

코퍼 하이드록사이드를 이용한 토마토 뜰마름병 방제

한유경* · 한경숙 · 이성찬 · 김 수

국립원예특작과학원 원예특작환경과

(2011년 8월 25일 접수, 2011년 9월 14일 수리)

Control of Bacterial Wilt of Tomato using Copper Hydroxide

You-kyoung Han*, Kyung-sook Han, Seong-chan Lee and Su Kim

Horticultural & Herbal Crop Environment Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science, RDA, Suwon 441-744, Korea

Abstract

Bacterial wilt, caused by *Ralstonia solanacearum*, is a very destructive disease to tomato plants (*Solanum lycopersicum*) in Korea. This study was undertaken to find out the growth inhibitory effect bactericides on bacterial wilt pathogen of streptomycin, oxytetracycline-streptomycin sulfate WP and significantly suppressed the growth of bacterial wilt pathogen. Copper hydroxide WP showed control value of 62.5%. Therefore, it is concluded that the bactericide used in this study showed strong inhibitory effect to tomato bacterial wilt and they can be recommended to control the disease. And also, Copper hydroxide WP may be effective for control of bacterial wilt of tomato in conventional culture, farming without agricultural and organic farming.

Key words Bacterial wilt, Control, Copper hydroxide, *Ralstonia solanacearum*, Tomato

서 론

*Ralstonia solanacearum*에 의한 토마토 뜰마름병은 전 세계적으로 가장 중요한 세균병 중의 하나이다. 이 병원균은 토마토뿐만 아니라 고추, 감자 등 가지과 작물을 포함한 50과 200여종 기주에 시들음 증상을 일으킨다(Hayward, 1991). 전 세계적으로 *R. solanacearum*은 기주식물에 대한 병원성에 따라 5개의 레이스(race)와 생화학적 특성에 따라 7개의 생리형(biovar)으로 나누어지는데(Hayward, 1991; He 등, 1983), 현재 우리나라에는 race 1, 3과 biovar 1, 2, 3, 4가 존재하는 것으로 알려져 있다(Jeong 등, 2007).

작물의 연작으로 많은 농가에서 뜰마름병 피해를 겪고 있으며, 이를 해결하기 위해 비기주 작물을 재배하여 연작을 피하거나 저항성 품종을 재배하는 것이 가장 기본적인 방제법으

로 알려져 있다. 토마토의 경우 저항성 대목을 이용한 접목묘를 이용하여 방제를 실시하고 있으나 대목품종에서도 뜰마름병이 발생이 되고 있어 완전한 방제는 어려운 실정이다. 뜰마름병 방제를 위해 등록된 약제도 토양 소독제인 다조멘 임제 밖에 없는 실정(한국작물보호협회, 2011)이라, 농가에서는 농약사용지침서에 등록되어 있지 않은 항생제들을 남용하고 있는 실정이다. 뜰마름병 방제를 위해서는 저항성 품종 재배, 경종적·생물학적 방제법 등의 종합적 방제가 바람직하지만, 살세균제를 처리하여 병 발생을 억제함으로써 피해를 줄이는 것도 중요한 방제 방법이라 하겠다.

따라서 본 연구에서는 5종의 농용 살세균제를 대상으로 *R. solanacearum*에 대한 생장 억제 효과와 이들의 토마토 뜰마름병에 대한 방제효과를 포장에서 조사하여 copper hydroxide 수화제를 뜰마름병 방제용 약제로 선발하였다.

*연락처 : Tel. +82-31-290-6232, Fax. +82-31-290-6259

E-mail: kala74@korea.kr

재료 및 방법

병원균 분리 및 배양

R. solanacearum 균주는 2007년에 고추 이병주로부터 분리하였다. 병원균 분리는 갈변된 지제부로부터 조직을 잘라내어 1% 차아염소산나트륨으로 표면 살균을 한 후 멸균수로 2회 씻어준 후 살균된 조직을 멸균수가 들어있는 시험관에 넣고 진탕한 후 혼탁액을 Luria-Bertani(LB), Tryptone 10 g, Yeast extract 5 g, NaCl 10 g, 중류수 1 l) 배지에 도말하여 30°C에서 배양하였다. 배양된 배지에서 단일 콜로니를 순수 분리하여 *R. solanacearum* 선택배지인 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride(TTC) 배지(Kelman, 1954)에서 배양하였다. 분리된 풋마름병균은 cellobiose, lactose, maltose 등 disaccharide의 이용 여부와 dulcitol, mannitol, sorbitol 등 alchol의 산화반응 여부에 따라 biovar를 결정하였으며(Jeong 등, 2007), biovar 3로 구분되었다. 또한 1×10^8 cfu/ml 농도의 균배양액을 5~6엽 기의 고추와 토마토에 관주 접종하여 병원성을 확인을 하였다. 분리된 풋마름병 균주(07-086)는 Luria-Bertani(LB) 배지에 48시간 배양한 후 20% glycerol에 혼탁하여 -70°C에 보관하면서 실험에 사용하였다.

항균활성 검정

풋마름병 균에 대한 실내 항균활성 검정을 수행하기 위해 농가에서 토마토 재배시 일반적으로 세균병 방제에 많이 사용하고 있는 copper oxychloide+kasugamycin 수화제(가스란, 동방아그로), streptomycin 수화제(삼공농용신, 한국삼공), oxytetracycline+streptomycin sulfate 수화제(아그리마이신, 성보화학), oxolinic acid 수화제(일풀, 동방아그로), copper hydroxide 수화제(코사이드, 동부하이텍)를 희석하여 실험에 사용하였다. 1×10^6 cfu/ml 농도의 풋마름병 균배양액 50 µl를 Luria-Bertani(LB)배지에 도말하여 주었다. Paper disc (8 mm, Advantec)에 1,000배와 2,000배의 농도로 희석된 약제를 100 µl씩 분주하여 전조 후, 풋마름병균을 도말한 배지 위에 치상하였다. 28°C 배양기에서 2일간 배양한 후 형성된 저지원의 길이를 측정하여 항균효과를 조사하였다.

포장에서 약제 효과 검정

하우스 포장에서 5개 약제의 토마토 풋마름병에 대한 방제 효과를 시험하였다. 실험에 사용한 토마토 품종은 슈퍼도태랑((주)코레곤종묘) 품종을 사용하였다. 토마토 종자를 바로커 상토(서울바이오(주))를 채운 원예용 50공 트레이에 파종한 후,

본엽 2엽기에 재이식하여 온실 내에서 정식 전까지 재배하였다. 2009년 6월, 45일된 묘를 비닐하우스 포장에 하였다. 정식 후 10일후 본포에 정착시킨 후 병원균 접종을 실시하였다. 병원균 접종은 토마토 식물체 10주씩 3반복 실험을 수행하였다. 병원균은 칼을 이용해 뿌리에 상처를 준 후, 1×10^6 cfu/ml 농도의 균배양액 20 ml을 관주하여 접종하였다. 병원균 접종 전 혹은 후에 5개의 약제를 1,000배의 농도로 100 µl씩 관주하여 약제를 처리하였다. 약제는 병원균 접종 3일 전, 병원균 접종 7일, 14일 및 21일 후에 관주처리 하였다. 접종 후 토마토 식물체가 발병한 주수를 조사하였으며, 최종적으로 접종 14일 후 토마토의 이병주율(%)을 ($(\text{이병주수} / \text{처리주수}) \times 100$)으로 산출하였다. 결과 분석은 SAS 통계 프로그램을 이용하여 일원 배치분산분석(one-way ANOVA test)을 하였고 Duncan's multiple range test로 평균 간의 다중 비교를 실시하였다.

약해 검정

약제 처리는 500배와 1,000배의 농도로 토양에 관주처리와 잎에 엽면 살포하였다. 약해 여부는 약제처리 3, 5, 7일 후 외관상 약해 유무를 육안으로 조사하였다.

결과 및 고찰

풋마름병은 中田覺五郎(1928)에 의해 국내에 처음 보고된 이후 토마토에 발생하는 토양전염성 세균병으로 알려져 있다. 풋마름병 방제를 위해 여러 방면에서 많은 연구가 이루어지고 있지만, 저항성 품종 재배, 토양 소독 및 윤작 등이 방제 방법으로 이용될 뿐, 아직 효과적인 방제 방법을 찾지 못하고 있다(Ciampi-Panno 등, 1989). 토마토 재배 농가에서는 풋마름병 방제 농약으로 등록되어 있지 않은 항생제들을 이용하여 풋마름병 방제를 하고 있지만, 그 효과가 거의 나타나지 않고 있다. 또한 미등록농약을 무분별하게 사용하다보면 약해 위험성에 노출될 수도 있다. 이에 국내에서 가장 많이 사용되고 있는 살세균제인 copper oxychloide+kasugamycin 수화제, streptomycin 수화제, oxytetracycline+streptomycin sulfate 수화제, oxolinic acid 수화제, copper hydroxide 수화제 등의 풋마름병에 대하여 우수한 방제 효과를 나타내는 약제를 선발하고자 항균력 검정 및 포장시험을 수행하였다. 먼저 5개의 농약을 1,000배와 2,000로 희석한 후 풋마름병균에 대해 실내 항균 효과를 검정하였다. 그 결과 1,000배의 희석농도에서 streptomycin 수화제가 1.6 ± 0.1 cm로 풋마름병균에 대한 생장 억제효과가 가장 높았으며, copper oxychloide

Table 1. Growth inhibition of *Ralstonia solanacearum* by the bactericides on Luria-Bertani agar medium

Bactericide	Active ingredient (%)	Dilution (fold)	Inhibition zone (cm)
Pathogen inoculated	-	-	0
Copper oxychloride+kasugamycin WP ^{a)}	45+5.75	1,000	0.8 ± 0.1
		2,000	0.7 ± 0.1
Streptomycin WP	20	1,000	1.6 ± 0.1
		2,000	1.2 ± 0.1
Oxytetracyclin+streptomycin sulfate WP	1.5+18.8	1,000	1.5 ± 0
		2,000	1.1 ± 0.2
Oxolinic acid WP	20	1,000	1.5 ± 0
		2,000	1.3 ± 0.3
Copper hydroxide WP	77	1,000	1.0 ± 0
		2,000	0.9 ± 0.2

^{a)}Wettable powder**Table 2.** Control efficacy of agricultural chemicals on tomato bacterial wilt in field

Treatment	Active ingredient (%)	Disease incidence (%)	Control value (%) ^{a)}
Untreated control	-	0	-
Pathogen inoculated	45+5.75	80 ± 0.0a ^{c)}	-
Copper oxychloride+kasugamycin WP ^{b)}	20	60 ± 10.0ab	25.0
Streptomycin WP	1.5+18.8	55 ± 10.0ab	31.3
Oxytetracyclin+streptomycin sulfate WP	20	60 ± 5.0ab	25.0
Oxolinic acid WP	77	80 ± 0.0a	0
Copper hydroxide WP	77	30 ± 10.0b	62.5

^{a)}[(disease incidence of control-disease incidence of treatment)/disease incidence of control]×100^{b)}Wettable powder^{c)}means within rows followed by the same letter do not differ significantly at 5% level by DMRT ($P<0.05$)**Fig. 1.** Copper hydroxide may be effective to control of Bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* on tomato seedlings. A, non-inoculated; B, inoculated; C, Copper hydroxide treated.

·kasugamycin 수화제가 0.8 ± 0.1 cm로 가장 낮은 효과를 나타냈다. 약제를 2,000배로 희석하여 검정하였을 때는 oxolinic acid 수화제가 1.3 ± 0.3 cm로 생장 억제효과가 가장 우수하였다. 생장 억제효과 결과를 토대로 포장에서 약제 방제 효과 시험을 수행하였다. 가장 흔히 쓰이는 살세균제인 cupric sulfate 수화제, oxolinic acid 수화제, streptomycin 수화제, tetracycline 수화제을 이용하여 풋마름병균에 대한 생장 억제 효과를 검정하였을 때, oxolinic acid 수화제가 가장 우수한 효과를 보였으며 구리가 가장 낮은 생장억제효과를 나타

냈다고 보고하였다(윤 등, 2004). 이는 이번 실험과 같은 결과를 보여주고 있다.

풋마름병은 세균성 병으로 병원균이 침입 후에는 치료 효과가 거의 없어, 예방차원에서 병원균 접종 전에도 토양 내에 관주처리를 해 주었다. 병원균 접종 후 5일차부터 풋마름병의 전형적인 증상인 시들음 증상이 나타나기 시작하였으며, 시들음 증상이 나타났을 때부터 이병주율로 조사하였다. Copper hydroxide 수화제에서 방제기가 62.5%로 가장 높았으며, oxolinic acid 수화제에서 0%의 방제기를 나타냈다. 기내 실험

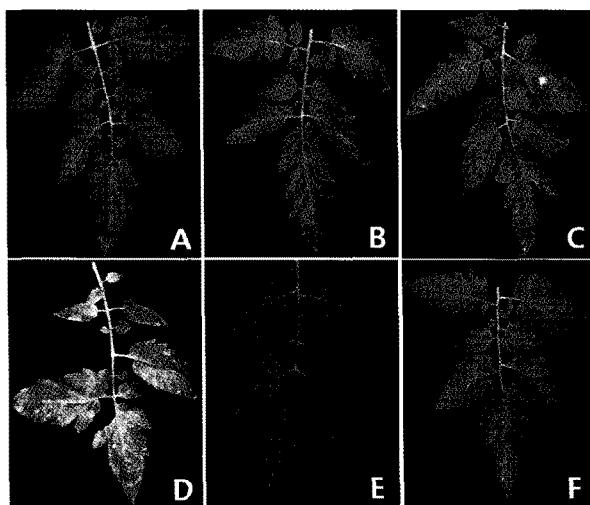


Fig. 2. phytotoxicity occurred when a spray and irrigation of bactericides. A: Un-treated control B: copper oxychloide+ kasugamycin WP, C: streptomycin WP, D: oxytetracycline+ streptomycin sulfate WP, E: oxolinic acid WP, F: copper hydroxide WP. Each bactericide diluted by 500 times.

에서는 streptomycin 수화제, oxytetracycline·streptomycin sulfate 수화제, oxolinic acid 수화제의 살세균 효과가 높았지만, 포장시험에서는 copper hydroxide의 방제효과가 가장 우수하였다. 그러나 포장 실험에서는 이러한 결과와 정 반대의 결과가 나타났다(Table 1, 2). 이는 재배 포장의 토양 환경 및 미생물상 등의 영향으로 방제 효과가 실내 실험과 다르게 나타난 것으로 판단되어진다.

5가지 약제에 대해 약해 검정은 약제 처리 3, 5, 7일 후 육안 조사를 통해 약해 발생 여부를 조사하였다. 약해 검정은 약제를 토양내 관주와 염면 살포를 동시에 실시하였다. 그 결과 streptomycin 수화제과 oxytetracycline·streptomycin sulfate 수화제는 약제의 500배 희석 농도에서 잎이 황화되는 증상이 나타났으나, copper hydroxide 수화제에서는 약해가 발생되지 않았다. 그리고 모든 약제의 1,000배 농도에서는 황화 증상이 나타나지 않았다(Fig 2).

Copper hydroxide 수화제는 또한 토마토 *Alternaria solani*에 의한 겹동근무늬병 방제 약제로도 등록이 되어 있어 풋마름병 방제시에 잔류나 약해 피해에 대해서도 안전하게 사용할 수 있다. 그러나 이 약제는 석회유황합체, 기계유제 등 알카리성 약제 또는 유기유황제 약제인 mancozeb와 propineb 등과 같이 살포하였을 경우 약해가 있다고 알려져 있으나 혼용으로 사용하지 않도록 주의가 필요하다(한국작물보호협회, 2011).

감자の場合 풋마름병을 방제하기 위하여 가지과 이외의 작물과 돌려짓기를 하거나 클로로피크린, PCNB, 다조멘 입제

등의 토양소독제를 이용하여 방제를 하고 있지만 그 효과가 미흡한 것으로 알려져 있다(조 등, 2009; Kim 등, 2005). 국내 토마토 재배시에도 풋마름병 방제 약제는 토양소독제인 다조멘 입제만 등록 되어있을 뿐 살세균제를 이용한 방제 방법은 거의 없는 상태이다. 해외에서도 약제나 식물 추출 오일을 이용하여 풋마름병 병원균의 밀도를 감소시키는 연구가 이루어지고 있다. Thyme과 palmarosa로부터 추출한 오일을 토양에 혼화 처리하면 토마토 풋마름병 발생이 현저하게 감소한다고 하며, 식물체 오일을 토양에 처리하면 methyl bromide를 대체 할 수 있다고 보고하였다(Pradhanang 등, 2003). Norman 등(2006)은 phosphorous acid(H_3PO_3)를 관주 처리하여 제라늄에 발생하는 풋마름병을 방제효과를 보고 하였다. Phosphorous acid가 직접적으로 병원균이 식물체에 침입하는 것을 막지는 못하지만, 균생장을 억제하는 효과가 있어 관주 처리하여 주었을 때 효과적이라고 보고하였으며 또한 약제를 이용한 직접적인 방제뿐만 아니라 acibenzolar-S-methyl(Actigard)을 이용하여 전신획득저항성을 야기시켜 풋마름병을 방제한 효과도 보고되었다. 이는 acibenzolar-S-methyl이 저항성을 유도시키는 물질로 알려진 salicylic acid 이용 기작과 같은 효과로 병원균에 대한 식물체의 저항성을 증대함으로써 방제한다고 설명하고 있다(Pradhanang 등, 2005).

본 연구에서 토마토 풋마름병 방제 약제로 선발된 copper hydroxide 수화제는 무기동제로서 친환경유기농자재로서도 등록이 되어 있어 일반 관행재배나 무농약, 유기농 재배시에도 풋마름병 방제에 사용할 수 있다. 또한 가지과 작물인 고추와 가지에 발생하는 풋마름병 방제에도 적용 될 수 있을 것이라 판단된다.

> 인 / 용 / 문 / 현

- Ciampi-Panno, L., C. Fernandez, P. Bustamante, N. Andrade, S. Ojeda and A. Conteras (1989) Biological control of bacterial wilt of potatoes caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Am. Potato J.* 66:315-332.
- Hayward, A. C. (1991) Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 29:65-87.
- He, L. Y., L. Sequeira and A. Kelman (1983) Characteristics of strains of *Pseudomonas solanacearum*. *Plant Dis.* 67:1357-1361.
- Jeong, Y., J. Kim, Y. Kang, S. Lee and I. Hwang (2007) Genetic diversity and distribution of Korean isolates of *Ralstonia solanacearum*. *Plant Dis.* 91:1277-1287.

- Kelman, A. (1954) The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. *Phytopathology* 44:693-695.
- Kim, H., J. S. Moon, Y. J. Hong, M. S. Kim and H. M. Cho (2005) Bacterial wilt resistance in the progenies of the fusion hybrids between haploid of potato and *Solanum commersonii*. *Amer. J. Potato Res.* 82:129-137.
- Norman, D. J., J. Chen, J. M. F. Yuen, A. Mangravita-Novo, D. Byrne and L. Walsh (2006) Control of bacterial wilt of geranium with phosphorous acid. *Plant Dis.* 90:798-802.
- Pradhanang, P. M., M. T. Momol, S. M. Olson and J. B. Jones (2003) Effects of plant essential oils on *Ralstonia solanacearum* population density and bacterial wilt incidence in tomato. *Plant Dis.* 87:423-427.
- Pradhanang, P. M., P. Ji, M. T. Momol, S. M. Olson, J. L. Mayfield and J. B. Jones (2005) Application of acibenzolar-S-methyl enhances host resistance in tomato against *Ralstonia solanacearum*. *Plant Dis.* 89:989-993.
- 농촌진흥청. (2000) 채소병해충 진단과 방제. 72p.
- 윤건식, 박상용, 강효중, 이기열, 차재순. (2004) 충북지역 토마토 시설재배지의 풋마름병균(*Ralstonia solanacearum*) 오염도 및 분리균주의 특성. *식물병연구* 10(1):58-62.
- 조지홍, 원홍식, 조광수, 안원경, 박영은, 김집순, 김현준, 조현목. (2009) 감자 풋마름병 저항성 유전자원 선발 및 RAPD를 이용 한 유전적 다양성 분석. *원예과학기술지* 27:441-447.
- 한국작물보호협회. (2011) 농약사용지침서. 258p.
- 中田覺五郎 1928.

코퍼 하이드록사이드를 이용한 토마토 풋마름병 방제

한유경* · 한경숙 · 이성찬 · 김 수

국립원예특작과학원 원예특작환경과

요 약 국내에서 *Ralstonia solanacearum*에 의한 풋마름병은 토마토 재배에 심각한 피해를 주고 있다. *R. solanacearum*에 의한 풋마름병을 방제하기 위한 약제를 선별하기 위하여 5종 항생제를 이용하여 균에 대한 생장 억제 효과와 포장에서의 토마토 풋마름병 방제효과를 조사하였다. *R. solanacearum*에 대한 생장억제효과를 조사한 결과, streptomycin 수화제, oxytetracyclin·streptomycin sulfate 수화제, oxolinic acid 수화제는 병원균에 대한 생육억제 효과가 우수하였다. 포장에서 토마토 풋마름병에 대한 방제효과 시험을 실시한 결과, copper hydroxide 수화제가 62.5%의 가장 높은 방제효과를 나타내었다. Copper hydroxide 수화제는 친환경유기농자재에 등록된 약제로서 관행 재배뿐만 아니라 토마토 친환경 재배시에도 풋마름병 방제에 사용할 수 있을 것이다.

색인어 풋마름병, 방제, copper hydroxide, *Ralstonia solanacearum*, 토마토