과수 화상병 전염 차단을 위한 전정 가위 소독 방법

Disinfection Methods of Pruning Scissor for Preventing Transmission of Fire Blight

*Corresponding author

Tel: +82-63-238-3313 Fax: +82-63-238-3838 E-mail: leeyhlee@korea.kr ORCID

https://orcid.org/0000-0002-1721-991X

임연정1 · 함현희2 · 이미현2 · 이우형2 · 이용환2*⑩

¹강원대학교 농업생명과학대학 스마트농업융합학과:² 농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 작물보호과

Yeon-Jeong Lim¹, Hyeonheui Ham², Mi-Hyun Lee², Woohyung Lee², and Yong Hwan Lee²*©

¹Interdisciplinary Program in Smart Agriculture, Interdisciplinary Pragrom in Agriculture, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea

²Crop Protection Division, National Institute of Agricultural Science, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea

Pathogens of fire blight can survive for a long time on pruning tools, etc., and fire blight can be spread through agricultural implements. In particular, in Korea, pruning is frequently performed to remove flowers, immature fruits, and succulent shoots, and this farm work is known to be a major factor of the spread of fire blight. Therefore, in this study, in order to completely sterilize pathogens on pruning shears, we verified the disinfection effect of disinfectants distributed domestically and used them to identify an effective disinfection method. When disinfecting by immersion after inoculating *Erwinia amylovora* TS3128 on the scissor blade, 70% ethanol and 1% and 0.2% sodium hypochlorite sterilized immediately 10 sec after immersion, while 30% chlorine dioxide showed little disinfection effect. When disinfecting by spraying, 70% ethanol sterilized bacteria 1 sec after spraying, but 1% and 0.2% sodium hypochlorite disinfected bacteria after 10 and 60 sec, respectively. After cutting the naturally disease occurring branches five and 100 times, the bacteria were not hardly sterilized in immersion treatment in 70% ethanol for 30 sec but perfectly disinfected over 60 sec. Considering these results, pruning shears should be disinfected by frequently immersing them in 70% ethanol for at least 60 sec during pruning work in the field.

Received April 11, 2024 Revised May 31, 2024 Accepted June 3, 2024

Keywords: Fire blight, Pruning scissor, Sanitation solution

과수 화상병은 Erwinia amylovora라는 식물병원세균이 장미과 기주식물에 침입하여 감염을 일으키는 병으로, 전 세계적으로 사과와 배나무 산업에 큰 영향을 미치고 있다(van der Zwet 등, 2012). 국내에서는 병 발생이 확인된 즉시 발병 과수와 인접한 과수를 매몰하는 방식으로 정부 주도의 적극적인 방제 정책을 펴고 있다(Park 등, 2017, 2022).

Research in Plant Disease eISSN 2233-9191 www.online-rpd.org

국내에서 과수 화상병 발생은 2015년 안성의 배나무(Park 등, 2016)와 제천의 사과나무(Myung 등, 2016)에서 처음 보고되었는데, 2015년에 43농가에서 발생한 것을 시작으로 2019년 11개시군으로 발생 지역이 확산되었으며, 총 348농가 260.4 ha가 발생·매몰되었다(Ham 등, 2020b). 그러나 화상병이 발병한 과수의 즉각적인 제거에도 불구하고 국내에서 화상병이 계속 확산되는 원인은 아직까지 밝혀지지 않았다. 다만, 2019년에 화상병이 크게 확산한 중요한 요인 중의 하나로 농작업자들이 꽃이나 가지의 병징을 정확히 알지 못하여 신고가 늦어진 것이 원인으로 보고되어 밝혀진 바 있다(Ham 등, 2020a). 화상병균은

© The Korean Society of Plant Pathology

® This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

꽃, 상처, 자연개구 등을 통해 기주에 침입하며, 비, 바람, 곤충, 사람 등에 의해 병원균이 옮겨져 확산될 수 있다(van der Zwet 등, 2012). 특히 사람은 화상병균이 장거리로 전파되는 데 큰 영향을 미친다고 알려져 있다(van der Zwet, 1994). 더욱이 화상병균은 전정 도구나 농작업복 등에서 장시간 동안 생존이 가능하고(Choi 등, 2019), 소독하지 않은 작업 도구를 통해 여름과겨울에 화상병균이 전파될 수 있다고 알려져 있다(Kleinhempel 등, 1987; van der Zwet 등, 2012).

특히, 국내에서는 사과와 배의 큰 과일을 생산하기 위하여 수정하기 전·후에 꽃을 따주거나 착과 후 적과 작업과 하계 도장지 제거를 위한 전정 작업이 이루어지는데, 이를 전문적으로 담당하는 작업단을 통해 실시하고 있다. 이들은 여러 과수원을 옮겨다니며 작업을 하는데, 이때 작업자들이 전정 작업도중이나 마친 후 다른 과원으로 이동할 때 칼날 등을 제대로소독하지 않으면 화상병 확산에 영향을 준다(Choi 등, 2019; Kim 등, 2023). 또한 칼날 등에 부착된 병원균은 건조한 환경에서는 viable but non-culturable (VBNC) 상태로 진입하기쉬우며, 다른 과원에 VBNC 상태의 병원균을 확산시킬 수 있다(Kim 등, 2023). 따라서, 화상병의 확산 방지를 위해서는 적과 또는 전정 시 작업 도구를 철저하게 소독하는 것이 다른 과원으로 화상병균이 전파되는 것을 예방하는 데 매우 중요하다.

본 연구에서는 전정 가위에 묻어 있는 화상병균을 제거하기 위하여 국내에 유통되는 소독제 중 소독 효과가 높은 소독제를 선발하고 이를 이용하여 효과적으로 화상병균을 사멸할 수 있 는 조건을 구명하였다.

소독제 선발. 전정 가위 소독제는 국내에서 주로 사용하고 있는 에탄올과 쉽게 상점에서 구할 수 있는 차아염소산나트륨 성분의 제품(4% 유한락스; YUHAN, Seoul, Korea)과 이산화염

소 성분의 제품(70% 활성탄; YOUNG BIO LAP, Daejeon, Korea)을 이용하여 가위 날 침지와 분무 처리 효과를 비교하였다. 시험에 사용한 제품들은 COVID-19 방역을 위한 보편적인 살균 제로서 이산화염소의 경우 식료품 세척제로도 국내에 사용이 허가된 물질이다(Lee 등, 2020). 소독제는 멸균수를 이용하여 99.9% 에탄올을 70%로, 차아염소산은 1%와 0.2%로, 이산화염소는 30%로 희석·제조하여 사용하였다. 시험 균주는 2015년에 안성에서 분리한 Erwinia amylovora strain TS3128 균주를이용하여 Choi 등(2019)의 방법에 따라 rifampcin 저항성 균주를 제작하여 사용하였다.

침지 소독의 경우, 시험 균주를 OD600 nm 0.1 농도로 조절한 세균액 10 μl를 멸균된 전정 가위 칼날에 떨어뜨리고 자연 건조시켰다. 세균 현탁액을 접종한 전정 가위 날 부위를 각각의 소독제 희석액에 0초, 10초, 30초, 60초, 120초 시간별로 침지한 후 전정 가위를 꺼내 날에 묻어 있는 균을 멸균된 면봉으로 취하였다. 각 처리별로 3반복씩 수행하였다. 균을 채취한 면봉은 증류수 1 ml를 담은 마이크로튜브에 넣고 균을 팔 풀어준 후 증류수를 이용하여 단계 희석한 후 rifampcin이 포함된 tryptic soybean agar (TSA; Difco, Sparks, MD, USA) 배지에 평판 도말하고, 27°C 배양기에 2일간 배양하여 콜로니를 계수하였다. 그 결과, 70% 에탄올 및 1%와 0.2% 차아염소산나트륨의 경우에는 침지 후 10초가 지나면 바로 균이 사멸되는 반면, 30% 이산화염소 처리에서는 소독 효과가 없었다(Fig. 1A).

분무 처리 시험은 침지 소독과 같은 방법으로 화상병원균이 접종된 전정 가위 날에 각각의 소독제를 분무 처리하여 처리 직후와 10초 후, 60초 후로 구분하여 전정 가위의 날에 묻어 있는 균을 멸균된 면봉으로 취하였고, 각 처리별로 3반복씩 수행하였다. 병원균의 밀도 측정은 침지 소독과 같은 방법으로 수행하였다. 시험 결과, 70% 에탄올은 분무 직후에는 바로 균이

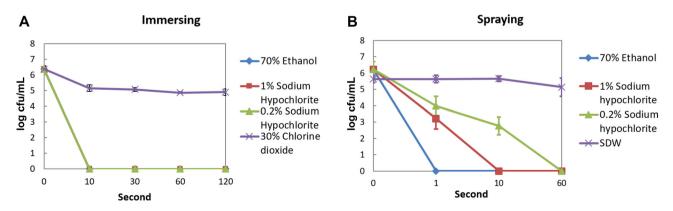


Fig. 1. Disinfection effects of immersing (A) and spraying (B) of disinfection solutions for inoculum of *Erwinia amylovora* on the blade of pruning scissors.

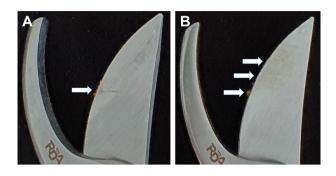


Fig. 2. Debris (white arrows) of apple tree twig cut by pruning scissors on the blade of scissors; (A) five times cutting blade, (B) 100 times cutting blade.

사멸되었지만, 1%와 0.2% 차아염소산나트륨은 각각 10초와 60초 후에 멸균되는 것을 확인하였다(Fig. 1B). 이 실험을 통해 70% 에탄올이 짧은 시간에 가장 소독 효과가 높은 것을 확인할 수 있었다. 1% 차아염소산나트륨은 침지 또는 분무 처리 모두 효과는 좋았지만, 금속 성분이 부식되는 현상(자료 미제시)이 발생하므로 전정도구 소독제로는 70% 에탄올이 적절한 것으로 판단되어 이를 선발하였다. 하지만 나뭇가지를 전정할 경우 가위 날에 잔재물이 함께 붙어 있게 되는데(Fig. 2), 분무 처리만으로는 잔재물 속에 존재하는 병원균에 대한 소독 효과가 낮아질 우려가 있다. 따라서 가장 효과가 좋은 70% 에탄올을 대상으로 분무 처리보다는 침지 처리를 통해 화상병이 자연적으로 발병한 나뭇가지를 자른 가위 날 부분의 소독 효과를 검정하였다.

화상병 감염 가지 절단 시 침지 시간 효과 구명. 2022년 8월 충주의 화상병 발생 과원에서 채집한 병든 사과나무 가 지를 전염원 재료로 사용하였다. 병든 가지의 궤양 증상 주변 의 수침상 부분을 전정 가위로 5회와 100회씩 절단한 후 즉 시 가위의 칼날 부위를 70% 에탄올에 0초, 30초, 60초, 90초 씩 침지하였고, 각 처리별로 3반복씩 수행하였다. 침지 후 바 로 가위 칼날의 절단 부위를 멸균된 면봉으로 칼날의 전체 단면을 문질러 시료를 취하였고, 절단 부위에 붙어 있는 절 단한 가지의 잔재물(Fig. 2)을 포함하였다. 시료를 취한 면봉 은 멸균수 1 ml에 넣고 균을 잘 풀어서 현탁액을 만든 후 증 류수를 이용하여 단계 희석한 다음 TSA 배지에 평판 도말하 여 27°C 배양기에 24시간 배양하였다. 배양 후 자란 세균의 colony 가운데 화상병원균의 특징을 보이는 colony를 계수 하였다. 이들 colony는 Jin 등(2023)의 방법에 따라 만들어 진 real time polymerase chain reaction (PCR) kit(과수화 상병/가지검은마름병 검출 kit; Nanohelix, Daejeon, Korea) 를 이용하여 colony PCR을 수행하여 화상병원균임을 확인

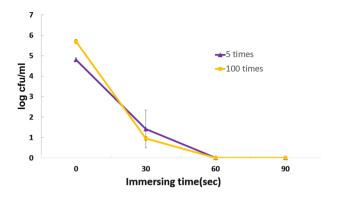


Fig. 3. Disinfection effects of immersing of the pruning scissors blades on 70% ethanol solutions according to the cutting times after cutting the fire blight diseased apple tree twigs.

하였다. 또한, 처리별로 칼날에서 처음 채취해 만들었던 세균 현탁액은 30분간 상온에 정치 후 동일한 real time PCR kit 를 이용하여 화상병원균의 밀도를 측정하여 TSA 배지 상에 서 콜로니를 계수한 결과와 비교하였다. 화상병이 자연적으 로 발병한 가지를 절단하였을 때 10⁴ cfu/ml 이상의 화상병 원균이 가위 날 표면에서 검출되었는데, 5회 및 100회 이병가 지를 절단했을 때 접종 직후에 100회 절단 시 5회 절단할 때 보다 10배 이상의 화상병원세균을 검출하였다(Fig. 3). 전정 가위 날 표면에 묻어 있는 화상병균에 대한 침지 소독 시간 에 따른 제거 효과를 검증한 결과 가지 절단 횟수에 상관없 이 70% 에탄올에 30초 동안 침지 처리에서는 완전히 세균이 사멸되지 않았지만 60초 처리 이상에서는 세균이 완전히 사 멸되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3). 이상의 결과를 종합하 면, 전정 작업 시 전정 가위를 소독하는 방법은 70% 에탄올 에 60초 이상 가위날을 침지하는 것이 가장 효과적이라는 것 을 알 수 있었다.

2019년 국내 화상병 대발생의 주요 원인 중의 하나로 화상병이 기존 발생 지역에서 먼 거리에 떨어진 지역으로 확산한 것이동일 경작자 또는 공동 농작업자에 의한 것이라는 연구 결과 (Ham 등, 2020b)와 비교해 볼 때, 전정 또는 적과 작업 시에 작업 도구의 철저한 소독 관리가 화상병 확산을 차단하는 중요한요인임을 알 수 있다. 하지만 이런 작업도구를 완전히 소독하는데 60초 이상 비교적 장시간이 소요되기 때문에, 농업 현장에서는 작업도구 소독을 기피하는 경향이 있다. 하지만 감염된 가지를 5회만 절단하여도 전염원으로 역할이 가능한 수준의 화상병균이 검출되기 때문에 수시로 작업도구를 소독하는 것이필요하다. 이렇게 잦은 소독 작업을 위하여 Fig. 4처럼 농작업을하는 동안 전정 가위를 번갈아 침지할 수 있는 소독용 거치대(Lee 등, 2022)를 작업 벨트에 휴대하여 수시로 전정 가위를 소독할 것을 제안한다.



Fig. 4. Pruning scissor disinfection cradle.

요 약

화상병은 전정 도구 등에서 장시간 생존이 가능하고 작업 도 구를 통해 화상병균이 전파될 수 있다. 특히, 우리나라에서는 꽃이나 어린 과실, 도장지 등을 제거하기 위해 전정 작업이 수 시로 이루어지는데 이런 농작업이 화상병 확산의 주요인으로 알려져 있다. 따라서, 본 연구에서는 전정 가위에 묻어 있는 화 상병균을 완전히 멸균하기 위하여 국내에 유통되는 소독제의 소독 효과를 검증하고 이를 이용하여 효과적인 소독 방법을 구 명하였다. 화상병균을 가위 날에 접종 후에 침지 소독할 경우 70% 에탄올 및 1%와 0.2% 차아염소산나트륨의 경우에는 침 지 후 10초가 지나면 바로 멸균되는 반면, 30% 이산화염소는 소독 효과가 거의 보이지 않았다. 분무 처리로 소독할 경우에 는 70% 에탄올은 분무 1초 후에는 바로 멸균이 되었지만 1% 와 0.2% 차아염소산나트륨은 각각 10초와 60초 후에 멸균되었 다. 자연적으로 화상병이 발병한 가지를 5회 및 100회 절단한 후 전정 가위 날 표면에 묻어 있는 화상병균에 대한 침지 소독 시간에 따른 제거 효과를 검증한 결과, 70% 에탄올에 30초 동 안 침지 처리한 경우 완전히 세균이 멸균되지 않았지만 60초 이 상에서는 세균이 멸균되었다. 이런 결과를 볼 때 현장에서 전정 작업 시 전정 가위를 70% 에탄올에 60초 이상 수시로 침지하 여 소독할 것을 제안한다.

Conflicts of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

Acknowledgments

This study was carried out with the support of Cooperative Research Programs (Project No. RS-2020-RD009337) from Rural Development Administration, Republic of Korea.

References

- Choi, H. J., Kim, Y. J., Lim, Y.-J. and Park, D. H. 2019. Survival of *Erwinia amylovora* on surfaces of materials used in orchards. *Res. Plant Dis.* 25: 89-93.
- Ham, H., Lee, K. J., Hong, S. J., Kong, H. G., Lee, M.-H., Kim, H.-R. et al. 2020a. Outbreak of fire blight of apple and pear and its characteristics in Korea in 2019. *Res. Plant Dis.* 26: 239-249. (In Korean)
- Ham, H., Lee, Y.-K., Kong, H. G., Hong, S. J., Lee, K. J., Oh, G.-R. et al. 2020b. Outbreak of fire blight of apple and Asian pear in 2015-2019 in Korea. *Res. Plant Dis.* 26: 222-228. (In Korean)
- Jin, Y. J., Lee, S. Y., Kong, H. G., Yang, S. I., Ham, H., Lee, M.-H. et al. 2023. Novel detection and quantification approach of *Erwinia* amylovora in vitro and in planta using SYBR Green-based realtime PCR assay. *Plant Dis*. 107: 624-627.
- Kim, Y. J., Choi, D. H., Choi, H. J. and Park, D. H. 2023. Risk of *Erwinia amylovora* transmission in viable but nonculturable (VBNC) state via contaminated pruning shears. *Eur. J. Plant Pathol.* 165: 433-445.
- Kleinhempel, H., Nachtigall, M., Ficke, W. and Ehrig, F. 1987. Disinfection of pruning shears for the prevention of the fire blight transmission. *Acta Hort*. 217: 211-218.
- Lee, S., Suh, J., Kim, J., Jang, D., Pyun, N. and Shin, K. 2020. Appropriate technology, responding to the COVID-19 pandemic redefined roles in a public health crisis (part I). *JAT*. 6: 238-255. (In Korean)
- Lee, Y. H., Rho, E., Lee, S. Y., Kong, H. G., Lee, M. H. and Ham, H. 2022. Pruning scissor disinfection cradle. Korea Patent 30-1166832.
- Myung, I. S., Lee, J.-Y., Yun, M.-J., Lee, Y.-H., Lee, Y.-K., Park, D.-H. et al. 2016. Fire blight of apple, caused by *Erwinia amylovora*, a new disease in Korea. *Plant Dis.* 100: 1774.
- Park, D. H., Lee, Y.-G., Kim, J.-S., Cha, J.-S. and Oh, C.-S. 2017. Current status of fire blight caused by *Erwinia amylovora* and action for its management in Korea. *J. Plant Pathol.* 99: 59-63.
- Park, D. H., Yu, J.-G., Oh, E.-J., Han, K.-S., Yea, M. C., Lee, S. J. et al. 2016. First report of fire blight disease on Asian pear caused

by Erwinia amylovora in Korea. Plant Dis. 100: 1946.

Park, I. W., Song, Y.-R., Vu, N. T., Oh, E.-J., Hwang, I. S., Ham, H. et al. 2022. Monitoring the reoccurrence of fire blight and the eradication efficiency of *Erwinia amylovora* in burial sites of infected host plants using sentinel plants. *Res. Plant Dis.* 28: 221-230. (In Korean)

- van der Zwet, T. 1994. The various means of dissemination of the fire blight bacterium *Erwinia amylovora*. *EPPO Bulletin* 24: 209-214.
- van der Zwet, T., Orolaza-Halbrendt, N. and Zeller, W. 2012. Fire blight: History, biology, and management. APS Press, St. Paul, MN, USA. 421 pp.