

사업구분	지역농업기술개발	수행구분	전반기	연구기간	'00~'01(2년차)
연구과제명	강원 신화종 개발 연구			연구책임자	정병찬
연구항목명	칼라 주요 병해 방제체계 확립				
세부과제책임자	환경농업연구과 지방농업연구사 이 재 홍 (033-258-5742)				
색인용어	칼라, 무름병, 병해, 방제, 약제내성균				

1. 재료 및 방법

<시험 1> 무름병균 분리동정

- 분리배지 : 변법토리가루스키 배지
- 품종별, 부위별, 시기별 무름병균 분리
- 동정 : PCR Ribotyping에 의한 간이동정(농과원 명인식박사 등에 의한 방법)

<시험 2> 무름병균 약제내성 검정

- 대상균주 : '00, '01년 전분리균주
- 대상약제 : 스트렙토마이신설페이트, 옥쏘리닉에시드
- 검정방법 : 항생제디스크 이용 균 억제밴드 관찰

<시험 3> 무름병 방제약제 선발

- 품종 : 블랙매직
- 약제처리 : 다조메입제 토양소독 등 5처리
- 시험구배치 : 난괴법 3반복(반복당 20주)
- 조사내용 : 발병주율

2. 시험성적

<시험 1> 무름병균 분리동정

◦무름병균 분리내역 : 총 53균주 분리

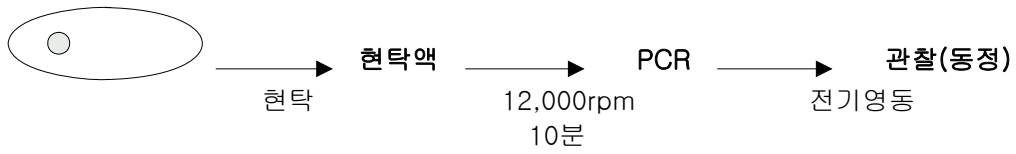
품종명	분리부위			계
	구근	줄기	절화	
Black Magic	3	12	22	37
Innocence	1			1
Golden Green		2		2
Neroli		4		4
Black Eye Beauty		3		3
Sensation		1		1
Florex Gold		2		2
Pot of Gold		1		1
품종불명	2			2
계	6	25	22	53

◦ PCR Ribotyping에 의한 무름병균 동정

- PCR-ribotyping을 이용한 세균 동정 과정(6시간 소요)

균총

원심분리

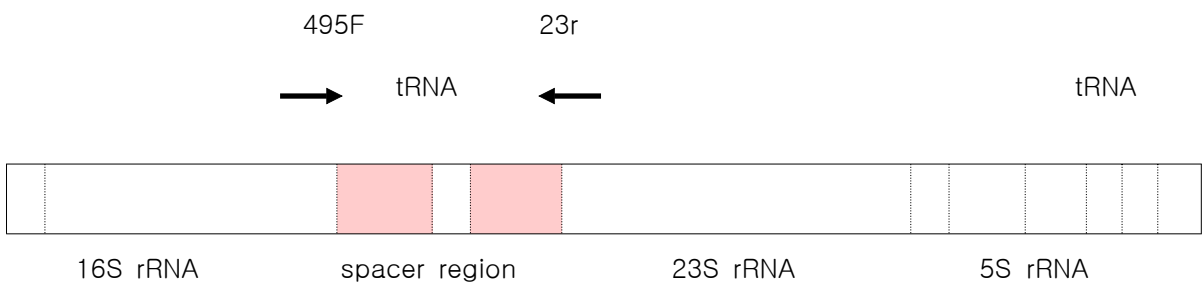


- PCR 조건 및 전기영동

세균농도 (OD ₆₀₀)	0.05 - 2.0		
Primer	495F : 5'-AGTCGTAACAAGGTAGCCGT- 3' 23r : 5'-GTGCCAAGGCATCCAG- 3'		
PCR 혼합액	완충액 : 100mM TrisHCl (pH8.3) 50mM KCl	PCR 조건	94℃ : 4분
	MgCl ₂ : 0.15mM		94℃ : 1분 35회 반복
	dNTP : 0.2mM		58℃ : 1분
	Taq효소 : 2units		72℃ : 3분
	프라이머 : 20pmol		72℃ : 10분
	BSA : 0.01g	전기영동	Seakem GTG 1.2%, 1:40

- 증폭 영역

rrn operon



- PCR Ribotyping에 의한 칼라무름병 분리균 동정결과

M Ecc Ec 4 7 9 10 11 17 19 21 26 30 34 38 41 48 50 52 M



Ecc : *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, Ec : *E. chrysanthemi*

<시험 2> 무름병균 약제내성 검정

분리년도	검정 균주수	SM*		OA**		비고
		저항성	감수성	저항성	감수성	
'00	79	24	55	0	79	
'01	52	0	52	0	52	
계	131	24	107	0	131	

* 스트렙토마이신 설페이트 10MCG, ** 옥솔리닉에시드 2MCG

<시험 3> 무름병 방제약제 선발

처리 번호	약 제 명	처리방법	발병주율(%)			
			I	II	III	평균
1	무처리	-	9.1	5.0	5.9	5.0
2	다조메입제	30kg/10a	5.9	28.6	0	11.5
3	옥소리닉에시드수화제	1,000배액	0	0	0	0
4	농용신수화제	"	0	0	12.5	4.2
5	다조메입제(30kg/10a) + 옥소리닉에시드수화제(1,000배액)		5.0	5.9	14.3	8.4

정식 : 6/18, 약제처리 : 7/25, 8/3, 8/8, (다조메입제 5/24), 조사 : 8. 20

3. 결과요약

가. 무름병균 분리동정

- 칼라 무름병균 분리는 Black Magic 등 8개품종에서 구근 6균주, 줄기 25균주, 절화 22균주 총 53균주를 분리하였다.
- 분리균 53균주중 대표적인 16균주를 선발하여 Ribotyping 시험결과 두가지 밴드 형태를 나타냈고 모두 *Erwinia carotovora*균의 형태로 나타났다.

나. 무름병균 항생제 내성검정

- 전년도 및 금년도 분리균 131균주에 대한 저항성검정 결과 옥소리닉에시드에서는 모두 감수성으로 나타났고 스트렙토마이신설페이트에서는 전년도 분리균중 24균주가 저항성으로 나타났으며 나머지는 모두 감수성이었다.

다. 무름병 방제약제 선발

- 약제처리중 옥소리닉에시드수화제가 발병주율 0%로서 가장 좋았고 다조메입제에 의한 토양소독은 오히려 무처리보다 발병주율이 높았는데 그것은 토양내 길항미생물까지 사멸시킴으로써 병원균 침입에 대한 대항능력을 상실해버렸기 때문으로 생각된다.

4. 결과활용계획

기초자료 및 영농활용지도