

토마토 잿빛곰팡이병균 약제저항성 간이 판별법

이문행^{1*} · 이희경¹ · 김성은¹ · 이환구¹ · 이순계¹ · 유승현² · 김영식³ · 김상우⁴ · 이윤수^{4*}

¹충청남도농업기술원 부여토마토시험장, ²충남대학교 응용생물학과, ³상명대학교, ⁴강원대학교 식물자원응용공학과

Simple Method to Discriminate the Fungicide Resistant *Botrytis cinerea* Strain in Tomatoes

Mun Haeng Lee^{1*}, Hee Kyoung Lee¹, Sung Eun Kim¹, Hwan Gu Lee¹, Sun Gye Lee¹, Seung Hun Yu², Young Shik Kim³, Sang Woo Kim⁴ and Youn Su Lee^{4*}

¹Buyeo Tomato Experiment Station, CARES, Buyeo 323-814, Korea,

²Department of Applied Biology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea,

³Sangmyung University, 300 Anseo-dong, Cheonan, Chungnam 330-720, Korea,

⁴Department of Applied Plant Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

ABSTRACT : Grey mold infection rate in tomato was investigated with the inoculation of dead flowers on *Botrytis* selective media. The grey mold infection rate of flower after fruiting were higher in the order of after 45 days, after 25 days, and fruiting day with 100%, 87% and 65%, respectively. The number of infected flowers were increased with time increase after the flowering before fruiting. BSM (*Botrytis* selective medium) was used to check grey mold infection rate depending on the flowering stage and cultivar. Grey mold infection rate depending on the flowering stage was similar in all the beef-tomato cultivar as 1.5~5% at pre-flowering, 1.5~4.5% at flowering and 75~90% at fruiting. On the other hand, cherry tomato cultivar "KoKo" had lower infection rates of 0~3.5% at pre-flowering, 10~30% at flowering and 20~50% at fruiting. These resulted from the fact that beef-tomato cultivar have much bigger flowers and larger amount of pollens compared to those of cherry tomato cultivar. The amounts of falling pollens of *Botrytis* spp. were checked for beef-tomato cultivar and cherry tomato cultivar using BSTM. The amounts of falling pollens were increased as growth period was extended, and the amount of spores increased rapidly during the outbreak of grey mold. Twelve field trials in Buyeo and Iksan areas showed that Fluazinam, and Diethofencarb+Carbendazim were effective fungicides to control tomato grey mold, and these results were similar to those of field trials with BSTM. This is the first report of Fluazinam as a effective fungicide for the control of grey mold of tomato even though it has not been registered yet for the control of gray mold in tomato.

KEYWORDS : *Botrytis cinerea*, Fungicide resistance, Tomato

서론

잿빛곰팡이병은 각종 원예작물에 광범위하게 발생하는 중요 식물병의 하나이다(Agrios 1988; Jarvis, 1977). 병원균은 자낭균인 *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel이지만 자연 상태에서는 주로 불완전세대인 *Botrytis cinerea* Pers.:Fr.로 존재한다. 이 병의 병징은 기주 식물의 종류 및 생육시기에 따라 다양하게 나타난다. 토마토에서는 주로 꽃머름병과 열매썩음병으로 나타나지만, 줄기를 유인하거나 하엽제거 및 적심작업 시 발생한 상처를 통하여 침입하여 줄기썩음병을 일으키기도 한다. 이 병은 작물의 생육시기에 발생하여 피해를 줄 뿐 아니라 수확 후 저장, 운송 및 판매중인 열매에도 발병하여 큰 피해를 준다. 병원균은 병든 식물의 잔재에서 균사체나 균핵으로 월동하며, 생육환

Kor. J. Mycol. 2013 September, 41(3): 172-180
<http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2013.41.3.172>
 pISSN 0253-651X
 © The Korean Society of Mycology

***Corresponding author**

E-mail: younslee@kangwon.ac.kr; dogue24@korea.kr

Received June 10, 2013

Revised July 29, 2013

Accepted September 17, 2013

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

경이 적절하면 발아하여 식물체를 감염시킨다. 식물체에서의 2차 감염은 주로 분생포자에 의하는데 분생포자는 날씨가 습할 때에 쉽게 방출되고 바람에 의하여 전파된다. 이 병은 저온 다습한 환경에서 발생이 심하고 이른 봄부터 발생하여 장마기까지 발생이 계속되다가 여름철 고온기가 되면 병발생이 줄어든다. 시설재배지에서 배수 불량 및 환기가 좋지 않은 경우, 밀식이나 과번무하여 통풍이 좋지 않은 경우 발병이 심하다.

이 병의 방제법으로는 저항성 품종의 이용이 비실용적이기 때문에, 재배 시설내의 환기 및 온풍 장치를 이용하여 저온 다습의 발병환경을 개선하는 방법, 발병 식물을 제거하여 2차 전염원을 제거하는 방법, 밀식을 피하고 과번무를 막기 위하여 질소 비료의 사용을 제한하는 방법 등 경종적 방제법등이 이용되고 있다. 또한 최근 친환경 농산물에 대한 소비자들의 관심이 높아짐에 따라 길항 세균, 곰팡이 및 효모균을 이용한 생물적 방제법에 관한 연구가 활발히 진행되고 있으나(Kohl *et al.*, 1995, Sutton and Peng, 1993) 아직 시설재배에서의 실용적인 적용은 어려운 실정이다. 잣빛곰팡이병 방제에는 여러 가지 방제수단(Eland *et al.*, 1994; English *et al.*, 1989)이 있으나 실제로는 각종 살균제를 이용한 화학적 방제에 주로 의존하고 있다. 그러나 화학적 방제는 여러 가지 문제를 유발할 수 있는데 그 중에서도 살균제 저항성균의 출현에 의한 약효 경감은 가장 큰 문제가 된다.

살균제 저항성이란 “곰팡이가 살균제에 대하여 안정하고, 유전적인 변이에 의하여 정상적인 감수성이 저하된 것”을 의미한다(Delp and Dekkek, 1985). 이 용어는 일반적으로 살균제에 대하여 감수성이던 곰팡이가 돌연변이에 의하여 감수성이 저하된 경우에 사용된다. 저항성 발생은 단인자 돌연변이에 따라 어느 순간에 발생하거나 또는 다인자 돌연변이에 의하여 점진적으로 될 수 있다. 살균제에 대한 저항성 작용 기작은 다양한데, 곰팡이의 1차 작용점이 변화함으로써 저항성을 나타내는 경우, 살균제 흡수 자체가 감소하거나, 살균제가 무독화되는 경우등 다양한 기작이 보고되어 있다(Georgopoulos and Skylakakis, 1986). 오랜기간 잣빛곰팡이병 방제 약제로 사용되어 왔던 약제인 benzimidazole계 및 dicarboximide계 살균제가 억제저항성균의 출현으로 약효 상실이 보고되었다(Elad *et al.*, 1988; Faretra *et al.*, 1989). Benzimidazole계 약제인 benomyl은 침투성 약제로서 살균 작용 범위가 넓고, 낮은 농도에서도 좋은 효과를 보이므로 잣빛곰팡이병 뿐만 아니라 다른 병의 방제에도 널리 사용되어 왔다. 그러나 억제저항성균의 출현으로 인한 약효감소로 인해 현재는 사용량이 현저히 감소되어 있다. 국내에서 benzimidazole계 약제에 대한 저항성균의 출현에 관한 보고를 보면 1984년에 6.7%(Baek, 1984)의 발생이 보고된 반면 그 후 62~86%의 높은 발생율이 보고되었다(Kim, 1997). 또한 benzimidazole계 약제인 benomyl, carbendazim, thiophanate-methyl 등은 약제간

에 교차 저항성이 있음이 보고되었으며(Delp, 1988; Edlich and Lyr, 1992) 대부분의 dicarboximide계 살균제에 저항성을 보이는 균은 benzimidazole계 살균제에 대하여도 저항성을 나타내는데 이를 이중저항성이라고 한다(Delp, 1988; Gullino *et al.*, 1989; Leroux and Fritz, 1984). Benzimidazole계 살균제의 저항성 문제를 해결하기 위해 dicarboximide계 살균제(procymidone, vinclozoline, ipodione *et al.*)가 개발되었으나 이 역시 수년 후에 토마토, 오이, 딸기 등에서 저항성균의 출현이 보고되었다(Murakoshi and Hosaya, 1982).

Carbamate계 제초제가 benzimidazole계 살균제 저항성균에 특이적인 효과를 나타낸다는 것이 보고된 후(Leroux and Gredt, 1984), 이들 약제 저항성균의 방제를 위하여 N-phenylcarbamate계 살균제와 benzimidazole계 살균제의 합제가 개발되어 보급되었다. 이러한 역상관 교차저항성(negatively correlated cross resisitant)을 이용한 살균제도 두 살균제에 모두 저항성을 나타내는 다중 저항성 병원균의 출현으로(Elad *et al.*, 1992; Faretra *et al.*, 1989; Katan *et al.*, 1989) 다시 문제가 되고 있으며 심지어 N-phenylcarbamate계 살균제를 전혀 사용하지 않은 지역에서도 다중 저항성 균의 발생이 보고되고 있다(Faretra *et al.*, 1989). 이렇게 발생하는 저항성균 및 다중 저항성 균을 방제하기 위하여 계속하여 phenylpyrrol계 및 ergosterol 합성 저해제 등이 개발되었으나 계속되는 억제저항성균의 출현은 약제방제의 문제점으로 대두되고 있다. 따라서 효과적인 잣빛곰팡이병의 방제를 위하여는 포장별로 억제저항성균의 발생과 분포에 관한 정확한 정보가 필요하며 각 포장에 적합한 효과적인 살균제의 처방이 필요하다.

이 연구는 토마토 꽃잎에 감염된 잣빛곰팡이와 공중 포자를 이용하여 포장에서 억제저항성균의 발생을 간편하게 판별할 수 있는 간이검정법의 개발을 목적으로 실시하였다.

재료 및 방법

Botrytis 선택배지(Botrytis selective medium: BSM)의 조제

선택배지를 Edwards and Sedden(2001)의 방법에 따라 다음과 같이 조제하였다. Glucose(2 g), NaNO₃(0.1 g), K₂HPO₄(0.1 g), MgSO₄·7H₂O(0.2 g), chloramphenicol(0.2 g), pentachloronotrobenzene(0.02 g), Maneb 80(0.02 g), rose bengal(0.05 g), tannic acid(5 g), agar(20 g)/L을 autoclaving을 하지 않고 끓여서 배지를 만들고 pH는 4.5로 교정하였으며 9 cm 1회용 Petri dish에 부어 굳혀 사용하였다.

Botrytis 포자채집 배지(Botrytis spore trap medium: BSTM)의 조제

포자채집 배지는 Edwards and Sedden(2001)의 방법에 따라 조제하였다. Glucose(2 g), NaNO₃(0.1 g), K₂HPO₄(0.1 g),

MgSO₄·7H₂O(0.2 g), chloramphenicol(0.2 g), pentachloronotrobenzene(0.02 g), Maneb 80(0.02 g), Rubigan(0.1 g), tannic acid(5 g), agar(20 g)을 증류수 1 L에 넣고 잘 섞은 다음 autoclaving을 하지 않고 끓여서 배지를 만든 후 만들어진 배지를 9 cm 1회용 Petri dish에 부어 균혀 사용하였다.

갯빛곰팡이병균의 꽃잎 감염시기 조사

2010년 부여토마토시험장에서 유리온실에서 수경재배로 재배중인 시판품종 ‘꼬꼬’, ‘도태랑레드’, ‘호용’, ‘메디슨’의 개화 전, 개화 후, 착과 후의 꽃잎을 각각 20개씩 시기별로 5회 채집하여 BSM에 올려 놓고, 20°C 배양기에서 3일간 배양한 후 갯빛곰팡이병균의 감염여부를 조사하였다.

한편 착과 후 최적 감염시기를 조사하기 위해 위와 같은 유리온실에서 재배된 토마토의 착과 직후, 착과 후 25일, 착과 후 45일된 각각 100개씩 채집하여 3반복으로 BSM에 올려 놓고, 20°C 배양기에서 3일간 배양 후 갯빛곰팡이병균의 감염 여부를 조사하였다.

토마토 포장 내의 *B. cinerea* 비산 포자 채집

2010년 1월부터 3월까지 부여 토마토시험장 유리온실에서 BSTM 배지를 이용하여 포장내의 갯빛곰팡이병균 비산 포자 채집 실험을 실시하였다. 토마토 품종은 방울토마토 ‘꼬꼬’, 일반토마토 ‘호용’을 재배하였다. BSTM배지가 담겨 있는 Petri dish의 뚜껑을 열어 온실 바닥에 놓고 24시간 후에 배지를 회수하여 뚜껑을 덮고 20°C 배양기에서 3일간 배양하여 포자를 받아서킨 후 채집 포자수를 조사하였다. 조사 횟수는 6회였으며 1회 조사에 BSTM이 담겨 있는 Petri dish 10장씩 사용하였다.

약제저항성균 검정용 배지 조사

BSM, BSTM을 조제하여 50~60°C로 식힌 후 공시 약제인 Diethofencarb(50%)+Carbendazim(50%), Benomyl, Fluazinam, Triflumizole, Vinclozoline, Boscolid를 포장사용농도(2009년 작물보호제 지침서)인 550, 250, 250, 110, 500, 330 ppm이 되게 넣은 다음 위에서와 같은 방법으로 조제하였다.

약제 저항성균 간이검정법 포장적용 시험

2010년 1월에서 6월에 걸쳐 충남지역 토마토 주산단지의 토마토 시설 재배단지 포장 12곳에서 BSM 및 BSTM을 응용한 약제저항성 검정용 배지를 이용하여 포장내의 갯빛곰팡이병균 약제저항성균의 발생과 분포를 조사하였다.

결과 및 고찰

토마토 품종별 갯빛곰팡이병균의 꽃잎 감염시기

Botrytis 선택배지(BSM)을 이용하여 토마토 갯빛곰팡이병균의 토마토 꽃잎 감염시기를 조사한 결과는 다음의 Fig.

1~4 및 Table 1~3과 같다. BSM은 *B. cinerea*의 포자가 발아하여 성장할 경우 배지가 짙은 갈색을 띄어(Edwards and Sedden, 2001), *Botrytis*를 쉽게 확인할 수 있는 배지이다.

개화 전, 개화 후, 착과 후의 토마토 꽃을 채취하여 BSM에 올려놓고 배양할 경우(Fig. 1), 개화 전의 꽃에서는 갯빛곰팡이병균이 발생하지 않았으나(Fig. 2), 개화 후 채취한 꽃에서는 일부가 짙은 갈색으로 변화였고(Fig. 3), 착과 후 채취한 꽃잎은 모든 처리에서 짙은 갈색을 나타냈다(Fig. 4). 이 결과는 토마토 갯빛곰팡이병균의 열매감염이

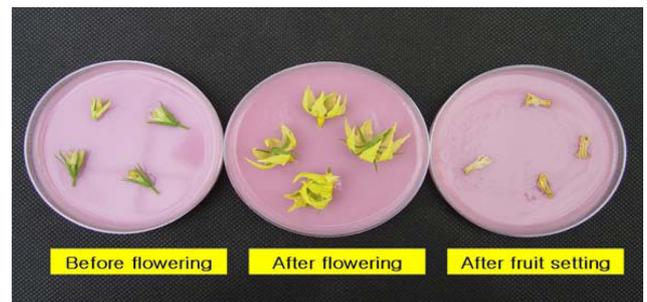


Fig. 1. Inoculation of flowers at different flowering stage on BSM for the study of *B. cinerea* infection rate.



Fig. 2. Growth of *B. cinerea* on BSM inoculated with young petals before flowering.



Fig. 3. Growth of *B. cinerea* on BSM with fresh petals after flowering.



Fig. 4. Growth of *B. cinerea* on BSM with dead petals after fruiting.

개화 후 특히 착과 후 시작된다는 것을 나타내며 이는 기존의 보고(Gisi, 1982)와 일치하는 것이다.

Table 1은 토마토가 착과된 후 시기별로 죽은 꽃잎을 채취하여 BSM배지에 올려 놓고 잿빛곰팡이병균의 감염 정도를 조사한 결과이다. 착과 직후 채취한 꽃잎에서는 65%의 감염률을 보였으나 착과 후 25일에 채취한 꽃잎에서는 87%, 45일 후에 채취한 꽃잎에서는 100%의 감염률을 보였다. 착과 후 시간이 지날수록 잿빛곰팡이병균에 감염된

꽃은 증가하였다. 잿빛곰팡이병균은 부생성이 강한 균으로 토마토가 착과된 후 꽃이 죽게 되면 먼저 죽은 꽃잎에 발생하여 과일을 침해하게 된다. 따라서 토마토 잿빛곰팡이병을 예방하기 위해서는 과일에 붙은 죽은 꽃을 제거하는 것이(Gisi, 1982) 매우 효과적일 것이다.

다음은 토마토 품종별로 개화 전 후의 잿빛곰팡이병균의 감염율을 조사한 결과이다 (Table 2, 3). 먼저 2010년 1월 22일 조사한 결과를 보면 (Table 2) 일반토마토(‘슈퍼도태랑’, ‘호용’, ‘메디슨’) 3품종에서는 개화 전에 1.5~3.5%로 비교적 낮은 잿빛곰팡이 감염률을 보인 반면 개화 후에는 30~45%, 착과 후에는 70~75%로 높은 감염률을 보였다. 방울토마토 ‘꼬꼬’에서는 감염률이 개화 전 1.5%, 착과 후 20%로 일반토마토에 비하여 매우 낮았다 (Table 2). 일반토마토가 방울토마토에 비하여 잿빛곰팡이 감염률이 높은 것은 주두가 크고 꽃가루량이 많을 뿐 아니라 꽃잎이 늦게까지 붙어 있어 잿빛곰팡이가 쉽게 번식할 수 있는 여건이 되기 때문으로 판단된다.

Table 3은 2010년 3월 15일 품종별 꽃에서의 잿빛곰팡이병 감염률을 조사한 것이다. 일반토마토 3품종에서는 개화 전에 1.5~5%로 비교적 낮은 잿빛곰팡이병균 감염률을 보였으며 개화 후에는 45%, 착과 후에는 70~80% 감염률을 보였다. 방울토마토 ‘꼬꼬’에서는 감염률이 0~45%로 일반

Table 1. Infection rate of *Botrytis* on flowers at different fruit development stage^y

Fruit development Stages	No. of flowers treated	No. of flowers infected with grey mold	Infection rate (%) ^z
Right after fruit setting	100	65.0	65b
25 days after fruit setting	100	86.6	87ab
45 days after fruit setting	100	99.6	100a

^yThe flowers were placed on *Botrytis* selective medium to check infection rates.

^zMeans followed by the same letter in the columns are not significantly different according to Duncan's Multiple Range Test (DMRT) at ≤ 0.05 .

Table 2. Infection rate of grey mold on flowers of four different cultivar at different fungicide treatment schedule on January 22, 2010^z

Cultivar	Treatment time	No. of inoculated flowers	No. of infected flowers	Infection rate (%)
Super Dotaerang (Beaf-steak tomato)	Before blooming	20	0.7	3.5
	After blooming	20	8	40.0
	After fruit setting	20	14	70.0
Medison (Beaf-steak tomato)	Before blooming	20	0.3	1.5
	After blooming	20	9	45.0
	After fruit setting	20	15	75.0
Hoyung (Beaf-steak tomato)	Before blooming	20	0.7	3.5
	After blooming	20	6	30.0
	After fruit setting	20	15	75.0
KoKo (Cherry tomato)	Before blooming	20	0.3	1.5
	After blooming	20	2	10.0
	After fruit setting	20	4	20.0

^zThree replications in each trial were used in greenhouse tests, and the results shown are the mean values of each different treatment.

Table 3. Infection rate of grey mold on flowers of four different cultivars at different fungicide treatment schedule on March 15, 2010^a

Cultivar	Treatment time	No. of inoculated flowers	No. of infected flowers	Infection rate (%)
Super dotaerang (Beaf-steak tomato)	Before blooming	20	1	5.0
	After blooming	20	10	45.0
	After Fruit setting	20	14	80.0
Medison (Beaf-steak tomato)	Before blooming	20	0.3	1.5
	After blooming	20	9	45.0
	After Fruit setting	20	14	70.0
Hoyung (Beaf-steak tomato)	Before blooming	20	0.7	1.5
	After blooming	20	9	45.0
	After Fruit setting	20	15	75.0
KoKo (Cherry tomato)	Before blooming	20	0	0
	After bloomin	20	5	25.0
	After Fruit setting	20	9	45.0

^aThree replications in each trial were used in greenhouse tests, and the results shown are the mean values of each different treatment.

Table 4. Number of colonies of *B. cinerea* on BSTM as a result of collection of falling spores from flowers of two different cultivars before and after the appearance of grey mold in the greenhouse^b

Spore collecting date	Cherry tomato	Beaf-steak tomato	Remarks
2010. 1. 19	2	4	Before grey mold appearance
2010. 1. 29	3	7	
2010. 2. 11	10	13 ^c	After grey mold appearance
2010. 2. 22	9	15 ^c	
2010. 3. 02	12	15 ^c	
2010. 3. 09	11	20 ^c	

^bThree replications in each trial were used in greenhouse tests, and the results shown are the mean values of each different date.

^cTen of Ø9 cm petri dishes were used for the collection of the spores for each date.

토마토와 비교 감염률이 낮았다.

이렇게 대부분 착과 후 토마토꽃의 70% 이상에서 잿빛곰팡이병균이 발견된 결과는 꽃의 주두(stigma)에 먼저 감염되며 주요 침입 경로가 된다(Olivier *et al.*, 2004; Bristow *et al.*, 2008)는 보고와 꽃의 주두(stigma)와 꽃잎(petal)에서 *Botrytis cinerea*의 포자발아가 더 빠르다(Perryman *et al.*, 2002) 등의 보고들과 관련이 있다고 생각된다. 또한 개화 후 및 착과 후의 *B. cinerea*에 감염된 꽃잎을 이용하여 포장 내에 분포하는 균주들의 약제 저항성 검정을 간편하게 할 수 있음을 알 수 있었다.

토마토 포장 내의 잿빛곰팡이병균 비산 포자량 조사

Table 4는 2010년 1월부터 3월까지 유리온실의 일반토마토 및 방울토마토 포장에서 BSTM을 이용한 잿빛곰팡이병균 비산 포자량을 채집한 결과이다. 토마토의 생육 기간이 길어질수록 비산 포자량은 증가하였으며 특히 일반 토마토에서 잿빛곰팡이병이 발생한 이후에 급격하게 증가하였다. 그러나 방울토마토(Cherry tomato)의 경우는 2월이 되어 잿빛곰팡이병균의 비산 포자량이 증가하였어도 잿빛곰팡

이병은 거의 발생하지 않았다. 이는 방울토마토는 일반토마토와 다르게 착과 후 꽃이 쉽게 떨어져 *B. cinerea*가 열매에 정착하기가 어렵기 때문일 것이라 판단된다.

이상의 결과 1개의 Petri dish 당 10개 이상의 포자가 채집된 것은 잿빛곰팡이병이 포장에서 발생한 후였다. BSTM을 이용한 저항성 균주 간이판별 kit의 활용은 잿빛곰팡이병이 발생 전에는 낙하 포자량이 적어 잿빛곰팡이병이 발생 후 가능할 것으로 판단되었다.

약제 저항성균 간이검정법 포장 적용시험

Fig. 5는 BSTM을 이용해서 *B. cinerea* 포자를 채집하여 배양한 것으로 *Botrytis* 포자가 발아할 경우 배지가 짙은 갈색으로 변함을 알 수 있었다. Fig. 6은 착과된 후의 토마토 꽃을 BSM에 올려 놓고 배양한 것으로 대부분의 꽃잎에서 잿빛곰팡이병균이 발생하였으며 균총의 주변이 짙은 갈색으로 변하였다.

Fig. 7은 BSTM을 이용한 약제저항성균주 검정용 배지를 조제하여 Fig. 9와 같이 토마토 포장에 설치한 후 24시간이 지나 회수 20°C 항온기에서 3일간 배양한 것이다. 검정



Fig. 5. Appearance of *Botrytis cinerea* colonies grown on BSTM after the trapping of *B. cinerea* conidia from the air.



Fig. 6. Appearance of *Botrytis cinerea* colonies grown on BSM after the plating of dead flowers infected with *B. cinerea*.

용 배지에서 병원균의 포자가 발아할 경우 그 약제에 저항성인 균들이며, 포자가 발아하지 못할 경우 그 약제에 감수성인 균임을 나타낸다. Fig. 8은 BSM을 이용한 약제저항성균주 검정용 배지를 조제한 후 토마토 포장에서 채집한 착과 후의 죽은 꽃을 배지에 올려놓고 20°C에서 3일간 배양한 것이다. 위에서와 같이 검정용 배지에서 꽃잎의 잿빛곰팡이병균이 성장하면 저항성 약제이며 성장하지 못하면 감수성 약제임으로 꽃잎에서 잿빛곰팡이병균이 성장하지 못하는 약제를 방제용 적정 약제로 선발할 수 있다.

BSTM, BSM을 이용한 약제저항성균 간이 검정법의 포장 적용시험을 실시한 결과는 다음과 같다. Table 5는 부여군 토마토 3개 포장에 분포하는 잿빛곰팡이병균의 vinclozolin 외 7개 약제에 대한 저항성을 간이 검정법으로 조사한 것이다. 공시 약제에 대한 저항성, 감수성의 결과는 BSTM법이나, BSM법에서 같은 경향을 나타내었다. 첫 번째와 두 번째 포장은 공시 약제중 vinclozolin, benomyl, boscalid에

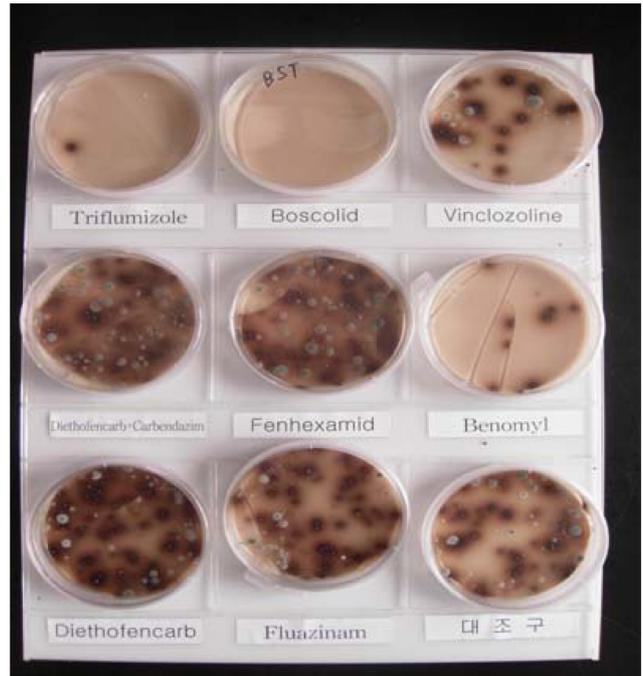


Fig. 7. Growth of *B. cinerea* from trapped spores on BSTM treated with different fungicides.



Fig. 8. Growth of *B. cinerea* from infected flowers on BSM treated with different fungicides.

저항성이며 diethofencarb+carbendazim과 fluazinam에 감수성인 균이 주로 감염된 포장임으로 이 포장에서 효과적으로 사용할 수 있는 약제는 diethofencarb+carbendazim과 fluazinam임을 알 수 있다. 세 번째 포장의 잿빛곰팡이균주는 fluazinam에 감수성이며 다른 약제에는 저항성을

Table 5. Results of fungicide resistance tests of *B. cinerea* isolated from tomatoes in Buyeo, Chungnam Province on BSTM and BSM^{iv}

Fungicide	Concentraion (%)	Dilution level	Site Number	Average number of spores germinated on BSTM ^v	Average number of petals shown mycelial growth on BSM
Vinclozoline	47%	1,000	1	23.3	^v 2.0/4 ^z
			2	22.0	4.0/4
			3	26.3	3.7/4
Diethofencarb+ Carbendazim	25+25%	1,000	1	1.7	0.6/4
			2	17.3	2.3/4
			3	21.3	3.7/4
Benomyl	50%	2,000	1	26.0	4.0/4
			2	28.0	3.0/4
			3	29.3	3.7/4
Fenhexamid	50%	1,000	1	8.4	3.7/4
			2	27.3	3.7/4
			3	29.3	3.7/7
Fluazinam	50%	2,000	1	0.6	1.0/4
			2	1.0	0.3/4
			3	0.3	0.3/4
Triflumizole	30%	2,985	1	13.3	2.7/4
			2	15.0	2.3/4
			3	19.0	2.7/4
Boscalid	47%	2,000	1	23.3	3.3/4
			2	29.0	2.3/4
			3	24.0	4.0/4
Control	-	-	1	27.7	3.7/4
	-	-	2	25.7	4.0/4
	-	-	3	28.7	4.0/4

^{iv}Three replications in each trial were used, and the results shown are the mean values of each different treatment.

^vTen of Ø9 cm petri dishes were used for the collection of the spores.

^zNumber of petals infected with *B. cinerea*.

^zNumber of petals treated on BSM.



Fig. 9. Spore trapping method with BSTM plate in the field.

갖는 것으로 나타났다.

Table 6은 부여 및 익산지역의 토마토 재배 12농가에서 실제로 BSM과 BSTM배지를 이용한 kit를 시험한 것으로 표 5와 같은 방법으로 약제저항성 균주를 판별한 결과로 fluazinam, diethofencarb+carbendazim이 주로 방제에 적합한 적정약제로 판정되었으며 두 배지를 이용해 만든 kit에서 유사한 결과를 보였다. 비교적 fluazinam이 높은 방제가를 보인 것은 아직까지 토마토에 등록이 되지 않아 사용이 적었기 때문으로 판단된다. BSM을 이용한 kit는 잿빛곰팡이병이 발생하기 이전에 조기에 약제 저항성 병원균 판별이 가능하나 8개의 약제배지에 접종할 경우 2시간 정도의 시간이 필요하다. BSTM을 활용한 kit는 배지를 설치 후 24시간이 지난 후 수거하기 때문에 사용은 간편하나 잿빛곰팡이병이 발생하기 이전에 설치하면 낙하 포자량이 적어 약제저항성균 판별에 어려움이 있을 것이라 생각된다.

Table 6. Screening of proper fungicides for the control of *B. cinerea* collected from twelve different fields on BSM and BSTM

Locations	Media	Fungicides tested						
		Fluazinam	Diethofencarb+ Carbendazim	Vinclozoline	Benomyl	Triflumizole	Boscalid	Fenhexamid
Buyeo-eup, Buyeo-gun 1	BSM	× ^z	×	○ ^z	○	○	○	○
	BSTM	×	×	○	○	○	○	○
Buyeo-eup, Buyeo-gun 2	BSM	×	○	○	○	○	○	○
	BSTM	×	○	○	○	○	○	○
Guryong-myeon, Buyeo-gun 1	BSM	×	○	○	○	○	○	○
	BSTM	×	○	○	○	○	○	○
Guryong-myeon, Buyeo-gun 2	BSM	×	×	○	○	○	○	○
	BSTM	×	×	○	○	○	○	○
Guryong-myeon, Buyeo-gun 3	BSM	×	○	○	○	○	○	○
	BSTM	×	○	○	○	○	○	○
Buyeo-eup, Buyeo-gun 3	BSM	○	×	○	○	○	○	○
	BSTM	×	×	○	○	○	○	○
Tomato experiment station(A9)	BSM	×	○	○	○	○	○	○
	BSTM	×	○	○	○	○	○	○
Tomato experiment station(A5)	BSM	○	×	○	○	○	○	○
	BSTM	○	×	○	○	○	○	○
Guryong-myeon, Buyeo-gun 4	BSM	○	○	×	○	○	×	○
	BSTM	○	○	×	○	○	×	○
Mangseong-myeon, Iksan-si	BSM	×	×	○	○	×	○	○
	BSTM	×	×	○	○	×	○	○
Sedo-myeon, Buyeo-gun 1	BSM	×	×	○	○	×	○	○
	BSTM	×	×	○	○	×	○	○
Sedo-myeon, Buyeo-gun 2	BSM	○	○	○	○	○	○	○
	BSTM	○	○	○	○	×	○	○

^z×, No mycelial growth; ○, mycelial growth.

적 요

Botrytis 선택배지(BSM)를 이용하여 토마토 포장에서 꽃잎의 감염시기를 착과 직후, 착과 25일 후, 착과 45일 후로 나누어 조사하였던 바 착과 직후의 꽃잎에서는 65%의 감염률을 보였으나 착과 25일 후의 꽃잎에서는 87%, 45일 후의 꽃잎에서는 100%의 감염률을 보였다. 착과 후 시간이 지날수록 잿빛곰팡이병균의 꽃잎 감염율은 증가하였다. 한편, 토마토 품종별 꽃잎의 감염시기를 개화 전, 개화 후, 착과 후로 구분하여 조사하였던 바 전체적으로 개화 전에 비하여 개화 후 시간이 지날수록 감염율이 급격히 증가하였으며, 일반토마토 3품종의 감염율이 방울토마토에 비하여 현저히 높았다. 즉 일반토마토의 착과 후 꽃잎 감염율이 70~80%인데 비하여 방울토마토의 꽃잎 감염율은 20~45%였다.

일반토마토 및 방울토마토 포장에서 잿빛곰팡이병균의 포자 비산량을 BSTM을 이용하여 조사한 결과 토마토 생육

기간이 길어질수록 비산 포자량은 증가하였으며 특히 일반 토마토품종에서 잿빛곰팡이병의 발생 이후에 급격하게 증가하였다. 그러나 포장 내의 병원균 포자비산량의 증가에도 불구하고 방울토마토는 잿빛곰팡이병의 발병이 매우 적었다.

BSM 및 BSTM을 이용한 잿빛곰팡이병 약제저항성균 간이검정법의 포장 적용시험을 통하여 바 이들의 활용가능성을 확인하였으며, 부여 및 익산지역 12농가에서 8개 약제를 공시하여 실증시험을 실시하였던 바 fluazinam 및 diethofencarb+carbendazim 혼합제가 주로 방제에 적합한 약제로 판정되었다. BSM을 이용한 kit는 잿빛곰팡이병이 발생하기 이전에 조기에 약제 저항성 병원균 판별이 가능하나 8개의 약제배지에 접종할 경우 2시간 정도의 시간이 필요하다. BSTM을 활용한 kit는 배지를 설치 후 24시간이 지난 후 수거하기 때문에 사용은 간편하나 잿빛곰팡이병이 발생하기 이전에 설치하면 낙하 포자량이 적어 약제저항성균 판별에 어려움이 있을 것이라 생각된다.

감사의 글

본 연구결과는 농촌진흥청 아젠다과제의 연구비지원(과제번호 PJ008767)의 일부결과이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

참고문헌

- Agrios, G. N. 1988. Plant Pathology, Academic Press, Inc., New York. pp. 803.
- Baek, S. B. 1984. Research of chemical resistant in Grey mold (*Botrytis cinerea*). Konkuk Univ., A. R. D. collected papers. 9: 35-44. (in Korean).
- Bristow, P. R., Mcnicol, R. J. and Williamson, B. 2008. Infection of strawberry flowers by *Botrytis cinerea* and its relevance to grey mould development. *Ann. Appl. Biol.* 3:545-554.
- Delp, C. J. 1988. Fungicide resistance in North America. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minn., pp. 133.
- Delp, C. J. and Dekker, J. 1985. Fungicide resistance: definitions and use of terms. OEPP/EPPO Bulletin 15:333-335.
- Edlich, W. and Lyr, H. 1992. Target sites of fungicide with primary effects on lipid peroxidation. In: Target Sites of Fungicide Action, ed. by W. Koller, 53-68. CRC Press.
- Edwards, S. G. and Sedden, B. 2001. Selective media for the specific isolation and enumeration of *Botrytis cinerea* conidia. *Lett. Appl. Microbiol.*, 32:63-66.
- Elad, Y., Kohl, J. and Fokema, N. J. 1994. Control of infection and sporulation of *Botrytis cinerea* on bean and tomato by saprophytic yeast. *Phytopathology* 84:1193-1200.
- Eland, Y., Shabi E. and Katan, T. 1988. Negative cross resistance between benzimidazole and N-phenylcarbamate fungicides and control of *Botrytis cinerea* on grapes. *Plant Pathol.* 37: 141-147.
- Elad, Y., Yunis, H. and Katan, T. 1992. Multiple fungicide resistance to benzimidazoles, dicarboximides and diethofencarb in field isolates of *Botrytis cinerea* in Israel. *Plant Pathol.* 41:41-46.
- English, J. T., Thomas, C. S., Marois, J. J. and Gubler, W. D. 1989. Microclimates of grapevine canopies with leaf remove and control of *Botrytis* binc rot. *Phytophology* 79:395-401.
- Faretra, F., Pollastro, S. and Di Tonno, A. P. 1989. New natural variants of *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) coupling benzimidazole-resistance to insensitivity toward the N-phenylcarbamate diethofencarb. *Phytopathol. Medit.* 28:98-104.
- Georgopoulous, S. G. and Skylakakis, G. 1986. Genetic variability in the fungi and problem of fungicide resistance. *Plant prot.* 5:299-305.
- Gullino, M. L., Aloï, C. and Garibaldi, A. 1989. Influence of spray schedules on fungicide resistant populations of *Botrytis cinerea* Pers. on grapevine. *Neth. J. Plant Pathol.* 95:87-94.
- Javis, W. R. 1977. Botryotinia and *Botrytis* species: Taxonomy, physiology, and pathogenicity. pp. 195.
- Katan, T., Elad, Y. and Yunis, H. 1989. Resistance to diethofencarb (NPC) in benomyl-resistant field isolates of *Botrytis cinerea*. *Plant Pathol.* 38:86-92.
- Kohl, J. W., Molhoek, H. L., Van der Plas, C. H. and Fokkema, H. J. 1995. Effect of *Ulocladium atrum* and other antagonists on sporulation of *Botrytis cinerea* on dead lily leaves exposed to field condition. *Phytopathology* 85:393-400.
- Leroux, P. and Fritz, R. 1984. Antifungal activity of dicarboximides and aromatic hydrocarbons and resistance to these fungicides. In: *Mode of action of antifungal agents*, Ed. Trinci, A. P. J., and Ryley, J. F., pp. 207- 237. Cambridge Press, Cambridge.
- Leroux, P. and Gredt, M. 1984. Resistance to fungicides which inhibit ergosterol biosynthesis in laboratory strains of *Botrytis cinerea* and *Ustilago maydis*. *Pestic. Sci.* 15:85-89.
- Murakoshi, S. and Hosaya, S. 1982. Occurrence of *Botrytis cinerea* resistant to iprodione in tomato fields. *Ann Phytopathol. Soc. Jpn.* 48:547-550.
- Olivier Viret, Markus Keller, V. gunta Jaudzems and F. Mary Cole. 2004. *Botrytis cinerea* infection of grape flowers: Light and electron microscopical studies of infection sites. *Phytopathology* 94:850-857.
- Perryman, S. A. M., Fitt, B. D. L. and Harold, J. F. S. 2003. Factors affecting the development of *Botrytis cinerea* (grey mould) on linseed (*Linum usitatissimum*) buds, flowers and capsules. *Ann. Appl. Biol.* 140:1-12.
- Sutton, J. C. and Peng, G. 1993. Biocontrol of *Botrytis cinerea* in strawberry leaves. *Phytopathology* 83:615-621.
- Gisi, K. H., 1982. New diagnosis and control of pest in vegetable. national farmer education association. pp. 651. Japan.
- Kim, B. S., 1997. Fungicide Resistance and Physiological of *Botrytis cinerea*. Ph. D. Diss., Seoul National Univ. (in Korean).