

## 초산과 젖산 혼합액에 의한 수출용 심비디움 검역선충 *Bursaphelenchus xylophilus*의 방제 효과

### Effect of Acetic and Lactic Acid Mixtures on Control of Quarantine Nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, in Exporting Cymbidium

서윤희<sup>1</sup> · 박지영<sup>1</sup> · 조명래<sup>2</sup> · 전재용<sup>3</sup> · 김영호<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>서울대학교 농업생명과학대학 농생명공학부, 농생명과학원, <sup>2</sup>국립원예특작과학원,

<sup>3</sup>식물검역기술개발센터

Yunhee Seo<sup>1</sup>, Jiyeong Park<sup>1</sup>, Myoung Rae Cho<sup>2</sup>, Jae Yong Chun<sup>3</sup> and Young Ho Kim<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Agricultural Biotechnology and Research Institute of Agriculture and Life Sciences, Seoul National University, Seoul 151-921, Korea

<sup>2</sup>National Institute of Horticultural and Herbal Science, Rural Development Administration, Suwon 441-440, Korea

<sup>3</sup>Plant Quarantine Technology Center, Animal and Plant Quarantine Agency, Suwon 443-400, Korea

**\*Corresponding author**

Tel : +82-2-880-4675

Fax: +82-2-873-2317

E-mail: yhokim@snu.ac.kr

The mixture (MX) of acetic acid (AA) and lactic acid (LA) was examined for its effectiveness in the control of the pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* contaminated in cymbidium culture medium. Nematode mortality *in vitro* was nearly 100% in AA and MX at the concentrations of 5.0–1.0% (pH 2.6–4.2) and in LA only at 5.0% (pH 3.5), but lowered at concentrations of 0.5–0.1% (pH 5.1–6.9) more significantly in LA than AA and MX. MX of most concentrations caused higher nematode mortality than the average response to AA and LA. All treatments of MX (0.5% and 0.25%), fosthiazate (standard and double concentrations) and culture dilution of *Paenibacillus polymyxa* GBR-1 ( $10^7$  colony-forming units/ml) reduced significantly the nematode populations in the cymbidium culture medium, compared to non-treatment control, with no significant difference among the treatments. No phytotoxicity occurred in all treatments. pH of the medium with the time after treatment and growths of 2-year-old cymbidium were not significantly different among treatments. Considering the safety and price of the organic acids, use of MX in the processes for culturing cymbidium may be a practically reliable and eco-friendly way in the control of the quarantine nematode in cymbidium.

**Keywords:** *Bursaphelenchus xylophilus*, Control, Cymbidium, Nematode mortality, Organic acid mixture

Received July 15, 2014

Revised September 16, 2014

Accepted September 17, 2014

우리나라 2011년도 화훼류의 총 재배면적과 생산액은 각각 6,833 ha와 9,744억 원으로 이 중에서 분화류의 재배면적(1,125 ha)과 생산액(4,295억 원)이 가장 크며, 난류는 분화류 중에서 가장 크고 백합과 장미에 이어 세 번째 수출 작목이며, 난류 중에서는 심비디움이 가장 큰 비중을 차지하고 있다(국립원예특작과학원 화훼기본통계; <http://www.nihhs.go.kr/farmer/statistics/statistics02.asp? tcd=CA0203>). 특히 우리나라 심비디

움은 그 품질의 우수성으로 인해 중국인의 선호도가 높아 중국 최대 화훼시장인 Guangzhou(廣州)와 인근 수출시장인 Shenzhen(深圳) 등 꽃시장을 통해 심비디움이 수출되고 또 현장에서 판매가 이루어지고 있다. 우리나라 심비디움의 중국으로의 수출은 지리적 근접성 때문에 물류비용 절감과 수송기간이 짧아 타 경쟁국에 비해 유리하므로 가격 면이나 품질 면에 있어서 우위를 점하고 있다. 향후 중국 화훼 시장 규모를 감안할 때 양질의 심비디움 생산이 지속된다면 중국 화훼시장에서 점유율의 증가될 것이고, 따라서 국내 심비디움 산업의 확대가 예측된다.

우수 품질의 심비디움 생산을 위한 재배에 있어서 가장 큰 저해요인의 하나는 병해충에 의한 생산량 감소와 품질 저하이다. 특히 병해충은 생산량의 저하를 초래할 뿐만 아니라 수출 시 수입 당사국의 검역에서 수출품의 금지 문제 발생의 소지가 크다. 실례로 최근에 우리나라 심비디움의 수출 물량의 중국 당국의 검역 시 금지 선충이 검출되어 심비디움 분화 2,500개가 현지에서 폐기되는 등 검역 문제의 발생으로 인해 중국 측에서 수출검역 강화 요청 및 진일보된 검역을 실시하여 심비디움 수출의 어려움에 직면해 있다(Cho 등, 2012). 차후 지속적인 심비디움의 수출과 이의 확대를 위해서는 선충 무감염 수출 심비디움의 생산이 시급한 실정이다.

심비디움에 피해가 보고된 식물기생선충은 썩이선충(*Pratylenchus* spp.), 잎선충(*Aphelenchoides* spp.) 및 나선선충(*Helicotylenchus* sp.) 등이 알려져 있다(Pant 등, 2012; Sher, 1959; Uchida와 Sipes, 1998). 국내에서는 그동안 심비디움에 선충 피해가 알려진 바 없었으며, 최근 심비디움에 발생하는 선충 조사에서 식물기생선충으로 맥문동 줄기선충인 *Ditylenchus equalis*가 발견되었으나 이 선충에 의한 심비디움의 피해 여부는 밝혀지지 않았다(Cho 등, 2012). 그러나 검역선충과 관련해서는 심비디움 기생선충뿐 아니라 타작물의 기생선충이라든가의 배양토에 오염되어 어느 정도 생존 가능하면 수입한 상대국에서 검출되어 검역 문제가 발생할 수 있다. 따라서 검역관련 심비디움의 선충은 중국 측에서 검역대상으로 지정관리하는 선충으로 뿌리혹선충류(*Meloidogyne* spp.)과 줄기구근선충(*Ditylenchus dipsaci*) 등 기주범위가 넓은 선충(Franklin, 1982; Hooper와 Southey, 1982)은 주변 작물에 흔히 감염되어 있을 수 있고, 잎선충류(*Aphelenchoides* spp.) 및 소나무재선충(*Bursaphelenchus xylophilus*) 등 식균성의 특성을 가져 심비디움의 주요 배양토인 바크의 원료인 나무껍질이나 나무 절편을 부식하는 각종 곰팡이에 서식할 수 있어서 (Bakhtiar 등, 2001; Griffin 등, 2012; Hasna 등, 2007; Ikonen, 2001; Perper와 Petiello, 1977; Ruess 등, 2000), 이들 선충의 오염율과 그 빈도가 높아질 수 있으므로 심비디움의 수출 시 특별히 주의해야 할 검역 대상 선충이 될 수 있다.

작물 생산에 있어서 선충의 방제는 선충의 피해 정도와 방제 비용을 고려하여 선충의 밀도를 경제적 피해수준 이하로 줄여주는 정도의 방제가 요구되는 반면(Whitehead, 1982), 검역에 있어서는 소수의 검역 대상 선충의 검출도 허용되지 않으므로 완전방제가 요구된다.

검역 선충의 완전방제를 위해서는 심비디움 재배 초기부터 수출 직전까지 배양토의 지속적인 선충 방제관리가 필요하다. 오래전부터 토양 영양관리 중 하나로 부숙 유기물의 시용이 식물기생선충의 피해를 줄이는데 효과가 있는 것으로 알려져 있으며(Akhtar와 Alam, 1992, 1993; Akhtar와 Mahmood, 1994; McBride 등, 2000), 이러한 유기물의 부숙 시 발생하는 유기산이 선충 방제의 주요 물질 중 하나임이 밝혀져 있다(Badra

등, 1979; Johnston, 1959; McBride 등, 2000; Sayre 등, 1964; Stephenson, 1945).

이 연구에서는 유기물 시용에 의한 심비디움의 배양토의 지속적 관리에 의한 검역 선충의 하나인 소나무재선충의 지속적 방제를 통해 완전 방제를 도모하였다. 유기물 시용 대신 선충의 피해 억제와 관련이 있는 유기산을 직접 처리함으로 중국의 검역 선충 대상의 하나인 소나무재선충(*Bursaphelenchus xylophilus*)의 방제법을 개발하고자 연구를 수행하였다. 사용한 유기산은 식초와 요거트 등 발효유제품에서 흔히 발견되어 식용 가능한 초산(acetic acid)과 젖산(lactic acid) 및 이들의 혼합액을 사용하였다.

**유기산의 살선충 효과.** 초산과 젖산 원액(덱산케미컬, 서울)을 0.1 M potassium phosphate buffer(인산완충액) (pH 7.0)으로 희석하여 각각 10.0%, 4.0%, 2.0%, 1.0%, 0.5%, 0.2%, 0.1%(w/v) 희석액을 만들고 같은 농도의 초산과 젖산을 동량으로 혼합하여 같은 농도의 혼합희석액을 제조하였다. 이 연구에서 사용한 선충은 국립산림과학원에서 분양받아 *Botrytis cinerea* 배지에 배양한 소나무재선충(*Bursaphelenchus xylophilus*)으로 체법과 Baermann funnel법으로 추출하여(Southey, 1986) 얻어진 유충 및 성충을 살균증류수(SDW)로 희석한 선충용액을 사용하였다. 유기산의 살선충효과를 조사하기 위해서 이들 유기산 희석액 100  $\mu$ l과 동량의 선충용액(60여 마리 선충 포함)을 96-well Microtest™ Tissue Culture Plate(Becton Dickinson Labware, Franklin Lakes, NJ, USA)의 각 well에 3반복으로 분주하고 실온(25°C)에 치상하여 24시간 후 해부현미경 하에서 곧게 경직되고 움직이지 않는 선충은 죽은 선충으로, 유연하고 움직임이 있는 선충은 산 선충으로 간주하여 살선충율을 조사하였다(Cayrol 등, 1989). 무처리 대조구는 유기산의 희석에 사용한 0.1 M potassium phosphate buffer였다. 또한 선충의 사충률과 산도와와의 관련성을 조사하기 위해 각 농도의 유기산을 SDW와 동량으로 혼합하여 pH meter로 용액의 산도를 조사하였다.

초산과 젖산의 농도별 살선충율은 Table 1에서 나타난 바와 같이 초산과 초산-젖산 혼합액은 1.0%까지 100%에 가까운 살선충율을 나타낸 반면 젖산은 가장 높은 농도인 5.0%에서만 100% 살선충율을 나타냈고 그 이하의 농도에서는 급격히 살선충율이 감소하였는데 그 감소율이 초산과 혼합액에서보다 유의적으로 더 컸다. 유기산별 단독 처리의 살선충율 평균과 유기산 혼합액의 살선충율을 비교하여 통계 처리한 결과 5.0%와 0.5%를 제외한 모든 농도에서 혼합액에서 유의적으로 높게 나타났다. 또한 혼합액 0.5%에서는 초산과 젖산 각각의 농도가 0.25%이므로 이 농도에서의 혼합액의 살선충율이 초산의 살선충율보다 세 배 이상 높게 나타났음을 알 수 있다. 이 두 유기산 단독보다 유기산 혼합액을 처리하였을 때 뿌리혹선충에 대한 살선충력이 높아지고 또 살선충기작의 변화도 관찰되었다(미 보고 자료). 따라서 이 두 유기산 단독 처리보다 유기산 혼합액

**Table 1.** Mortality of *Bursaphelenchus xylophilus* followed by the treatments of acetic acid (AA), lactic acid (LA) and their mixture (MX) at different concentrations with corresponding acidities

Concentration	AA		LA		MX <sup>b</sup>		Mixture effect <sup>c</sup>
	Mortality (%) <sup>a</sup>	pH	Mortality (%)	pH	Mortality (%)	pH	
0.00%	5.9 ± 2.2X <sup>d</sup>	7.0	5.9 ± 2.2X	7.0	5.9 ± 2.2X	7.0	1.00NS <sup>e</sup>
5.00%	100.0 ± 0.0Z	2.6	100.0 ± 0.0Z	3.5	100.0 ± 0.0Z	3.0	1.00NS
2.00%	100.0 ± 0.0Z	3.2	15.2 ± 2.2Y	3.9	100.0 ± 0.0Z	3.5	1.31*
1.00%	100.0 ± 0.0Z	3.9	5.4 ± 1.3X	4.4	95.4 ± 6.2Z	4.2	1.81*
0.50%	54.0 ± 8.0Y	6.0	2.2 ± 2.1WX	5.1	15.4 ± 4.8Y	5.5	0.55*
0.25%	4.4 ± 1.2X	6.6	1.1 ± 1.0W	6.3	11.1 ± 2.4XY	6.6	4.04*
0.10%	6.0 ± 2.1X	6.9	4.5 ± 1.4X	6.7	8.5 ± 1.4X	6.8	1.62*

<sup>a</sup>Mortality (%) = Number of dead nematodes/number of total nematodes examined × 100 (averages and standard deviations of three replications).

<sup>b</sup>Mixture concentration is the sum of concentrations for the same volumes of each organic acid (ex. 0.5% MX = 0.25% AA + 0.25% LA).

<sup>c</sup>Mixture effect = nematode mortality of MX/average nematode mortality of AA and LA at the same concentrations.

<sup>d</sup>Means with the same letters in a column denote no significant difference at  $P \leq 0.05$  by least significant difference test (LSD).

<sup>e</sup>Orthogonal contrast between MX and average of AA and LA: NS, not significant at  $P \leq 0.05$ ; \*, significant at  $P \leq 0.05$ .

을 처리하면 선충의 방제효과가 상승할 것으로 사료된다.

초산과 젖산 및 혼합액의 pH는 1.0%까지 작물에 약해가 있을 정도의 높은 산도를 나타냈으나, 0.5% 농도에서부터는 pH 5 이상으로 변화되었는데(Table 1) 이는 중성인 인산완충액의 작용의 결과로 생각된다. 기본적인 토양의 특성 중 하나가 pH의 완충기능인데(Kissel 등, 2012), 심비디움의 재배에 사용하는 배양토 역시 여러 영양원이 혼합되어 토양과 마찬가지로 완충기능이 있을 것이므로 이러한 유기산이 어느 정도 배양토에 주입되더라도 식물에 약해를 줄 정도의 배양토의 pH 변화는 크지 않으리라 생각된다.

각각의 유기산에서는 모두 pH가 높아질수록 살선충율이 낮아지는 것으로 나타나 산도가 강해짐에 따라 살선충력이 높아짐을 알 수 있다(Table 1). 그러나 같은 농도(0.1–0.5%)에서 pH가 낮은 젖산이 pH가 높은 초산보다 살선충율이 낮아짐을 알 수 있는데 이는 외부에서 내부로 확산에 의한 유입이 이루어지는 선충의 체벽(body wall)의 선택적 투과성으로 인해(Lambert와 Bekal, 2012) 분자량이 낮은 초산의 투과성이 젖산보다 높기 때문에 살선충력이 높아졌다고 생각된다.

**유기산 혼합액의 선충 방제 효과, 배양토 pH 변화 및 심비디움 생장에 끼치는 영향.** *In vitro*에서 유기산의 농도별 살선충 효과와 pH 조사 결과에서 혼합액의 살선충력의 상승효과와 산도에 의한 약해 가능성이 배제된 조건을 결정하여 선충의 방제를 위해 0.5%와 0.25%의 초산-젖산 혼합액을 사용하였고, 유기산의 선충 방제효과와 대비하기 위해 현재 시중에서 살선충 농약으로 판매되고 있는 fosthiazate(액제 30%)의 표준량(물 20 l 당 사용약량 5 ml) 및 배양을 사용하였다. 또한 뿌리혹선충 방제효과가 확인된 미생물균주(*Paenibacillus polymyxa* GBR-1) (Khan 등, 2008)도 심비디움에서의 선충 방제의 유용성과 유

기산 혼합액의 방제효과를 비교를 위해 사용하였는데 이 균주를 brain heart infusion(BHI)(CONDA, Madrid, Spain) 배지에서 28°C로 200 rpm으로 2일간 진탕배양한 후 배양액을 SDW로 희석하여 세균밀도를 10<sup>7</sup> colony-forming unit(CFU)/ml로 조정하여 세균배양액을 사용하였다.

인천광역시 소재 한 심비디움 재배 농가에 구입한 2년생 심비디움 중에서 평균적 생육을 보이는 식물체에 위의 실내실험에서 사용한 소나무재선충을 심비디움 화분 당 2,000여 마리씩 접종하였고, 접종과 동시에 유기산 혼합액, 살선충제 및 세균현탁액을 심비디움 화분 당 10 ml씩 식물체 근권에 주입 처리하였다. 처리 후 물이 흘러나오지 않을 정도로 관수한 후 25 ± 2°C의 온실에 무선구획설계(randomized block design)로 식물체를 배치하여 1일 1회 최소용수량으로 관수하면서 재배하였다. 선충의 접종 및 방제제의 처리 7일 후 화분의 배양토와 식물체의 뿌리를 수거하여 혼합한 혼합물 100 g을 Baermann funnel 법으로 5일간 선충을 추출하였다(Southey, 1986). 추출한 선충은 현미경 검경을 통해 선충 두부와 식도의 형태에 따라 소나무재선충과 Aphelenchida, 식물기생선충이 포함된 Tylenchida, Longidoridae 및 Trichodoridae, 그리고 기타 부생선충(saprobies)으로 분류한 후(Hooper, 1982), 뿌리와 배지의 혼합물에서 각각의 밀도를 3반복으로 조사하였다. 선충을 접종하지 않은 식물체는 처리 7일, 14일 및 21일 후에 배양토 분쇄하여 SDW와 1:1로 섞은 후 pH meter로 산도를 측정하였고, 21일 후에는 식물체의 생육상태를 조사하였다.

처리 7일 후 무처리 대조구에서 선충종류별 밀도는 Rhabditida에 속하는 식세균성 선충이 주종인 부생선충의 밀도가 가장 높게 나타났으며, 소나무재선충으로 추정되는 Aphelenchida 선충은 접종한 선충수를 감안하면 현저히 낮은 수준의 밀도를 나타냈고, Tylenchida와 Longidoridae 및 Trichodoridae에 속하는

**Table 2.** Nematode population densities on cymbidium plants treated with various agents 7 days after treatment

Treatment <sup>a</sup>	Aphelenchida <sup>b</sup>		Saprobies <sup>c</sup>		Plant-parasitic nematodes <sup>d</sup>	
	Density <sup>e</sup>	Control value (%) <sup>e</sup>	Density	Control value (%)	Density	Control value (%)
Control	26.0 ± 19.3X <sup>f</sup>	–	162.0 ± 94.3X	–	0.0	–
MX (0.5%)	4.0 ± 3.5Y	84.6	72.0 ± 75.2XY	55.6	0.0	–
MX (0.25%)	2.0 ± 3.5Y	92.3	40.0 ± 33.0Y	75.3	0.0	–
Fosthiazate (1x)	0.0 ± 0.0Y	100.0	30.0 ± 31.2Y	81.5	0.0	–
Fosthiazate (2x)	0.0 ± 0.0Y	100.0	16.0 ± 6.9Y	90.1	0.0	–
GBR-1	8.0 ± 6.9Y	69.2	90.0 ± 64.9XY	44.4	0.0	–

<sup>a</sup>MX = mixture of acetic acid and lactic acid at the same concentration, fosthiazate = organophosphate nematicide with standard concentration (1x) and double concentration (2x), GBR-1 = culture dilution ( $10^7$  CFU/ml) of *Paenibacillus polymyxa* GBR-1.

<sup>b</sup>Mostly *Bursaphelenchus xylophilus*.

<sup>c</sup>Mostly bacterial-feeding nematodes in Rhabditida.

<sup>d</sup>Nematodes included in Tylenchida, Longidoridae or Trichodoridae.

<sup>e</sup>Control value = (nematode density in control – nematode density in treatment)/nematode density in control × 100.

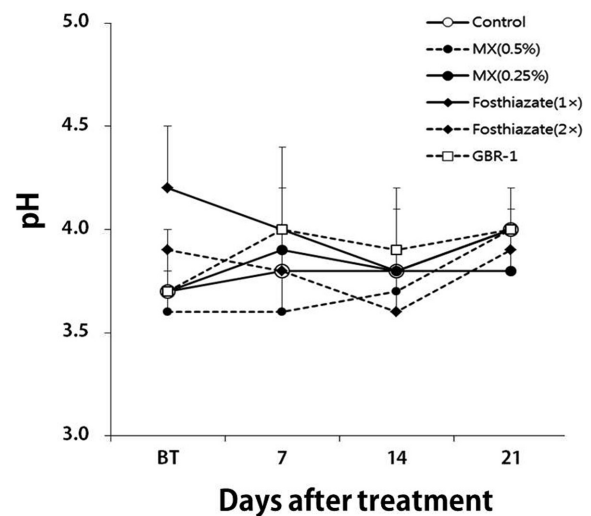
<sup>f</sup>Means with the same letters are not significantly different at  $P \leq 0.05$  by least significant difference test (LSD).

식물기생선충은 전혀 발견되지 않았다(Table 2). 식물기생선충의 불검출은 우리나라에서 아직 난류의 선충 피해가 나타나지 않아(Cho 등, 2001) 심비디움에 기생선충이 감염되어 있지 않으며, 바크를 이용한 배양토가 담긴 화분에 심비디움 재배가 이루어져 토양접촉을 통한 선충 감염이 어렵기 때문인 것으로 사료된다. 소나무재선충의 밀도가 현저히 낮은 이유는 소나무재선충의 토양 내 생존기간이 극히 짧기 때문인 것으로 사료된다(Lee 등, 2010).

각각의 방제제 처리에 따른 소나무재선충의 밀도와 방제가(control value)는 처리의 종류와 농도에 관계없이 모두 유의적으로 낮게 나타났고 처리 종류 간에는 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다. 또한 부생선충에 있어서도 소나무재선충과 마찬가지로 처리종류별로 낮은 선충 밀도 분포를 보였으나 모든 처리에 있어서 그 방제제는 소나무재선충보다 낮아져 GBR-1 과 유기산 혼합액 0.5%에서는 대조구와 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 이 결과로 볼 때 유기산 혼합액은 소나무재선충의 방제에 있어서 뿌리혹선충 방제에 효과가 있는 길항세균인 *Paenibacillus polymyxa* GBR-1 보다 높고 살선충제에 버금가는 방제효과가 있는 것으로 사료된다.

처리 후 처리 종류별 배양토의 산도는 전체적으로 pH 4.0에서 상하 pH 1.0 이내의 수준으로 처리 내 변이 범위 내에 분포함으로 처리 간 특별한 차이가 없었으며 처리 후 유의적인 pH 변화가 나타나지 않았다(Fig. 1). 처리 전 배양토의 pH는 처리 간 변이가 다소 심하였으나 처리 후에는 기일이 지날수록 변이가 작아져 처리 21일 후에는 모든 처리에서 pH 4.0에 근접하는 수준으로 처리간 변이가 감소하였다. 이는 동일한 관수 및 생육환경 조건에 지속적으로 노출됨으로써 토양의 물리화학적 성질의 균질화가 일어났기 때문으로 사료된다.

처리 21일 후 식물의 생육을 조사한 결과 고농도의 유기산 혼합액, 살선충제 및 GBR-1 처리에서도 약해 증상이 나타나지 않



**Fig. 1.** Changes of pH values of culture medium before treatment (BT) at 7-day intervals after treatments of acetic-lactic acid mixture (MX) with concentrations of 0.5% and 0.25%, nematicide fosthiazate with standard (1x) and double (2x) concentrations, and bacterial culture solution of *Paenibacillus polymyxa* GBR-1 with concentration of  $10^7$  CFU/ml. Marks and vertical bars are averages and standard deviations of three replications.

았고(Fig. 2), 식물체의 엽수, 초장, 묘조(shoot)와 뿌리의 생체중 등의 생육특성에 있어서 처리간 유의적인 차이를 발견할 수 없었다(Table 3). 그러나 뿌리길이(근장)와 줄기굵기에 있어서는 살선충제 배양 처리구, 0.5% 유기산 혼합액과 GBR-1에서 유의적으로 또는 다소 높게 나타나 이들 물질들은 식물생육을 촉진하는 효과가 다소 있을 것으로 추정된다.

이상의 결과로 볼 때, 초산과 젖산의 혼합액은 저농도에서 소나무재선충과 같은 중국 검역 선충이 바크 등 배양토를 통해 우발적으로 오염되었을 때 그 밀도를 줄여 검역 시 검출 확률을



**Fig. 2.** Growth characteristics of 2-year-old cymbidium plants treated with none (A), 0.5% MX (acetic-lactic acid mixture) (B), culture solution of *Paenibacillus polymyxa* GBR-1 with concentration of  $10^7$  CFU/ml (C) and fosthiazate with double concentration (D), showing no phytotoxicity by the treatments.

**Table 3.** Growth characteristics of 2-year-old cymbidium plants treated with control agents three weeks after treatment

Treatment <sup>a</sup>	No. of leaves	Plant height (cm)	Root length (cm)	Stem diameter (cm)	Fresh weight (g)	
					Shoot	Root
Control	23 ± 2.6X <sup>b</sup>	16.7 ± 3.2X	39.5 ± 6.6XY	17.9 ± 1.4XY	13.6 ± 2.1X	56.2 ± 24.2X
MX (0.5%)	24 ± 7.9X	18.7 ± 2.3X	45.1 ± 5.4XY	20.7 ± 4.6X	14.4 ± 1.7X	63.2 ± 32.7X
MX (0.25%)	21.3 ± 1.2X	18.7 ± 2.5X	37.5 ± 7.4XY	18.1 ± 0.8XY	12.6 ± 1.4X	47.4 ± 11.7X
Fosthiazate (1x)	15.7 ± 6.8X	18.7 ± 2.5X	27.4 ± 24.0Y	13.7 ± 4.4Y	11.0 ± 1.9X	35.1 ± 34.6X
Fosthiazate (2x)	23.7 ± 1.2X	20.0 ± 3.0X	52.2 ± 0.4X	19.4 ± 0.2XY	13.1 ± 0.3X	63.6 ± 6.3X
GBR-1	18.3 ± 5.7X	19.3 ± 4.2X	45.5 ± 7.8XY	20.9 ± 3.6X	12.7 ± 2.7X	63.3 ± 36.4X

<sup>a</sup>MX = mixture of acetic acid and lactic acid at the same concentration, fosthiazate = organophosphate nematicide with standard concentration (1x) and double concentration (2x), GBR-1 = culture dilution ( $10^7$  CFU/ml) of *Paenibacillus polymyxa* GBR-1.

<sup>b</sup>Means with the same letters are not significantly different at  $P \leq 0.05$  by least significant difference test (LSD).

줄이는데 살선충제만큼 효과적임을 알 수 있다. 이 유기산 혼합액을 적정 농도로 시용했을 때 배양토의 산성화와 약해 등 부작용이 그리 크지 않고 오히려 뿌리의 길이 생장과 줄기의 비대 생장에 다소의 도움을 줄 수 있을 것으로 생각한다. 무엇보다도 이들 유기산은 식용으로 사용하고 있거나 많은 발효식품에 함유되어 있기에 그 안전성이 뛰어나므로 심비디움 재배농가에서 안심하고 사용할 수 있다. 각각의 판매 가격(초산: US \$0.499–0.699/kg; 젖산: US \$5.0–13.0/kg; fosthiazate 10%GR: US\$7.0–9.0/kg) (<http://www.alibaba.com/product-detail/>)을 고려할 때 유기산 혼합액의 사용에 따른 방제비용은 살선충제에 의한 방제비용과 유사하거나 다소 저렴한 것으로 나타났다. 대표적인 친환경 관리 방법인 미생물을 사용한 생물학적인 방제에 있어서 경제성 문제가 가장 큰 제한요인 중 하나임을 감안

할 때(Upadhyay와 Rai, 1988), 유기산을 이용한 친환경 방제 방법의 사용이 재배 농가의 경제적 부담을 줄일 수 있을 것으로 생각된다.

이 연구에서 실내 실험에서 유기산 혼합물 0.2%에서도 100%의 살선충율을 나타낸 반면 실제 포트 실험에서는 0.25%에서 방제효과가 92.3%로 완전방제를 이루지 못하였다. 그러나 이 방제효과는 단 1회 유기산 혼합물 처리로 얻어진 것임을 감안할 때 처리회수를 늘림에 따라 완전방제에 근접하는 효과를 거둘 수 있을 것이라 생각된다. 또한 Lee 등(2010)에 의해 밝혀졌고 또 본 연구의 포트 실험에서 무처리 대조구에서의 선충집중 밀도에 비해 현저히 낮아졌음에서도 알 수 있듯이 소나무재선충의 토양에서의 생존기간이 짧다. 따라서 일부 남아있는 선충이라 할지라도 자연사멸하게 되어 수입국에서의 검역 시 검출되

지 않을 가능성이 크다.

저분자 유기산은 유기물토양개량제의 시용 후 유기물의 분해 시 생성되는 물질로 토양 내에서 지속기간이 짧아 지속적인 방제효과를 거둘 수 없다는 단점이 있다(Lynch, 1991; McBride 등, 2000; Schwartz 등, 1954). 그러나 시설 재배하는 심비디움의 경우 배양토로부터 외부로의 유기산의 소실이 화분에 의해 어느 정도 방지되며, 초기 배양토 제조, 해마다 이어지는 화분 같이 및 수출 직전 여름철 재배 등 심비디움의 재배 과정에 마치 부속유기물을 시용하여 유기산을 방출케 하듯이 주기적인 유기산 혼합액의 처리로 지속적이며 효과적인 검역 선충 방제를 수행할 수 있을 것으로 사료된다.

## 요 약

초산(acetic acid)과 젖산(lactic acid)의 혼합액(MX)의 심비디움 배양토에 오염된 소나무재선충(*Bursaphelenchus xylophilus*)의 방제효과를 조사하였다. 실내실험에서 초산과 혼합액은 5.0–1.0% (pH 2.6–4.2)에서 젖산은 5.0%에서만 100%가까운 살선충율을 나타내었고 이보다 낮은 농도(0.5–0.1%, pH 5.1–6.9)에서는 초산과 혼합액보다 젖산에서 살선충력이 유의적으로 낮아졌다. 대부분의 농도에서 혼합액의 살선충력이 초산과 젖산의 평균보다 유의적으로 높게 나타나 혼합액의 살선충력 상승효과가 있을 것으로 판단된다. 포트실험에서 유기산 혼합액(0.5%, 0.25%), 살선충제(fosthiazate, 표준량, 배량) 및 길항세균(*Paenibacillus polymyxa* GBR-1) 배양 희석액( $10^7$  CFU/ml) 등의 처리에 의해 심비디움 배양토에서의 소나무재선충의 밀도가 처리간에는 유의적인 차이가 없이 무처리에 비해 유의적으로 감소하였다. 모든 처리에서 약해가 나타나지 않았고, 처리 후 시기별 pH와 2년생 심비디움의 생육에 무처리 대조구와 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 이러한 결과와 이들 식용 유기산의 안전성과 가격을 종합하여 볼 때, 심비디움의 재배 관리 중 생육단계에 따라 이 유기산 혼합액의 지속적인 사용은 검역해충의 방제에 있어서 친환경적이고 실제적으로 유효한 하나의 방법일 것이다.

## Acknowledgment

This study was financially supported in part by the Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs (Project number; 311010-03-3-SB010), Republic of Korea.

## References

Akhtar, M. and Alam, M. M. 1992. Effect of crop residues amendments to soil for the control of plant-parasitic nematodes. *Biore-sour. Technol.* 41: 81–87.

- Akhtar, M. and Alam, M. M. 1993. Utilization of waste materials in nematode control: A review. *Biore-sour. Technol.* 45: 1–7.
- Akhtar, M. and Mahmood, I. 1994. Potentiality of phytochemicals in nematode control: A review. *Biore-sour. Technol.* 48: 189–201.
- Badra, T., Mahmoud, S. A. and Bakir, O. A. 1979. Nematicidal activity and composition of some organic fertilizers and amendments. *Rev. Nematol.* 2: 29–36.
- Bakhtiar, Y., Miller, D., Cavagnaro, T. and Smith, S. 2001. Interactions between two arbuscular mycorrhizal fungi and fungivorous nematodes and control of the nematode with fenamifos. *Appl. Soil Ecol.* 17: 107–117.
- Cayrol, J. C., Djian, C. and Pijarowski, L. 1989. Study of the nematocidal properties of the culture filtrate of the nematophagous fungus *Paecilomyces lilacinus*. *Rev. Nématol.* 12: 331–336.
- Cho, M. R., Kang, T. J., Kim H. H., Ahn, S. J., Jeon, S. U., Chun, J. Y. and Kim, Y. H. 2012. Survey on nematodes in cymbidium and chemical control of *Ditylenchus* sp. *Korean J. Appl. Entomol.* 51: 153–156. (In Korean)
- Franklin, M. T. 1982. *Meloidogyne*. In: *Plant nematology*, ed. by J. F. Southey, pp. 98–124. Her Majesty's Stationary Office, London, UK.
- Griffin, G. J., Eisenback, J. D. and Oldham, K. 2012. Widespread distribution of fungivorous *Aphelenchoides* spp. in blight cankers on American chestnut trees. *J. Nematol.* 44: 316–320.
- Hasna, M. K., Insunza, V., Lagerlof, J. and Ramert, B. 2007. Food attraction and population growth of fungivorous nematodes with different fungi. *Ann. Appl. Biol.* 151: 175–182.
- Hooper, D. J. 1982. Structure and classification of nematodes. In: *Plant nematology*, ed. by J. F. Southey, pp. 3–45. Her Majesty's Stationary Office, London, UK.
- Hooper, D. J. and Southey, J. F. 1982. *Ditylenchus*, *Anguina* and related genera. In: *Plant nematology*, ed. by J. F. Southey, pp. 78–97. Her Majesty's Stationary Office, London, UK.
- Ikonen, E. K. 2001. Population growth of two aphelenchid nematodes with six different fungi as a food source. *Nematology* 3: 9–15.
- Johnston, T. M. 1959. Effect of fatty acid mixtures on the rice styles nematode (*Tylenchorhynchus martini* Fielding, 1956). *Nature* 183: 1392.
- Khan, Z., Kim, S. G., Jeon, Y. H., Khan, H. U., Son, S. H. and Kim, Y. H. 2008. A plant growth promoting rhizobacterium, *Paenibacillus polymyxa* strain GBR-1, suppresses root-knot nematode. *Biore-sour. Technol.* 99: 3016–3023.
- Kissel, D. E., Sonon, L. S. and Cabrera, M. L. 2012. Rapid measurement of soil pH buffering capacity. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 76: 694–699.
- Lambert, K. and Bekal, S. 2002. Introduction to plant-parasitic nematodes. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-I-2002-1218-01.
- Lee, S. K., Park, J. Y., Lee, C. K., Whang, J. H., Moon, I. S., Cheon, H. M. and Heo, H. S. 2010. Improbability of root infection by the pine wood nematode in sawdust discharged from chain saw lumbering of infected trees. *Res. Plant Dis.* 16: 299–305. (In Korean)

- Lynch, J. M. 1991. Sources and fate of soil organic matter. In : *Advances in soil organic matter research : The impact on agriculture and the environment*, ed. by W. S. Wilson, pp. 231–237. Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.
- McBride, R. G., Mikkelsen, R. L. and Barker, K. R. 2000. The role of low molecular weight organic acids from decomposing rye in inhibiting root-knot nematode populations in soil. *Appl. Soil Ecol.* 15: 243–251.
- Pant, R. P., Das, M., Khan, M. R., Pun, K. B. and Medhi, R. P. 2012. Association of an ectoparasitic nematode-*Helicotylenchus microcephalus*, with poor growth of *Cymbidium* hybrids in Sikkim. *Indian Phytopath.* 65: 196–197.
- Perper, T. and Petiello, R. 1977. Population growth patterns of four species of *Aphelenchoides* on fungi. *J. Nematol.* 9: 301–307.
- Ruess, L., Erick, J. G. and Dighton, J. 2000. Food preferences of a fungal-feeding *Aphelenchoides* species. *Nematology* 2: 223–230.
- Sayer, R. M., Patrick, Z. A. and Thorpe, H. 1964. Substances toxic to plant-parasitic nematodes in decomposing plant residue. *Phytopathol. Annu. Abstr.* 54: 905.
- Schwartz, S. M., Vamer, J. F. and Martin, W. P. 1954. Separation of organic acids from several dormant and incubated Ohio soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 1954: 174–177.
- Sher, S. A. 1959. A root lesion nematode disease on *Cymbidium* orchids. *Phytopathology* 49: 458–460.
- Southey, J. F. 1986. *Laboratory methods for work with plant and soil nematodes*. Ministry of Agriculture Fisheries and Food. HMSO. London, UK.
- Stephenson, W. 1945. The effects of acid on a soil nematode. *Parasitology* 36: 158–164.
- Uchida, J. Y. and Sipes, B. S. 1998. Foliar nematodes on orchids in Hawaii. *Plant Disease* Oct. 1998, PD-13. Cooperative Extension Service. College of Tropical Agriculture and Human Resources (CTAHR), University of Hawaii at Manoa, Honolulu, Hawaii.
- Upadhyay, R. S. and Rai, B. 1988. Biocontrol agents of plant pathogens: their use and practical constraints. In: *Biocontrol of Plant Diseases*, Vol. 1, ed. by K. G. Mukerji and K. L. Garg, pp. 15–36. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, USA.
- Whitehead, A. G. and Winfield, A. L. 1982. Chemical control. In: *Plant nematology*, ed. by J. F. Southey, pp. 283–301. Her Majesty's Stationary Office, London, UK.