

Fungicide pyraclostrobin의 고추 세균점무늬병 예방효과

Foliar Application of the Fungicide Pyraclostrobin Reduced Bacterial Spot Disease of Pepper

강범용¹ · 이장훈² · 김영철^{1*}¹전남대학교 응용생물학과, ²바스프 코리아***Corresponding author**

Tel: +82-62-530-2071

Fax: +82-62-530-0208

E-mail: yckimyc@jnu.ac.kr

Beom Ryong Kang¹, Jang Hoon Lee², and Young Cheol Kim^{1*}¹Department of Applied Biology, Chonnam National University, Gwangju 61186, Korea²BASF Company Ltd., ASK/AP, Seoul 04513, KoreaReceived February 9, 2018
Revised February 15, 2018
Accepted February 15, 2018

Pyraclostrobin is a broad-spectrum fungicide that inhibits mitochondrial respiration. However, it may also induce systemic resistance effective against bacterial and viral diseases. In this study, we evaluated whether pyraclostrobin enhanced resistance against the bacterial spot pathogen, *Xanthomonas euvesicatoria* on pepper (*Capsicum annuum*). Although pyraclostrobin alone did not suppress the *in vitro* growth of *X. euvesicatoria*, disease severity in pepper was significantly lower by 69% after treatments with pyraclostrobin alone. A combination of pyraclostrobin with streptomycin reduced disease by over 90% that of the control plants. The preventive control of the pyraclostrobin against bacterial spot was required application 1–3 days before pathogen inoculation. Our findings suggest that the fungicide pyraclostrobin can be used with a chemical pesticide to control bacterial leaf spot diseases in pepper.

Keywords: Bacterial spot disease, Induced resistance, Pyraclostrobin, *Xanthomonas euvesicatoria*

서 론

토마토(*Solanum lycopersicum*)에서 세균점무늬병원균은 1921년 *Bacterium vesicatoria* (Doidge, 1921)와 *B. exitiosum* (Gardner와 Kendrick, 1921)로 분리 동정된 후 *Xanthomonas vesicatoria*와 *X. campestris* pv. *vesicatoria* (Young 등, 1978) 등으로 재분류되어 고추(*Capsicum annuum*), 토마토 등에서 다범적으로 피해를 주고 있다. 하지만, 최근에 다양한 분류 체계의 발전으로 amylolytic과 pectolytic activity을 강하게 나타내는 *X. vesicatoria*, *X. perforans*와 그렇지 않은 *X. euvesicatoria* 및 *X. gardneri* 등 4종으로 세분화

되었다(Bouzar 등, 1994; Jones 등, 2000, 2004). 특히 이 중에서 *X. euvesicatoria*, *X. vesicatoria* 및 *X. gardneri* 등 3종은 고추에 피해를 주며 *X. perforans*는 토마토에만 침입하는 것으로 보고되었지만 (Jones 등, 1998), 최근 연구에 의하면 *X. perforans*도 미국(Potnis 등, 2015)과 국내(Kyeon 등, 2016)에서 분리되었다.

*X. euvesicatoria*에 의해 불규칙한 원형의 암갈색과 황색 반점을 형성된 후 잎이 탈락되는 세균점무늬병은 고추에서 심각한 병해 중의 하나이다(Jones 등, 2004; Obradovic 등, 2004). 최근 *X. euvesicatoria*은 기존 병원균과 달리 2014년 고추 유묘에서 35%의 높은 발병율을 나타내면서 국내에서 새롭게 보고되었다(Kyeon 등, 2016; Myung 등, 2015). 우리나라에서는 *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*와 *X. vesicatoria*가 고추에서 세균점무늬병을 일으키는 병원균으로 식물병목록에 등재되어 있지만(Yoo, 2009), 국내 고추

Research in Plant Disease

pISSN 1598-2262, eISSN 2233-9191

www.online-rpd.org

에서 발생하는 세균점무늬병의 병원균들을 모두 수집하여 유전적인 분석한 결과 *X. euvesicatoria*에 의해 발병되는 것으로 재분류되었다(Kyeon 등, 2016).

국내 기후변화에 따른 연중 온도 상승과 집중 강우로 고추 세균점무늬병의 발병율이 급격히 증가하고 있으며(Kim 등, 2015), 현재 이 병을 방제하기 위한 주요 약제의 유효성분으로는 copper hydroxide·oxadixyl, oxine-copper-polyoxin-B, validamycin-A, probenazole, chlorothalonil-kasugamycin, oxytetracyclin-streptomycin sulfate 등 19종이 등록되어 사용되고 있다(Korea Crop Protection Association, 2017). 하지만, 살균제 사용량의 증가로 몇몇 작용점 특이적 침투이행성 기작에 의한 병원균의 다양한 분화와 약제감수성의 둔화로 발병율이 증가하였다. 이러한 원인은 1960년대 미국에서 처음으로 고추와 토마토 세균점무늬병원균인 *X. campestris* pv. *vesicatoria*가 streptomycin 등 약제에 대해 저항성을 나타냈으며(Cooksey, 1990), 국내에서도 1974년과 1980년부터 사용된 streptomycin과 copper 종류의 약제에서 고추 세균점무늬병에 대한 저항성 균주들이 1996년에 보고되었다(Lee와 Cho, 1996).

고추 세균점무늬병을 포함한 세균병 방제를 위하여 현재 종자소독과 경엽처리 방법으로 살균제를 처리하고 있지만, 한가지 계통의 화학적 방제는 세균병을 방제하기에는 그 종류와 효과가 제한적이며 특히, 포장에서 만족할만한 방제효과에 한계가 있다. 따라서 현재 다양한 계통의 살균제를 교호로 살포하거나 계통이 다른 성분의 혼용 합제를 사용하여 방제효율을 높이고 있다. 하지만, 세균병과 바이러스병에 대한 방제 방법은 아직까지 미비한 실정이다. 일부 세균병과 바이러스병 방제를 위한 그 대안으로 식물의 병 저항성을 유도하는 acibenzolar-S-methyl, probenazole, β -aminobutyric acid (BABA), 2R,3R-butanediol 등을 활용하였다(Oostendorp 등, 2001; Schreiber와 Desveaux, 2008). 또한 최근에는 식물체에서 유래된 물질들을 이용하는 방법으로 화분과 식물에서는 flavonoid계와 diterpenoid계 물질들을 이용하고, 쌍자엽식물의 flavonoid계와 indole 유도체, 고추, 담배, 십자화과식물에서는 sesquiterpene계 그리고 기타 coumarin계 물질 등을 이용하였다(Harborne, 1999; Kim, 2005; Koga 등, 1997). 하지만 이러한 부가적인 사용방법들에 대한 보고는 있지만, 화학농약 등을 이용한 세균병 방제 효능이 명확하게 보고된 것과 그 활용 방법들에 대한 연구들은 아직까지 부족한 실정이다.

퀴논외부저해제(Quinone outside inhibitor, QoI)로 작용하는 국부이행성의 살균제인 strobilurin 계열의 Pyraclostrobin은 국내에서 주로 다른 계열의 살균제와 혼용 살포하여 곰팡이병을 방제하고 있다(Min 등, 2014). Pyraclostrobin이 살균제로서 널리 사용되고 있음에도 불구하고, 국내에서는 주로 곰팡이병을 대상으

로 등록되어 있고 연구도 집중적으로 진행되었다. 하지만 최근에 Pyraclostrobin은 곰팡이병 방제 외에도 세균병과 바이러스병에 대한 식물방어활성제로서 작용한다고 보고가 있었다(Herms 등, 2002; Skandalis 등, 2016). 또한 기존 화학 농약으로도 방제하기 어려운 토마토 세균점무늬병(*X. perforans*)과 콩 세균잎마름병(*X. axonopodis* pv. *phaseoli*) 등에 대해서 Pyraclostrobin을 화학농약 metiram과 acibenzolar-S-methyl로 혼용하여 효과적으로 방제한 사례가 있다(Itako 등, 2014; Vigo 등, 2012). Pyraclostrobin은 세균병뿐만 아니라 바이러스병에 대해서 PR 단백질과 MAPKs 등 식물의 스트레스 반응에 관련된 유전자들을 발현시켜 저항성을 유도하였다(Herms 등, 2002; Skandalis 등, 2016; Udayashankar 등, 2012). 따라서 본 연구에서는 고추 세균점무늬병 방제의 효율적인 방제를 위해 병 저항성을 유도한다고 알려진 pyraclostrobin의 고추 세균점무늬병에 대한 예방 효과와 살세균 살균제와의 혼용 및 사용 가능성을 검토하고 효율적인 체계처리 방법을 제공하고자 수행하였다.

재료 및 방법

Pyralostrobin의 세균점무늬병원균에 대한 항균활성 검증.

고추 세균점무늬병원균(*X. euvesicatoria* 173-1)은 충북대학교 응용생명공학부 식물세균병실험실 실험실에서 분양받아 사용하였다. 세균은 NB (nutrient broth; Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Germany) 배지에서 48시간 배양한 후(28°C, 120 rpm) 15% glycerol 농도로 혼합하고 -80°C에 보관하면서 사용하였다. 살균제의 병원균 생장억제효과는 paper disc 확산법을 이용하여 조사하였다. 병원균은 NB agar 배지에서 28°C, 48시간동안 배양한 후 멸균수로 세균을 회수한 후 10⁴ colony forming units(cfu)/ml 농도로 희석 후 0.7% agar가 함유된 NB 배지에 첨가하였다. 살균제는 pyraclostrobin, streptomycin, copper hydroxide 등을 사용하였다(Table 1). 살균제의 항균활성 능력을 검증하기 위하여 병원균이 첨가된 NB agar 배지 위의 paper disc (8 mm, Tokyo filter Co., Utsunomiya-shi, Japan)에 살균제를 처리 농도별로 (pyraclostrobin, 0.25 ml/l; streptomycin, 1.25 g/l; copper hydroxide, 2 g/l; pyraclostrobin/streptomycin, (0.2 ml+0.5 g)/l; pyraclostrobin/copper hydroxide (0.2 ml + 1 g)/l) 접종한 후 28°C, 48시간 후에 형성된 저지원의 직경을 APS assess 2.0 imaging software (APS Press, St. Paul, MN, USA)로 측정하였다. 모든 실험은 독립적인 3반복을 수행하였다.

Pyralostrobin의 세균점무늬병에 대한 병저항성 유도 검증.

고추 세균점무늬병에 대한 살균제의 유도검정에서 사용된 고추의

Table 1. List of chemical pesticides used in this study

Treatments (active ingredient, %)	Volume in 20 l	Dilution (fold)	Inhibition mechanism
Pyraclostrobin EC (22.9)	5 ml	4,000	Qol
Streptomycin WP (20)	25 g	800	GA
Copper hydroxide WP (77)	40 g	500	Multi-site
Pyraclostrobin EC (22.9)+Streptomycin WP (20)	4 ml+10 g	5,000+2,000	Qol+GA
Pyraclostrobin EC (22.9)+Copper hydroxide WP (77)	4 ml+20 g	5,000+1,000	Qol+Multi-site

EC, Emulsifiable Concentrate; WP, suspension concentrate; Qol, Quinone outside inhibitor; GA, glucopyranosyl antibiotic.

공시품종은 '1박2일(Yuan Seed, Seoul, Korea)'을 사용하였다. 고추 종자는 1% 차아염소산나트륨(NaOCl) 용액에서 1분간 표면 살균 한 후 멸균수로 3회 세척하고 여과지로 물기를 제거하였다. 소독한 종자는 멸균시킨 상토(Farm Hannong, Jeongup, Korea)가 담겨 있는 포트(9.5 cm×7 cm×9 cm, Greenday, Bucheon, Korea)에 파종한 후 전남대학교 유리온실(30°C, 45% 습도)에서 재배하면서 6-8엽기의 유묘를 사용하였다. 살균제는 pyraclostrobin, streptomycin, copper hydroxide 등을 사용하였고(Table 1), 처리당 10주씩 3반복으로 처리하였다.

병원균은 NB 배지에서 28°C, 3일 동안 배양한 균주를 희수한 후 OD_{600nm}=1.0(1×10⁹ CFU/ml) 농도로 희석한 현탁액을 잎 전체에 분무 접종하였고, 24시간 후에 각 살균제들을 Table 1의 처리농도로 살포하였다. 접종한 유묘는 30°C, 95% 이상의 습도를 48시간 유지하면서 발병을 유도하였다. 병원균 접종 14일 후 병징 정도에 따라 발병지수로 표기하고 방제효과를 산출하였다. 발병지수는 0; 건전 식물, 1; 1개 반점 또는 소형 돌기 형성, 2; 2-5개 반점 또는 소형 돌기 형성, 3; 6-10개 반점 형성, 4; 11개 이상 반점 또는 잎 가장자리가 타는 듯 고사되거나 기형되는 발병도로 나타냈다. 병발생율(%)은 ((발병엽수×발병지수)×100)/(조사엽수×4)으로 나타냈고, 방제가(%)는 (1-살균제 처리구 병발생율/무처리구 병발생율)×100으로 계산하였다. 또한 약제처리 후 3, 5, 7일 후 경엽의 위조, 고사, 낙엽 및 기타 생육상태를 육안으로 확인하여 달관조사하면서 약해 여부를 판단하였다.

Pyraclostrobin 살포시기에 따른 병저항성 검정. 고추 세균점무늬병에 대한 pyraclostrobin의 병 저항성 유도는 유리온실에서 공시품종으로 '청양(Hungnong Seed, Seoul, Korea)'을 사용하여 검정하였다. 1% 차아염소산나트륨(NaOCl) 용액에서 1분간 표면 살균 한 고추 종자는 포트(9.5 cm×7 cm×9 cm, Greenday)에 파종 후 6주 후 pyraclostrobin을 각각 1, 3, 5, 7일 간격으로 4,000 배 농도로 1회 처리하고 최종 약제 살포 24시간 후에 병원균 현탁액(OD_{600nm}=1.0)을 접종한 후 온실에서 30°C, 95% 이상의 습도를

48시간 유지하면서 발병을 유도하였다. 병원균 접종 후 14일부터 고추 잎에 발생한 병징을 관찰하면서 세균점무늬병의 발병도에 따라 발병지수로 표기하여 방제효과를 산출하였다. 처리당 10주씩 3반복으로 처리하였다.

통계분석. 각 처리 평균 간의 차이에 의한 유의성 검정은 통계분석은 IBM SPSS Statistics 23.0 software (IBM Co., Armonk, NY, USA)를 사용하여 일원배치 분산분석(ANOVA)을 수행하였다. 만약 F값이 유의한 경우에만 Duncan의 다중검정방법(Duncan's multiple range test)으로 유의수준 0.05에서 통계적 유의성을 검정하였다.

결 과

Pyraclostrobin 단독과 혼용에 의한 *In vitro* 항균활성효과.

각 살균제들 중 streptomycin은 400배 농도에서 *X. euvesicatoria*에 대해 다른 살균제에 비하여 상대적으로 가장 높은 항균활성을 나타냈지만, pyraclostrobin은 항세균활성이 없었다(Table 2). 또한 copper hydroxide는 병원균에 대한 *in vitro* 살균력이 streptomycin 보다 통계적으로 유의하게 낮았다. Pyraclostrobin을 다른 살균제들과 혼합하였을 경우, streptomycin 혼용 처리구에서 가장 우수한 억제 효과를 보였다.

Pyraclostrobin의 고추 세균점무늬병에 예방효과.

살균제를 처리하지 않은 무처리구의 발병율은 평균 68.9%로 시험구의 살균제 약효를 평가하기에는 충분하였다(Table 2). 각 살균제들의 고추에 처리된 후 병진전은 무처리구에서 세균점무늬병의 전형적인 병징인 잎 표면에 소형 돌기와 함께 반점 형태의 병반이 접종 후 12일째부터 나타난 반면에 pyraclostrobin 및 다른 살균제와 혼용한 처리구의 고추에서는 무처리구 대비 병반 형성이 통계적으로 유의하게 감소하였다(Table 3). Pyraclostrobin을 단독 처리구에서는 병발생율이 21%(방제가 69%)이었고, streptomycin 단독 처리

Table 2. Growth inhibition effect of the pyraclostrobin against *Xanthomonas euvesicatoria* 173-1

Treatment	Clear zone (mm)
Pyraclostrobin	0
Streptomycin	15.3±0.01 a
Copper hydroxide	11.0±0.16 c
Pyraclostrobin+Streptomycin	12.4±0.35 b
Pyraclostrobin+Copper hydroxide	10.9±0.01 c

Xanthomonas euvesicatoria was cultured at 28°C on nutrient broth agar for 2 days. Bacterial cells were harvested and suspended with sterile water to 10⁴ cfu/ml. The bacterial suspension (5 ml) was added to sterile NB soft-agar medium (0.7% agar) which was transferred to Petri dishes. Sterile paper discs placed at the center of these plate were loaded with defined concentrations of the chemical treatments. After 2 days incubation at 22°C, growth inhibition of *X. euvesicatoria* was imaged and quantified with APS Assess 2.0 imaging software (APS, St. Paul, MN, USA). The values listed are means of the inhibition zones obtained from three replicated studies. Different letters in the same column indicate the significant difference from the inhibition from streptomycin according to the Duncan's multiple range test at $P < 0.05$.

Table 3. Reduction of bacterial spot on pepper by pesticide treatments

Treatment	Disease incidence (%)	Control value (%)
Pyraclostrobin	21.2±5.6 b	68.8
Streptomycin	15.1±3.9 ab	78.2
Pyraclostrobin+Streptomycin	6.5±1.4 a	90.4
Control (water)	68.9±8.2 c	-

Six or eight true leaves developed pepper plants (variety, 1bak-2il) were inoculated with a suspension of 10⁸ cfu/ml. *Xanthomonas euvesicatoria* suspension 24 h after spraying the pesticides or with sterile water as a control. The pathogen was cultured at 28°C by shake culture on nutrient broth for 2 days. Cells were pelleted by centrifugation before suspension in sterile water. After 15 days, disease severity on leaves was assessed using the following scale: 0=no symptoms, 1=one bacterial spot, micro spots, 2=up to 5 bacterial spots, micro spots, 3=5–10 bacterial spots, 4=10>bacterial spots, leaves with burned edge, deformed leaves. Disease incidence % was calculated using the equation: (number of diseased leaves×disease severity)×100+(total number of diseased leaves×4). Control value (%)=(1–percentage of disease incidence in fungicide application/percentage of disease incidence in control)×100. The values rare means of triplicates of three independent experiments. Different letters in the same column indicate significant difference according to Duncan's multiple range tests, $P < 0.05$.

구에서는 발병율 15%(방제가 78%)로 대조구에 비해 통계적으로 유의하게 병 방제 효능을 보였다. Streptomycin와 pyraclostrobin

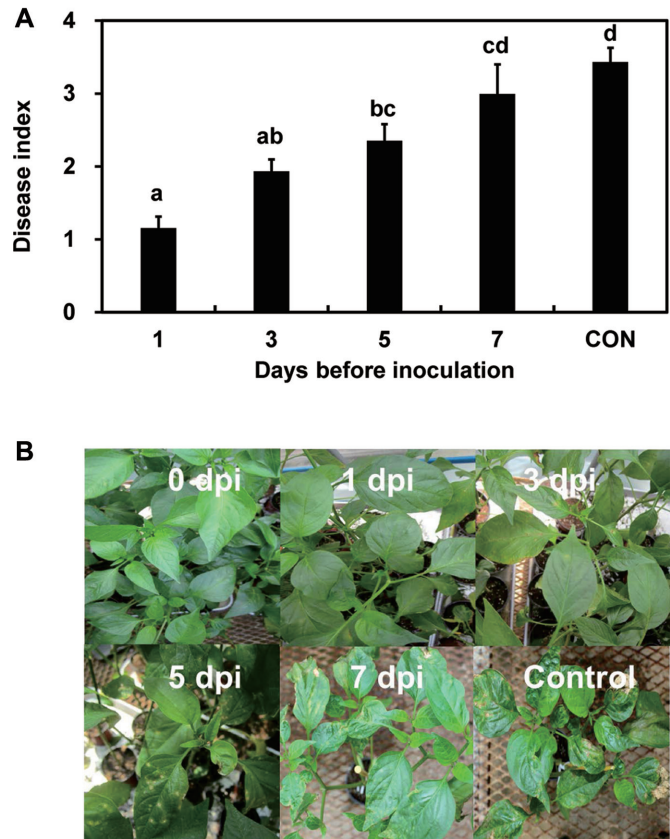


Fig. 1. Preventive effect of pyraclostrobin treatments on disease incidence of bacterial spot in pepper. Inoculation involved methods described in Table 3 and disease severity was judged at 22 days after inoculation. (A) Means with standard errors of three independent experiments each with three plants are shown. Different letters in the same column indicate the significant difference according to Duncan's multiple range tests, $P < 0.05$. (B) Representative images of symptoms in plants without (control) or with pre-treated at the defined days with pyraclostrobin before the pathogen, *Xanthomonas euvesicatoria*, inoculation (dpi). The images were photographed at 22 days after the pathogen inoculation. The 0 dpi pepper plant was without pathogen inoculation.

혼합 처리구 병발생율은 6.5%(방제가 90%)로 가장 높은 방제효과를 나타냈다(Table 3). 이러한 결과들은 살균제의 단독처리에 의한 방제효과보다 pyraclostrobin과 혼용 살포할 경우 방제가 증가하였고, 이는 아마도 streptomycin의 직접살균효과와 pyraclostrobin에 식물체의 병 저항성을 유도에 의한 결과라고 추정된다.

Pyraclostrobin 살포시기에 따른 병 예방 효과. 온실에서 살균제를 처리하지 않은 무처리구는 반점들이 융합되어 대형 병반을 형성할 정도의 병징을 나타냈고 병발생율이 평균 86%로 높았으며, pyraclostrobin의 병저항성 유도에 의한 약효를 평가하기에 충분하였다. 병원균 접종 7일전부터 살포하기 시작할 경우 1일

전에 살포한 처리구에서 병발생율이 29%로 가장 낮았고, 3일전까지 pyraclostrobin을 살포한 처리구의 고추 잎은 1개 정도의 소형 돌기 또는 반점만이 형성되는 병 억제 능력을 보였다. 하지만 병원균 접종 5일전과 7일전에 살포한 처리구의 고추 세균성반점병 병 억제율은 현저히 낮았다(Fig. 1). 이러한 결과는 pyraclostrobin의 고추 세균성반점병 억제제가 유도 저항성에 기인하고, 유도 저항성 기전이 단기간임을 나타내는 결과로 판단된다.

고 찰

미생물에 의한 병저항성 유도가 식물의 면역증진 효과에 의한 식물병의 종합적인 관리를 위한 새로운 전략으로 주목을 받았다. 하지만 acibenzolar-S-methyl, probenazole, β -aminobutyric acid (BABA), 2R,3R-butanediol 그리고 BTH 등의 병 저항성 유도물질들은 식물 생장에 영향을 미치는 이유로 식물병원균에 대한 병저항성 유도 물질로 상용화되지 못하고 주로 식물생장촉진에 관련된 근권 미생물에 의한 제품들이 개발되어 상용화되고 있다 (Anfoka, 2000; Dietrich 등, 2005; Lugtenberg와 Kamilova, 2009; Oostendorp 등, 2001; Schreiber와 Desveaux, 2008; Skandalis 등, 2016).

Strobilurin 계통의 살균제인 pyraclostrobin은 곰팡이 균사의 성장을 억제하는 것보다는 포자 발아에 직접적으로 영향을 미친다. 하지만 *in vitro*에서 *X. euvesicatoria* 세균에 대한 항균활성 능력이 없는 pyraclostrobin이 *in planta*에서 면역기능이 활성화되어 식물병에 대한 보호기능을 나타낸 것은 병 저항성을 유도하였기 때문일 것으로 추정한다. Pyraclostrobin를 살포한 고추에서 세균점무늬병의 발병율이 감소된 결과는 *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* 등 세균성 병원균과 바이러스병 대해서 strobilurin 계통의 살균제들이 발병을 감소시킨 보고와 일치한다(Herms 등, 2002; Skandalis 등, 2016). 본 연구는 지금까지 곰팡이병에 대한 효과로만 알려져 있는 pyraclostrobin이 식물에 병 저항성을 유도하여 고추 세균점무늬병을 방제할 수 있는 방법과 가능성을 처음으로 제시하는 것이다.

또한 pyraclostrobin을 온실에서 세균점무늬병에 대한 방제효과가 streptomycin 등 다른 살균제와 혼용하여 살포할 경우 각각 단독으로 살포하는 경우와 다르게 나타났다. 고추 세균점무늬병 병원균에 대해서 강한 살균효과가 있는 streptomycin은 단독으로 살포할 경우 약 78%의 방제효과를 나타낸 반면 pyraclostrobin과 혼용할 경우 90%의 우수한 방제효과를 나타냈다. 이러한 결과는 *in vitro*에서 *X. euvesicatoria*에 대한 항균활성이 전혀 없는 pyraclostrobin이 식물체에 살포될 경우 세균점무늬병에 대해 68%의 방제효과를 나타냈고, 특히 엽면살포 후 병원균을 접종시킨 감염

된 잎(local) 보다 새로 형성된 잎(systemic)에서 병징이 감소되는 효과가 무처리에 비해 높게 나타났다(data not shown). 이러한 결과는 pyraclostrobin에 고추세균성반점병 억제제는 유도 저항성에 의한 결과이고 그리고 streptomycin과 혼용시 두 살균제의 서로 다른 작용기작의 혼용 효과에 의한 병방제효과가 증가한 결과로 추정된다.

토마토 세균점무늬병을 포함해서 곰팡이병에 대한 pyraclostrobin의 다른 살균제와의 혼용 및 합제 효과는 단독 살포 처리한 효과보다 그 방제효과가 상승한다는 보고가 있다(Avenot 등, 2008; Itako 등, 2014; Min 등, 2014). 또한 pyraclostrobin이 *in vitro* 상에서 병원성 세균의 증식 억제를 위해 직접적인 작용보다는 생리적 내성 활성제로서 작용하고, 리보솜 결합저해로 인한 단백질 합성 억제제인 streptomycin은 아미노글리코사이드(aminoglycoside) 계열의 항생제로서 세균의 성장을 억제하는 작용을 한 것으로 생각된다. 따라서 두 살균제의 혼용은 식물체내 병원균에 대한 저항성 유도로 식물 면역력을 강화시키는 방어활성제로서 국부이행성의 살균제 역할과 동시에 병원균의 성장을 직접적으로 억제하는 서로 다른 계통의 작용기작 때문에 단독으로 살포한 경우보다 방제 효과면에서 훨씬 더 높은 방제효율을 얻을 수 있었다고 생각된다.

본 연구에서 사용된 pyraclostrobin은 호흡의 마지막 단계인 전자전달계의 cytochrome bc1 (ubiquinol oxidase)의 Qo (Quinone outside) 센터에 결합하여 호흡을 억제하는 퀴논외부저해제(QoI, Quinone outside inhibitor)로 작용하는 국부이행성의 살균제로 알려지면서 세균병과 바이러스병에 대한 저항성을 유도하는 방어활성제로 보고되고 있다(Bartlett 등, 2002; Skandalis 등, 2016). 특히, 토마토 등에서 pyraclostrobin이 병원균 밀도에 영향을 미치지 않으면서도 세균과 바이러스병의 발병을 지연 또는 감소시키는 이유는 식물 면역력 향상 및 저항력 증가와 스트레스 반응에 관여하는 세포내 신호전달 매개체인 mitogen-activated protein kinases의 발현을 증가시켜 방어활성제로서 작용을 하였기 때문이다(Skandalis 등, 2016). 또한 식물체내 저항성 유도와 관련된 단백질 합성을 활성화하여 식물병을 방제하는 기작으로 알려진 pyraclostrobin은 담배에서 salicylic acid (SA) 신호전달체계를 가동시켜 Tobacco mosaic virus (TMV)와 토마토 들불병(*P. syringae* pv. *tabaci*)에 대해서 저항성이 유도되었고(Herms 등, 2002), 콩 세균성마름병(*X. axonopodis* pv. *phaseoli*)에서도 저항성을 유도되었다(Vigo 등, 2012). 그리고 pyraclostrobin은 peroxidase, polyphenol oxidase, phenylalanine ammonia-lyase, β -1,3-glucanase와 protease 등의 저항성 유도와 관련된 효소 생산에 관여하여 토마토 세균점무늬병(*X. perforans*)이 억제되었다(Itako 등, 2015).

Strobilurin 계통의 살균제들은 곰팡이병 방제 효과가 탁월한

데 치료 및 예방적 살포시기에 따라 그 방제효과가 크게 달라진다. 특히, 곰팡이 포자 발아 및 균사 성장 억제를 위해서는 병원균 접종 전·후 24시간에 살포할 경우 효과가 가장 크다(Karadimos 등, 2005; Turechek 등, 2006). 본 연구에서도 pyraclostrobin의 고추 세균점무늬병에 대한 살포시기에 따른 방제효과면에서도 24시간전에 살포할 경우에 66%의 방제효과를 나타냈고, 살포시기가 병원균 접종시기보다 늦어질수록 방제효과가 낮아졌다. 지금까지 pyraclostrobin의 고추 세균점무늬병에 대한 방어기작에 대한 정확한 보고는 없다. 기존 세균병에 대한 pyclostrobin의 방어 활성제로서 연구보고는 *P. syringae* pv. *tomato* (strain DC3000)과 *P. syringae* pv. *tabac*을 감염시킨 담배 잎 부위에서 침입 주변 세포들이 급격히 사멸되는 과민성 반응은 24-48시간내에 보이는 데, pyraclostrobin을 접종한 부위에서는 48-72시간부터 나타났으며, 병반면적율도 무처리구에 비해 작으면서 병징도 지연되었다(Herms 등, 2002). TMV에 대한 PR-1 protein과 SA 등의 저항성 관련 유전자와 단백질 발현이 pyraclostrobin처리한 식물체에서 무처리 보다 12시간전에 유도되었다(Herms 등, 2002). 토마토와 콩에서도 pyraclostrobin은 병원균 접종 24시간 전에 살포할 경우 저항성 관련 유전자와 단백질 등이 발현되어 병 진전을 감소시켰다(Herms 등, 2002; Itako 등, 2014, 2015; Vigo 등, 2012).

추후 고추 세균점무늬병에 대한 병저항성 유도 능력과 기작에 대한 연구도 흥미로운 연구 주제로 생각된다. 이러한 결과에서 pyraclostrobin은 병 발생하기 3일전에 고추에 살포할 경우 병저항성을 효과적으로 유도하고 작물에 따라 작용기작이 다른 살균제 등과 혼용하여 살포할 경우 방제효과도 효율적으로 높일 수 있다. 따라서 본 연구결과들은 고추 세균점무늬병을 방제하기 위해 pyraclostrobin의 살포방법과 예방적 살포시기를 제시하는 자료로 충분할 것으로 생각된다.

요 약

Pyraclostrobin은 광범위한 스펙트럼의 항진균 활성이 있는 퀴논외부저해제(Quinone outside inhibitor, QoI)로 작용하는 살균제이다. 기존 보고에 의하면 pyraclostrobin이 일부 세균병과 바이러스병에 대해 병 저항성을 유도한다고 알려져 있다. 본 연구는 pyraclostrobin 항진균제를 활용하여 고추 세균점무늬병(*Xanthomonas euvesicatoria*)의 예방 가능성을 검토하였다. Pyraclostrobin은 *in vitro* 상에서 *X. euvesicatoria*에 대해 항균활성이 없었지만, 고추에 pyraclostrobin 단독(방제가 69%) 또는 streptomycin과 혼합 살포(방제가 90%) 하였을 때, 고추 세균점무늬병 예방 효과를 나타냈다. Pyraclostrobin의 고추 세균점무늬병 예방 효과는 병원균 접종 1-3일전이 효과적이었다. 이상의 결과로 pyraclos-

trobin 살진균제를 활용하여 고추 세균점무늬병을 효과적으로 예방할 수 있을 것을 사료된다.

Conflicts of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

Acknowledgement

This study was financially supported by Chonnam National University (Grant number: 2016-2448).

References

- Anfoka, G. H. 2000. Benzo-(1, 2, 3)-thiadiazole-7-carbothioic acid S-methyl ester induces systemic resistance in tomato (*Lycopersicon esculentum*. Mill cv. Vollendung) to Cucumber mosaic virus. *Crop Prot.* 19: 401-405.
- Avenot, H., Morgan, D. and Michailides, T. 2008. Resistance to pyraclostrobin, boscalid and multiple resistance to Pristine® (pyraclostrobin + boscalid) fungicide in *Alternaria alternata* causing alternaria late blight of pistachios in California. *Plant Pathol.* 57: 135-140.
- Bartlett, D. W., Clough, J. M., Godwin, J. R., Hall, A. A., Hamer, M. and Parr-Dobrzanski, B. 2002. The strobilurin fungicides. *Pest Manage. Sci.* 58: 649-662.
- Bouzar, H., Jones, J., Minsavage, G., Stall, R. and Scott, J. 1994. Proteins unique to phenotypically distinct groups of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* revealed by silver staining. *Phytopathology* 84: 39-43.
- Cooksey, D. A. 1990. Genetics of bactericide resistance in plant pathogenic bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 28: 201-219.
- Dietrich, R., Ploss, K. and Heil, M. 2005. Growth responses and fitness costs after induction of pathogen resistance depend on environmental conditions. *Plant Cell Environ.* 28: 211-222.
- Doidge, E. M. 1921. A tomato canker. *Ann. Appl. Biol.* 7: 407-430.
- Gardner, M. W. and Kendrick, J. 1921. Bacterial spot of tomato. *J. Agric. Res.* 21: 123-156.
- Harborne, J. B. 1999. The comparative biochemistry of phytoalexin induction in plants. *Biochem. Syst. Ecol.* 27: 335-367.
- Herms, S., Seehaus, K., Koehle, H. and Conrath, U. 2002. A strobilurin fungicide enhances the resistance of tobacco against tobacco mosaic virus and *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*. *Plant Physiol.* 130: 120-127.
- Itako, A. T., Tolentino Júnior, J. B., Demant, L. A. R. and Maringoni, A. C. 2014. Control of bacterial spot of tomato and activation of enzymes related to resistance by chemicals under field conditions. *J. Agric. Sci.* 6: 100-109.

- Itako, A. T., Tolentino Junior, J. B., Silva Junior, T. A., Soman, J. M. and Maringoni, A. C. 2015. Chemical products induce resistance to *Xanthomonas perforans* in tomato. *Braz. J. Microbiol.* 46: 701-706.
- Jones, J., Bouzar, H., Stall, R., Almira, E., Roberts, P., Bowen, B. W. et al. 2000. Systematic analysis of xanthomonads (*Xanthomonas* spp.) associated with pepper and tomato lesions. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 50: 1211-1219.
- Jones, J., Stall, R. and Bouzar, H. 1998. Diversity among xanthomonads pathogenic on pepper and tomato. *Annu. Rev. Phytopathol.* 36: 41-58.
- Jones, J. B., Lacy, G. H., Bouzar, H., Stall, R. E. and Schaad, N. W. 2004. Reclassification of the xanthomonads associated with bacterial spot disease of tomato and pepper. *Syst. Appl. Microbiol.* 27: 755-762.
- Karadimos, D., Karaoglanidis, G. and Tzavella-Klonari, K. 2005. Biological activity and physical modes of action of the Qo inhibitor fungicides trifloxystrobin and pyraclostrobin against *Cercospora beticola*. *Crop Prot.* 24: 23-29.
- Kim, J.-B. 2005. Pathogen, insect and weed control effects of secondary metabolites from plants. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 48: 1-15.
- Kim, J. H., Cheong, S. S., Lee, K. K., Yim, J. R. and Lee, W. H. 2015. Determination of economic control thresholds for bacterial spot on red pepper caused by *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Res. Plant Dis.* 21: 89-93.
- Koga, J., Ogawa, N., Yamauchi, T., Kikuchi, M., Ogasawara, N. and Shimura, M. 1997. Functional moiety for the antifungal activity of phytocassane E, a diterpene phytoalexin from rice. *Phytochemistry* 44: 249-253.
- Korea Crop Protection Association. 2017. Agrochemicals Use Guide Book. Korea Crop protection Association. URL <http://www.koreacpa.org/>
- Kyeon, M. S., Son, S. H., Noh, Y. H., Kim, Y. E., Lee, H. I. and Cha, J. S. 2016. *Xanthomonas euvesicatoria* causes bacterial spot disease on pepper plant in Korea. *Plant Pathol. J.* 32: 431-440.
- Lee, S. D. and Cho, Y. S. 1996. Copper resistance and race distribution of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* on pepper in Korea. *Plant Pathol. J.* 12: 150-155.
- Lugtenberg, B. and Kamilova, F. 2009. Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 63: 541-556.
- Min, K. H., Ryu, J. P., Kim, J. M., Kim, S. H., Yim, S. H., Choi, J. J. et al. 2014. Control efficacy of the mixture of fluxapyroxad plus pyraclostrobin against Pear scab caused by *Venturia nashicola*. *Korean J. Pestic. Sci.* 18: 434-438.
- Myung, I. S., Yoon, M. J., Lee, J. Y., Kim, Y., Kwon, J. H., Lee, Y. K. et al. 2015. Bacterial spot of hot pepper, caused by *Xanthomonas euvesicatoria*, a new disease in Korea. *Plant Dis.* 99: 1640.
- Obradovic, A., Jones, J., Momol, M., Balogh, B. and Olson, S. 2004. Management of tomato bacterial spot in the field by foliar applications of bacteriophages and SAR inducers. *Plant Dis.* 88: 736-740.
- Oostendorp, M., Kunz, W., Dietrich, B. and Staub, T. 2001. Induced disease resistance in plants by chemicals. *Eur. J. Plant Pathol.* 107: 19-28.
- Schreiber, K. and Desveaux, D. 2008. Message in a bottle: chemical biology of induced disease resistance in plants. *Plant Pathol. J.* 24: 245-268.
- Skandalis, N., Dimopoulou, A., Beri, D., Tzima, A., Malandraki, I., Theologidis, I. et al. 2016. Effect of pyraclostrobin application on viral and bacterial diseases of tomato. *Plant Dis.* 100: 1321-1330.
- Potnis, N., Timilsina, S., Strayer, A., Shantharaj, D., Barak, J. D., Paret, M. L. et al. 2015. Bacterial spot of tomato and pepper: diverse *Xanthomonas* species with a wide variety of virulence factors posing a worldwide challenge. *Mol. Plant Pathol.* 16: 907-920.
- Turechek, W. W., Peres, N. A. and Werner, N. A. 2006. Pre- and post-infection activity of pyraclostrobin for control of anthracnose fruit rot of strawberry caused by *Colletotrichum acutatum*. *Plant Dis.* 90: 862-868.
- Udayashankar, A. C., Nayaka, C. S., Archana, B., Nayak, U., Niranjana, S. R. and Prakash, H. 2012. Strobilurins seed treatment enhances resistance of common bean against bean common mosaic virus. *J. Phytopathol.* 160: 710-716.
- Vigo, S. C., Maringoni, A. C., Camara, R. C. and Lima, G. P. P. 2012. Evaluation of pyraclostrobin and acibenzolar-S-methyl on common bacterial blight of snap bean. *Semin. Cienc. Agrar.* 33: 167-173.
- Yoo, S. H. 2009. List of Plant Diseases in Korea. 5th ed. The Korean Society of Plant Pathology, Suwon, Korea. 76 pp.
- Young, J., Dye, D., Bradbury, J., Panagopoulos, C. and Robbs, C. 1978. A proposed nomenclature and classification for plant pathogenic bacteria. *N. Z. J. Agric. Res.* 21: 153-177.