당근검은잎마름병균 *Alternaria dauci*에 대한 살균제 효과 검정 및 병원균 집단에 대한 저항성 검정

Detection of Fungicidal Activities against *Alternaria dauci* Causing Alternaria Leaf Spot in Carrot and Monitoring for the Fungicide Resistance

*Corresponding author

Tel: +82-43-261-2556

Fax: +82-43-271-4414

E-mail: htkim@cbnu.ac.kr

도지원¹ · 민지영¹ · 김용수² · 박용² · 김흥태^{1*}

¹충북대학교 농업생명환경대학 식물의학과, ²한중당근육종연구소

Jiwon Do¹, Jiyoung Min¹, Yongsu Kim², Yong Park², and Heung Tae Kim^{1*}

¹Department of Plant Medicine, College of Agriculture, Life & Environment Sciences, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea

²K. C. Carrot Breeding Institute, Yeongcheon 38883, Korea

With 32 fungicides, it was examined the inhibitory effects on the mycelial growth of *Alternaria dauci* KACC42997 causing Alternaria leaf blight of carrot. Showing the results of the agar dilution method, the fungicides belonging to C2, C5, G1, E2, and E3 group were excellent in inhibiting mycelial growth. Protective fungicides belonging to M group, except for iminoctadine tris-albesilate, and pyraclostrobin belonging to C3 group were effective in inhibiting spore germination of pathogens. The fungicides included into C2 group inhibiting succinate dehydrogenase activity and the G1 group inhibiting demethylase activity showed the excellent inhibitory effect on mycelial growth but the inhibitory effect of spore germination was very low. However, fluazinam belonging to C5 group was excellent in inhibiting spore germination as well as mycelial growth. Especially, when 100 µg/ml of fluxapyroxad belonging to the C2 group was treated, 47.1% of spore formation was inhibited on the medium. In comparison of the resistance factors of 3 fungicide groups, as G, C, and E group, in populations of *A. dauci* isolates collected from Gumi, Pyeongchang, and Jeju, resistance factor in the population of Jeju was the lowest. However, two isolates resistant to fludioxonil belonging to E2 group were found in the isolate group of Pyeongchang, and both showed cross-resistance to iprodione and procymidone.

Keywords: *Alternaria dauci*, Alternaria leaf spot in carrot, Fungicidal activity, Fungicide resistance monitoring

Received March 8, 2020

Revised April 7, 2020

Accepted April 7, 2020

서 론

당근은 유용한 영양성분과 다량의 기능성 물질을 함유하는

근채류로서, 2018년을 기준으로 재배면적과 생산량은 2,154 ha와 73,143톤으로 보고되어 있다(Korea Statistical Information Service, 2020). 이런 당근을 재배하는 포장에서 생산성을 위협하는 여러 가지 병해 중에서 *Alternaria dauci*가 일으키는 당근 검은잎마름병은 전 세계적으로 큰 피해를 입히는 병이다(Netzer와 Kenneth, 1969; Strandberg, 1993; Vintal 등, 1999). 검은잎마름병이 발생하게 되면, 당근에서 광합성이 감소하게 되어, 품질 저하

Research in Plant Disease

pISSN 1598-2262, eISSN 2233-9191

www.online-rpd.org

© The Korean Society of Plant Pathology

© This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

와 수확량 감소로 이어질 뿐만 아니라, 대규모 재배지에서 기계 수확할 때에는 지상부가 쉽게 잘려져 나가 수확량의 감소는 물론 노동의 곤란으로 이어지기도 한다(Ben-Noon 등, 2001; Dugdale 등, 2000; Strandberg, 1983). 국내에서도 2003년과 2004년에 국내 고랭지 재배지에서 당근 검은잎마름병이 70% 이상 심하게 발생하였고, 최근에는 가을 작형뿐만 아니라 봄 하우스 및 터널 작형에서까지 발생한다(Kwon 등, 2007). 국내 당근의 최대 주산지인 제주 지역에서도 당근 검은잎마름병은 주의해야 할 병으로 알려져 있다. 병원균인 *A. dauci*는 최적 생장 조건에서 당근을 감염한 후 6-10일 안에 2차 전염원을 생성하며, 상대 습도가 낮을 때에는 생성된 포자가 바람을 타고서 다른 기주로 쉽게 전파되기 때문에 피해를 가속화시킨다(Langenberg 등, 1977; Strandberg, 1977). 또한, *A. dauci*의 포자는 내건성이 강하여 10% 정도의 포자는 수분 없이도 12시간까지 생존 가능할 뿐만 아니라, 오랜 기간 동안 종자, 토양 혹은 병든 잎의 잔재물에서 월동할 수 있기 때문에 방제가 어렵다(Park 등, 2011; Pryor 등, 2002). 당근 검은잎마름병 방제 방법으로 수확 후 포장에서 병든 잎 제거, 토양의 질소 함량 조절과 종자 온탕처리 등과 같은 경종적 혹은 물리적인 방제 방법이 시도되고 있지만, 가장 확실하고 신속하며 용이하게 방제할 수 있는 방법 중 하나는 살균제를 이용하는 화학적 방제 방법이다(Ben-Noon 등, 2001; Bounds 등, 2006; Koch 등, 2010; Kwon 등, 2007; Lee 등, 2011; Westerveld 등, 2008). 그러나 국내에서 당근 검은잎마름병을 살균제를 사용하여 방제하는 연구는 미미한 실정이다. 작물보호제지침서에는 같은 병임에도 불구하고 당근 검은잎마름병과 먹잎마름병으로 약제를 구분하여 표기함으로써 정보획득에 어려움을 겪게 하기도 한다(Korean Crop Protection Association, 2019). 또한 국내에 등록된 살균제는 chlorothalonil, propineb 등 보호 살균제 5종과 demethylation inhibiting계 2종으로 매우 단순하다. 등록된 살균제가 보호살균제인 '카'군과 탈메틸화효소의 활성을 억제하는 '사'군만 있기 때문에 포장 살균제 처리 체계를 확립하고자 할 때, 살균제 선택이 매우 제한적이다. 또한 등록되어 있는 살균제의 대부분이 보호살균제이기 때문에 예방적으로 처리하는 시기를 맞추지 못하거나 초기 전염원 밀도가 높아 발병에 대한 심한 선택압을 받게 될 경우 방제 효과가 크게 감소할 수도 있다. 살균제 저항성 관리 차원에서라도 작용기작이 다른 다양한 살균제가 사용되어야 한다.

따라서 본 실험에서는 작용기작이 다른 다양한 살균제를 선발하여 당근검은잎마름병균에 대한 *in vitro*상에서의 다양한 작용 특성을 조사하여, 당근 검은잎마름병의 방제에 사용할 수 있도록 제안하고, 또 주요한 살균제 그룹에 대한 포장 병원균의 저항성 모니터링을 실시하여 기존 살균제에 대한 감수성 기준을 정하고자 하였다.

재료 및 방법

실험에 사용한 균주와 균주의 보관. 실험에 사용한 당근검은무늬병균 *Alternaria dauci* KACC42997은 농업미생물보관센터에서 분양받아 사용하였다. 분양받은 *A. dauci* KACC42997은 potato dextrose agar (PDA) 배지에 접종하여 25°C의 암조건에서 10일간 배양하였다. 병원균 균총의 선단부에서 균사조각을 떼어내어 PDA 사면 배지에 접종하고 25°C에서 7일간 배양한 다음, 4°C에 보관하면서 실험에 사용하였다. 또한 장기간 보관하기 위하여 300 µg/ml의 streptomycin을 첨가한 멸균증류수를 각각의 cryotube vial (직경, 12 mm; 높이, 48 mm; Nunc Co. Ltd., Quebec, Canada)에 1.6 ml씩 담은 후, 배양한 균주의 균총 선단부에서 떼어낸 직경 3 mm의 균사조각을 떼어내어 cryotube vial에 각각 15조각을 넣고 상온에서 보관하였다.

살균제의 균사생장 억제 효과 조사. 여러 그룹의 살균제의 효과를 조사하기 위하여 보호살균제('카'군) 5종, 에르고스테롤 생합성 저해 살균제 중에서 '사1'군 6종과 '사3'군 1종, 세포호흡을 저해하는 '다2'군 살균제 5종과 '다3'군 살균제 4종 그리고 '다5'군 살균제 1종, 미세소관 형성 억제 살균제('나1'군) 3종과 '나1'군과 '나2'군의 혼합제 1종, 삼투압 신호 전달 저해 살균제('마2'와 '마3'군) 3종, 키틴 생합성 저해 살균제('아4'군) 2종, 병원균 세포막 합성 저해 살균제('바'군) 1종 등 총 32종의 살균제를 선발하여 당근검은잎마름병균 *A. dauci* KACC42997에 대한 균사생장 억제효과를 한천희석법으로 조사하였다. 세균 오염 방지를 위해 PDA배지에는 300 µg/ml의 streptomycin을 첨가하였으며, 배지에 첨가한 살균제의 최종 농도가 100, 10, 1, 0.1 µg/ml이 되도록 조절하였다. 한천희석법으로 살균제의 균사생장 억제효과를 조사하기 위해서 병원균을 25°C의 V-8 juice 배지(V-8 juice, 200 ml; CaCO₃, 3 g; agar, 15 g; 증류수, 1 l)에서 10일간 배양한 후, 균총의 선단부에서 직경 3 mm의 균사조각을 떼어 정해진 농도 별로 살균제가 첨가된 PDA 배지에 접종하였다. 동일한 조건에서 10일간 배양 후, 배지의 균총의 직경을 조사하여 약제를 첨가하지 않은 무처리 PDA 배지의 균총 직경과 비교함으로써, 균사생장 억제율(%)을 다음의 식으로 계산하였다.

$$\text{균사생장 억제율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{살균제 첨가 배지의 균총 직경}}{\text{살균제 무첨가 배지의 균총 직경}}\right) \times 100$$

살균제의 포자 발아 및 발아관 신장 억제 효과. 실험에 사용한 32종의 살균제 중에서 보호 살균제 4종과 치료 살균제 8종을 선발하여 병원균의 발아 억제 효과를 실험하였다(Table 1).

A. dauci KACC42997의 포자 형성을 위해 병원균을 암조건의

Table 1. Fungicides used in this study for evaluating inhibiting effects on the spore germination and the elongation germ-tube inhibition of *Alternaria dauci* KACC42997 causing *Alternaria* leaf spot of carrot

Groups	Fungicides	Active ingredient (%) and formulations ^a
Chloronitrile	Chlorothalonil	75.0, WP ^a
Phenylpyridinamine	Fluazinam	50.0, WG
Guanidine	Iminoctadine tris-albesilate	40.0, WP
Quinone	Dithianon	75.0, WG
Phthalimide	Folpet	50.0, WP
DMI	Difenoconazole	10.0, WG
	Metconazole	20.0, SC
SDHI	Fluxapyroxad	15.3, SC
	Boscalid	49.3, WG
Strobilurin type	Pyraclostrobin	22.9, EC
Phenylpyrrole	Fludioxonil	20.0, SC
Dicarboximide	Iprodione	50.0, WG

DMI, demethylation inhibiting; SDHI, succinate dehydrogenase inhibitor.

^aThe abbreviations for each formulation are as follows: WP, wet-table powder; WG, water-dispersible granule; SC, suspension concentrate; EC, emulsifiable concentrate.

25°C V-8 juice 배지에서 7일간 배양한 후, 멸균한 슬라이드글라스로 공중균사를 긁어 제거하였다. 공중균사를 제거한 병원균은 12시간 간격으로 근자외선을 조사하며 통기 상태의 20°C에서 7일간 배양하며 포자형성을 유도하였다. 형성된 포자는 150 µg/ml의 Tween 20 용액을 부어 수확한 후, 멸균된 거즈에 여과하여 균사조각을 제거한 포자 현탁액을 얻었다. 포자 현탁액은 3,000 rpm으로 20분간 2회 원심분리하여 세척 후, 다시 멸균수에 현탁하여 포자의 최종 밀도가 5×10^4 개/ml가 되도록 조절하였다. 포자 발아와 발아관 신장은 살균제를 첨가한 PDA 배지 위에 멸균된 셀로판막을 올려놓고 실시하였다. PDA 배지에 300 µg/ml의 streptomycin과 선발한 각 살균제의 최종농도가 100, 10, 1 µg/ml이 되도록 첨가하였다. 살균제를 처리하지 않은 무처리 PDA 배지와 처리한 PDA 배지 위에 동일한 크기(1.5 cm×1.5 cm)로 잘라 멸균한 셀로판막을 올려놓은 후, 한 장의 셀로판막 위에 준비한 포자 현탁액을 150 µl씩 점적하였다. 병원균을 접종한 PDA 배지는 포화습도가 유지되는 플라스틱상자에 넣어 25°C 암조건에서 배양하였으며, 모든 처리는 3반복으로 실시하였다. 살균제의 포자발아 억제율은 1반복당 100개의 포자를 조사하여 발아율을 구한 후 아래의 식으로 계산하였다. 이 때 포자의 발아 여부는 발

아관이 포자의 단경보다 길게 발아한 경우만 발아한 것으로 판단하였다. 또한 각 처리구의 반복당 발아된 50개의 포자에서 발아관의 길이를 조사하였으며, 다음 식으로 발아관 신장 억제율(%)을 조사하였다. 발아관 길이는 포자에서 나온 발아관 중 단경보다 긴 발아관의 길이를 모두 재어 평균값을 구하였다.

$$\text{발아 억제율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{살균제 첨가 배지의 발아율}}{\text{살균제 무첨가 배지의 발아율}}\right) \times 100$$

$$\text{발아관 신장 억제율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{살균제 첨가 배지의 발아관 길이}}{\text{살균제 무첨가 배지의 발아관 길이}}\right) \times 100$$

살균제의 포자 형성 억제 효과. *A. dauci* KACC42997을 직경 9 cm의 페트리접시에 부어 준비한 V-8 juice 배지에 접종하여 25°C의 암조건에서 7일간 배양한 후, 균총의 직경이 75 mm 이상이 된 배지만을 선발하여 멸균된 슬라이드글라스로 공중 균사를 제거하였다. 선발한 살균제 농도를 100 µg/ml로 조절한 다음, 살균제 용액 150 µl를 균총 전면에서 고르게 점적하여 처리하였다. 살균제를 처리한 배지는 20°C의 통기 조건에서 12시간 간격으로 근자와 선을 조사하며 7일간 배양하며 포자 형성을 유도하였다. 형성된 포자는 10 ml 멸균수를 부어 수확한 후 2점의 멸균한 거즈에 여과하여 균사체 등을 제거하였다. 수확한 포자현탁액의 포자 밀도는 혈구계산기를 이용하여 조사하였으며, 무처리구와 비교하여 다음과 같은 식으로 포자 형성 억제율을 계산하였다.

$$\text{포자형성 억제율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{살균제 첨가 배지에서 포자 형성량}}{\text{살균제 무첨가 배지에서 포자 형성량}}\right) \times 100$$

각 지역 균주에 대한 살균제 반응 조사. 주요 당근 재배지역인 구미, 제주, 평창에서 채집한 병든 당근 잎으로부터 단포자 분리를 통하여 각각 28, 23, 21개 균주를 선발하였다. 선발한 모든 균주는 한천희석법으로 에르고스테롤 생합성 저해 살균제(‘사1’균 4종과 ‘사3’균 1종), 세포호흡 저해 살균제(‘다2’균 3종과 ‘다3’균 1종), 신호전달 저해 살균제(‘마2’균 1종과 ‘마3’균 2종)에 대한 감수성 정도를 조사하였다.

결과 및 고찰

병원균 균사생장에 대한 살균제의 억제 효과. 실험에 사용한 5종의 보호살균제(‘카’균) 중에서 iminocadine tris-albesilate를 제외한 나머지 4종의 EC₅₀값은 모두 1.5 µg/ml 이상으로 효과가 저조하였다(Table 2).

Table 2. Effect of fungicides on the mycelial growth of *Alternaria dauci* KACC42997 causing Alternaria leaf blight of carrot

MOA	MOA code	Fungicides	EC ₅₀ ^a (µg/ml)	MIC ^b (µg/ml)
Multi-site fungicide (protectant)	M5	Chlorothalonil	5.292	>100
	M7	Iminoctadine tris-albesilate	0.185	>100
	M3	Propineb	1.701	100
	M4	Folpet	5.423	>100
	M9	Dithianon	>100	>100
Respiration	C2	Isopyrazam	0.579	100
	C2	Fluxapyroxad	0.053	10
	C2	Boscalid	0.155	>100
	C2	Floupyram	1.443	>100
	C2	Flutolanil	>100	>100
	C3	Pyraclostrobin	1.174	>100
	C3	Azoxystrobin	>100	>100
	C3	Kresoxim-methyl	>100	>100
	C3	Trifloxystrobin	35.930	>100
	C5	Fluazinam	0.083	>100
Sterol biosynthesis in membrane	G1	Difenoconazole	0.002	100
	G1	Metconazole	1.055	100
	G1	Tebuconazole	0.190	100
	G1	Hexaconazole	0.005	100
	G1	Fluquinconazole	0.265	>100
	G1	Prochloraz	0.002	100
	G3	Fenhexamid	2.631	>100
Signal transduction	E2	Fludioxonil	0.059	>100
	E3	Iprodione	0.426	>100
	E3	Procymidone	1.274	>100
Cytoskeleton and motor proteins	B1	Carbendazim	>100	>100
	B1	Benomyl	>100	>100
	B1	Thiophanate-methyl	>100	>100
	B1+B2	Carbendazim+diethofencarb	>100	>100
Cell wall biosynthesis	H4	Polyoxin B	>100	>100
	H4	Polyoxin D	>100	>100
Lipid synthesis and membrane integrity	F2	Isoprothiolane	>100	>100

MOA, mode of action.

^aEC₅₀ value refers to the concentration of fungicide that inhibits mycelial growth of the pathogen, *A. dauci* KACC42997, by 50%.^bMIC represents the minimum concentration of fungicide that completely inhibits mycelial growth of *A. dauci* KACC42997 causing Alternaria leaf spot of carrot.

이러한 결과는 Stepanović 등(2015)의 실험 결과와 동일하였다. 토마토에서 겹동근무늬병을 일으키는 *A. solani*에 대해서 보호살균제인 chlorothalonil과 치료살균제인 difenoconazole의 균사생장 억제효과를 한천희석법을 사용하여 조사한 결과, chlorothalonil의 EC₅₀값은 2.99–4.54 µg/ml이었고, difenoconazole의 EC₅₀값은 0.018–0.037 µg/ml로, 보호살균제의 병원균에 대한 균사생장 억제효과가 ‘사1’군에 속하는 살균제보다 저조하였다. 하지만 동일한 ‘카’군에 속하는 iminocadine tris-albesilate의 EC₅₀값은 0.185 µg/ml로 우수하였는데, 저장 감귤의 부패에 관여하는 *Penicillium italicum*과 *P. digitatum*에 대한 균사생장 억제효과를 조사한 Hyun 등(2001)의 결과에서도 *P. italicum*과 *P. digitatum*에 대한 iminocadine tris-albesilate의 EC₅₀값은 각각 0.01–0.02 µg/ml와 0.01 µg/ml로, 균사생장 억제효과가 우수하였다. 하지만 고추흰비단병균에 대한 iminocadine tris-albesilate의 균사생장 억제효과는 EC₅₀값이 100 µg/ml 이상으로 매우 저조하였다(Lee 등, 2017). 이처럼 살균제의 효과는 적용하는 병원균에 따라서 효과가 다르게 나타나기 때문에, 특정 살균제의 적용 병해 확대를 위해서는 살균제의 효과 검정을 정확하게 수행한 후 결정해야 할 것으로 생각한다.

세포 호흡을 저해하는 ‘다’군 살균제는 미토콘드리아 전자전달계의 복합체 II를 구성하는 숙신산 탈수소 효소 기능 저해제(‘다2’군) 5종, 복합체 III을 구성하는 cytochrome bc1 효소의 기능 저해제(‘다3’군) 4종, 그리고 산화적 인산화 반응 저해제(‘다5’군) 1종의 살균제를 선발하여 균사생장 억제효과를 조사하였다. ‘다2’군에 속하는 살균제 중에서 isopyrazam, fluxapyroxad, boscalid, fluopyram의 EC₅₀값은 0.579, 0.053, 0.155, 1.443 µg/ml이었으나, 동일한 작용기작을 갖는 flutolanil은 100 µg/ml 이상으로 효과가 저조하였다. Flutolanil은 *Rhizoctonia solani*의 숙신산 탈수소효소의 기능을 저해하여 균사생장을 억제하는 살균제로 알려져 있지만(Hirooka 등, 1990a, 1990b), 담자균류 이외의 자낭균이나 난균문에 속하는 병원균에 대한 효과는 매우 미미하며 숙신산 탈수소효소의 기능도 전혀 억제하지 않는다(Motoba 등, 1988). 본 연구 결과에서도 자낭균문에 속하는 *A. dauci*에 대해서는 EC₅₀값이 100 µg/ml 이상으로 균사생장 억제효과가 아주 미미하였다. ‘다3’군에 속하는 cytochrome bc1 효소 활성 억제 살균제 중에서 pyraclostrobin의 EC₅₀값만이 1.174 µg/ml이었으며, 나머지는 모두 30 µg/ml 이상으로 균사생장 억제효과가 저조하였다. ‘다3’군에 속하는 strobilurin계 살균제는 병원균의 포자발아 억제효과에 비하여 균사생장 억제효과가 떨어진다(Steinfeld 등, 2001). 따라서 한천희석법을 이용한 살

균제 효과 검정에서는 포자 발아를 억제하는 살균제의 효과는 저조하게 나올 수 있기 때문에, 살균제의 특성을 정확하게 검정할 수 있는 방법으로 살균제의 실내 검정을 실시하여야 한다. 미토콘드리아 내막에서 H⁺ 이온의 이동을 억제하는 ‘다5’군에 속하는 fluazinam의 균사생장 억제효과에 대한 EC₅₀값은 0.083 µg/ml로 우수하였다. 동일하게 호흡을 저해하는 살균제라고 하더라도 병원균의 종류와 미토콘드리아의 전자전달과정에서 활성을 억제하는 작용점 효소가 달라짐에 따라서 균사 생장을 억제하는 효과는 크게 달라졌다. ‘다2’군의 살균제에서 보는 것과 같이 동일한 효소를 작용점으로 가지는 경우에도 살균제의 화학 구조에 따라서 효과는 달라졌다. 효과가 우수하였던 isopyrazam과 fluxapyroxad는 pyrazole-4-carboxamide계에 속하며, boscalid는 pyridine-carboxamide계에 속하지만, 효과가 감소한 fluopyram은 pyridinyl-ethyl-benzamide계에 속하였고, flutolanil은 phenyl-benzamide계의 살균제였다.

에르고스테롤 생합성을 억제하는 ‘사’군 살균제에서는 탈메틸효소 활성저해 살균제(‘사1’군) 6종과 케토 환원 효소의 활성을 저해하는 살균제(‘사3’군)인 fenhexamid 1종을 선발하여 실험하였다(Table 2). 탈메틸 효소의 활성을 억제하여 에르고스테롤 생합성을 억제하는 살균제는 metconazole의 EC₅₀값이 1.055 µg/ml이었을 뿐, 나머지 5종 살균제의 EC₅₀값은 모두 1.0 µg/ml 이하로 *A. dauci*의 균사생장을 크게 억제하였다. 하지만 케토 환원 효소의 활성을 저해하는 fenhexamid의 EC₅₀값은 2.631 µg/ml로, ‘사1’군에 속하는 살균제의 균사생장 억제효과보다 저조하였다. ‘사1’군의 살균제 중에서 효과가 가장 우수하였던 살균제는 difenoconazole로서 EC₅₀값이 0.002 µg/ml이었다.

신호전달을 저해하는 ‘마’군에 속하는 살균제 중에서 ‘마2’군이며 phenylpyrrole계인 fludioxonil의 EC₅₀값은 0.017 µg/ml이었으며, ‘마3’군인 dicarboximide계인 iprodione과 procymidone의 EC₅₀값은 각각 0.414와 1.926 µg/ml이었다. 미세소관 형성을 억제하는 4종의 benzimidazole계 살균제와, 키틴 합성 저해제인 polyoxin, 지질 생합성 저해제인 isoprothiolane의 EC₅₀값과 minimum concentration (MIC) 값은 모두 100 µg/ml 이상으로, 당근검은잎마름병균인 *A. dauci* KACC42997에 대한 균사생장 억제효과가 매우 미미하였다. Table 2에서 보면 iminocadine tris-albesilate처럼 EC₅₀값이 낮아도 불구하고 MIC값은 >100 µg/ml인데, EC₅₀값이 1.701 µg/ml로 iminocadine tris-albesilate보다 큰 propineb의 MIC값은 100 µg/ml이었다. 이런 결과는 살균제에 따라서 충분히 나타날 수 있는 결과이기 때문에, 균사생장 억제효과를 조사하여 살균제의 효과를 비교하고

Fig. 1. Germinated conidium of *Alternaria dauci* on a cellophane membrane placing on potato dextrose agar (PDA) according to incubation time. On the cellophane membrane placing on PDA, 150 μ l of conidial suspension adjusted to 5×10^4 conidia/ml was inoculated and incubated at 25°C. (A) Conidium incubated for 1.5 hr, and observed at 400 $\times$ magnification. (B) Conidium incubated for 3 hr, and observed at 400 $\times$ magnification. (C) Conidium incubated for 6 hr, and observed at 200 $\times$ magnification. (D) Conidium incubated for 12 hr, and observed at 100 $\times$ magnification. (E) Conidium incubated for 24 hr, and observed at 100 $\times$ magnification.

자 할 때에는 EC_{50} 값과 MIC값을 동시에 조사하여 비교하는 것이 타당하다.

살균제의 포자 발아 및 발아관 신장 억제 효과. *A. dauci* KACC42997을 PDA 배지 위에 올려놓은 셀로판막 위에 접종하고 25°C에서 배양하면, 1.5시간 배양한 후부터 병원균 포자의 각각의 세포에서 발아관이 생성되며 발아하기 시작하였다 (Fig. 1).

배양 시간별로 포자 발아 상태를 확인하였을 때, 3시간 후에 이미 97.2%의 포자가 발아하였으며, 6시간 후에는 100.0% 포자가 발아하고, 발아관이 분지하며 자라기 시작하였다. 병원균의 포자를 9시간 동안 배양한 후에는 다세포 포자에서 생성된 여러 개의 발아관이 서로 얹혀 자라기 때문에 발아관의 길이를 조사가 용이하지 못하였다. 따라서 보호 살균제 4종과 치료 살균제 8종의 포자 발아 억제효과와 발아관 신장 억제효과는 살균제 배지에 올려놓은 셀로판막 위에 포자 현탁액을 접종하고 6시간 동안 배양한 후에 포자 발아율과 신장한 발아관의 길이를 조사하여 계산하였다. 살균제 무처리구의 포자는 100%가 발아하였으며, 발아관 길이는 평균 226.01 μ m이었다. ‘카’군 살균제에 속하는 chlorothalonil, dithianon, folpet, iminoctadin tris-albesilate 중에서 chlorothalonil, dithianon, folpet은 병원균에 대한 포자발아 억제효과가 우수한 반면에 군사생장 억제효과는 낮았으나, iminoctadin tris-albesilate는 반대로 포자

발아 억제효과는 낮았지만 군사생장 억제효과는 우수하였다 (Table 3). Cytochrome bc1 복합체의 활성을 저해하여 호흡을 저해하는 다3군에 속하는 pyraclostrobin은 병원균의 군사생장뿐만 아니라 포자발아에 대한 억제효과도 우수하였다. 하지만 pyraclostrobin의 군사생장 억제효과와 포자발아 억제효과를 EC_{50} 값으로 비교하여 보면, 군사생장에 대한 EC_{50} 값은 1.763 μ g/ml이고 포자발아에 대한 EC_{50} 값은 0.001 μ g/ml 이하로, 군사생장에 대한 억제효과보다는 포자발아에 대한 억제효과가 훨씬 우수함을 알 수 있었다. 세포 호흡에서 산화적 인산화 반응을 저해하는 다5군에 속하는 fluazinam은 병원균의 군사생장뿐만 아니라 포자발아에 대한 억제효과도 우수하였는데, 1.0 μ g/ml의 농도에서도 포자발아와 군사생장을 각각 97.3%와 82.7% 억제하였다. 발아관 신장 억제효과는 균총의 길이를 측정하여 조사한 군사생장 억제효과와 높은 상관관계를 보이면서, 군사생장 억제효과가 우수하였던 살균제의 발아관 신장 억제효과도 우수하였다 (Table 3).

병원균의 포자 형성 억제 효과. 6종의 살균제 중에서 100 μ g/ml의 fluxapyroxad를 처리한 배지에서 생성된 포자의 수가 무처리구에서 생성된 포자 수보다 47.1% 억제되었으며, fluazinam 처리는 36.2%를 억제되었다 (Fig. 2). 그 외 살균제는 무처리구의 포자 형성량과 거의 차이가 없었다. 다만 fludioxonil 처리구의 경우 포자 형성량에는 큰 차이가 없었으나, 포자의 형

Table 3. Inhibition rate (%)^a according to several fungicides *in vitro* assay

MOA code	Fungicide	Spore germination ^b			Germ-tube elongation ^c			Mycelial growth ^d		
		100 ^e	10	1	100	10	1	100	10	1
M4	Folpet	100.0	94.7	0.0	- ^c	-	-	87.1	56.3	15.5
M5	Chlorothalonil	100.0	100.0	26.7	-	-	-	66.8	54.5	41.0
M9	Dithianon	93.0	62.3	0.0	-	-	-	28.7	25.5	20.6
M7	Iminoctadine tris-albesilate	6.3	0.0	0.0	85.7	71.2	0.0	97.4	90.3	71.6
C2	Fluxapyroxad	0.0	0.0	0.0	83.7	79.9	76.7	100.0	100.0	90.3
C2	Boscalid	0.0	2.7	0.0	79.5	86.3	56.0	83.8	69.2	41.4
C3	Pyraclostrobin	100.0	100.0	95.0	-	-	-	92.4	71.8	41.5
C5	Fluazinam	99.0	96.0	97.3	-	-	-	94.0	92.8	82.7
G1	Difenoconazole	0.0	0.0	0.0	88.6	85.1	78.0	100.0	93.82	87.1
G1	Metconazole	0.0	0.0	0.0	83.8	82.5	71.1	100.0	78.0	49.4
E2	Fludioxonil	0.0	0.0	0.0	77.1	79.3	76.4	90.8	90.2	86.7
E3	Iprodione	0.0	0.0	0.0	80.4	79.4	60.3	94.3	90.1	56.8

MOA, mode of action.

^aInhibition rate (%) was determined by comparing the growth of *Alternaria dauci* KACC42997 in the untreated control and the treatment with each fungicide.

^bThe inhibitory effect of the fungicides on the spore germination was investigated after incubating the conidia of *A. dauci* on cellophane membrane placing on potato dextrose agar at 25°C for 6 hr. Just only spores with a germination tube longer than the spore width were considered as germinated spores. In each replicate of all treatments, 100 spores were examined.

^cNo detection.

^dAfter spores of *A. dauci* were incubated on cellophane membrane at 25°C for 6 hr, germ-tube lengths of 50 germinated conidia were examined to determine the inhibitory effect on germ-tube elongation.

^eInhibitory effect of each fungicide on the mycelial growth was obtained by incubating *A. dauci* on V-8 agar medium at 25°C for 10 days and then measuring the diameter of the colony.

Fig. 2. Inhibitory effect of fungicides on the sporulation of *Alternaria dauci* KACC42997 on V-8 juice agar media. Each fungicide was applied by dropping on colony where aerial mycelia were removed to produce conidia, after growing on V-8 juice agar media for 7 days. The fungicide solution was adjusted to 100 µg/ml. The colony of *A. dauci* KACC42997 treated with and without the fungicide was irradiated with near-ultraviolet light at 12 hr at 20°C for 7 days to form conidia. Conidia were harvested by pouring 10 ml of sterile distilled water into each colony.

Fig. 3. Conidium of *Altanaria dauci* KACC42997 harvested from the colony untreated (A) and treated with fludioxonil (B). Conidia were observed under a light microscope at 400× magnification.

태가 일부 변형되어 있었다(Fig. 3). 이처럼 포자가 변형되는 원인은 fludioxonil의 작용기작과 관련이 있을 것으로 추정한다. Fludioxonil은 병원균의 삼투압에 대한 신호전달을 저해하는 살균제로 알려져 있는데, 이런 작용기작이 새롭게 생성되는 *A. dauci*의 포자를 형태적으로 변형시켰을 것으로 추정한다. 따라서 이런 추론을 증명하기 위한 생화학적인 실험이 뒷받침되어야 할 것으로 본다(Fig. 3).

Table 4. EC₅₀ values (μg/ml) of *Alternaria dauci* isolated from 3 regions cultivating carrots against fungicides inhibiting ergosterol biosynthesis

Fungicides	Regions ^a	EC ₅₀ value ^b (μg/ml)			Rf value ^c
		Minimum	Mean	Maximum	
Difenoconazole	GM	0.018	0.207	0.946	53.0
	JJ	0.044	0.262	0.762	17.4
	PC	0.032	0.190	0.384	11.9
Metconazole	GM	0.111	0.280	0.685	6.2
	JJ	0.098	0.329	0.801	8.2
	PC	0.042	0.465	1.682	39.7
Tebuconazole	GM	0.146	0.788	2.383	16.3
	JJ	0.218	0.794	1.953	9.0
	PC	0.209	1.205	4.302	20.6
Prochloraz	GM	0.002	0.155	0.443	241.4
	JJ	0.007	0.175	0.320	47.3
	PC	0.003	0.144	0.476	160.7
Fenhexamide	GM	1.649	7.215	14.583	8.8
	JJ	4.703	8.378	29.996	6.4
	PC	3.006	7.848	14.029	4.7

^aTo examine the sensitivity of *Alternaria dauci* to fungicides inhibiting ergosterol biosynthesis, isolates of *A. dauci* were collected from 3 regions such as Gumi (GM), Jeju (JJ), and Pyeongchang (PC) where carrots were cultivated.

^bEC₅₀ value refers to the concentration of fungicide that inhibits mycelial growth of the pathogen, *A. dauci*, by 50%.

^cRf value means resistance factor that calculated by dividing the maximum value of EC₅₀ with the minimum value of EC₅₀.

각 지역 병원균 집단의 살균제에 대한 감수성 차이. 에르고스테롤 생합성 저해 살균제에 대한 병원균 집단의 모니터링 결과, prochloraz의 EC₅₀값은 0.158 μg/ml (0.002–0.476 μg/ml)로, 실험한 살균제 중에서 병원균의 균사생장을 가장 효과적으로 억제하였다. 또한 당근 검은잎마름병 방제를 위해서 등록되어 있는 살균제인 difenoconazole과 metconazole도 0.219 μg/ml (0.018–0.946 μg/ml), 0.350 μg/ml (0.042–1.683 μg/ml)로 병원균의 균사생장 억제효과가 우수하였다. 그러나 에르고스테롤 생합성 저해 과정 중 C-4 위치의 탈메틸화 과정에서 3-keto reductase의 활성을 저해하는 fenhexamid의 경우, '사' 군에 속하는 다른 살균제에 비해서 균사생장 억제효과가 낮았다. Table 4에서 보는 것과 같이 각 지역 별 병원균 집단의 살균제 반응에는 차이가 있었다. 구미 지역 병원균 집단은 difenoconazole과 prochloraz에 대한 Rf(저항성 요인)값이 다른 지역보다 크게 나타나, 병원균 집단 내에서 살균제에 대한 감수성 정도가 타 지역보다 다양하다는 사실을 알 수 있었다. Tebuconazole에 대해서도 구미 지역 집단은 제주 지역 집단과 대등한

평균 EC₅₀값을 보이면서도 Rf값이 큰 것을 보면 집단 내 각 균주 간의 감수성 정도가 다양한 것을 알 수 있다. 평창 지역의 집단은 metconazole과 tebuconazole에 대해서 평균 EC₅₀값뿐만 아니라 Rf값마저 높게 나타나, 지역 병원균 집단에 속하는 *A. dauci* 균주의 살균제에 대한 감수성이 전체적으로 저하되었을 뿐만 아니라 집단 내의 다양성 역시 높음을 보여주었다. 하지만 fenhexamid에 대한 각 지역 병원균 집단의 EC₅₀값과 Rf값은 비슷하였다. 조사한 세 지역 중에서 제주 지역 병원균 집단이 살균제에 대한 감수성 정도의 다양성이 가장 낮았다. Rf(저항성 요인)값이 크다는 의미는 지역 내 병원균 집단의 감수성 정도에 대한 다양성이 높다는 것을 뜻하는데, 집단 내에서 각 균주의 감수성 정도가 다르기 때문에 그만큼 저항성 발현이 용이한 상태를 말하고 있다.

실험에 사용한 모든 *A. dauci* 균주는 숙신산탈수소효소를 저해하는 isopyrazam과 fluxapyroxad에 대한 평균 EC₅₀값이 2.350과 fluxapyroxad 1.644 μg/ml이었다. 그러나 숙신산탈수소효소의 활성을 저해하면서도 isopyrazam이나 fluxapyroxad

Table 5. EC₅₀ values (μg/ml) of isolates of *Alternaria dauci* obtained from 3 regions cultivating carrots against fungicides inhibiting the respiration of the pathogen

Fungicides	Regions ^a	Isolates	EC ₅₀ value ^b (μg/ml)			Rf value ^c
			Minimum	Mean	Maximum	
Isopyrazam	GM	28	0.537	2.252	6.492	12.1
	JJ	23	0.499	2.332	4.818	9.7
	PC	21	0.369	2.500	6.431	17.4
Fluxapyroxad	GM	28	0.527	1.640	3.926	7.8
	JJ	23	0.485	1.857	3.054	6.3
	PC	21	0.343	1.416	2.802	8.2
Boscalid	GM	28	1.164	14.716	85.500	73.5
	JJ	23	1.033	9.420	26.450	25.6
	PC	21	3.413	17.466	124.967	36.6
Pyraclostrobin	GM	28	0.587	10.587	32.966	56.1
	JJ	23	3.060	15.300	42.944	14.0
	PC	21	1.497	9.359	30.359	20.3

^aTo examine the sensitivity of *Alternaria dauci* to fungicides inhibiting the respiration, isolates of *A. dauci* were collected from 3 regions such as Gumi (GM), Jeju (JJ), and Pyeongchang (PC) where carrots were cultivated.

^bEC₅₀ value refers to the concentration of fungicide that inhibits mycelial growth of the pathogen, *A. dauci*, by 50%.

^cRf value means resistance factor that calculated by dividing the maximum value of EC₅₀ with the minimum value of EC₅₀.

Table 6. Correlation between fungicides inhibiting the respiration

	Isopyrazam	Fluxapyroxad	Boscalid	Pyraclostrobin
Isopyrazam	- ^a	0.51 ^{**}	0.33 ^{**}	0.11
Fluxapyroxad	-	-	0.13	0.10
Boscalid	-	-	-	0.22
Pyraclostrobin	-	-	-	-

^{**}The symbol indicates that the correlation coefficient is significant at 0.01.

^aThe symbol indicates that the correlation coefficient between each fungicide was not calculated.

와는 화학구조가 다른 boscalid와 complex III에 작용하여 ATP 합성을 저해하는 pyraclostrobin에 대한 EC₅₀값은 높았다 (Table 5). 검은잎마름병균의 지역별 감수성 차이를 비교했을 때, 구미와 평창보다 제주의 Rf값이 적게 나타나, 제주 지역 병원균 집단의 살균제 감수성 정도는 다른 지역보다 다양성이 낮다는 것을 알 수 있었다. 이런 결과는 제주 지역이 다른 지역보다 살균제 사용이 많지 않았을 가능성을 보여준다. *A. dauci*에 대한 각 살균제 반응의 상관관계를 조사해 보면 isopyrazam과 fluxapyroxad, isopyrazam과 boscalid에서 0.01 수준으로 유의

한 상관관계가 나타났다 (Table 6). 하지만 pyraclostrobin은 나머지 3개 살균제와는 상관관계가 없었다.

Phenylpyrrole계에 속하는 fludioxonil(‘마2’군)에 대한 *A. dauci* 반응을 조사하였을 때, 평창 포장에서 2개의 저항성 균주가 발견되었다 (Fig. 4). 이 두 저항성 균주는 dicarboximide계(‘마3’군)에 속하는 iprodione과 procymidone에 대해서도 높은 저항성을 보였다. Fig. 5에서 보는 것과 같이 감수성인 CD-SPC2-3 균주는 50 μg/ml의 fludioxonil과, 100 μg/ml의 iprodione과 procymidone이 첨가된 PDA 배지에서 생장이 크게 억제되었지만, 저항성인 CDS-SPC5-1 균주는 살균제를 첨가한 배지에서의 생장이 살균제를 첨가하지 않은 PDA 배지에서 생장과 차이가 없었다.

이 결과는 *A. dauci*가 phenylpyrrole계의 fludioxonil과 dicarboximide계에 속하는 iprodione과 procymidone 사이에 교차 저항성이 존재함을 보여 주고 있다. 저항성 균주인 *A. dauci* CD-SPC5-1과 CDS-SPC5-2를 제외하고 지역 별로 각 균주의 EC₅₀값을 구하여 비교한 Rf값을 보면, 다른 기작을 지닌 살균제의 경우와 동일하게 제주 지역 병원균 집단의 Rf값이 여전히 낮았다. 제주 지역에서는 당근을 유기농으로 재배하는 곳이 많기 때문에 살균제의 사용이 적어서 타 지역에 비하여 적었기 때문이라고 생각한다.

Fig. 4. Response curve of *Alternaria dauci* isolates obtained from 3 regions to each concentration of fludioxonil (A), iprodione (B), and procymidone (C). Black line means a susceptible isolate and red line means a resistance isolate. The response of *A. dauci* isolates to the fungicides was examined by an agar dilution method.

Fig. 5. The response of *Alternaria dauci* CDSPC2-3 and CDSPC5-1 on potato dextrose agar with or without each fungicide. Concentrations of each fungicide, as fludioxonil, Iprodione, and procymidone, were adjusted to 50, 100, and 100 $\mu\text{g/ml}$, respectively.

요 약

당근검은잎마름병균인 *Alternaria dauci* KACC42997에 대해서 32개 살균제를 선발하여 균사생장 억제효과를 조사한 결과, '다2'군, '다5'군, '사1'군, '마2'군, '마3'군에 속하는 살균제의 균사생장 억제효과가 우수하였다. Iminoctadine tris-albesilate를 제외한 '카'군에 속하는 보호살균제와 '다3'군에 속하는 pyraclostrobin은 병원균의 포자발아를 억제하는 효과가 우수하였다. 균사생장 억제효과가 우수했던 숙신산탈수소효소 활성을 저해하는 '다2'군과 탈메틸효소 활성을 저해하는 '사1'군 살균제는 우수한 균사생장 억제효과를 보여주면서도, 포자발아 억

제효과는 저조하였다. 하지만 '다5'군에 속하는 fluazinam은 균사생장 억제효과뿐만 아니라 포자발아 억제효과도 우수하였다. 특별히 '다2'군에 속하는 fluxapyroxad를 100 $\mu\text{g/ml}$ 처리한 경우, 배지 상에서 포자형성을 47.1% 억제하였다. 구미, 평창, 제주 등에서 분리한 검은잎마름병균 집단의 '사'군, '다'군, '마'군 살균제에 대한 저항성 요인값을 비교하면, 제주 지역 병원균 집단의 저항성 요인값이 가장 낮았다. 평창 지역 균주 집단에서 '마2'군에 속하는 fludioxonil 저항성 균주가 2개 발견되었으며, 그들은 모두 iprodione과 procymidone에 대해서 교차저항성을 보였다.

Conflicts of Interest

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

Acknowledgments

This work was supported by the project (research number : 116090-03-2-SB010) of Korea Institute of Planning and Evaluation for Technology in Food, Agriculture and Forestry, Korea.

References

- Ben-Noon, E., Shtienberg, D., Shlevin, E., Vintal, H. and Dinoor, A. 2001. Optimization of chemical suppression of *Alternaria dauci*, the causal agent of Alternaria leaf blight in carrots. *Plant Dis.* 85: 1149-1156.
- Bounds, R. S., Hausbeck, M. K. and Podolsky, R. H. 2006. Comparing disease forecasters for timing fungicide sprays to control foliar blight on carrot. *Plant Dis.* 90: 264-268.
- Dugdale, L. J., Mortimer, A. M., Isaac, S. and Collin, H. A. 2000. Disease response of carrot and carrot somaclones to *Alternaria dauci*. *Plant Pathol.* 49: 57-67.
- Hirooka, T., Kasahara, H., Miyagi, Y. and Kunoh, H. 1990a. Effects of the systemic fungicide flutolanil on morphology of *Rhizoctonia solani* following inhibition of succinate oxidation. *J. Pestic. Sci.* 15: 47-53. (In Japanese)
- Hirooka, T., Miyagi, Y., Araki, F. and Kunoh, H. 1990b. Biological mode of action of flutolanil in its systemic control of rice sheath blight. *Phytopathology* 79: 1091-1094.
- Hyun, J.-W., Lee, S.-C., Ihm, Y.-B., Kim, D.-H., Ko, S.-W. and Kim, K.-S. 2001. Protective effect of iminoctadine tris(albesilate) and kresoxim-methyl fungicides to citrus postharvest diseases caused by *Penicillium* spp. *Korean J. Pestic. Sci.* 5: 37-44. (In Korean)
- Koch, E., Schmitt, A., Stephan, D., Kromphardt, C., Jahn, M., Krauthausen, H.-J. et al. 2010. Evaluation of non-chemical seed treatment methods for the control of *Alternaria dauci* and *A. radicina* on carrot seeds. *Eur. J. Plant Pathol.* 127: 99-112.
- Korean Crop Protection Association. 2019. Guidelines for Crop Protection Agents. Samjung Press, Seoul, Korea. 256 pp.
- Korea Statistical Information Service. 2020. URL <http://kosis.kr/index/index.do> [10 May 2020].
- Kwon, M., Ryu, K. Y., Kim, J. S. and Shin, G. Y. 2007. Occurrence pattern of pests in carrot fields and effect of plant debris removal after harvest at highland area. *Korean J. Hortic. Sci.* 25: 316-321. (In Korean)
- Langenberg, W. J., Sutton, J. C. and Gillespie, T. J. 1977. Relation of weather variables and periodicities of airborne spores of *Alternaria dauci*. *Phytopathology* 67: 879-883.
- Lee, J. E., Yeoung, Y. R., Kwon, S. B. and Kim, B. S. 2011. Screening of seed treatment agents against leaf blight and black root rot for carrot organic cultivation. *Res. Plant Dis.* 17: 148-154. (In Korean)
- Lee, S. M., Min, J. and Kim, H. T. 2017. Fungicide selections for control of chili pepper stem rot caused by *Sclerotium rolfsii* using an agar dilution method. *Korean J. Agric. Sci.* 44: 339-347. (In Korean)
- Motoba, K., Uchida, M. and Tada, E. 1988. Mode of antifungal action and selectivity of flutolanil. *Agric. Biol. Chem.* 52: 1445-1449.
- Netzer, D. and Kenneth, R. G. 1969. Persistence and transmission of *Alternaria dauci* (Kühn) Groves & Skolko in the semi-arid conditions of Israel. *Ann. Appl. Biol.* 63: 289-294.
- Park, K.-H., Yun, H.-J., Ryu, K.-Y., Yun, J.-C., Kim, S.-R., Kim, W.-I. et al. 2011. Influence of environmental factors on conidial germination of *Alternaria dauci*. *Res. Plant Dis.* 17: 381-385. (In Korean)
- Pryor, B. M., Strandberg, J. O., Davis, R. M., Nunez, J. J. and Gilbertson, R. L. 2002. Survival and persistence of *Alternaria dauci* in carrot cropping systems. *Plant Dis.* 86: 1115-1122.
- Steinfeld, U., Sierotzki, H., Parisi, S., Poirey, S. and Gisi, U. 2001. Sensitivity of mitochondrial respiration to different inhibitors in *Venturia inaequalis*. *Pest. Manag. Sci.* 57: 787-796.
- Stepanović, M., Jevremović, S., Rekanović, E., Mihajlović, M., Milijašević-Marčić, S., Potočnik, I. et al. 2015. *In vitro* sensitivity of *Alternaria solani* to conventional fungicides and a biofungicide based on tea tree essential oil. *Pestic. Phytochem.* 30: 25-33.
- Strandberg, J. O. 1977. Spore production and dispersal of *Alternaria dauci*. *Phytopathology* 67: 1262-1266.
- Strandberg, J. O. 1983. Infection and colonization of inflorescences and mericarps of carrot by *Alternaria dauci*. *Plant Dis.* 67: 1351-1353.
- Strandberg, J. O. 1993. Alternaria leaf blight. Bad news for carrot production everywhere. *Carrot Count.* 1: 24-25.
- Vintal, H., Ben-Noon, E., Shlevin, E., Yermiyahu, U., Shtienberg, D. and Dinoor, A. 1999. Influence of rate of soil fertilization on Alternaria leaf blight (*Alternaria dauci*) in carrots. *Phytoparasitica* 27: 193-200.
- Westerveld, S. M., McKeown, A. W. and McDonald, M. R. 2008. Relationship between nitrogen fertilization and Cercospora leaf spot and Alternaria leaf blight of carrot. *HortScience* 43: 1522-1527.