

고랭지 배추 무름병 방제를 위한 우수약제 선발

정은경 · 장현철 · 용영록 · 김병섭*

강릉대학교 식물응용과학과

요약 : *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*에 의한 배추 무름병은 배추에서 가장 큰 문제가 되고 있는 병 중 하나이다. 본 연구는 배추 무름병 방제에 우수한 약제를 선발하여 무름병을 효과적으로 방제하고자 실시하였다. 항생제, 식물활성제 및 비병원성 *Erwinia*의 효과를 실험실내 약효 검정과 유묘 검정, 포장시험으로 수행하였다. 실험실내 약효 검정 방법으로는 paper disc 방법과 potato slice 방법을 수행하였다. 유묘 검정은 mineral oil 접종법을 사용하여 병발생을 균일하게 하여 수행하였다. 실험실내 약효 검정 결과 streptomycin과 oxolinic acid, bronopol과 copper hydroxide가 병원균의 생장 및 감자 절편의 부패를 크게 억제하였다. 그러나 식물 활성제들은 실험실내 약효 검정에서는 병원균의 생장 및 감자 절편의 부패를 크게 억제하지 못하였다. 배추(강력여름배추) 유묘를 이용한 생물 검정에서 비병원성 *Erwinia*는 83.5%의 방제가를 나타냈고, oxolinic acid, 항생제 streptomycin, validamycin은 각각 95.2%, 91.2% 그리고 57.5%의 방제가를 나타냈으며 구리제는 79.9%의 방제가를 나타냈다. 그러나 acibenzolar-S-methyl은 약해를 유발하여 방제가가 낮게 나타났다. 포장시험 결과 acibenzolar-S-methyl은 2000년 포장 시험(산촌배추)에서는 통계적으로 유의성 ($p=0.05$) 있는 방제 효과를 나타내었으나, 2001년 포장 시험(강력여름배추)에서는 약해를 일으켜 방제 효과가 낮게 나타났다. 이러한 차이는 배추 품종에 따른 약제에 대한 반응 차이에 기인한 것으로 사료된다. 2002년 포장 시험에서는 streptomycin+copper가 79.7%의 방제가를 나타냈고 copper hydroxide와 비병원성 *Erwinia*는 각각 71.9%와 60.9%의 방제가를 나타냈다.(2003년 1월 2일 접수, 2003년 3월 14일 수리)

Key words : *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, Chinese cabbage, chemical control, acibenzolar-S-methyl, avirulent *Erwinia*.

서 론

고랭지 여름배추는 여름철 평난지의 고온 다습의 열악한 재배환경을 벗어나 비교적 배추가 생육하는데 적당한 표고 600 m 이상의 지역에서 재한적으로 재배되고 있다. 고랭지 여름배추의 생산량은 1980년도 약 3,500 ha에서 117천톤 생산되었으나 2000년에는 11,000 ha에서 약 427천톤이 생산되며 재배면적과 생산량이 증가하고 있다. 그 중 강원도에서는 320천톤이 생산되어 전국생산량의 75%를 점유하고 있어, 여름과 초가을 배추 수급을 조절하는데 중요한 역할을 하고 있다(농촌진흥청, 2000).

배추는 서늘한 기후를 좋아하는 저온성 채소로 생육기에 고온이 되면 결구가 되지 않을 뿐만 아니라

여러 병과 해충들에 의해 피해를 입게 된다. 그 가운데 무름병은 여름 배추의 생산에 가장 큰 제한 요인이며, 수송, 판매 그리고 저장 중에도 발병하여 막대한 피해를 일으킨다(De Boer와 Kelman, 1978; Jun, 1998; Péombelon과 Salmond, 1995). 배추 무름병은 *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*에 의해 발생하는 병으로 배추를 포함하여 무, 감자, 당근 그리고 양파 등 주요 채소에서 피해가 심각한 병이다(임, 1995; Péombelon과 Salmond, 1995; Smith와 Bartz, 1990; Stommel 등, 1996). 배추 무름병은 세균병이면서 토양 병이므로 약제의 방제효과가 대단히 낮아 예방적으로 살포하지 않으면 안된다. 재배 전에 토양살충제를 살포하여 토양해충의 구제에 힘써야 하며, 토양을 훈증하여 멸균하는 방법이 있으나 비용이 비싸므로 경제성이 검토되어야 한다(김, 1989; 이와 김, 1989). 따라서 오늘날까지 bordeaux mixture와 같은 구리 화합물,

*연락저자

streptomycin, oxolinic acid 등 화학적 방제에 의존하여 왔다. 그러나 이런 화학적 방제는 다른 유용 미생물을 사멸시키고 환경오염과 약해를 유발, 농업용 항생제에 대한 저항성균의 출현 등 여러 가지 문제점을 노출하고 있다(김 등, 1993; 이와 김, 1996). 이러한 부작용을 해소하기 위하여 친환경적인 방제 방법으로 비병원성 *Erwinia*를 이용한 미생물 농약이 개발되었다. 이는 배추의 세균성병 방제를 위한 첫번째 미생물 농약으로 일본에서 등록되었으며 감자, 무, 양파 그리고 양배추의 무름병에 대해서도 효과가 인정되었다(Takahara, 2000).

본 연구는 농업용 항생제 이외의 배추 무름병 방제 약제를 선발하여 무름병을 효과적으로 방제하고자 실시하였다.

재료 및 방법

시험균주의 병원성 검정

배추 무름병균은 강릉시 왕산면과 평창군의 고랭지 재배 배추 및 감자 등에서 병든 식물을 채집하여 병원균을 순수 분리하여 보관 중인 균주와 국제표준균주인 ATCC15713(*E. carotovora* subsp. *carotovora*) 균주를 시험에 사용하였다. 시험 균주들의 병원성 검정을 위해 감자를 $2 \times 2 \times 2 \text{ cm}^3$ 크기로 자른 후 직경 7 mm cork borer를 사용하여 감자 괴경에 0.5 cm 깊이로 구멍을 내고 1% sodium hypochlorite에 2분간 소독 후 멸균수로 수회 세척, 물기를 제거하고 1시간 뒤 병원균을 접종하였다. 병원균 접종 농도는 분광 광도계(Shimadzu UV-1201, UV/VIS spectrophotometer)로 세균 밀도를 측정하여 10^8 cfu/mL ($\text{OD}_{660}=0.1$)로 조정하여 0.1 mL를 접종하였고 무처리는 0.1 mL의 멸균수를 처리하여 2일 후 부패정도를 조사하였다. 병원성 시험과 실험실 내 검정 시험 및 유묘검정 시험을 위한 병원균을 선발하기 위하여 실험에 사용한 13균주의 병원성을 조사하여 가장 높게 나타난 ATCC15713 균주를 본 실험의 약제 선발용 접종 균주로 사용하였다.

실험실 내 약효 검정

• Paper disc 방법

실험에 사용된 무름병 방제 약제는 streptomycin을 함유한 농용신 수화제(streptomycin, 20%), copper hydroxide를 함유한 코사이드 수화제(copper hydroxide,

77%), oxolinic acid를 함유한 일품 수화제(oxolinic acid, 20%), acibenzolar-S-methyl 수화제(5%), validamycin을 함유한 아문다 액제(validamycin, 5%), SNU-32715(50%), 비병원성 *Erwinia*를 이용한 Biokeeper 수화제(avirulent *Erwinia* $5 \times 10^{10} \text{ cfu/g}$), bronopol WG (98%), calcium hydroxide와 이들의 혼합제를 사용하였다. 이들 약효를 검정하기 위하여 121°C에서 15분간 멸균한 후 약 45°C로 식힌 potato dextrose agar(PDA) 배지 500 mL에 병원성이 우수한 균주의 세균현탁액 (10^8 cfu/mL) 10 mL을 넣고 잘 섞어 Petri dish에 분주하였다. 멸균된 유리 Petri plate에 항생제 스크리닝에 사용되는 직경 8 mm의 멸균된 paper disc를 놓고 무름병 방제 약제를 처리 농도별로 50 μL 씩 점적하였다. 약제를 처리한 paper disc는 1시간 동안 clean bench에서 건조시킨 후, PDA 배지 위에 paper disc를 뒤집어 치상한 다음 28°C에서 2일간 배양한 후에 clear zone의 크기를 측정하였다.

• 감자 절편 방법

정해진 농도로 조절한 무름병 방제 약제의 용액에 준비한 감자 절편을 1시간 동안 담근 후 꺼내고 1시간 동안 풍건하였다. 병발생을 위해 10^8 cfu/mL 로 조정된 세균현탁액 0.1 mL씩 접종하였고 무처리는 0.1 mL의 멸균수를 처리하였다. 2일 후 감자 괴경을 흐르는 물로 부패 부위를 씻어 제거하고 1시간 건조시킨 후 무게를 쟀어 접종 전의 무게와 비교하였다.

• 유묘검정

내서성 및 내추대성 품종으로 고랭지 농민들이 재배를 선호하는 ‘강력여름배추’를 포트(직경: 7.5cm)에 직접 파종하여 유리온실에서 육묘하였다. Acibenzola-S-methyl은 균접종 5일전에, 나머지 약제들은 균접종 1일전에 약액이 잎에 충분히 물도록 엽면살포하였다. 접종은 무름병균 ATCC15713(10^8 cfu/mL)의 현탁액과 멸균한 mineral oil(Sigma Chemical Co.)을 4:1로 혼합하여 잘 섞은 후 10 mL를 배추의 중앙 기부에 관주 접종하는 mineral oil 접종법을 사용하였다(이, 2002). 처리당 배추 10주씩 접종하여 발병정도를 조사하고 약효를 검정하였다.

포장시험

약제들에 대한 포장 시험을 하기 위해 산촌배추와

강력여름배추를 온실에서 30일 동안 육묘하였다. 시험은 2000년(산촌배추), 2001년(강력여름배추), 2002년(산촌배추) 등 3년간에 걸쳐 실시하였으며, 온실에서 육묘된 배추를 강릉시 왕산면 고랭지(해발 720m) 포장에 이식하여 재배하였다. 시험구 배치는 난괴법 3반복으로 실시하였으며 재배방법은 농가관행에 따라 수행하였다. 약제는 발병직전 7일 간격으로 4회 경엽 살포하였다. 무름병의 단계별 발병정도 조사기준(발병도)은 육안 조사를 통해 0 = 무발병, 1 = 외엽의 일부가 발병, 2 = 외엽에 발병하고 결구엽의 일부가 발병, 3 = 결구엽의 대부분 발병 등 4단계로 나누어 조사하였다.

결과 및 고찰

실험실 내 검정

- Paper disc 방법

Bronopol과 항생제인 streptomycin과 oxolinic acid

Table 1. Inhibitory effect of several chemicals on the growth of *Erwinia carotovora* in a paper disc method

Chemical	Concentration (ppm)	Clear zone size (mm)
Acibenzolar-S-methyl WP	10,000	0
Avirulent <i>Erwinia</i> WP	10,000	10.3
	10	0
Bronopol WG	100	10.5
	1,000	20.1
	10,000	37.4
Calcium hydroxide WP	10,000	0
Copper hydroxide WP	1,000	11.1
	10,000	15.5
	10	9.5
Oxolinic acid WP	100	13.6
	1,000	17.5
	10,000	22.8
SNU-32715 WP	10,000	0
	10	0
Streptomycin WP	100	9.4
	1,000	12.7
	10,000	23.5
Validamycin-A L	10,000	0
Control	-	0

등은 병원세균에 대한 약효를 검정한 결과 clear zone이 뚜렷하게 형성되며 병원균의 생장을 크게 억제하였다(표 1). 보호 살균제인 copper hydroxide도 병원균의 생장을 억제하였다. 그러나, 식물 활성제의 하나로 식물에 처리하면 식물 전신 획득 저항성(systemic acquired resistance; SAR)을 일으키는 acibenzolar-S-methyl(ASM)과 SNU-32715는 clear zone을 전혀 형성하지 못하였다. 또한 calcium hydroxide도 clear zone을 전혀 형성하지 못한 것으로 관찰되었다. 이와 같은 결과는 병원세균의 몇 가지 의학 및 농용항생제에 대한 감수성 비교를 위해 paper disc 방법을 이용한 기존의 결과와 같은 경향을 나타냈다(이와 김, 1996). 따라서 이 방법은 항생제와 같이 병원균의 생장을 직접 억제하는 약제들의 약효를 검정하는데 효과적으로 이용할 수 있는 방법으로 판단되었다.

- 감자 절편 방법

직접 살균제인 streptomycin과 quinoline계 살균제인 oxolinic acid는 10 ppm부터 10,000 ppm 까지 모두 90% 이상 감자 절편의 부패를 억제하였으며, bronopol은 10,000 ppm에서 87.7%의 억제율을 나타냈다(표 2). 그러나 식물 활성제인 acibenzolar-S-methyl과 SNU-32715, calcium hydroxide 등은 감자 절편의 부패를 크게 억제시키지 못하였다.

- 유묘검정

배추(강력여름배추) 유묘를 이용한 생물 검정에서 Biokeeper(비병원성 *Erwinia*)는 83.5%의 방제가를 나타냈고, 직접 살균제인 항생제 streptomycin과 oxolinic acid, validamycin-A는 91.2%, 95.2%, 57.5%의 방제가를 보였다(표 3). 보호살균제인 구리제는 79.9%의 방제가를 나타냈다. Acibenzolar-S-methyl을 사과나무의 어린 줄기에 처리하였을 때 화상병이 69% 방제되었고 (Brisset 등, 2000), 유묘기 고추에 처리하였을 때 세균성점무늬병이 80%이상 방제되었다(Buonauro 등, 2002). 그러나 본 실험에서 acibenzolar-S-methyl는 방제가가 매우 낮았다. 또한 acibenzolar-S-methyl은 강력여름배추 신초에 수침상을 입히고 결국엔 포기 전체가 갈변하는 약해를 유발하였다.

포장시험

2000년 포장시험(산촌배추)에서 식물활성제인

Table 2. Effect of several chemicals on the suppression of bacterial soft rot in potato slice caused by *Erwinia carotovora*

Chemical	Concentration (ppm)	Percentage of rotting inhibition
Acibenzolar-S-methyl WP	10	7.4
	100	2.4
	1,000	15.1
	10,000	13.1
Avirulent <i>Erwinia</i> WP	10	36.0
	100	65.0
	1,000	77.3
	10,000	77.1
Bronopol WG	10	13.4
	100	10.4
	1,000	44.9
	10,000	87.7
Calcium hydroxide WP	10,000	0
Copper hydroxide WP	10	19.4
	100	3.5
	1,000	46.6
	10,000	55.3
Oxolinic acid WP	10	92.8
	100	93.0
	1,000	96.0
	10,000	92.6
SNU-32715 WP	10	20.3
	100	15.0
	1,000	7.0
	10,000	3.4
Streptomycin WP	10	93.6
	100	94.8
	1,000	95.7
	10,000	93.3
Validamycin-A L	10	17.1
	100	7.6
	1,000	4.9
	10,000	7.2
Control	-	0

acibenzolar-S-methyl은 높은 방제효과를 나타냈다(표 4). 이는 사과나무 화상병에 acibenzolar-S-methyl을 처리하였을 때와 유사한 경향이었다(Brisset 등, 2000). 그러나 2001년 강력여름배추의 포장 시험에서 acibenzolar-S-methyl은 유묘 검정에서와 마찬가지로 약해를 일으켜 방제 효과가 낮게 나타났다(표

Table 3. Effect of several chemicals on the control of bacterial soft rot on Chinese cabbage caused by *Erwinia carotovora* under seedling test condition

Chemical ^{a)}	Disease incidence(%)	Control value (%)
Acibenzolar-S-methyl WP	63.3 c ^{b)}	7.3
Avirulent <i>Erwinia</i> WP	11.3 ab	83.5
Copper hydroxide WP	13.7 ab	79.9
Oxolinic acid WP	3.3 a	95.2
Streptomycin WP	6.0 a	91.2
Validamycin-A L	29.0 b	57.5
Control	68.3 c	

^{a)}WP : Wettable power, WG: Water dispersible granule, L: Liquid.

^{b)}Mean separation in columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

4). 그렇지만 항생제인 streptomycin과 oxolinic acid는 방제 효과가 매우 우수하였으며 식물활성제 SNU-32715 WP의 효과도 높게 나타났다. 2002년 산촌배추로 포장 시험한 결과 항생제와 구리제와의 합제, Biokeeper, 식물활성제 acibenzolar-S-methyl WP도 무름병에 어느 정도의 방제 효과가 있는 것으로 나타났다(표 4). Takahara (2002)은 Biokeeper로 1993년부터 1996년까지 포장 시험한 결과 높은 방제 효과를 나타냈다고 보고 하였는데, 본 연구결과에서도 유사한 결과를 나타냈다. 비병원성 *Erwinia*균은 병원성균과 경쟁관계에 있으며 더욱이 박테리오신과 같은 물질을 분비함으로써 다른 strain 또는 유사종들을 사멸케 한다. 2002년 포장시험에서 acibenzolar-S-methyl과 구리제의 합제 사용이 단체 사용보다 효과적으로 무름병을 방제한 것과 비슷한 결과를 나타냈다(Buonauro 등, 2002). 그리고 구리제와 streptomycin 합제가 높은 방제가를 나타냈다는 것과는 같은 결과를 나타냈다(주, 2002). 이러한 보고 내용은 혼합제를 사용할 경우 기존 살균제의 작용점 단일성에 의한 저항성균 출현을 보완할 수 있고, 기존 약량보다 낮게 사용하여도 높은 방제 효과를 나타낼 수 있어 환경 오염을 경감시킬 수 있을 것으로 판단된다. 앞으로 이 실험 결과를 토대로 최적의 혼합비율을 찾고, 식물 활성제와 살균제, 보호제와의 혼합제 시험을 계속한다면 기존의 농약 살포량보다

Table 4. Effect of several chemicals on the control of bacterial soft rot on Chinese cabbage in fields located in Daekwallyong alpine area in 2000, 2001 and 2002

Year	Chemical	Disease incidence (%)	Control value (%)
2000	Acibenzolar-S-methyl WP	13.0 a ^{a)}	77.1
	Oxolinic acid WP	29.0 ab	33.6
	Probenazole G	33.7 ab	22.9
	Streptomycin WP	31.7 ab	27.8
	Validamycin-A L	27.7 ab	36.6
	Control	43.7 b	-
2001	Acibenzolar-S-methyl WP	10.6 ab	24.1
	Oxolinic acid WP	3.9 a	71.8
	SNU-32715 WP	3.3 a	76.0
	Streptomycin WP	5.0 ab	64.0
	Validamycin-A L	5.6 ab	60.0
	Control	13.9 b	-
2002	Acibenzolar-S-methyl WP	12.2 bc	48.4
	Avirulent <i>Erwinia</i> WP	9.3 a	60.9
	Bronopol WG	6.3 bc	31.3
	Calcium hydroxide	23.0 abc	3.1
	Copper hydroxide WP	6.7 bc	71.9
	Oxolinic acid WP	21.1 abc	10.9
	Streptomycin+copper hydroxide WP	4.8 a	79.7
	Streptomycin WP	28.9 c	0
	Validamycin+Streptomycin WP	9.6 ab	59.4
	Control	23.7 b	-

^{a)}Mean separation in columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

적은 양으로 효과적으로 무름병을 방제할 수 있을 것으로 생각된다.

감사의 글

이 논문은 농림부 농업기술관리센타의 농림특정과제(2001-2003년)의 연구비에 의하여 수행한 것으로 감사를 표합니다.

인용문헌

Brisset, M. N., S. Cesbron., S. V. Thomson and J. P. Paulin (2000) Acibenzolar-S-methyl induces the accumulation of defense-related enzymes in apple and protects from fire blight. Eur. J. Plant Pathol. 106:529 ~536.

Buonauro, R., L. Scarponi, M. Ferrara, P. Sidoti and A. Bertona (2002) Induction of systemic acquired

resistance in pepper plants by acibenzolar-S-methyl against bacterial spot disease. Eur. J. Plant Pathol. 108:41~49.

De Boer, S. H. and A. Kelman (1978) Influence of oxygen concentration and storage factors on susceptibility of potato tubers to bacterial soft-rot (*Erwinia carotovora*). Potato Res. 21:65~80.

Jun, W. (1998) Establishment of methods in evaluating the susceptibility of Chinese cabbage (*Brassica campestris* spp.) to soft rot disease. M. S. thesis paper. Chung-Ang Univ. pp.1~66.

Péombelon, M. C. M. and G. P. C. Salmand (1995) Bacterial soft rot. pp.1~20. In Pathogenesis and Host Specificity in Plant Disease (ed. by Singh, U. S., Singh, R. P., and Kohmoto, K.), Elsevier Science.

Smith, C. and J. A. Bartz (1990) Variation in the pathogenicity and aggressiveness of strains of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* isolated from different

- hosts. Plant Dis. 74:505~509.
- Stommel, J. R., R. W. Goth., K. G. Haynes and S. H. Kim (1996) Pepper(*Capsicum annuum*) soft rot caused by *Erwinia carotovora* supsp. *atroseptica*. Plant Dis. 80:1109~1112.
- Takahara, Y. (2000) Biokeeper wettable powder: The research and practical application of microbial pesticide for soft rot disease. pp.57~65, In Biological Control for Crop Protection. Rural Development Administration.
- 김영철, 송동업, 조백호, 정갑채, 김기청 (1993) 식물 세균성 연부병균 *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*의 Tn5 유발 약병원성 돌연변이주의 선발. 한식병지 9:63~69.
- 김충희 (1989) 고랭지 배추의 병해와 그 방제. 최신원 예 30:26~31.
- 농촌진흥청 (2000) 고랭지 채소재배기술. 농촌진흥청 고령지농업시험장.
- 이성희 (2002) 배추 세균성무름병에 대한 효과적 접종법과 저항성 유도. 충북대학교 농학석사학위논문.
- 이영근, 김령희 (1996) *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*에 의한 메론의 세균성 무름병 발생. 한식병지 12:116~120.
- 이은종, 김충희 (1989) 채소병해총 표준영농교본-47. 농촌진흥청. pp.30~32.
- 임춘근 (1995) *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*에 의한 치커리 세균성무름병. 한식병지 11:116~119.
- 주영철 (2002) 감자흑각병(potato blackleg disease)의 환경친화적 화학방제법 연구. 강원대학교 농학석사학위논문.

Screening of effective control agents against bacterial soft rot on Chinese cabbage in alpine area

Eun-Kyoung Chung, Xuan-Zhe Zhang, Young-Rog Yeoung and Byung-Sup Kim* (Department of Applied Plant Science, Kangnung National University, Jibyun-dong 123, Gangneung-shi, Korea 210-702)

Abstract : Bacterial soft rot by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* is one of the diseases causing the biggest problem in Chinese cabbage. Chemical screening was conducted to select effective agents for controlling bacterial soft rot. Control effect of antibiotics, plant activator, and Biokeeper (avirulent *Erwinia*) to soft rot were tested by *in vitro* assay, nursery test, and field experiment. The *in vitro* assay was done by paper disc method and potato slice method. The nursery test was performed by using mineral oil inoculation method with consistent disease induction. The *in vitro* assay showed that streptomycin, oxolinic acid, bronopol, and copper hydroxide significantly suppressed the growth of pathogenic bacterium and the decomposition of potato slice. However, plant activators including acibenzolar-S-methyl did not show the suppressive effect on the growth of pathogenic bacterium and the decomposition of potato slice. When applied by the nursery test condition using mineral oil inoculation method with Chinese cabbage 'Kangruckyeum', Biokeeper, oxolinic acid, antibiotics streptomycin, validamycin, and copper compound provided 83.5%, 95.2%, 91.2%, 57.5% and 79.9% in control efficacy, respectively. However, the control effect of acibenzolar-S-methyl showed to be low to cause phytotoxicity. Also acibenzolar-S-methyl showed a significant control effect in the field experiment with Chinese cabbage 'Sanchon' in 2000, but the field experiment with Chinese cabbage 'Kangruckyeum' in 2001 revealed it had phytotoxicity to Chinese cabbage. Such a difference was considered to be caused by differences in phytotoxic reaction of Chinese cabbage cultivars to the chemical. Streptomycin+copper, copper hydroxide and Biokeeper showed 79.7%, 71.9% and 60.9% in control efficacy, respectively, in the field experiment with Chinese cabbage 'Sanchon' in 2002.

*Corresponding author (Fax : +82-33-647-9535, E-mail : bskim@kangnung.ac.kr)