

양송이 마이코곤病的 防除藥劑에 관한 研究

全創成·金光布·車東烈

農村振興廳 農業技術研究所 菌茸科

Studies on the Chemical Control of *Mycogone perniciosa* Magn in Cultivation of Mushroom *Agaricus bisporus*(Lang) Sing

Chang-Sung Jhune, Gwang-Po Kim and Dong-Yeul Cha

Applied Mycology and Mushrooms Divisions, Agricultural Science Institute,
R.D.A. Suweon 441-707, Korea

ABSTRACT: Prochloraz of fungicide was applied on *Mycogone perniciosa* causing wet bubble in cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*. *In vitro*, Prochloraz was an excellent fungicide on two strains of *Mycogone*, tolerant and non-tolerant to Benomyl, respectively. At the low dosage, Prochloraz more inhibited mycelial growth of mushrooms than Benomyl. At the higher dosage, Benomyl more inhibited the mycelial growth than prochloraz. The higher yield of sporophore of the mushroom with low infection rate was obtained from several trial of Prochloraz. Prochloraz was concluded to be effective fungicide on *Mycogone perniciosa* on *Agaricus* cultivation.

KEYWORDS: Mushroom, Wet bubble, *Mycogone perniciosa*, Fungicide

양송이(*Agaricus bisporus*) 마이코곤病은 19세기 프랑스에서 최초로 發病이 報告되었으며, 우리나라에서는 1971年 忠南 扶餘郡 石城面 栽培農家에서 發見된 이래 現在에 이르기까지 양송이 生産에 深刻한 沮害要因이 되는 病이다. 이 病原菌은 不完全菌類 Moniliaceae에 속하는 *Mycogone perniciosa* Magn.에 의해 發病되며(Flegg 등, 1985), 양송이의 子實體에만 寄生하는 菌으로 菌絲에는 被害를 주지 않는 特徵이 보고되고 있다. 土壤 中에서는 厚膜孢子로 存在하다가 버섯 發生時 子實體에 侵入하여 發病되면, 버섯의 代(stipe)와 갓(pileus)의 구별이 없는 奇形이 되고, 後에는 罹病버섯 表面에 물방울이 滲出되면서 腐敗하여 惡臭을 풍기며, 發病 程度가 심한 경우 收量이 심하게 減少되기도 한다.

이 病的 防除法으로는 栽培舍의 消毒과 覆土材料를 殺菌에 의하여 可能하지만, 동일 栽培舍에서 連作 또는 2次傳染에 의하여 完全防除가 곤란하므로 覆土表面에 직접 使用할 수 있는 選擇적인 防除藥劑를 使用해야 하는 것으로 생각된다.

菌床에 使用할 수 있는 效果的인 藥劑는 使用初期에는 病原菌에 대해 比較的 選擇的으로 作用되는 Dithiocarbamate계의 Zineb, Meneb와 Mancozeb 등(Fekete 등, 1965; Gaze 등, 1975; Newman 등, 1969)이 널리 使用되었으나, 이들 藥劑에 대한 耐性的의 發現으로 效果가 激減하였다. 이 後 開發된 Benzimidazol 系統中 Benomyl은 양송이菌에 대한 영향이 없으며, 不完全菌類 病原菌에 대해 탁월한 效果가 있다는 보고가 있었다(Wuest, 1973). 그러나 이것도 수년간 連用을 한 結果 Benomyl 耐性菌의 發生되었다(金, 1983; Gaze 등, 1975). 그 이후 覆土消毒劑로서 耐性菌株에 使用 可能한 Basamid와 Vapam 등을 選拔하였으나(金 등 1978) 農家에서의 藥劑使用이 복잡하고 毒性이 강하여 實用化되지 못하고, 現在 적절한 防除藥劑가 없는 實情이다. Prochloraz는 버섯栽培에서 發生하는 여러 가지의 主要病害에 대해 效果的이었으며, Benzimidazol 系統의 藥劑에 대해 耐性を 나타내는 *Verticillium fungicola*에도 效果的이라고 하였다(Fletcher 등, 1983).

본 연구는 白色品種의 양송이栽培에 있어서 가장 문제가 되고 있는 Benomyl의 藥劑耐性 마이코곤病原菌에 대한 Prochloraz 水和劑의 防除效果와 양송이 菌絲에 미치는 영향에 대한 試驗을 實施하여 다음과 같은 結果를 얻었기에 報告하고자 한다.

材料 및 方法

藥劑濃度別 마이코곤病原菌 菌絲生長 沮止效果

供試藥劑의 藥效를 測定하기 위하여 PDA 培地에 供試病原菌을 培養하여 孢子形成이 충분히 되었을 때 殺菌水를 넣어 病原菌 孢子懸濁液을 만들고 顯微鏡 400배에서 10-15개 程度의 孢子懸濁液으로 調節하여 Petridish에 미리 製造된 PDA培地를 20 cc씩 分注하면서 1 cc씩 넣고 混合하여 評判하였다.

다음에는 滅菌된 直徑 6 mm의 圓形濾過紙를 100, 500倍液의 藥液에 각각 침지하여 준비된 Petri dish의 中央에 옮겨놓고 28℃의 恆溫器에서 3일간 培養시킨 후 形成된 沮止圓의 直徑을 調査하였다.

藥劑處理 濃度別 양송이 菌絲生長 抑制程度

室內에서 Prochloraz의 處理濃도가 양송이栽培品種의 菌絲生長에 미치는 영향을 調査하기 위하여 양송이 505호, 705호, 707호를 공시하였다. 堆肥抽出培地內的 Prochloraz의 原劑濃도는 0.1, 1.0, 10.0, 50.0, 100.0 ppm으로 調節하고, 對照藥劑로는 農家에서 마이코곤病에 使用해왔던 Benomyl을 같은 濃도로 培地에 稀釋하여 각각의 Petridish에 20 cc씩 分注하였다. 供試菌株는 0.5 mm 菌絲切片으로 培地 中央에 놓고 14일 후 菌絲生長 程度와 顯微鏡上에서 菌絲의 形態의 異狀有無를 調査하였다.

圃場에서의 藥劑處理濃度別 마이코곤病 防除效果

마이코곤病에 罹病的인 特性을 갖는 양송이 505호를 供試品種으로 使用하였으며, 試驗上에 필요한 堆肥는 農技研 양송이 標準 栽培法에 준하여 製造하고, 坪當 5 Lbs 基準으로 種菌을 接種하였으며, 몇질堆肥에 菌絲生長이 完了된 후, 覆土(植壤土 80% + 土炭 20%)를 2-3 cm 가량 덮었다. Benomyl 耐性 및 非耐性病原菌을 PDA 培地에 培養하여 孢子形成이 충분히 形成된 때에 孢子懸濁液을 만들어 顯微鏡 400배에서 孢子數가 10-15개 程度로 調節한 孢子懸濁液을 覆土表面에 0.239 m² 상자당 10 cc씩 高르게 噴霧하여 病的 發生을 誘導하였다.

試驗 供試藥劑인 Prochloraz는 0.3, 0.9, 1.5 g·ai/1000 cc/m², 對照인 Benomyl은 0.5g·ai/1000 cc/m²로 覆土 3-4일 후, 覆土層에 處理하여 收量 및 罹病率을 調査하는 試驗을 상자栽培 2회 실시하였다. 그리고 一般農家에서 使用하는 菌床栽培方法에서 防除效果를 再確認하기 위하여 상자재배인 1, 2次 試驗에서 우수하며, 藥量이 작은 0.3, 0.6g·ai/m²을 供試하여 確認試驗을 1, 2次 試驗과 같은 課程을 거쳐 圃場試驗을 實施하였다.

罹病程度는 버섯發生 일정기간 후 菌床위의 罹病 버섯과 健全버섯 數를 調査하고, 그 結果를 罹病버섯數/(罹病버섯數 + 健全버섯數) × 100으로 하여 罹病率을 決定하였으며, 버섯의 收穫量은 일반시중에서 販買되는 程度의 크기에 도달하면 收穫하여 무게를 調査하였다.

結果 및 考察

藥劑濃度別 마이코곤病 菌絲生長 沮止效果

供試藥劑의 藥效를 究明하기 위하여 培地上에서 沮止圓試驗法에 準한 病原菌 生長低地效果를 測定한 結果 Table I과 같은 結果를 얻었다.

Benomyl은 非耐性病原菌에만 沮止效果가 높아서 1000倍液에서 52.3 mm, 500倍液에서는 55.7 mm의 沮止圓을 形成하였으나, 耐性菌에서는 10.3, 13.3 mm로 沮止程度가 매우 낮아 藥效가 상실된 것으로 確認할 수 있었다. 그러나 Prochloraz는 1000倍液은 非耐性菌은 68.0 mm, 耐性菌에서도 55.0 mm 程度로 耐性菌에 대한 沮止圓이 非耐性菌에 대하여 약간 작은 沮止圓을 形成하였으나 Benomyl 耐性發現의 有無에 관계없이 모든 病原菌 抑制效果가 높은 것을 볼 수 있었다.

藥劑濃度別 양송이 菌絲生長 抑制程度

室內에서 堆肥寒天培地의 藥劑處理濃度別 양송이

Table I. Inhibition effect of prochloraz on the growth of *M. perniciosa*

| Fungicide | Inhibited Zone of Pathogens (mm/3 day) | | | |
|------------|----------------------------------------|-----------------|---------------------|-----------------|
| | Non tolerant strain | Tolerant strain | Non tolerant strain | Tolerant strain |
| | 500X | 1000X | 500X | 1000X |
| Benomyl | 55.7 | 52.3 | 13.3 | 10.3 |
| Prochloraz | 69.0 | 68.0 | 55.7 | 55.0 |

Table II. Effects of prochloraz concentrations on the mycelial growth of common mushroom

| Fungicides | strain | Mycelial growth (mm/14 day) | | | | | |
|------------|--------|-----------------------------|---------|-------|--------|--------|---------|
| | | Control | 0.1 ppm | 1 ppm | 10 ppm | 50 ppm | 100 ppm |
| Benomyl | 505 Ho | 88 | 87 | 86 | 82 | - * | - |
| | 705 Ho | 73 | 65 | 62 | 56 | - | - |
| | 707 Ho | 62 | 60 | 62 | 60 | - | - |
| Prochloraz | 505 Ho | 88 | 82 | 83 | 65 | + | - |
| | 705 Ho | 73 | 73 | 61 | 55 | 15 | + |
| | 707 Ho | 62 | 63 | 64 | 52 | 14 | + |

*+: only appeared aerial mycelium inoculum, -: no appeared aerial mycelium of inoculum

栽培品種에 대한 藥害程度를 究明하기 위한 試驗을 實施하여 Table II과 같은 結果를 얻었다.

白色系統인 505호에서는 無處理區가 88 mm의 菌絲生長을 나타냈을 때 Benomyl은 10 ppm의 濃度까지 수 mm의 減少로 藥害가 없었으나 50 ppm 수준에서는 菌絲生長이 없을 정도로 억제되었다. 그러나 Prochloraz은 0.1, 1.0 ppm에서는 Benomyl의 10 ppm과 같은 水準이며, 10 ppm에서는 65 mm로 菌絲生長이 떨어지나 50 ppm의 濃度에서는 Benomyl과는 다르게 接種源에 空中菌絲의 生長이 보이는 것으로 보아 菌絲生長이 可能한 限界濃度는 Benomyl보다는 높은 것으로 推定된다.

確認된 狀態는 아니나 마이코곤병에 抵抗性인 705호에 대해 간혹 마이코곤병에 發生한다고 하므로 이 品種에서도 앞으로는 藥劑의 使用可能性이 있으므로 크림색種인 705호와 707호에 대해 試驗을 實施한 結果 無處理區에 비하여 10 ppm 濃度까지는 비교적 비슷한 程度의 菌絲生長을 나타내나 50 ppm에서 Benomyl 處理區는 生長하지 못하고 Prochloraz은 生長하였으며, 100 ppm의 濃度에서도 接種部位에 空中菌絲의 形成을 肉眼으로 觀察할 수 있었다.

이러한 結果는 모든 양송이 品種에서 10 ppm까지의 低濃度에서의 菌絲生長은 Prochloraz가 Benomyl과 對比하여 抑制되는 경향이나 菌絲生長의 限界濃度는 Benomyl보다는 높게 나타났다.

두 藥劑에 대한 品種間의 菌絲生長 抑制 程度는 크림색보다는 白色系統인 505호가 심하게 나타나는 경향으로 양송이 12品種을 9 種類의 藥劑에 대한 각기 다른 菌絲生長을 나타낸 結果와(Gandy, 1981) 一致되었다.

處理濃度別로 菌絲體를 顯微鏡上에서 菌絲形態의 異狀有無를 調査한 結果 대체적으로 10 ppm까지는 無處理區의 菌絲와 比較하여 形態的인 異狀을 發現할 수 없었으나, 菌絲가 거의 生長하지 않는 50 ppm 處理區에서는 菌株間의 差異가 없이 菌絲의 Cell 크기가 작아지며, 細胞壁이 두터워지는 現狀과 약간의 衝擊에 의해서 菌絲의 Cell이 blastospore와 같이 쉽게 分離되는 것을 觀察할 수 있었다(Fig. 1).

이러한 現狀에 대한 것은 추후 더 많은 試驗이 遂行되어야 할 것으로 생각된다.

圃場에서의 藥劑處理濃度別 마이코곤病 防除效果

圃場狀態에서 防除效果를 確認하기 위하여 505호를 供試菌株로 使用하고, 供試藥劑를 濃度別로 覆土層에 處理하여 상자栽培 2회와 菌上栽培 1회의 試驗을 實施한 結果 Table III-V와 같은 結果를 얻었다.

1次 栽培試驗(상자栽培) 結果에서는 Benomyl 藥劑非耐性菌만을 處理한 病處理區에서는 25%의 罹病率을 나타냈으나, Prochloraz를 處理한 區에서는 罹病率이 1.0% 미만으로 藥劑에 대한 防除效果를 인정할 수 있었으며, 罹病率 1%도 藥劑의 撒布가 어려운 상자의 뒷부분에서 주로 發生된 것으로 藥劑를 菌床에 고르게 撒布된다면 완벽한 防除效果를 얻을 수 있다고 생각된다.

收量에서는 Prochloraz의 0.3 g·gi/m² 處理區가 4140g/0.239 m²로 가장 높았으며, 가장 낮은 區는 病處理區로 2553g/0.239 m²이었다. 그리고 모든 藥劑 處理區가 病處理區보다 收量性이 높은 것은 藥劑處理에 따른 防除效果가 收量으로 나타난 것으로 推定된다.

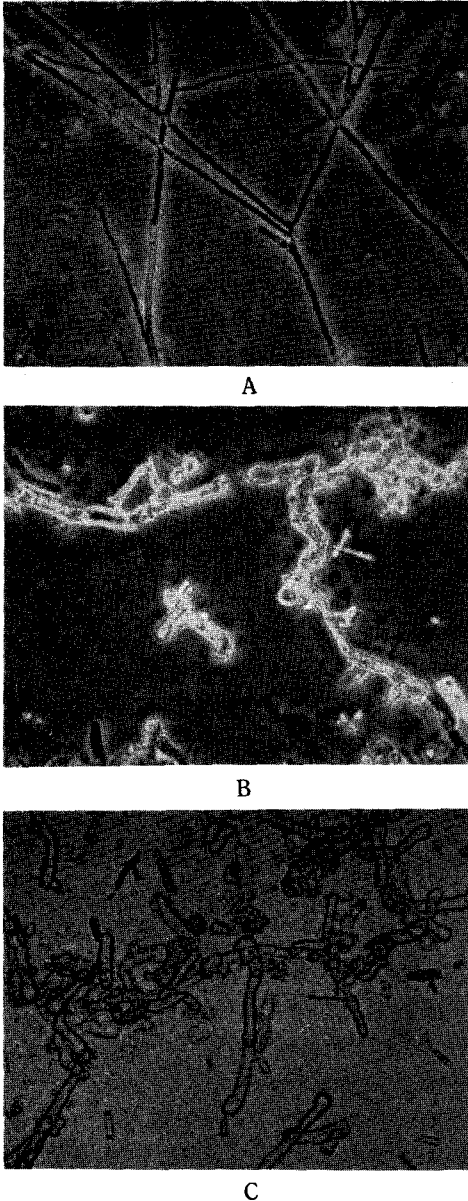


Fig. 1. Effect of the fungicide on the morphological variation of mycelium of common mushroom. (A: Control, B: 50 ppm, C: 100 ppm)

Benomyl에 耐性을 가진 마이코곤病原菌 處理區 中の Prochloraz 處理區의 罹病率은 0.2% 미만으로 病處理區에서의 16.2%보다 防除效果가 매우 높았으며, 對照 藥劑인 Benomyl 處理區의 0.6%보다 낮았다.

收量에 있어서는 慣行區가 2832g, 病處理區가 1663g으로 藥劑處理區가 전체적으로 收量이 매우 높게 나타났으며, 그 중에서도 供試藥劑의 $0.9g \cdot ai/m^2$ 處理區가 3988g으로 가장 높았다(Table III).

2次 栽培試驗(상자栽培)에서는 Prochloraz의 藥害 程度를 알아보기 위하여 $2.1g \cdot gi/m^2$ 의 處理區를 追加하여 防除效果를 調査해 본 結果, 藥害는 없었으며, 藥劑 非耐性 病原菌 處理區의 病處理區는 罹病率이 13.8%인데 비하여 藥劑處理區는 發病된 버섯子實體를 전혀 發見할 수 없었다.

藥劑耐性 病原菌 處理區는 病處理區는 罹病率이 93.5%로 收量이 극히 적으며, Benomyl 處理區도 病處理區보다는 절반 程度의 水準인 41.3%의 罹病率을 보여 藥劑非耐性菌株의 Benomyl 處理區에서 나타난 防除效果와는 다르게 Benomyl에 대한 防除效果가 상당히 減少된 것을 알 수 있었다.

收量에서는 供試藥劑 處理區는 無處理區와 대체적으로 비슷한 水準이며, 病處理區보다는 매우 높은 경향이였다(Table IV).

結果의 適用에 있어서 小面積試驗結果를 大面積에 適用하는 경우에는 問題點이 發生하는 경우가 있으므로 菌床栽培에 의한 試驗을 實施한 結果 1, 2次 栽培의 試驗과 같은 경향의 結果를 얻을 수 있어 이 藥劑는 현재 使用할 만한 防除藥劑가 없는 우리나라 실정에서는 매우 效果的으로 利用할 수 있을 것이다(Table V).

이 防除藥劑의 適用時期는 여러 시기에 적용할 수 있으나 防除適期는 대상 病原菌이 가장 罹病率이 높은 侵入時期가 覆土時이며(Fletcher 등, 1968; Hus, 1981), 子實體에만 寄生하는 特性을 고려한다면 覆土時부터 어린버섯이 形成되기 前에 覆土內의 마이코곤 病原菌의 密度를 낮추어 病의 發生을 막는 것이 가장 效率的이라고 생각된다.

Prochloraz의 使用量은 圃場試驗의 結果에 의해 $0.3, 0.6g \cdot ai/m^2$ 가 적당하였으나, Fletcher 등(1983)은 마이코곤병의 防除試驗에서 覆土後 7일 후 $1.5g/m^2$ 處理와 覆土後 21일과 35일에 각각 $0.5g/m^2$ 處理하는 것이 效果가 우수하다고 하였다.

Benomyl은 覆土材料에 의한 緩衝能과 分解微生物에 의한 Benomyl이 分解되거나 藥劑耐性菌株에 의해 藥劑效果가 消滅된다는 報告가 있었으나(Flet-

Table III. Effects of prochloraz concentrations on the yield of sporophores in *A. bisporus* and infection rate of *M. pernicioso* (1st).

| <i>Mycogone</i> strain | Fungicides | Dosage (g·ai/1000 cc) | Yield (g/0.239 m ²) | Infection rate (%) |
|-------------------------|---------------|-----------------------|---------------------------------|--------------------|
| Non-tolerant to Benomyl | Prochloraz | 0.3 | 4140 | 0.5 |
| | | 0.9 | 2738 | 0.2 |
| | | 1.5 | 3485 | 1.0 |
| | Benlate | 0.5 | 2883 | 0.6 |
| | Non-treatment | 0 | 2553 | 25.0 |
| Tolerant to Benomyl | Prochloraz | 0.3 | 3688 | 0.2 |
| | | 0.9 | 3988 | 0 |
| | 1.5 | 2430 | 0.2 | |
| | Benlate | 0.5 | 3318 | 0.6 |
| Non-treatment | 0 | 1663 | 16.2 | |
| Control | — | — | 2832 | 0 |

Table IV. Effects of prochloraz concentrations on the yield of sporophores in *A. bisporus* and infection rate of *M. pernicioso* (2nd)

| <i>Mycogone</i> strain | Fungicides | Dosage (g·ai/1000 cc) | Yield (g/0.239 m ²) | Infection rate (%) |
|-------------------------|---------------|-----------------------|---------------------------------|--------------------|
| Non-tolerant to Benomyl | Prochloraz | 0.3 | 2768 | 0 |
| | | 0.9 | 2523 | 0 |
| | | 1.5 | 2824 | 0 |
| | | 2.1 | 2948 | 0 |
| | Benlate | 0.5 | 1160 | 0 |
| | Non-treatment | 0 | 2406 | 13.8 |
| Tolerant to Benomyl | Prochloraz | 0.3 | 1889 | 0 |
| | | 0.9 | 2562 | 0 |
| | | 1.5 | 2551 | 0 |
| | 2.1 | 1605 | 0 | |
| | Benlate | 0.5 | 783 | 41.3 |
| Non-treatment | 0 | 789 | 93.5 | |
| Control | — | — | 2504 | 0 |

Table V. Effects of prochloraz concentrations on the yield of sporophores in *A. bisporus* and infection rate of *M. pernicioso* on the mushroom bed.

| Dosage(g·ai/m ²) | Yield(Kg/1.2 m ²) | Infection rate(%) |
|------------------------------|-------------------------------|-------------------|
| 0.3 | 12.3 | 0 |
| 0.6 | 12.4 | 0 |
| 0 | 9.5 | 35.6 |
| Control | 11.1 | 0 |

cher 등, 1976, 1980, 1981 ; Nair 등, 1978) 供試藥劑는 매우 낮은 濃度에서 藥效가 우수한 것으로 보아 吸着 또는 微生物의 分解에 의한 問題가 없을 것으로 推測된다.

Prochloraz의 사양서에 의하면 마이코곤病에 대한 藥劑 撒布時期는 覆土 後 7-9일 사이에 使用하게 되어 있으나 우리나라의 경우에는 覆土의 材料가 다르고 7-9일에 버섯이 形成되는 경우가 있으므로

藥劑의 실제적인 適用을 覆土 後 3-4일 內에 使用 하는 것이 가장 適切하다고 생각된다.

摘 要

양송이 主要病害인 마이코곤병(*Mycogone perniciososa*)에 대한 Prochloraz의 防除效果和 양송이 菌絲에 미치는 영향에 대해 試驗을 實施한 結果 다음과 같다.

1. PDA培地에서 Benomyl 耐性 및 非耐性 마이코곤 病原菌에 대해 Prochloraz는 藥效가 우수하였다.

2. Prochloraz는 10 ppm의 低濃度에서 菌絲生長이 Benomyl보다 低調하나 50 ppm에서는 Benomyl보다 높게 나타났다.

3. 상자 및 菌床栽培 試驗結果 供試藥劑는 마이코곤병에 대한 防除效果和 收量이 높았으며, 특히 Benomyl 藥劑耐性菌株에 대해서 우수하여 Benomyl의 對替防除藥劑로 利用 可能할 것으로 고려되고 있다.

參考文獻

- Flegg, P. B., Spencer D. M. and Wood, D. A. (1985): The biology and technology of the cultivated mushroom. Bacteria and fungal diseases. *John Wiley & Sons Ltd.* p.262.
- Fekete, K. and Kuhn, J. (1965): Control of *Verticillium* and *Mycogone* disease of the mushroom. *Mush Sci.* 6: 496-506.
- Fletcher, J. T. and Ganney, G. W. (1968): Experiments on the biology and control of *Mycogone perniciososa* Magn. *Mush. Sci.* 7: 221-237.
- Fletcher, J. T., Mountfield, E. I. and Butler, D. (1976): Benomyl degradation in mushroom casing. *Mushroom J.* 39: 72-73.
- Fletcher, J. T., Conolly, G., Mountfield, E. I. and Jacobs, L. (1980): The disappearance of Benomyl from mushroom casing. *Annals of Applied Biology* 95: 73-82.
- Fletcher, J. T. (1981): The control of bubble disease of *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach. *Mush Sci.* 11: 597-604.
- Fletcher, J. T., Hims, M. J. and Hall, R. J. (1983): The control of bubble disease and cobweb disease of mushrooms with prochloraz. *Plant Pathology* 32: 123-131.
- Gandy, D. G. (1981): Sensitive of mushroom strains to fungicides. *Mush Sci (Part 2)* 11: 473-484.
- Gaze, R. H. and Fletcher, J. T. (1975): ADSA survey of mushroom disease and fungicide usage. *Mushroom J.* 35: 370-375.
- Hoang-Kao and Han, Y. H. (1981): Physiological and ecological properties and chemical control of *Mycogone perniciososa* Magn. causing wet bubble in cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*. *Mush Sci.* 11: 403-425.
- 金光布, 石泳善, 申寬澈, 朴容煥 (1978): 양송이 마이코곤병(*Mycogone perniciososa* Magn.) 防除에 관한 研究. *韓國菌學會誌* 6: 9-14.
- 金光布 (1983): 양송이 마이코곤 病原菌(*M. perniciososa*)의 病原性的 變異 및 Benomyl 耐성에 관한 研究. 東國大學校 博士學位論文.
- Nair, N. G. and Back, H. J. (1978): Studies on the control of wet bubble disease of mushrooms with Benzimidazole. *Aust. J. Agric. Res.* 29: 445-453.
- Nair, N. G. and Macauley, B. T. (1987): Dry bubble disease of *Agaricus bisporus* and *Agaricus bitorquis* and its control by Prochloraz-mangaese complex. *New Zealand J. Agric. Res.* 30: 107-116.
- Newman, R. H. and Savidge, M. Sc. B. (1969): Mancozeb dust: A breakthrough in mushroom disease control. *MRA Bull.* 232: 161-162.
- Wuest, P. J. (1973): Benlate-Miracle drug of fraud. *Mushroom News* 21(8): 8-16.

Accepted for Publication on April 4, 1991