin 두 약제 모두에 대해 전라도를 제외한 모든 지역이 50% 이상의 감수성을 보였으며 강원도가 80% 이상으로 가장 높았고 다음으로 경기도가 79.6%로 높았다. 전라도는 benomyl에 대해서 27.0%, pyraclostrobin에 대해서 23.9%의 감수성을 보여 가장 낮았다(Fig. 6). 이러한 지역별 감수성 경향의 차이는 강원, 경기 지역이 타 지역에 비해 상대적으로 감수성이 높았고 전라도가 가장 낮았던 한천희석법에 의한 검정 결과와 일치하였다. 결론적으로 benomyl 및 pyraclostrobin과 같이 특정 단일 염기 변이에 의해 주요 저항성이 보고된 살균제 계통의 경우, 지역 단위 대규모 모니터링에서는 KASP 분석을 활용한 유전자 기반 검정이 시간과 비용 측면에서 효율적인 도구가 될 수 있다. 그러나 benomyl 및 azoxystrobin에 대한 저항성 *Colletotrichum* 균주에서 β -tubulin 또는 cytochrome b 유전자의 점돌연변이가 확인되지 않는 사례가 보고되고 있으므로(Moreira et al., 2019; Peres et al., 2004), 저항성 모니터링은 한천희석법과 병행할 필요가 있다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: RS-2025-02212976)의 지원에 의해 수행되었으며, 농촌진흥청의 연구비 지원에 감사드립니다.

Author Information and Contributions

Young Ju Nam, Global Agro-Consulting Corporation, Doctor of philosophy, data analysis, and first draft preparation. <https://orcid.org/0009-0003-8104-2244>.

Su Bin Park, Department of Plant Medicine, Chungbuk National University, Korea, Ph.D. student, Experimentation.

Moon Nam, BIOTO Incorporated, Building B, Migun Techno World 2, 187 Techno 2-ro, Yuseong-gu, Daejeon, 34025, Republic of Korea, Doctor of philosophy, Experimentation.

Hee-Young Jung, Department of Plant Medicine, Kyungpook National University, Professor, Manuscript review and editing. <https://orcid.org/0000-0002-4254-3367>.

이해상충관계

저자는 이해상충관계가 없음을 선언합니다.

Literature Cited

- Abdullahi A, 2025. Taxonomic re-evaluation and fungicide resistance monitoring of *Colletotrichum* spp. causing bitter rot of apple. Ph.D. thesis. Chungbuk National University, Cheongju, Korea.
- Avila-Adame C, Olaya G, Köller W, 2003. Characterization of *Colletotrichum graminicola* isolates resistant to strobilurin-related QoI fungicides. *Plant Disease*, 87(12):1426-1432.
- Brent KJ, Hollomon DW, 2007. Fungicide resistance: The assessment of risk. Fungicide Resistance Action Committee, FRAC Monograph No. 2 second, (revised) edition Brussels, Belgium.
- Carbone I, Kohn LM, 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia* 91(3):553-556.
- Chang TH, Hassan O, Jeon JY, Kim CH, Lee DM, et al., 2023. *Colletotrichum* diversity within different species complex associated with fruit anthracnose in South Korea and their fungicides in vitro sensitivity. *Res. Plant Dis.* 29(4):345-362. (in Korean)
- Chen Y, Fu D, Wang W, Gleason ML, Zhang R, et al., 2022. Diversity of *Colletotrichum* species causing apple bitter rot and Glomerella leaf spot in China. *J. Fungi* 8(7):740.
- Cheon WS, Jeon YH, 2015. Survey of major diseases occurred on apple in northern Gyeongbuk from 2013 to 2014. *Res. Plant Dis.* 21(4):261-267. (in Korean)
- Cortaga CQ, Cordez BWP, Dacones LS, Balendres MAO, Dela Cueva FM, 2023. Mutations associated with fungicide resistance in *Colletotrichum* species: a review. *Phytoparasitica* 51(3):569-592.
- Fernández-Ortuño D, Torés JA, de Vicente A, Pérez-García A, 2008. Mechanisms of resistance to QoI fungicides in phytopathogenic fungi. *Int. Microbiol.* 11(1):1-9.
- Fungicide Resistance Action Committee (FRAC), 2025. FRAC code list 2025: fungal control agents sorted by cross resistance pattern and mode of action. <https://www.frac.info/publications/all-downloads/> (accessed Jan. 10, 2026).
- Gardes M, Bruns TD, 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes: application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Mol. Ecol.* 2(2):113-118.
- Grasso V, Palermo S, Sierotzki H, Garibaldi A, Gisi U, 2006. Cytochrome b gene structure and consequences for resistance to Qo inhibitor fungicides in plant pathogens. *Pest Manag. Sci.* 62(6):465-472.
- Gisi U, Sierotzki H, Cook A, McCaffery A, 2002. Mechanisms influencing the evolution of resistance to Qo inhibitor fungicides. *Pest Manag. Sci.* 58(9):859-867.
- Isa DA, Kim HT, 2022. Cytochrome b gene based assay for monitoring the resistance of *Colletotrichum* spp. to pyraclostrobin. *Plant Pathol. J.* 38(6):616-628.
- Karim MM, Usman HM, Tan Q, Hu JJ, Fan F, et al., 2024. Fungicide resistance in *Colletotrichum fructicola* and *Colletotrichum siamense* causing peach anthracnose in China. *Pestic. Biochem. Physiol.* 203:106006.
- Kim CH, Hassan O, Chang TH, 2020. Diversity, pathogenicity, and fungicide sensitivity of *Colletotrichum* species associated with apple anthracnose in South Korea. *Plant Dis.* 104(11):2866-2874.
- Kim JY, Kim HT, Jeon YH, 2023. Research on fungicide sensitivity of *Colletotrichum* spp. isolated from apple fruits in Cheongsong, Korea. *Res. Plant Dis.* 29(2):145-157. (in Korean)
- Kim JT, Min JY, Kim HT, 2006. Response to fungicides of *Colletotrichum* species isolated from infected tissues of several crops. *Res. Plant Dis.* 12(1):32-39. (in Korean)
- Lee DH, Lee SW, Choi KH, Kim DA, Uhm JY, 2006. Survey on the occurrence of apple diseases in Korea from 1992 to 2000. *Plant Pathol. J.* 22(4):375-380.
- Lee DH, Kim DH, Jeon YA, Uhm JY, Hong SB, 2007. Molecular and cultural characterization of *Colletotrichum* spp. causing bitter rot of apples in Korea. *Plant Pathol. J.* 23(2):37-44.
- Lee DH, Kim DH, Shin H, Uhm JY, 2008. Development of a 15-day interval spraying program for controlling major apple diseases. *Plant Pathol. J.* 24(4):439-446.
- Lee DH, Shin H, Uhm JY, 2009. Reducing fungicidal spray frequency for major apple diseases by increasing the spray interval from 15 to 25 days. *Plant Pathol. J.* 25(3):270-279.
- Ma Z, Michailides TJ, 2005. Advances in understanding molecular mechanisms of fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes in phytopathogenic fungi. *Crop Prot.* 24(10):853-863.
- Moreira RR, May-De Mio LL, Garrido LR, Casa RT, Everhart SE, 2019. Sensitivity of the *Colletotrichum acutatum* species complex from apple trees in Brazil to dithiocarbamate, methyl benzimidazole carbamates, and quinone outside inhibitor fungicides. *Plant Dis.* 103(10):2569-2576.
- O'Donnell K, Cigelnik E, 1997. Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium graminearum* and related species. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94(12):6228-6233.
- Oo MM, Lim GT, Jang HA, Oh SK, 2017. Characterization and pathogenicity of new record of anthracnose on various chili varieties caused by *Colletotrichum scovillei* in Korea. *Mycobiology* 45(3):184-191.
- Peres NAR, Souza NL, Peever TL, Timmer LW, 2004. Benomyl sensitivity of isolates of *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* from citrus. *Plant Dis.* 88:125-130.
- Rasheed A, Wen W, Gao F, Zhai S, Jin H, et al., 2016. Development and validation of KASP assays for genes underpinning key economic traits in bread wheat. *Theor. Appl. Genet.* 129(10):

- 1843-1860.
- Rural Development Administration (RDA), 2023. Crop disease and pest forecast annual report. <http://ncpms.rda.go.kr> (accessed Jul. 4, 2025). (in Korean)
- Semagn K, Babu R, Hearne S, Olsen M, 2014. Single nucleotide polymorphism genotyping using Kompetitive Allele Specific PCR (KASP): overview of the technology and its application in crop improvement. *Mol. Breed.* 33(1):1-14.
- Sutton TB, Aldwinckle HS, Agnello AM, Walgenbach JF, 1990. Compendium of Apple and Pear Diseases. APS Press, St. Paul, MN, USA. 100 pp.
- Tan Q, Schnabel G, Chaisiri C, Yin LF, Yin WX, et al., 2022. *Colletotrichum* species associated with peaches in China. *J. Fungi* 8(3):313.
- Templeton MD, Rikkerink EH, Solon SL, Crowhurst RN, 1992. Cloning and molecular characterization of the glyceraldehyde 3 phosphate dehydrogenase encoding gene and cDNA from the plant pathogenic fungus *Glomerella cingulata*. *Gene* 122(1):225-230.
- Vela Corcía D, Romero D, de Vicente A, Pérez García A, 2018. Analysis of β tubulin-carbendazim interaction reveals that binding site for MBC fungicides does not include residues involved in fungicide resistance. *Sci. Rep.* 8(1):7161.
- Vielba-Fernández A, Bellón-Gómez D, Torés JA, de Vicente A, Pérez-García A, et al., 2018. Heteroplasmy for the cytochrome b gene in *Podosphaera xanthii* and its role in resistance to QoI fungicides in Spain. *Plant Dis.* 102(8):1599-1605.
- Wei L, Zheng H, Zhang P, Chen W, Zheng J, et al., 2021. Molecular and biochemical characterization of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates resistant to azoxystrobin from grape in China. *Plant Pathol.* 70(6):1300-1309.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J, 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. Academic Press, San Diego, CA, USA. pp. 315-322.
- Widiastuti A, Santosa AI, Hidayat AN, Wibowo A, Priyatmojo A, 2025. Cytochrome b gene analysis for pyraclostrobin resistant *Colletotrichum asianum* in mango unveils unanticipated F129L mutation caused by TTA SNP. *Res. Plant Dis.* 31(2):158-168.
- Wood PM, Hollomon, DW, 2003. A critical evaluation of the role of alternative oxidase in the performance of strobilurin and related fungicides acting at the Qo site of complex III. *Pest Manag. Sci.* 59(4):499-511.
- Yokosawa S, Eguchi Y, Matsushita Y, Suzuki T, 2017. Phylogenetic relationship and fungicide sensitivity of members of the *Colletotrichum gloeosporioides* species complex from apple. *J. Gen. Plant Pathol.* 83(5):291-299.
- Zhang Z, Ban Y, Wei J, Wu Q, Dong L, et al., 2025. Rapid resistance detection of *Amaranthus retroflexus* to fomesafen via kompetitive allele specific PCR (KASP). *Plants* 14(4):515.

국내 사과탄저병균의 다양성 및 살균제 감수성 모니터링

남영주^{1,2} · 박수빈^{1,3} · 남문⁴ · 정희영^{2*}

¹글로벌농업컨설팅㈜, ²경북대학교 식물의학과, ³충북대학교 식물의학과, ⁴바이오투

요 약 국내 사과탄저병균(*Colletotrichum* spp.)은 주로 살균제를 이용하여 방제되고 있으나, 체계적인 감수성 모니터링 자료는 부족한 실정이다. 본 연구는 2022년부터 2024년까지 국내 5개 권역의 주요 사과 재배지에서 수집한 총 2,440균주를 대상으로 benomyl, fluazinam, pyraclostrobin, tebuconazole 4종 살균제에 대한 감수성을 평가하였다. 4종 살균제 중 Fluazinam(86.8%)과 tebuconazole(97.2%)은 높은 감수성을 유지하였다. Benomyl에 대한 감수성은 54.3%로 나타났고, 2022년 56.7%에서 2024년에는 50.0%로 점차 감소하는 경향을 보였다. Pyraclostrobin에 대한 감수성은 19.9%로 가장 낮았으나 2022년 9.8%에서 2024년에는 28.6%로 증가하는 추세를 나타냈다. 지역별 분석에서는 강원도와 경기도 분리균이 benomyl과 pyraclostrobin에 대해 전라도 분리균보다 높은 감수성을 나타냈다. 우점종은 *C. fructicola*(46.7%)와 *C. siamense*(40.8%)로 확인되었다. *C. siamense* 균주는 *C. fructicola*에 비해 benomyl과 pyraclostrobin에 대해 상대적으로 높은 감수성을 보였으나, *C. siamense* 균주의 46.4%는 pyraclostrobin에 대해 중도 저항성을 나타냈다. KASP(Kompetitive Allele-Specific PCR)를 이용한 변이 분석 결과, pyraclostrobin 저항성은 *cytochrome b* 유전자의 G143A 변이와 연관된 것으로 확인되었으며, 중도저항성 균주에서는 해당 변이가 확인되지 않았다. 본 연구는 국내 사과 탄저병 *Colletotrichum*균주의 연간 감수성 변화, 우점종의 지역별 분포 및 종간 차이를 규명함으로써, 지역별 맞춤형 방제 전략 수립을 위한 기초자료를 제공한다.

핵심어: 사과 탄저병, *Colletotrichum fructicola*, *C. siamense*, 살균제 감수성, KASP (Kompetitive Allele-Specific PCR)

Supplementary Table S1. Detailed sampling sites of *Colletotrichum* isolates collected from apple orchards in Korea (2022–2024).

Province	City (Si/Gun)	Township (Eup/Myeon/Dong)	Village (Ri)
Chungcheong-do	Yesan-gun	Sinam-myeon, Oga-myeon, Sapgyo-eup	Sintaek-ri, Jonggyeong-ri, Naeryang-ri, Sangseong-ri, Yonggung-ri
	Jecheon-si	Deoksan-myeon, Hansu-myeon	Seongo-ri, Sinhyeon-ri, Deokgok-ri
	Chungju-si	Noeun-myeon, Daesowon-myeon, Suanbo-myeon, Dongnyang-myeon	Sinhyo-ri, Maehyeon-ri, Suhoe-ri, Anbo-ri, Sondong-ri
	Goesan-gun	Buljeong-myeon, Gammul-myeon, Yeonpung-myeon,	Oeryeong-ri, Guwol-ri, Sambang-ri, Chusan-ri, Aengcheon-ri, Jeokseok-ri, Yuha-ri
	Yeongdong-gun	Yanggang-myeon, Yeongdong-eup	Goemok-ri, Jukchon-ri, Yangjeong-ri, Hoedong-ri, Namjeon-ri, Sanmak-ri
	Boeun-gun	Samseung-myeon,	Dalsan-ri, Sangga-ri, Naemang-ri, Ujin-ri
Gangwon-do	Pyeongchang-gun	Pyeongchang-eup, Daehwa-myeon, Yongpyeong-myeon	Jongbu-ri, Daehwa-ri, Dodon-ri, Jaesan-ri
	Yeongwol-gun	Yeongwol-eup, Nam-myeon	Palgoe-ri, Samok-ri, Togyo-ri
	Yanggu-gun	Haean-myeon, Guktojeongjungang-myeon, Bangsan-myeon, Yanggu-eup	Oyu-ri, Hu-ri, Song-u-ri, Wolsan-ri, Chiljeon-ri, Sang-ri, Gongsu-ri
	Hongcheon-gun	Yeonggwimi-myeon	Gae-un-ri, Hudong-ri
	Cheorwon-gun	Dongsong-eup	Ipyeong-ri, Oji-ri, Gwanu-ri
	Jeongseon-gun	Imgye-myeon	Yongsan-ri
	Hwacheon-gun	Hanam-myeon, Hwacheon-eup, Sangseo-myeon, Sanae-myeon	Georye-ri, Pungsan-ri, Bong-o-ri, Gwangdeok-ri, Damok-ri
Gyeonggi-do	Hwaseong-si	Jeongnam-myeon, Seosin-myeon, Namyang-eup, Jangan-myeon,	Jegi-ri, Jang-an-ri, Hongbeop-ri, Anseok-ri, Sagot-ri
	Icheon-si	Seolseong-myeon, Daewol-myeon, Janghowon-eup	Jangcheon-ri, Bupil-ri, Songgye-ri, Eoseok-ri
	Paju-si	Gyoha-dong, Dangha-dong, Gunnae-myeon, Gwangtan-myeon, Papyeong-myeon	Gyoha-dong, Dangha-dong, Eumnae-ri, Majang-ri, Yeongjiang-ri, Geumpa-ri
	Pocheon-si	Ildong-myeon, Sinbuk-myeon, Changsu-myeon	Hwadae-ri, Sajik-ri, Giji-ri, Oga-ri, Gyeryu-ri, Gisan-ri
	Gwangju-si	Namjong-myeon, Chowol-eup, Jangji-dong	Sucheong-ri, Jiwol-ri
	Gapyeong-gun	Buk-myeon, Gapyeong-eup,	Baekdun-ri, Hasaek-ri, Igok-ri, Sobeop-ri, Majang-ri, Seungan-ri, Jeryeong-ri
	Yeoncheon-gun	Gunnam-myeon, Wangjing-myeon, Misan-myeon	Okgye-ri, Dongjung-ri, Ami-ri
Gyeongsang-do	Geochang-gun	Mari-myeon, Namha-myeon, Geochang-eup	Daedong-ri, Dunma-ri, Gaji-ri
	Andong-si	Pungsan-eup, Giran-myeon, Nokjeon-myeon, Iljik-myeon, Imdong-myeon	Jukjeon-ri, Cheonji-ri, Nongnae-ri, Gwimi-ri, Gocheon-ri
	Bonghwa-gun	Sangun-myeon, Chunyang-myeon, Beopjeon-myeon, Myeongho-myeon	Silla-ri, Seobyeok-ri, Nulsan-ri, Yanggok-ri
	Uiseong-gun	Jeomgok-myeon, Danchon-myeon	Songnae-ri, Yunam-ri, Hupyeong-ri
	Cheongsong-gun	Hyeondong-myeon, Bunam-myeon, Andeok-myeon, Hyeondong-myeon, Hyeonseo-myeon	Gaeil-ri, Yangsuk-ri, Jangjeon-ri, Changyang-ri, Hwamok-ri, Woljeong-ri
	Yeongju-si	Bonghyeon-myeon, Jangsu-myeon, Anjeong-myeon, Buseok-myeon,	Dusan-ri, Galsan-ri, Ongam-ri, Ansir-ri, Yongam-ri
	Gunwi-gun	Sobo-myeon, Gunwi-eup, Ubo-myeon, Hyoryeong-myeon	Wiseong-ri, Museong-ri, Miseong-ri, Hwagye-ri, Byeongsu-ri
	Yecheon-gun	Eunpung-myeon, Jibo-myeon, Eunpung-myeon, Gamcheon-myeon, Bomun-myeon	Geumgok-ri, Majeon-ri, Oryu-ri, Eosin-ri, Po-ri, Sanseong-ri
Jeolla-do	Jangsu-gun	Cheoncheon-myeon, Jangsu-eup, Gyeonam-myeon, Beonam-myeon, Janggye-myeon,	Namyang-ri, Gaejeong-ri, Songcheon-ri, Jangpan-ri, Sinjeon-ri, Yujeong-ri, Sambong-ri, Dusan-ri
	Jinan-gun	Jinan-eup, Baegun-myeon, Sangjeon-myeon, Yongdam-myeon, Maryeong-myeon	Ocheon-ri, Mulgok-ri, Baegam-ri, Jupyeong-ri, Songpung-ri, Sudong-ri, Gyeseo-ri
	Muju-gun	Seolcheon-myeon, Jeoksang-myeon, Mupung-myeon, Muju-eup	Samgong-ri, Sasan-ri, Geumpyeong-ri, Yongpo-ri
	Namwon-si	Ayeong-myeon, Unbong-eup	Gusang-ri, Galgye-ri, Hwasu-ri, Im-ri, Gwonpo-ri
	Gimje-si	Seongdeok-myeon, Seoam-dong, Yongji-myeon, Baeksan-myeon	Daemok-ri, Sinjeong-ri, Surok-ri
	Jangseong-gun	Bukha-myeon, Samgye-myeon,	Seong-am-ri, Jungpyeong-ri, Yongdu-ri, Sangdo-ri, Yaksu-ri
	Jeongeup-si	Gamgok-myeon, Deokcheon-myeon	Yujeong-ri, Hahak-ri
	Iksan-si	Geumma-myeon, Mangseong-myeon, Nangsan-myeon	Galsan-ri, Naechon-ri, Seongnam-ri