

## 고추 풋마름병 예찰 모형 개발

김지훈 · 김성택 · 윤성철\*

선문대학교 의생명과학과

### Development of a Forecasting Model for Bacterial Wilt in Hot Pepper

Ji-Hoon Kim, Sung-Taek Kim and Sung-Chul Yun\*

Department of Biomedical Sciences, Sun Moon University, Asan 336-708, Korea

(Received on August 9, 2012; Revised on November 18, 2012; Accepted on November 23, 2012)

A population density model for bacterial wilt, which is caused by *Ralstonia solanacearum*, in hot pepper was developed to estimate the primary infection date after overwintering in the field. We developed the model mechanistically to predict reproduction of the pathogen and pathogenesis on seedlings of the host. The model estimates the pathogen's populations both in the soil and in the host. In order to quantify environmental infection factors, various temperatures and initial population densities were determined for wilt symptoms on the seedlings of hot pepper in a chamber. Once, the pathogens living in soil multiply up to 400 cells/g of soil, they can infect successfully in the host. Primary infection in a host was supposed to be started when the population of the pathogen were over  $10^9$  cells/g of root tissue. The estimated primary infection dates of bacterial wilt in 2011 in Korea were mostly mid-July or late-July which were 10-15 days earlier than those in 2010. Two kinds of meteorological data, synoptic observation and field measurements from paddy field and orchard in Kyunggi, were operated the model for comparing the result dates. About 1-3 days were earlier from field data than from synoptic observation.

**Keywords :** Initial population, Mechanistic model, Population density, Primary infection

## 서론

고추 풋마름병은 열대성 병으로 알려졌으나 우리나라 노지 포장에서도 전형적인 풋마름병이 발생한다(Lee, 2010). 재배자들은 포장에서 나타나는 고추 시들음 증상을 대부분 역병으로 판단하지만 실제 풋마름병일 가능성이 크다. 특히 고추에 역병과 풋마름병이 복합 감염될 경우 고추에서 시들음은 더욱 빨라진다(Park과 Kim, 1991). 풋마름병 병징의 특징은 역병과는 달리 줄기 밑동부위가 병반없이 시들거나 때로는 전신 시들음보다는 줄기 한쪽 부분만 시든 상태로 발병이 진행되며, 때로는 점진적으로 기주 전체가 시들기도 한다(Kim, 2010). 그동안의 고추 시들음 증상을 역병으로 진단하였기 때문에 기록된 풋마름병 자료는 많지 않으나 최근 풋마름병 발병이 점차 증

가하고 있다. 예컨대, 충북 음성과 괴산의 60개 노지 고추 포장 중 시들음 병징을 조사한 결과, 발견된 40% 포장 중 75%가 풋마름병으로 진단되었다(Lee 등, 2011). 특히 풋마름병 방제를 위한 농약이 많지 않은 상황에서 역병 저항성으로 육종된 대목들은 풋마름병에 대한 저항성이 없으므로 역병과 풋마름병 복합 저항성을 갖는 저항성 육종이 대안으로 제시되고 있다(Kim 등, 2004).

식물병 예찰은 재배자에게 살균제 살포시기를 적기에 알려줌으로써 효율적이고 경제적인 방제를 가능하게 한다(Kang 등, 2010). 식물병 발병 예측 모델은 포장에서의 경험과 관찰 접근(empirical approach), 병원환에서 발병 주요인을 분석하여 이를 정량화하는 기계적 접근(mechanistic approach)이 있다(De Wolf와 Isard, 2007). 실용화된 세균병 모델 중 기상 요소를 바탕으로 발병을 판단하는 경우가 많다(Jacquart-Romaon과 Paulin, 1991). 특히, 전염원 밀도는 병 진전을 예측하는데 매우 결정적인 것으로서 *Erwinia amylovora*는  $10^5-10^6$  cells/flower일 경우 발병되나,  $10^3$

\*Corresponding author

Phone) +82-41-530-2282, Fax) +82-41-530-2939

Email) scyun@sunmoon.ac.kr

cells/flower 이하에서는 거의 발병하지 않는다(Billing, 1984). 한편 콩에 갈색 점무늬를 일으키는 *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*는  $10^4$  cells/g이 존재할 경우에만 발병한다(Cheng 등, 1989). 발병과정에서 병원성 세균 증식은 초기 지수 성장기를 지나 병원균 증식이 진행된다. 식물 병원성 세균이 기주 내에서 발병하기 위해서는 일정 농도 이상의 개체군 증식이 필요하다. 풋마름병원균인 *Ralstonia solanacearum*도 예외는 아니어서 일정 수준 이상의 병원균 밀도가 발병에 필요한데, 그러한 이유 중 하나는 밀도감지(quorum sensing)에 의해 조절되는 유전자가 병원성을 활성화하기 때문으로 설명하기도 한다(Clough 등, 1997). 따라서 세균병 발병 모델을 작성하는데 병원균 밀도는 발병 여부를 결정하는 중요한 요소이다.

이 연구는 고추 풋마름병을 예측하고자 감염 시기를 추정하는 모델을 만들고자 하였다. 고추 풋마름병 발병에서 병원균 증식과 1차 감염(primary infection)에 필요한 온도로 가정하고 실험실 액체 배양액에서 온도에 따른 병원균 밀도 변화로 증가를 추정을 실내실험을 통해 알아보려 하였다. 또한 고추 모에서 온도와 병원균 밀도를 달리하는 실험을 통해 발병을 일으키는 것과 그렇지 않은 조건을 알아보는 실험으로 감염율을 정량화하는 실험을 실시하고자 하였다. 두 실내 실험을 통해 작성된 모델은 풋마름병 병환에서 초기 접종 밀도와 감염 과정 중 토양 및 기주 내부에서 병원균 증식이라는 두 단계(stage)를 성공적으로 거쳤을 때 발병한다는 논리로 모델을 작성하고자 하였다. 만들어진 모델은 풋마름병 초발일 즉, 1차 감염이 최초로 발생하는 날을 예측하는 발병 모델이 될 것이다. 이 모델의 타당성 검증을 위해 기상청 종관관측 기상자료 및 경기도 관내 포장 관측자료를 이용하여 고추 풋마름병을 전국적으로 모의하고 기상대 설치 지역과 실제 포장에서 모델에 따른 풋마름병 초발일 예측을 비교, 분석하는 연구를 실시하고자 하였다.

## 재료 및 방법

**액체배양 및 풋트 접종실험을 통한 풋마름병 병원균 감염 주요인 구명.** 고추에 병원성이 있는 풋마름병원균인 *Ralstonia solanacearum* SW1001 균주를 동아대학교에서 분양받아 사용하였다. 풋마름병원균의 재분리 및 정량화를 위해 rifampicin에 저항성 균주를 선발하였다. 항생제 저항성 균주의 분리 및 정량은 *R. solanacearum* 배양을 위한 기초배지인 CPG 배지(peptone 10 g, casamino acid 1 g, agar 18 g, DW 1000 ml)에 rifampicin 50 mg/ml을 첨가하여 사용하였다. 접종 현탁액은 30°C, 150 rpm에서 24

시간 액체 배양 후 분광광도계(Biochrome, Cambridge, UK)에서 OD=0.5로 정량 후 사용되었다.

액체배양액에서 병원균 증식은 접종 현탁액을 각각  $4 \times 10^5$ ,  $4 \times 10^4$ ,  $4 \times 10^3$ ,  $4 \times 10^2$  cells/ml로 준비하여 CPG 액체 배지를 사용하여 19, 22, 25, 28, 31°C에서 진탕배양하면서 조사하였다. 배양 중 액체 배지에서 증식하는 병원균 밀도를 알아보기 위하여 접종 후 48시간과 84시간에 꺼내어 ripampicin이 들어있는 고체 배지에 희석하여 병원균 세균 밀도를 정량화하였다.

5-6엽의 어린 고추묘를 준비하여 떡잎과 연결된 잎자루 양쪽에 각각 100 µl씩 총 200 µl의 세균현탁액을 1 cc 주사기로 접종하였다. 다양한 접종 밀도에 따른 풋마름병 발병 정도를 알기 위하여 초기접종 밀도를 조절하였는데, OD=0.5 세균현탁액을 serial dilution하여 최종 농도를 각각  $4 \times 10^5$ ,  $4 \times 10^4$ ,  $4 \times 10^3$ ,  $4 \times 10^2$  cells/ml로 준비하였다. 4개의 다른 수준으로 접종한 고추묘는 성장상에서 온도별로 일정하게 유지하여 발병시켰는데, 초기 실험 온도는 15, 20, 25, 30, 35°C로 유지하여 1반복 수행하였고, 이후 온도를 3°C로 간격을 좁혀 19, 22, 25, 28, 31°C에서 2반복 실험하여 풋마름병 발병을 정량화하였다. 한편 접종 후 병원균 밀도를 확인하기 위해 발병부위로부터 병원균을 분리, 잎자루의 떡잎을 제거하고 잎자루부터 지체부까지 줄기 조직을 0.2 g을 취한 후, 막자사발에 죽이 나오지 않을 정도로 약간 으개 1.8 ml의 멸균수 첨가 후 1분간 와동시켰다. 조직에서 분리, 희석한 세포현탁액 100 µl를 rifampicin 50 µg/ml이 첨가된 고체 CPG 배지에 도말하고, 24시간 동안 배양하여 나타난 콜로니를 세었다. 접종부위로부터 병원균 분리 및 밀도 측정은 접종 48시간과 84시간 후 2회 수행하였고, 밀도 측정을 위한 콜로니 수는 3개 평판배지의 평균값으로 계산하였다.

병원균의 밀도와 발병률(%) 측정을 위해 사용한 고추묘는 실험 당 각 처리마다 총 15주였는데, 병원균 밀도 측정을 위해서 5-7주, 발병 조사를 위해서 8-10주를 각각 사용하였다. 발병 조사는 병원균 접종 후 7일 동안 매일 조사하였다. 발병율은 다음과 같이 병든 고추묘의 백분율로 계산하였다.

$$\text{발병률(disease occurrence, \%)} = (\text{발병한 고추묘 개수/처리한 고추묘 개수}) \times 100\%$$

접종 5-7일 후 고추묘에서 관찰되는 풋마름병 병징은 크게 0: 증상없음 1: 첫 번째 잎의 시들음, 2: 대부분 잎의 시들음, 3: 줄기가 꺾이거나 모든 잎이 떨어짐, 4: 고사 등 5단계로 조사하였다. 이러한 증상을 갖는 각각의 고추묘를 발병도(disease severity) %로 나타내고자 0과 1

은 0%, 2는 50%, 3과 4는 100%로 정하였다.

**토양 및 고추묘 내 풋마름병 세균 개체군 증식 모의 (doubling time 계산).** 접종 후 48-84시간까지 36시간 동안의 개체군 크기(N) 변화량을 측정하여 병원균 증식을 추정하였다. 풋마름병원균이 두 배로 증식하는데 필요한 시간(doubling time = g)을 구하는 추정식을 다음과 같이 정하여 모형을 만들었다.

$$N(t) = N_0 * 2^{(t/g(T))}$$

N(t): 시간 t에서의 개체군 크기

N<sub>0</sub>: 초기(t = 0) 개체군 크기

g(T): 온도 T에서의 doubling time(hr)

T: 시간 t에서의 온도

접종 48시간부터 84시간까지 36시간동안 균밀도가 2배가 되는데 필요한 doubling time은 아래 방법으로 구하였다.

$$g = t * \log 2 / (\log N - \log N_0)$$

$$t = 84 - 48 = 36$$

구해진 g 값은 19-31°C까지 5가지 온도(19, 22, 25, 28, 31°C)별로 4가지 초기 접종 농도(4 × 10<sup>5</sup>, 4 × 10<sup>4</sup>, 4 × 10<sup>3</sup>, 4 × 10<sup>2</sup> cells/ml)에 따라 얻어진 20개 자료로부터 회귀분석 후 회귀식을 통해 온도에 따라 추정된 g 값이다.

실내 발병실험에서 얻어진 고추묘 발병율과 실내실험에서 얻은 온도별 병원균 증식을 추정하는 자료를 결합하여 발병유지 온도에 따라 접종 7일 후 나타나는 고추묘에서의 풋마름병 발병 정도를 고사율(death rate)로 나타내었다(Table 1). 고사율은 처리한 4주의 고추묘 중 고사에 이른 고추묘의 비율이었다. 얻어진 고사율로부터 발병에 필요한 최소 농도(threshold)를 얻을 수 있었다.

**예측정보 시스템에서 고추 풋마름병 발병과정 모의.** 토양 내에 존재하는 풋마름병원균은 온도에 따라 개체군 밀도가 증가하며 일정 수준 이상일 때 고추에 침입한다고 가정하였다. 이 때 토양 내 병원균 개체군이 400 cell/g이면, 1마리의 세균이 기주 안으로 성공적으로 침입한다고 가정하였다. 기주를 감염시킨 병원균은 토양에서와 같은 증식모형을 이용하여 온도에 따라 기주 체내에서 증식 속

**Table 1.** The calculated population density of *Ralstonia solanacearum* after inoculation and the incidence of pepper seedlings in each temperature regimes and the initial population density

Temperature (°C)	Initial Pop. (cells/ml)	Bacterial population (Log <sub>10</sub> cells/ml)		Increasing times		Doubling time <sup>a</sup> g(T), hr	Calculated population (Log <sub>10</sub> cells/ml)			Death rate <sup>b</sup> (0-1)		
		after 48 hrs	after 84 hrs	0-84 hrs	48-84 hrs		5 days	6 days	7 days	5 days	6 days	7 days
19	4 × 10 <sup>2</sup>	1.7	2.04	0.28	2.19	31.65	3.79	4.18	4.57	0	0	0
	4 × 10 <sup>3</sup>	2.51	2.95	0.23	2.75	24.13	4.7	5.09	5.48	0	0	0
	4 × 10 <sup>4</sup>	2.3	3.52	0.08	16.6	8.9	5.27	5.66	6.05	0	0	0
	4 × 10 <sup>5</sup>	2.89	3.68	0.01	6.17	13.73	5.43	5.82	6.21	0	0	0
22	4 × 10 <sup>2</sup>	2.18	3.08	3.01	7.94	12	6.41	7.14	7.88	0	0	0
	4 × 10 <sup>3</sup>	2.64	4.15	3.52	32.36	7.21	7.47	8.21	8.95	0	0	0
	4 × 10 <sup>4</sup>	3.81	5.88	18.84	117.49	5.26	9.2	9.94	10.68	0	0	0
	4 × 10 <sup>5</sup>	5.15	6.92	20.85	58.88	6.11	10.25	10.98	11.72	0.25	0.25	0.25
25	4 × 10 <sup>2</sup>	2.61	5.11	326.55	316.23	4.33	10.54	11.74	12.95	0	0	0
	4 × 10 <sup>3</sup>	5.2	6.26	452.14	11.48	10.31	11.68	12.89	14.09	0	0.25	0.5
	4 × 10 <sup>4</sup>	5.51	7.59	979.64	120.23	5.2	13.02	14.22	15.43	0	0	0.25
	4 × 10 <sup>5</sup>	5.9	8	251.19	125.89	5.16	13.43	14.63	15.84	0.75	0.75	1
28	4 × 10 <sup>2</sup>	3.84	5.2	401.9	22.91	7.94	9.69	10.69	11.69	0	0	0.25
	4 × 10 <sup>3</sup>	5.23	6.3	502.38	11.75	10.12	10.79	11.79	12.79	0.5	0.75	1
	4 × 10 <sup>4</sup>	6.11	8.18	3767.83	117.49	5.26	12.67	13.66	14.66	0.75	1	1
	4 × 10 <sup>5</sup>	7.43	8.28	477.26	7.08	12.79	12.77	13.77	14.76	1	1	1
31	4 × 10 <sup>2</sup>	4.95	6	2486.77	11.22	10.35	8.4	8.93	9.47	0	0	0.25
	4 × 10 <sup>3</sup>	6.34	6.88	1883.91	3.47	20.35	9.28	9.81	10.35	1	1	1
	4 × 10 <sup>4</sup>	6.81	8.26	4521.4	28.18	7.48	10.66	11.19	11.73	1	1	1
	4 × 10 <sup>5</sup>	7.49	8.38	602.85	7.76	12.19	10.78	11.31	11.85	1	1	1

<sup>a</sup>Doubling time, g(T), is the hours to take doubled populations *in vitro*.

<sup>b</sup>Death rate is the proportion of diseased seedlings at 7 days after inoculation.

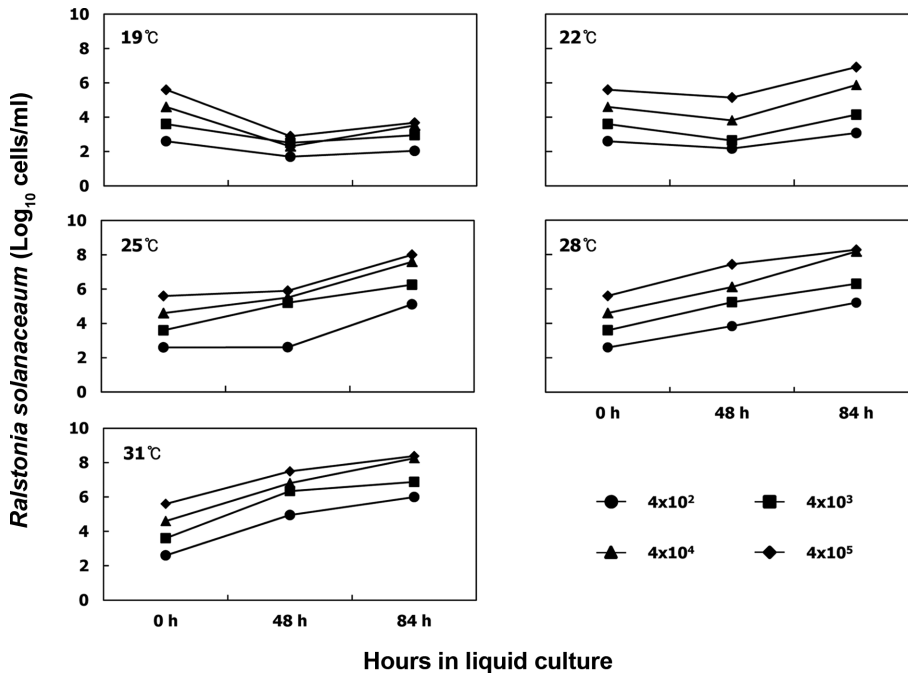
도를 달리하며 병원균 개체군 밀도 추정도 가능하다. 실내 접종 실험에서 얻어진 고사율 자료(Table 1)는 온도 조건을 달리했을 때 기주체내 개체군 밀도 추정이 가능하므로, 고사율이 처음 1이 될 때 최소 병원균 개체군 밀도(threshold)를 정할 수 있다(Fig. 5). 이 수준의 밀도는 모델에서 기주내 병원균 개체군이 최초로 threshold에 도달할 때 고추 풋마름병 발병 여부를 결정하는 고사율의 기준이 되었다. 즉 고추 체내에서 감염 성공 후 5, 6, 7일이 경과하였을 때 추정되는 병원균 개체군 밀도에 따라 발병 여부를 결정하였다. 결론적으로 발병 위험 경고는 기주 내 병원균 개체군 크기가 고사율 기준 이상일 때 풋마름병 발병을 경고한다. 이 시기가 바로 모델 구동 년도의 해당 지역의 고추 풋마름병 최초 발병 초발일로 정하였다.

## 결과 및 고찰

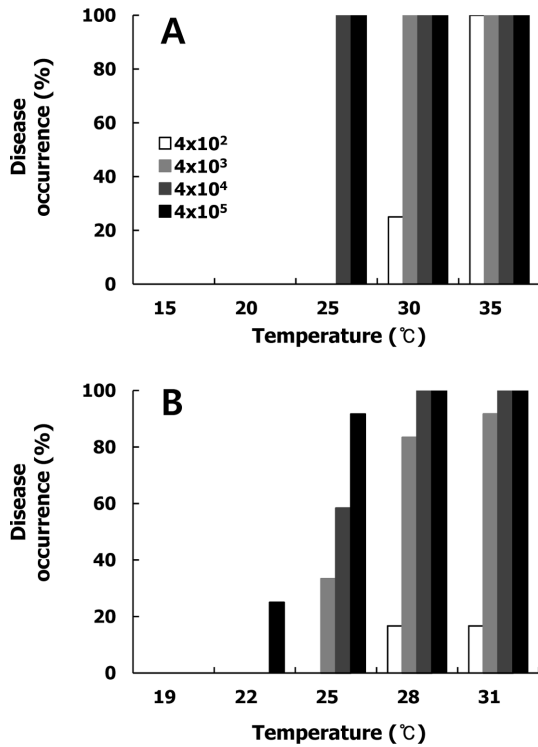
**온도 및 접종농도에 따른 액체배양액에서 병원균 밀도 변화.** 접종 48시간 및 84시간 후 액체배양한 병반으로부터 온도 및 초기 접종농도에 따른 병원균 밀도는 Fig. 1과 같다. 48시간 후 19°C에서는 초기 접종 농도와 상관없이 모두  $10^{2-3}$ 으로 감소하였고, 22°C에서는 초기 농도로부터 각각 1/10 수준으로 감소하였다. 반면 25, 28, 33°C에서는 48시간이 지난 후 균 밀도는 초기에 비해 뚜렷하

게 증가하였다. 접종 84시간이 지났을 때 모든 온도에서 정도의 차이는 있었지만 48시간에 비해 증가하였다. 특히 28°C와 31°C에서는 48시간까지의 증가와 유사한 속도로 증가가 지속되었다. 다만 19°C에서는 초기 접종 농도 수준을 회복하지 못했다. 즉 초기 접종 농도가  $10^3$  cells/ml 이하의 경우 감염 부위에서 발병에 충분한 농도인  $10^5$  이상 증식하지 못하였다. 균 밀도 변화를 좀 더 구체적으로 Table 1에 표시하였다. 19°C를 제외한 (0.01–0.28배로 감소) 모든 온도에서 경시적으로 점차 증가하였다. 특히, 25°C 이상에서 균 밀도는 초기보다 최소 250배(25°C,  $4 \times 10^5$ )에서 4521배(31°C,  $4 \times 10^4$ )까지 증가하였다. 또한 초기 농도가  $4 \times 10^4$ 일 경우 25°C에서 31°C에서 979–4521배까지 증가가 가장 컸다. 반면 초기 접종농도가  $4 \times 10^5$ 의 경우는 250–602배까지만 증가하였는데 아마도 최종 농도가  $10^9$  이상으로 증가할 수 없기 때문인 것으로 판단된다. 온도가 발병에는 더 중요한 요소이지만 초기 접종 농도 역시 최종 균밀도 결정에 중요하였다.

**온도 및 초기 접종 농도에 따른 고추묘에서 풋마름병 발병율.** 15°C부터 35°C까지 5°C 간격으로 유지된 생장상에 고추묘를 접종 후 발병까지 두었을 때 고추묘에서 풋마름병 발병을 초기 접종 농도별로 측정하였다(Fig. 2A). 35°C에서는 초기접종 농도와 상관없이 모든 농도에서 발병하였고, 30°C에서 접종농도가  $4 \times 10^2$ 일 경우 20% 발병



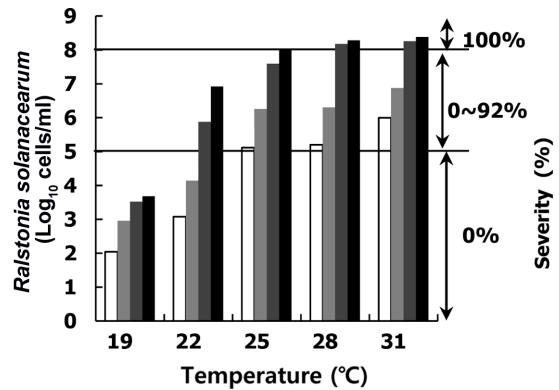
**Fig. 1.** Population of *Ralstonia solanaceum* in liquid culture media according to the four initial populations ( $4 \times 10^5$ ,  $4 \times 10^4$ ,  $4 \times 10^3$ ,  $4 \times 10^2$  cells/ml) and the five temperature regimes (19, 22, 25, 28, 31°C). The population size were measured at 48 hours and 84 hours after inoculation.



**Fig. 2.** Incidence of bacterial wilt caused by *Ralstonia solanaceum* on hot pepper seedlings according to the four initial populations ( $4 \times 10^5$ ,  $4 \times 10^4$ ,  $4 \times 10^3$ ,  $4 \times 10^2$  cells/ml) and temperature regimes. Incidence (%) was the percent of diseased seedlings among the inoculated 15 plants and the disease symptom was shown on 7 days after inoculation.

을 제외하고는 모두 100% 발병하였다. 한편, 25°C에서  $4 \times 10^4$ 와  $4 \times 10^3$ 일 경우에는 100%였으나 이보다 낮은 온도에서는 발병하지 않았다. 특히 20°C와 15°C에서는 초기 접종 농도와 상관없이 발병하지 않았다(Fig. 2A). 온도 간격을 3°C로 좁힌 실험에서는 31°C와 28°C에서 초기 접종 농도가  $4 \times 10^2$ 일 경우 두 온도 각각 17% 발병하였으나 이보다 높은 온도에서는 83–100% 발병하여 두 온도에서 초기 접종농도에 따른 발병양상이 비슷하였다(Fig. 2B). 한편 25°C에서 초기 접종 농도가  $4 \times 10^5$ ,  $4 \times 10^4$ ,  $4 \times 10^3$ 에서 각각 92%, 58%, 33%로 농도가 낮아짐에 따라 발병 또한 점차 낮아지는 경향을 보였고, 22°C에서는 가장 높은 농도인  $4 \times 10^5$ 에서 25% 발병한 반면 19°C에서는 전혀 발병하지 않아 풋마름병 발병진전은 초기 접종 밀도와 접종 후 기주식물체의 온도 두 가지 모두에 영향을 받는 것으로 나타났다.

**최종 균밀도와 7일 후 고추묘에서 풋마름 발병과의 관계.** 접종된 조직에서 최종 균밀도가  $10^5$  이상이면 대부분 발병하였다. 특히, 최종 밀도가  $10^8$ 이면 풋마름병은 100% 발병하였다. 단 22°C에서  $4 \times 10^3$ , 25°C에서  $4 \times 10^2$



**Fig. 3.** The relationship between the final population size and the temperature regimes in each initial inoculum density ( $4 \times 10^5$ ,  $4 \times 10^4$ ,  $4 \times 10^3$ ,  $4 \times 10^2$  cells/ml). The percents shown on the right side were the incidence of bacterial wilt on pepper seedlings based on the final population density. There was no disease symptom less than  $10^5$  cells/ml of the final population size. If the final density was between  $10^5$  and  $10^8$  cells/ml, the incidence was between 0–92%. And the symptom was always shown above  $10^8$  cells/ml of the final density regardless of the temperatures between 19–31°C. There were two cases of exceptions at  $4 \times 10^4$  (cells/ml) of the initial density of 22°C and at  $4 \times 10^2$  (cells/ml) of the initial density of 25°C. Although the final populations of the two cases were between  $10^5$  and  $10^8$  cells/ml, symptom were not found.

는 최종 균밀도가  $10^5$ 보다 높았지만 발병하지 않았다(Fig. 3). 대체적으로 19–31°C에서의 풋마름병 발병은 초기 균 밀도 보다 온도가 더 중요한 발병 요인이었다. 예컨대, 19°C는 초기 균밀도 수준과 상관없이 모두 발병하지 않는 반면, 28°C와 31°C는 균밀도와 상관없이 모두 발병하였다. 19°C에서 초기 균밀도를 발병에 충분한 수준까지 높여서 접종하더라도 조직 내에서 균 증식을 할 수 없기 때문에 결국 병징은 나타나지 않았다. 22°C에서  $4 \times 10^2$ ,  $4 \times 10^3$  그리고  $4 \times 10^4$ 에서는 균은 증식하지만, 병을 일으키는 최소 균 밀도인  $10^5$ 에 도달하지 못하였기 때문에 발병하지 않았다. 마찬가지로 25°C에서 가장 낮은 농도인  $4 \times 10^2$ 도 발병에 충분한 농도까지 세균 증식이 되지 않았기 때문에 발병하지 않았다.

**실내실험 결과 요약.** 고추묘에 인위접종한 풋마름병 발병은 초기 접종 밀도보다는 온도에 의한 영향이 더 컸다. 예컨대, 28°C 이상 고온에서는 모든 초기 접종 농도에서 발병하였는데 풋마름병 발병률은 초기 접종 밀도에 따라 달랐다. 반면, 20°C 이하에서 풋마름병은 초기 균밀도와 관계없이 발병하지 않았다. 기주 내에서 병원균 밀도가 증가될 때만 발병되었으며, 접종 농도보다 최종 밀도가 오히려 감소되었던 20°C 이하 온도나 초기 접종 농도가  $10^4$  이하일 경우 최종 밀도가 발병에 충분한 수준까

지 증식하지 못하므로 풋마름병은 발병하지 않았다. 최종 균밀도가 10<sup>5</sup>-10<sup>8</sup> 범위에서 풋마름병이 발병하였으며, 특히 최종 균밀도 10<sup>8</sup> 이상에서 풋마름병은 100% 발병하였다(Fig. 3). 이러한 실내실험 결과자료는 다양한 온도와 밀도 조건에서 고추 풋마름병 발병을 예측하는 모델에 활용되었다.

**모델결과.**

**① doubling time 예측 모형식 작성**

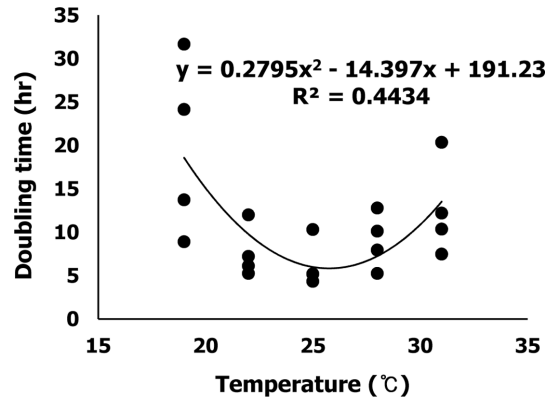
접종 후 48시간부터 84시간까지 36시간 동안 접종된 식물체내에서 병원균의 증식 양상을 토대로 온도에 따른 doubling time(=g)을 재료 및 방법에서 제시한 방식으로 계산하였다(Table 2). 얻어진 g 값과 온도의 이변량자료를 사용하여 온도 변화에 따른 doubling time을 구하는 2차 방정식의 회귀식을 다음과 같이 구할 수 있었다.

$$g(T) = 0.2795 \times T^2 - 4.397 \times T + 191.23 \quad (R^2 = 0.44338)$$

이 회귀식은 19-31°C에서 주어진 온도에 따라 풋마름병 병원균 밀도가 2배로 증식하는데 소요되는 시간인 doubling time 추정이 가능하다. 얻어진 풋마름병 병원균의 밀도 증식 모델을 각각 토양 및 기주 내에서 온도에 따른 밀도 증가 추정에 활용하였다(Fig. 4).

**② 감염된 고추묘에서 증식 후 풋마름병 발병을 판단하는 고사율 기준 설정**

doubling time 회귀식을 사용하여 추정된 접종 5, 6, 7일 후 각 온도별로 계산된 병원균 밀도와 실내실험에서 얻어진 5, 6, 7일의 풋마름병 발병율(고사율)을 이변량변수로 하는 점도표를 그린 후, 고사율이 1이 되는 최소 세



**Fig. 4.** Regression analysis of the doubling times in each temperatures. Twenty data were calculated from the experiment of population study of the liquid culture. As it shows on, 2nd order regression was the best fit. 'y' was doubling time and 'x' was temperature.

**Table 2.** Differences of the model-estimated primary infection dates calculated from the two meteorological data between the synoptic observation of KMA<sup>a</sup> and the field data of ARES<sup>b</sup> in Kyunggi

Year	Synoptic observation sites	Primary infection date	Field type	Field measurement sites	Primary infection date	Difference <sup>c</sup>
2010	Dongducheon	7/23	Apple orchard	Pocheon	7/22	-1 d
	Seoul	7/22	Pear orchard	Namyangju	7/18	-4 d
	Yangpyung	7/12	Pear orchard	Yangpyung	7/13	+1 d
	Munsan	7/13	Pear orchard	Paju	7/13	0 d
	Cheolwon	7/25	Paddy field	Pocheon	7/16	-9 d
	Incheon	7/24	Paddy field	Siheung	7/11	-13 d
	Suwon	7/17	Paddy field	Hwaseong	7/14	-3 d
	Icheon	7/18	Paddy field	Icheon	7/15	-3 d
2011	Dongducheon	7/14	Apple orchard	Pocheon	7/15	+1 d
	Seoul	7/10	Pear orchard	Namyangju	No infection	
	Yangpyung	7/09	Pear orchard	Yangpyung	7/10	+1 d
	Munsan	7/11	Pear orchard	Paju	7/11	0 d
	Cheolwon	7/13	Paddy field	Pocheon	7/14	+1 d
	Incheon	7/14	Paddy field	Siheung	7/10	-4 d
	Suwon	7/10	Paddy field	Hwaseong	7/10	0 d
Icheon	7/11	Paddy field	Icheon	No infection		

<sup>a</sup>KMA: Korea Meteorological Administration.

<sup>b</sup>ARES: Agricultural Research and Experiment Service.

<sup>c</sup>“-” means the primary infection date calculated from field data is earlier than those from synoptic observation data and vice versa.

균밀도를 정하였다(Fig. 5). 그림에서 고사율이 처음으로 1이 되는 병원균의 밀도는  $\log N = 9.28$ 이었다. 모의된 기주 내 풋마름병 병원균 밀도가 일정 수준이상일 때 발병한다고 가정했을 때 발병 예측 기준은 고사율이 처음 1

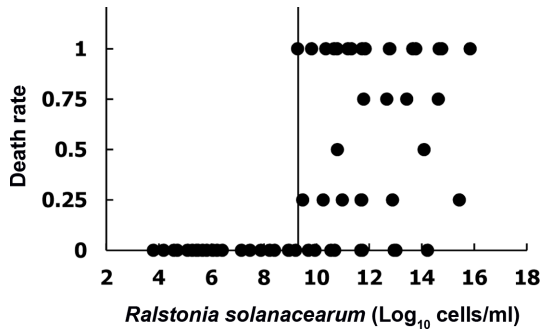


Fig. 5. Decision of the threshold of the bacterial wilt according to the population of *Ralstonia solanacearum*. The population size at 7 days after inoculation was calculated from the doubling time.

이 되는 세균의 개체수로서 예측정보 시스템에서는 9.0으로 적용하였다.

한편, 토양 및 기주 내 온도는 기온이 아니라 기온으로부터 추정된 지온을 가지고 모델을 구동하도록 하였다. 측정된 기온으로부터 지온을 추정하는 식은 다음과 같다 (Do 등, 2012).

$$T_d = 0.9198 \times T_a + 3.192 \quad (R^2 = 0.9064)$$

$T_d$ : 일평균 지온

$T_a$ : 일평균 기온

풋마름병 모델을 간략히 정리하면 토양 내 병원균은 19°C의 지온과 0.1 mm 이상의 강우인 조건에서 증식을 개시하고, 이들 병원균이 토양에서 충분히 증식한 후 400 cells/g 이상 농도가 되었을 때 1마리가 침입에 성공하여 기주를 감염한다. 기주 내에서 병원균은 온도에 따

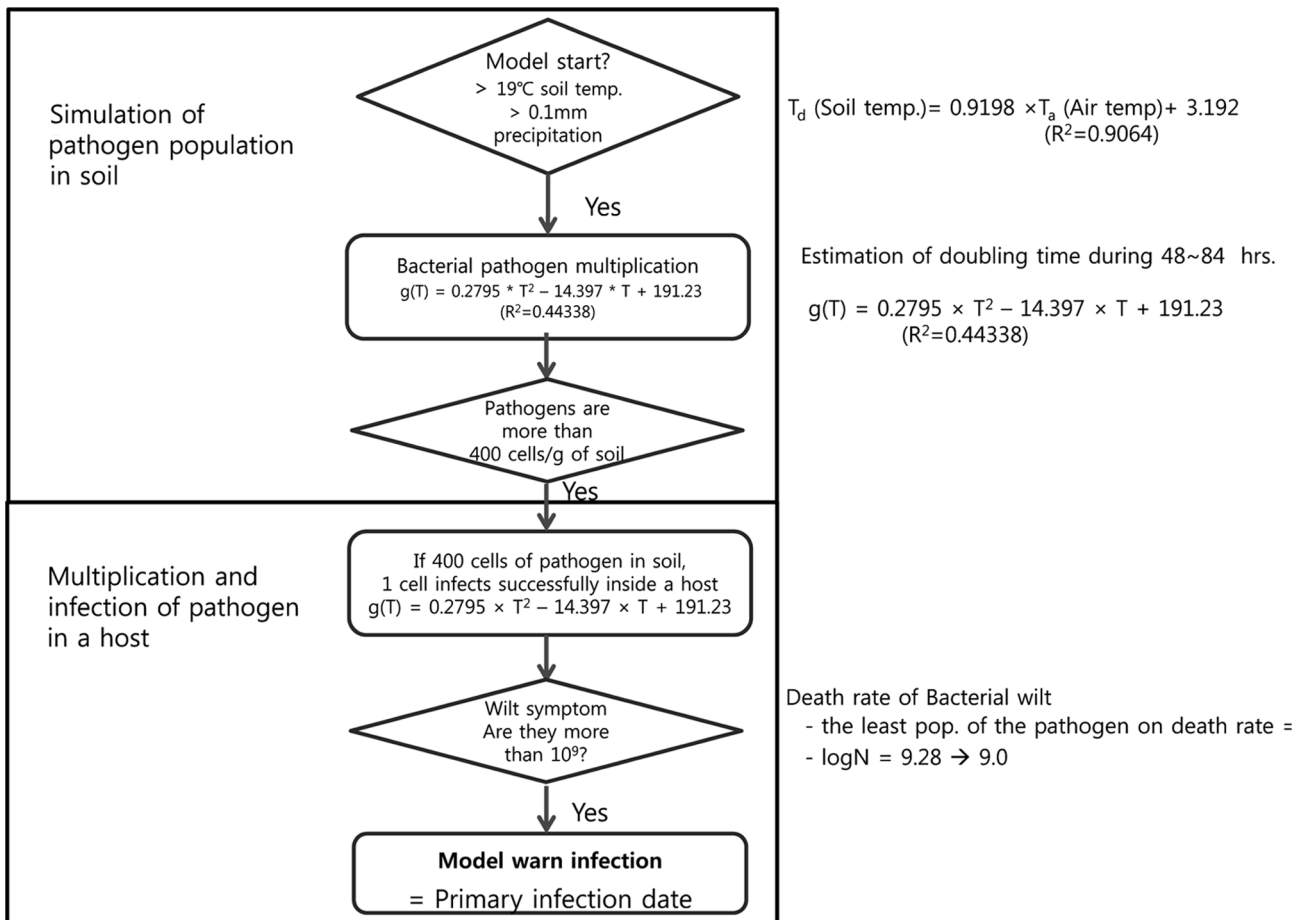


Fig. 6. Flow chart of a forecast model for bacterial wilt caused by *Ralstonia solanaceum* in hot pepper. The pathogen population in soil were grown up depending on ground temperature and precipitation. Once they were up to 400 cells/g, they can infect inside the root of host and they were grown up depending on the temperature and finally the initial infection date was decided when the population over  $10^9$  cells/g.

라 증식하여  $10^9$  이상이 되었을 때 고추 풋마름병이 발병한다(Fig. 6). 작기 중 풋마름병이 최초 발병하는 시기를 풋마름병 초발일로 예측하도록 하였다. 토양에서 증식 후 일정 농도 이상일 때에만 감염을 일으킨다는 가정은 풋마름병 병원균이 밀도 감지(quorum-sensing)에 관여하는 신호를 받는다는 것을 바탕으로 밀도 의존적인 발병임을 반영한 것이다. 모델에서 온도와 감염 성공을 위한 토양내 병원균 농도를 달리하더라도 결국 토양의 지온이 발병에 결정적 역할을 한다는 것이 모델의 결과이다.

2010년과 2011년 기상청 종관기상 자료를 이용한 풋마름병 모델 구동을 통해 예측한 고추 풋마름병 초발일은 연도와 장소에 따라 다르나 대략 7월 초 중순에 전국의 50~70% 지역에서 감염이 시작되는 것으로 예측되었다(Fig. 7). 모델에서 제시하는 풋마름병 초발일은 특정 연도와 장소에서 빠르면 빠를수록 풋마름병 발병 위험성이 높다는 것을 의미한다. 한편 기상청 측후소에서 측정된 기상자료인 종관관측 자료와 경기도 일대의 실제 포장(과수원, 논)에서 관측한 자료를 비교 평가한 결과 포장 기상자료를 이용한 모델 구동에서 나온 초발일은 종관관측 자료의 초발일보다 대체로 먼저 나타났고, 두 자료의 초발일 예측치는 최대 13일까지 크게 나타나는 것으로 보였다(Table 2). 특히 2010년의 차이가 컸는데 이들 자료를 논과 과수원으로 나누어 분석해보면, 과수원보다는 논에서의 차이가 컸고 사과나 배 과수원과 종관관측 자료에서의 예측치 차이는 2010년 서울의 4일 외에는 0-1일로 거의 같았다. 이 모델은 고추를 기주로 하는 모델이므로 늘 논에 물이 채워져 상대습도가 높은 논의 미기상을 고려한다면, 초발일 차이는 0-1일로 비슷하다고 할 수 있다.

아직 고추 풋마름병 발병율에 대한 과거 포장에서 실

시한 조사자료가 많지 않아 이 연구에서 제시한 모델의 적합도 검정을 실시할 수 없었다. 그 이유는 앞서 언급한 바와 같이 실제 고추포장에서는 역병과 풋마름병의 복합 감염을 역병으로 오진하므로 발병을 자료를 구하기 어렵기 때문이다. 고추 풋마름병의 진단과 방제가 실제 농가에서 실용화되기 위해서는 앞으로 해결해야 할 과제들이 많다. 실제 고추 재배 현장에서 고추 역병과 고추 풋마름병 두 가지 병이 복합적으로 감염되거나 두 병을 구별하여 진단하기가 쉽지 않은 상황에서 풋마름병 예측이 영농에 효과적으로 활용된다면 두 병의 초발일 예측 정보를 동시에 고려하여 역병과 풋마름병 방제를 종합적으로 고려하는 방제 전략을 세우는 것이 도움이 될 것이다. 실제 역병은 풋마름병에 비해 일찍 예보가 될 것이므로 약제방제와 저항성 대목 사용을 적극 고려해야 하며, 풋마름병 예방을 위한 저항성 품종 개발과 이를 활용한 대목 활용도 적극적으로 고려할 필요가 있다. 앞서 충북농업기술원의 풋마름병과 역병을 구분해서 시들음병을 조사한 자료에 비추어 볼 때 고추 생육 초기의 고온은 풋마름병 발병에 중요하다. 따라서 포장 토양내 병원균 증식 정도와 고추 내부로의 침입과 내부에서의 병원균 증식으로 풋마름병의 발병을 예측하는 것은 일반적으로 발병이 세균 밀도에 의존적이라는 기존의 세균병 모델과 비슷한 논리로 작성하였다. 특히, 충북농업기술원 시들음병 조사 결과 생육 초기 고온은 풋마름병 발병에 중요함을 지적한 바 있다. 포장에서 풋마름병 발병 측정이 많지 않으므로 전국적인 자료에 대한 모델의 평가는 시기상조일 수 있으나, 우선 풋마름병 발병 위험도를 제시하는 차원에서 이 연구에서 제시한 모델을 활용할 수 있을 것이다.

## 요 약

고추 풋마름병 예찰을 위한 개체군 모형을 개발하였다. 이 모델은 포장에서 고추 시들음을 일으키는 풋마름병원균의 월동 후 1차 감염 시기를 예측할 수 있는 모델이다. 이 모델은 감염환 중 병원균의 밀도와 기주에서의 병원성에 관여하는 요인이 발병의 주요소라 가정하여 만든 것이다. 병원균 증식은 재배 지역 토양 내부와 기주 뿌리 내부에서 모의하였다. 뿌리에서 풋마름병 발병에 영향을 주는 주된 환경요소는 온도 및 감염 초기의 병원균 밀도로 가정하였고, 이 두 요소의 액체 배양액에서 증식 실험을 통해 정량화 하였다. 또한 고추묘에서 온도에 따라 발병이 얼마나 달라지는 정도를 실험실 실험을 통해 접종원의 감염 수준을 정량화하여 감염을 모의하는 발병 모형을 만들었다. 토양에 서식하는 병원균은 400 cells/g

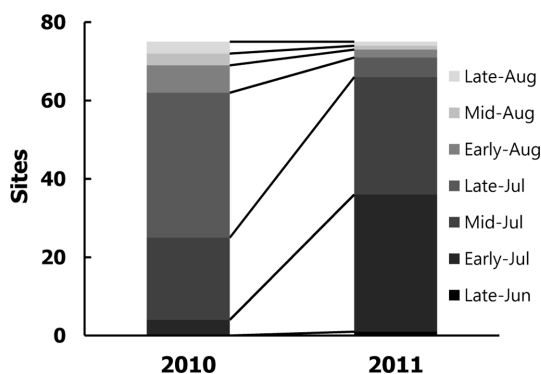


Fig. 7. The calculated primary infection date of bacterial wilt in 2010 and 2011 in Korea. A forecasting model was operated by the synoptic observation data consisted of 75 sites from Korea Meteorological Administration. Seventy five sites in each year were divided into late-June, early-July, mid-July, late-July, early-August, mid-August and late-August.



이상에서 기주 뿌리에 성공적으로 침입하고 뿌리내에서 온도에 따라 증식하다가  $10^9$  cells/g 이상이면 최소 고사율에 도달하므로, 이 시기를 풋마름병이 최초 감염(1차 감염)되는 초발일로 추정하였다. 2010년과 11년 전국 기상청 중관관측 자료를 통해 풋마름병을 예측한 결과 2011년에 초발일은 대부분의 지역에서 7월 중순과 하순이었는데 이는 2010년에 비해 10-15일 빠른 것이었다. 또한 경기도 지역내에서 중관관측 자료와 실제 논과 과수원 포장 관측 기상 자료로 구동된 모델 초발일을 비교한 결과 포장 기상 자료의 초발일이 1-3일 빠르게 나타났다.

### Acknowledgement

This study was carried out with the support of Cooperative Research Program for Agricultural Science & Technology Development (Project No.: PJ007395), Republic of Korea.

### References

- Agrios, G. N. 2005. Plant pathology. 5th ed. Academic Press, Burlington, MA, USA. 922 pp.
- Billing, E. 1984. Principles and applications of fire blight risk assessment systems. *Acta Horticulturae* 151: 15-22.
- Cha, C., Gao, P., Chen, Y.-C., Shaw, P. D. and Farrand, S. K. 1998. Production of Acyl-Homoserine lactone quorum-sensing signals by gram-negative plant-association bacteria. *Mol. Plant Microbe In.* 11: 1119-1129.
- Cheng, G. Y., Legard, D. E., Hunter, J. E. and Burr, T. J. 1989. Modified bean pod assay to detect strains of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* that cause bacterial brown spot of snap bean. *Plant Dis.* 73: 419-423.
- Clough, S. J., Lee, K.-E., Schell, M. A. and Denny, T. P. 1997. A two-component system in *Ralstonia solanacearum* modulates production of *phcA*-regulated virulence factors in response to 3-hydroxypalmitic acid methyl ester. *J. Bacteriol.* 179: 3639-3648.
- De Wolf, E. D. and Isard, S. A. 2007. Disease cycle approach to plant disease prediction. *Annu. Rev. Phytopathol.* 45: 203-220.
- Do, K. S., Kang, W. S. and Park, E. W. 2012. A forecast model for the first occurrence of phytophthora blight on chili pepper after overwintering. *Plant Pathology J.* 28: 172-184.
- Jacquart-Romon, C. and Paulin, J. P. 1991. A computerized warning system for fire blight control. *Agronomie* 11: 511-519.
- Kang, W. S., Yun, S. C. and Park, E. W. 2010. Nonlinear regression analysis to determine infection models of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose of chili pepper using logistic equation. *Plant Pathology J.* 26: 17-24.
- Kim, B. D., Park, H. G. and Kim, Y. H. 2004. Molecular genetics and breeding of chili pepper in Korea. Center for Plant Molecular Genetics & Breeding Research. 522 pp.
- Kim, S. T., Shin, J. W., Kim, J. H. and Yun, S. C. 2010. Temperature and initial inoculum density as the factors of bacterial wilt on hot pepper. *Res. Plant Dis.* 16: 360.
- Lee, J. M. 2010. Characterization of sources of resistance to bacterial wilt and breeding cytoplasmic male sterile lines for resistance to bacterial wilt and Phytophthora blight in Capsicum Pepper. MS thesis. Kyungbuk National Univ, Daegu, Korea.
- Lee, K. H., Ahn, K. S., Song, M. K., Yu, S. E., Choi, M. K., Lim, S. C. and Kim, H. T. 2011. Disease incidence on red pepper of chungbuk province in 2011. *Res. Plant Dis.* 17: 442. (In Korean)
- Park, S. G. and Kim, K. C. 1991. Pathogenicities of pathogens and disease complex associated with wilt of hot pepper plants cropped in plastic house. *Korean J. Plant Pathol.* 7: 28-36.