

11-1543
000-002
142-01

발간등록번호

11-1543000-002142-01

과산화물계 화합물 활용 주요 작물 세균 및 진균 병해의
친환경 관리 기술 개발 최종보고서

첨단생산기술개발사업 R&D Report

2018

농림축산식품부

과산화물계 화합물 활용 주요 작물 세균 및 진균 병해의 친환경 관리 기술 개발 최종보고서

2018. 3. 16.

주관연구기관 / 경남과학기술대학교
제1협동연구기관 / 세종대학교
제2협동연구기관 / (주)대성C&S

농림축산식품부

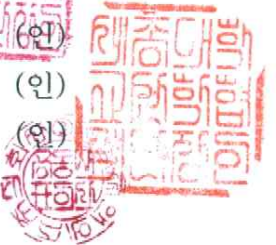
제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “과산화물계 화합물 활용 주요 작물 세균 및 진균 병해의 친환경 관리 기술 개발” (개발기간 : 2015. 12. 18. ~ 2017. 12. 17.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2018. 3. 16.

주관연구기관명 : 경남과학기술대학교 산학협력단
협동연구기관명 : 세종대학교 산학협력단
참여기관명 : (주)대성 C&S



주관연구책임자 : 홍점규
협동연구책임자 : 박창진
참여기관책임자 : 김효중

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

보고서 요약서

과제고유번호	115051-2	해당 단계 연구 기간	2015.12.18. ~2017.12.17. (24개월)	단계 구분	2015.12.18. ~2017.12.17. (24개월)
연구 사업 명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	첨단생산기술개발사업			
연구 과제 명	대 과 제 명	과산화물계 화합물 활용 주요 작물 세균 및 진균 병해의 친환경 관리 기술 개발			
	세 부 과 제 명	(주관 제1세부) 과산화초산 화합물 활용 원예 작물 병해 관리 (제1협동) 과산화초산 화합물 활용 식량 작물 병해 관리 (제2협동) 과산화초산 화합물 개발 및 상품화			
연구 책임자	홍점규	해당단계 참 여 연구원 수	총: 명 내부: 명 외부: 명	해당단계 연구 개발 비	정부: 천원 민간: 천원 계: 천원
		총 연구기간 참 여 연구원 수	총: 10 명 내부: 2 명 외부: 8 명	총 연구개발비	정부: 200,000천원 민간: 68,000천원 계: 268,000천원
연구기관명 및 소속부서명	(주관 제1세부) 경남과학기술대학교 원예과학과 (제1협동) 세종대학교 바이오산업자원공학과 (제2협동) (주)대성C&S 기술연구소			참여기업명 (주)대성C&S	
위탁 연구	연구기관명:			연구책임자:	
				보고서 면수 49쪽	

<요약문>

	코드번호	D-01			
연구의 목적 및 내용	<ul style="list-style-type: none"> ○ 최종 연구 개발 목표는 국내 주요 원예작물 및 식량작물 생산을 위한 저비용 친환경 병해 방제제의 개발 ○ 과산화초산 혼합제의 토마토, 딸기 및 벼 식물체에 대한 약해 검정 ○ 토마토, 딸기 및 벼의 주요 병원균에 대한 <i>in vitro</i> 항균 활성 검정 (토마토 풋마름병균, 딸기 위황병균, 벼 흰잎마름병균, 벼 잎집무늬마름병균) ○ 과산화초산 혼합제 처리에 의한 토양 pH에 대한 영향을 분석 ○ 토마토, 딸기 및 벼의 주요 세균 및 진균 병해 방제를 위한 과산화초산 혼합제의 적정 처리 시기 및 방법 제안 ○ 이를 바탕으로 과산화초산 혼합제의 효능 강화 방안 탐색하며 농자재로 등록 				
연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 과산화초산 혼합제의 농도별 처리에 대한 토마토, 딸기 및 벼 식물체의 약해 발생 수준 구명 ○ 토마토, 딸기 및 벼의 주요 병원성 진균(딸기 위황병균, 벼 잎집무늬마름병균) 및 세균(토마토 풋마름병균, 벼 흰잎마름병균)에 대한 <i>in vitro</i> 항균 활성 검정 ○ 과산화초산 혼합제는 토마토 풋마름병 세균을 액체 배지 상에서 <i>in vitro</i> 생장을 억제하였으며, 딸기 위황병 진균의 분생포자 발아와 균사 생장을 억제하였음 ○ 과산화초산 혼합제는 벼 흰잎마름병 세균을 액체 배지 상에서 <i>in vitro</i> 생장을 억제하였으며, 벼 잎집무늬마름병 진균의 균사 생장을 억제하였음 ○ 토마토 풋마름병 방제를 위하여 과산화초산 혼합제 1% 희석액을 식물체 주변에 토양 관주가 효과적임 ○ 딸기 위황병 방제를 위하여 딸기 배양 상토 살균에 효과적이었으며, 딸기 생육기를 고려하여 과산화초산 혼합제의 희석액을 처리해야 함 ○ 0.02% 과산화초산 혼합제의 토양 처리가 딸기 위황병의 발생을 지연시켰음 ○ 5% 과산화초산 혼합제의 살포 처리는 벼 흰잎마름병의 발생을 억제시켰음 ○ 0.5% 과산화초산 혼합제의 1회 살포 처리로 벼 잎집무늬마름병을 감소시켰으며, 3회 처리는 병 방제 효율을 증가시켰음 ○ 과산화초산 화합물의 다양한 조성물을 개발하여 독성 검사를 하였으며 안정적인 조성물의 조합으로 최적화를 이루어 특허 출원함 				
연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 과산화초산 혼합제를 활용하여 병 발생에 의하여 많은 수확량 감소를 초래하는 토마토 풋마름병, 딸기 위황병, 벼 흰잎마름병과 잎집무늬마름병 방제를 위한 친환경적 방제제로의 적용이 기대됨 ○ 본 연구 성과를 바탕으로 고질적으로 병 방제가 어려운 다양한 작물 병에 대해 적용 방법을 제시할 수 있을 것으로 기대됨 				
중심어 (5개 이내)	과산화초산 화합물	페로산	병 방제	친환경	항미생물

< SUMMARY >

		코드번호	D-02			
Purpose & Contents	<ul style="list-style-type: none"> ○ Development of low cost- and eco-friendly disease management agents for sustainable horticultural and stable food crop production ○ Evaluation of phytotoxicity in tomato, strawberry and rice plants by peroxyacetic acid mixture treatment ○ Evaluation of <i>in vitro</i> antimicrobial activity and <i>in planta</i> crop protection efficacies in tomato, strawberry and rice diseases by peroxyacetic acid mixture treatment ○ Registration of peroxyacetic acid mixture as an eco-friendly disease management agent 					
Results	<ul style="list-style-type: none"> ○ Dose-dependent phytotoxic effect of peroxyacetic acid mixture on tomato, strawberry and rice plants were investigated ○ <i>In vitro</i> antibacterial activity of peroxyacetic acid mixture on <i>Ralstonia pseudosolanacearum</i> and <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>, as well as <i>in vitro</i> antifungal activity on <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>fragariae</i> and <i>Rhizoctonia solani</i> were investigated ○ Applying peroxyacetic acid mixture effectively controlled tomato bacterial wilt, strawberry Fusarium wilt, rice bacterial blight and rice sheat blight ○ Disease protection efficacies were dependent on treatment method and concentration of peroxyacetic acid mixture ○ Peroxyacetic acid mixture was applied for a domestic patent as an eco-friendly disease management agent after toxicity tests 					
Expected Contribution	<ul style="list-style-type: none"> ○ Expected for an eco-friendly disease management during tomato, strawberry and rice plants against tomato bacterial wilt, strawberry Fusarium wilt, rice bacterial blight and rice sheat blight using the peroxyacetic acid mixture ○ Expected for application of the peroxyacetic acid mixture for other economically important crop productions 					
Keywords	peroxyacetic acid mixture	Perosan	disease control	eco-friendly	antimicrobial	

< Contents >

1. Research Introduction	1
2. Current Technology Trends	5
3. Research Results	7
4. Outcome & Contribution	43
5. Application Plan	44
6. Information abroad	45
7. Security	45
8. Instruments	45
9. Research Safety	45
10. Research Achievement	47
11. Others	47
12. References	47

< 목 차 >

1. 연구개발과제의개요	1
2. 국내외 기술개발 현황	5
3. 연구수행 내용 및 결과	7
4. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	43
5. 연구결과의 활용계획 등	44
6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보	45
7. 연구개발성과의 보안등급	45
8. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비현황	45
9. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적	45
10. 연구개발과제의 대표적 연구실적	47
11. 기타사항	47
12. 참고문헌	47

1. 연구개발과제의 개요

코드번호	D-03
------	------

1-1. 연구개발 목적

<최종목표>

- 국내 주요 작물 생산을 위한 저비용 친환경 병해 방제제의 개발

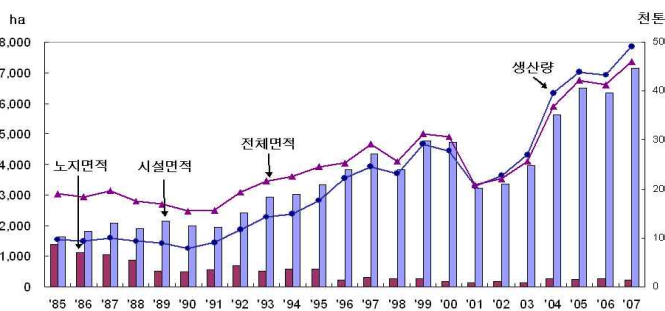
<세부목표>

- 과산화초산 혼합제의 토마토, 딸기 및 벼에 대한 약해검정
- 과산화초산 혼합제의 토마토, 딸기 및 벼의 주요 병원균에 대한 *in vitro* 항균 활성 검정
- 과산화초산 혼합제의 토양 pH 및 유용 미생물에 대한 영향 분석
- 토마토, 딸기 및 벼의 주요 세균 및 진균병해 방제를 위한 과산화초산 혼합제의 적정 처리 시기 및 방법 제안
- 과산화초산 혼합제의 효능 강화 방안 탐색
- 과산화초산 혼합제의 농자재 등재

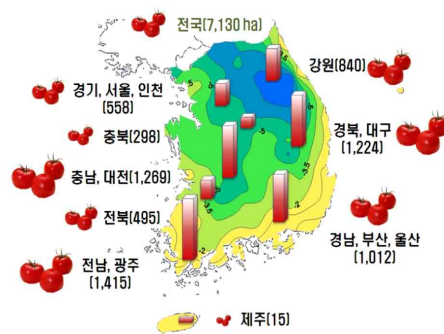
1-2. 연구개발의 필요성

가) 국내 토마토와 딸기 시설재배 현황

- 우리나라의 시설원예 면적은 2007년을 기준으로 52,000ha이며 이중 비닐온실이 50,000ha, 유리온실이 300ha, 복합형구조 온실이 1,700ha를 차지하고 있음.
- 토마토 생산량은 20만톤 대 내에서 변동하다가 2004년부터 급속히 증가하여 2005~2006년 42만톤 대를 유지하며 현재까지 지속적으로 생산량이 증가하고 있으며, 노지재배보다는 주로 시설 내에서의 양액재배가 주를 이룸.



[그림 1] 토마토의 생산량과 재배면적



[그림 2] 전국 토마토 재배면적현황

- 딸기는 2011년 5,816 ha였던 재배 면적이 2013년에 6,890 ha으로 증가될 정도로 재배 면적이 전국적으로 꾸준히 증가하는 추세임. 또한 기술의 집적에 힘입어 생산량은 171,519톤에서 216,804톤으로, 생산액은 8,940억에서 13,359억으로 증가될 만큼 상당한 증가가 이루어지고 있음. 특히 홍콩, 싱가포르 등으로의 수출이 이루어지고 있는 고부가가치 작물로 자리매김함.

(단위 : ha, kg/10a, 톤)

년도	계			노지재배			시설재배		
	면적	단수	생산량	면적	단수	생산량	면적	단수	생산량
1995	7,394	2,279	168,528	1,193	1,354	16,151	6,201	2,457	152,377
1996	7,143	2,381	170,089	907	1,437	13,036	6,236	2,519	157,053
1997	6,303	2,399	151,199	731	1,439	10,525	5,572	2,525	140,678
1998	6,553	2,373	155,521	600	1,366	8,197	5,953	2,475	147,324
1999	6,327	2,384	152,481	579	1,511	8,749	5,748	2,501	143,732
2000	7,090	2,546	180,501	535	1,473	7,878	6,555	2,633	172,623
2001	7,567	2,682	202,966	348	1,418	4,935	7,219	2,743	198,031
2002	7,816	2,686	209,938	365	1,399	5,108	7,451	2,749	204,830
2003	7,503	2,738	205,427	331	1,396	4,622	7,172	2,800	200,805
2004	7,329	2,763	202,500	271	1,288	3,491	7,058	2,820	199,009
2005	6,969	2,898	201,995	260	1,435	3,732	6,709	2,955	198,263
2006	6,813	3,013	205,307	333	1,508	5,022	6,480	3,091	200,285

* 농림통계연보('05~'06)

[표 1] 국내 딸기 생산 동향

(단위:톤, 천톤)

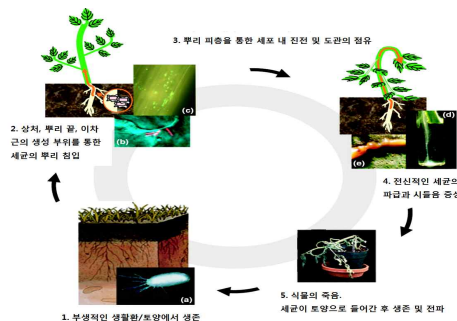
구분	년도	'95	'00	'01	'02	'03	'04	'05	'06
신선 딸기	금액	485	5,786	6,678	3,099	1,542	1,399	837	3,115
	물량	94	1,128	1,456	743	261	185	124	417
전체	금액	4,856	9,531	11,804	5,846	4,497	4,166	4,355	5,864
	물량	2,420	3,470	4,706	2,863	1,740	1,217	926	1,039

* 농수산물유통공사 무역정보 자료

[표 2] 국내 딸기 수출 현황

나) 시설 토마토와 딸기의 주요 병해 발생

- 야간 온도가 낮고 습도는 매우 높아지는 현상이 지속될 때에 토마토의 잿빛곰팡이병, 역병, 딸기의 잿빛곰팡이병 등의 발생율이 가파르게 상승함.
- 토마토 흰가루병은 노지재배에서는 6~7월과 9~10월에 주로 발생하게 되나 피해가 큰 편은 아님. 시설재배에서는 일교차가 큰 계절인 3~6월과 10~11월에 많이 발병.
- 고온 건조한 날씨가 지속될 때에 다양한 종류의 바이러스 병해 발생양이 증가함. 특히 지난 2008년 6월 경남 통영의 시설 토마토 농가에서 담배가루이에 의하여 전염되는 토마토 황화 잎 말림 바이러스(*Tomato yellow leaf curl virus, TYLCV*)가 처음 발견된 이후 전국적으로 피해가 증가하는 추세.
- 온도가 올라가는 6~10월 고온기에 토마토 풋마름병이 많이 발생. 토양 내에 있는 *Ralstonia solanacearum* 세균이 상처, 뿌리 끝 및 이차근의 생성 부위를 통하여 토마토에 침입하며 뿌리 피층(cortex)을 통한 세포 내 진전 및 도관의 점유가 이루어짐. 토마토 전신에 세균이 파급되며 이 결과 시들음 증상이 심화됨.



[그림 4] 토마토 풋마름병 발생 생애

- 딸기의 육묘 단계에서는 탄저병, 위황병 등의 토양 전염성 병해의 발생이 많이 일어나며, 정식 후 본포에서는 위황병 발생이 지속적으로 문제가 될 뿐만 아니라 잿빛곰팡이병과 흰가루병의 발생이 증가함.
- 딸기 위황병은 토양 전염성 진균 *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*에 의하여 발생하는데 육묘기 뿐 아니라 주로 개화기부터 수확기에도 많이 발생. 새 잎의 소엽이 누렇게 되고 작아지며 비틀어지거나 안쪽으로 말리는 기형이 됨. 병든 포기가 위축되고 불량하며 런너의 발생도 적음. 감염 크라운, 엽병, 열매 자루의 관다발 조직이 갈변되며 뿌리의 갈변 부패도 관찰됨.



[그림 5] 위황병 발생에 의한 딸기 식물의 병징



[그림 6] 겨울철 딸기와 토마토의 병해충 발생 주의 정보

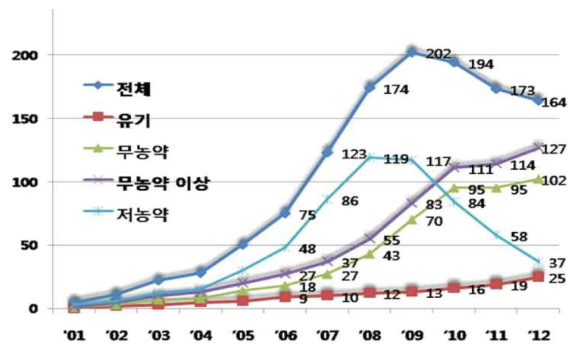
다) 벼의 최근 병해충 발생 현황

- 농촌진흥청은 최근 고온성 해충인 벼멸구, 흰등멸구, 흑명나방과 병해로는 잎도열병, 잎집무늬마름병-*Rhizoctonia solani*(sheath blight), 흰잎마름병-*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*(bacterial blight)이 빈발할 것으로 우려되고 있다고 밝힘.
- 잎 도열병은 거름기가 많은 논에 비가 자주 올 경우 쉽게 발병하는데 병무늬가 생기면 급속히 확산될 우려가 있어 수시로 예찰해 방제해야 함. 벼줄무늬잎마름병은 애멸구에 의해 전염되는 바이러스병으로 논에 애멸구가 발생하면 즉시 적용 약제를 살포해야 함.
- 최근 지구 온난화의 영향으로 인하여, 벼 재배지의 주요 병으로 잎집무늬마름병 (*Rhizoctonia solani*)의 발생이 크게 증가. 잎집무늬마름병은 벼 포기의 밑둥인 잎집에서 진균에 의해 검은 무늬가 생기면서 발생. 병 방제를 위해서는 중간 물 떼기를 잘해 주고 병든 줄기가 20% 이상 나타나면 적용약제를 뿌리는 것이 일반적인 방제법임.

라) 친환경 병해 방제제 연구 개발의 현황과 필요성

- 수확량을 목적으로 선발육종한 결과 재배되는 작물들은 기존의 원형 야생식물과 매우 다르게 육종되는 경우가 많이 있었으며 종종 기존의 병저항성 성질을 잃어버리며 병해충에 약해지는 경우가 발생하고 인간이 추가로 공급할 수 있는 토양의 양분은 그 육종을 위한 목적 형질로 고려되지 못하는 경우가 많아 왔음.

- 최근까지도 식물병을 관리하기 위해서는 화학적 방제 방법이 널리 사용되어 왔고 생장을 촉진시키기 위하여 지속적인 화학 비료의 사용이 요구되어 왔음.
- 최근 전 세계적으로 모든 분야에 있어서 가장 부각되는 키워드는 ‘친환경 (green)’ 임. 국내에서도 환경보존에 대한 국민적 공감대가 커지고 소득 수준이 높아지면서 먹거리 자체의 품질 뿐만 아니라 안전성에 대한 관심이 높아지고 있음.
- 지구적인 ‘친환경’ 으로 토양과 수질 환경을 직접/간접적으로 오염 시키는 식물 생육을 위한 필요 이상의 비료의 사용과 병원균 방제를 위한 과도한 농약의 사용이 다음 세대로 물려줄 환경을 황폐하게 하고 있다는데 공감하고 있음.
- 또한 생활 수준이 높아지면서 점점 친환경 농업의 중요성이 강조되고 있고 식물병 관리와 생산량 증대를 위해 당연히 사용되어 왔던 농약등 사용에 부정적인 의식이 쌓이기 시작.
- 친환경적이고 지속가능한 농업을 이루고자 하는 노력의 일환으로 증가하는 식물 병해 발생을 저지하기 위한 새로운 방제법들의 개발이 연구되고 있으며, 주로 다양한 종류의 유기물 또는 천연물 유래 추출물을 처리하여 병 발생을 감소시키거나, 다양한 기작의 길항 미생물을 도입하여 식물 병원균을 억제하는 방안들이 제시되고 있음.



[그림 기] 친환경농산물 재배면적

- 딸기 위황병은 현재까지 토양 소독 외에는 구리 수화제 및 길항 세균을 활용한 방제법이 제시된 이래로 어떠한 친환경적인 적절한 방제법이 제시되지 못하고 있음. 이는 토양에 오랫동안 생존하는 위황병균의 후막포자의 존재 때문인 것으로 생각됨. 따라서 육묘기와 본포에서의 딸기 위황병 관리를 위하여 새로운 접근법이 절실한 상황.
- 특히 과산화수소 및 산화질소의 혼합처리에 의하여 토마토 풋마름병 세균에 대하여 증가된 항 세균 능력을 바탕으로 병 발생의 감소가 보고됨.
- 최근 토양에 개량제, 식물 정유, 길항 세균, 식물생장촉진 근권세균 및 식물방어활성제의 처리에 의하여 토마토 풋마름병의 친환경적인 관리법이 제시되고 있음.
- 토마토 풋마름병의 방제를 위하여 현재까지 토양 소독제 및 항생제 처리에 의한 방제법들이 제시되어 오고 있으나, 잔류 토양 소독제에 의한 토마토의 약해 발생 우려와 잦은 항생제 처리에 의한 내성 균주의 발생이 염려되고 있는 실정. 몇몇 구리 화합물과 항생제 기반 살균제의 처리에 의하여 국내의 토마토 풋마름병 발생 감소 효과가 보고됨.

- 벼 흰잎마름병은 태풍 또는 집중호우 등의 영향으로 물을 통하여 전염되는 세균병으로 발생시기가 매년 빨라지고 있으며 이상기후로 인해서 그 병원성이 갈수록 증가하고 있음. 특히 농촌진흥청 국립식량과학원에 따르면 벼 흰잎마름병의 균계 가운데 병원성이 강한 균계(K3a·K4·K5)가 늘어나 수량 및 미질 저하가 우려되고 있음.
- 벼 흰잎마름병은 한번 발병하면 기존의 약제로는 방제가 어렵다고 인식되고 있으며 품종에 따라 발병에 차이가 있어서 친환경재배에 있어서는 품종선택이 여전히 가장 중요한 점으로 고려되고 있음.
- 친환경제제로 특허 등록된 미생물제제 등이 있으나 생균제이므로 구입 즉시 사용해야 하며 미생물제품의 단가가 높고, 품질이 균일하지 않아 최종수요자인 농가가 이용하는데는 아직 많은 어려움이 있음.
- 벼 잎집무늬마름병의 경우는 지금까지 이 곰팡이 병에 대한 저항성품종이 거의 없는 상황이기 때문에 경종적인 방제와 약제방제가 주로 사용되고 있음.
- 친환경방제 방법에 대한 선행 연구가 미미한 실정으로 라지벳취병 방제를 위해 개발된 약제를 이 벼 잎집무늬마름병 방제에도 사용하고 있고, 천연 식물성 항균물질을 이용한 방제법 등이 개발되어 있으나 아직은 일반 약제를 통한 방제가 주를 이루고 있는 상황임.

1-3. 연구개발 범위

- 가) 과산화초산 혼합체의 처리 농도와 방법에 따른 작물에 대한 약해 검정
- 나) 과산화초산 혼합체의 작물 병원성 세균 및 진균에 대한 *in vitro* 항균 활성 검정 및 최소억제 농도 결정
- 다) 주요 작물의 세균병 및 진균병 방제를 위한 과산화초산 혼합체의 처리 농도, 시기, 횟수 결정
- 라) 과산화초산 혼합체의 항균 활성 효능 강화 방안 탐색
- 마) 과산화초산 혼합체의 제제화 및 상품화

2. 국내외 기술개발 현황

	코드번호	D-04
<ul style="list-style-type: none"> ○ 국외에서는 이미 과산화초산 화합물이 친환경적이고 지속적인 시설 원예를 위한 병해충 방제의 대체제로 인식이 되기 시작함. ○ 과산화초산 및 과산화초산 함유 혼합제를 이용하여 미생물을 제어하려는 노력들이 이루어져왔으며, 상품화되어 출시된 다양한 예들이 존재함. 일반적으로 시설 소독용으로 사용되거나 과채류의 과실 수확 후 저장 전에 처리하여 유통 기간을 늘리려는 목적으로 실시함. ○ 브라질 Peroxidos do Brasil사(社)에서 두 종류의 과산화초산 혼합제인 Proxitane® 0510과 		

Proxitane[®] 1512를 출시하였음. Proxitane[®] 0510은 과산화초산 5%, 과산화수소 18%, 아세트산 15%로 구성되어 있으며, Proxitane[®] 1512는 과산화초산 15%, 과산화수소 23%, 아세트산 16%로 구성되어 있음. 두 물질 살진균, 살세균, 살바이러스 제제로 제시됨. Proxitane[®] 0510을 수경 재배 중의 토마토 식물에 처리하였을 때에 0.05% 이상의 처리에 의하여 약해가 발생하는 것이 발견됨(Vines et al. 2003). 어느 종류인지는 밝히지 않고 있으나 Proxitane[®]의 처리에 의하여 방울 토마토 표면의 *Salmonella* 세균의 수가 상당히 감소하였음을 보고함(José & Vanetti 2010).

- 수경 재배 중인 물냉이(watercress)에 과산화 초산 혼합제를 0.04% 농도로 첨가한 결과 뿌리 생육을 위한 산소 공급이 원활하게 이루어져 전체 생육 지표가 상승되었을 뿐 만 아니라 생산량이 증가함(Carrasco et al. 2011).
- 미국 Ecolab사(社)에서 출시된 Tsunami[®] 100는 과산화초산 15.2%와 과산화수소 11.2%를 함유하고 있는 혼합제재로서 여러 나라에서 그 활용 방안이 제안되어 왔음. 파프리카, 오이, 딸기 등의 과채류의 과실에 처리한 Tsunami[®] 100에 의하여 식중독을 유발하는 *Salmonella* spp. 세균의 불활성화를 유도하였음(Yuk et al., 2006). 수확 후 토마토와 파프리카를 500 mg/litre의 농도로 희석한 Tsunami[®] 100에 1분간 세척하고 건조시킨 후 식물 병원성 진균 *Rhizopus stolonifer*를 접종한 결과 접종 25일 후까지 썩음 증상이 나타나지 않음(Alvaro et al. 2009). 동일 회사에서 출시한 Tsunami[®] 200을 사과, 칸탈루프, 딸기, 상추, 토마토의 과실 표면에 적용하여 *Enterobacter sakazakii* 세균을 감소시켰김(Kim et al. 2006).
- 각 회사별로 출시된 과산화 초산 혼합제들이 구성 성분이 모두 다름을 알 수 있음.
- 200 μ l/liter 농도의 과산화 초산의 단독 처리에 의하여 딸기 열매에 *Botrytis cinerea*에 의해 발생하는 잿빛곰팡이병의 발생이 66% 가량 감소함(Abd-Alla et al. 2011).
- 영국 Certis사(社)에서 개발한 Jet 5(5% 과산화초산)으로 수선화 구근을 처리하여 *Fusarium oxysporum* f. sp. *narcissi*에 의한 밀둥 썩음병과 줄기 선충에 의한 피해를 감소시켰김(Hanks & Linfield 1999). 특히 포름알데히드로는 사멸시킬 수 없었던 *F. oxysporum* f. sp. *narcissi*의 후막포자(chlamydospore)의 파괴한 것으로 보아 주요 작물에서 발생하는 다양한 종류의 *Fusarium* 시들음병 방제가 가능할 것으로 생각됨. Jet 5는 또한 감자의 저장에 사용이 제안되기도 하였으며, 최근 영국 전역에서 문제가 되고 있는 *Chalara fraxinea*에 의한 진균성 병해인 서양물푸레나무 잎마름병(ash dieback)을 방제하기 위하여 제안됨.
- Peroxyacetic acid의 처리는 4℃의 냉장 조건에서 식중독 세균인 *Salmonella enterica*와 식물 병원성 세균인 *Pectobacterium carotovorum*의 biofilm을 분산시키는 효과가 있었으며, 각각의 세균에 대하여 MAHMA와 molsodamine과 같은 소독제와 혼합할 경우 biofilm 분산 효과가 더욱 좋아졌음(Marvasi et al. 2016).
- Peroxyacetic acid의 상업화 산물인 PERACLEAN[®]5의 첨가로 토마토 잿빛곰팡이병균인 *Botrytis cinerea*의 포자 발아와 균사 성장 억제를 위한 두 종류의 살균제 SWITCH(26.7% boscalide, 6.7% pyraclostrobine)와 SIGNUM(37.5% cyprodinil, 25% fludioxonil)의 효과를 상

당히 증가시킬 수 있었음(Ayoub et al., 2017).

- 딸기 열매를 8°C에서 보관하는 중에 열매에 발생할 수 있는 다양한 미생물들을 제어하기 위한 시도로 과산화초산 화합물이 매우 효과적이었으며, 초음파(ultrasound)를 함께 처리하면 그 효과가 매우 증가하였음(Rosário et al. 2017).
- 과실 수확 전에 처리에 의하여 저장 병 발생을 감소시키려는 노력들이 이루어지고 있으나 육묘 단계 및 작물의 생육 중에 사용하여 식물 병을 방제하려는 시도들은 상대적으로 미미함.
- 최근에는 과산화초산 화합물 단독으로 처리하기 보다는 기존의 살균제나 소독제에 첨가하여 그 효율을 증가시키기 위한 방안으로 소량의 과산화초산 화합물을 처리하는 방법들이 제시되고 있음.
- 국내 연구진에 의하여 과산화초산 화합물의 식물 병원균에 대한 항균 활성이 제시됨. 이 물질은 소독제로 사용이 허가되었으나, 최근 토양 소독 등의 다양한 기구의 살균을 위하여 그 활용이 제시되고 있음.

3. 연구수행 내용 및 결과

	코드번호	D-05
○ 연구개발 방법과 결과		
[주관 1세부과제: 과산화초산 화합물 활용 원예 작물 병해 관리]		
가) 과산화초산 혼합제의 처리 농도와 방법에 따른 토마토와 딸기 식물에 대한 약해 검정		
- 토마토 식물과 딸기 식물에 과산화초산 혼합제의 농도별 희석액을 제조하여 처리한 후 약해가 발생하는 농도와 처리 양을 결정.		
- 다양한 농도로 과산화초산 혼합제 원액을 사용하여 이를 물로 희석하여 퍼센트(%) 단위의 용액을 제조. 제조 시 과산화초산 혼합제 원액의 휘발성과 독성으로 인하여 흡 후드 하에서 제조. 과산화초산 혼합제의 다양한 농도의 희석액을 50-ml 짜리 코니칼 튜브에 10 ml씩 분주.		
- 5주 동안 생육한 5엽기 토마토의 본엽 제3엽을 절단하여 생체 중을 측정하고 절단 엽의 엽병을 다양한 농도의 과산화초산 혼합물 각 용액에 침지. 엽병 침지 후 7일 동안 매일 생체중 변화를 측정하여 생육 저해 여부를 평가.		
- 지름 8 cm와 12 cm의 등근 포트에 각각 재배 중인 토마토와 딸기 식물의 지체부에 식물 당 각각 10 ml와 20 ml 씩 다양한 농도의 과산화초산 혼합제를 토양 관주 처리 후 잎 면적과 엽록소의 변화량의 측정하여 생육 저해 여부를 평가. 첫 번째 처리 후 3일		

간격으로 처리 후 2주 후 생육 평가.

- 페로산의 처리는 수용액의 pH를 낮추는 효과가 있으며, 처리된 페로산의 농도가 높을수록 수용액의 pH는 상당히 감소(Fig. 1-1A). 페로산 처리 6일째까지 비슷한 경향을 나타냄.
- 토마토 엽병을 농도별로 희석한 페로산 수용액에 꽃았을 때에 낮은 농도의 페로산 처리구에서의 pH는 회복이 일어났으나, 높은 농도의 페로산 처리구에서는 pH의 회복이 일어나지 않았음(Fig. 1-1B). pH가 감소된 페로산 처리구에서의 엽병의 생체중은 비례하여 감소하였음.
- 0.1% 이상의 페로산 농도가 식물체에 직접적으로 유입되었을 때에 식물체에 상당한 피해를 주는 것으로 밝혀짐.
- 엽병 침지에 의한 페로산의 약해 수준은 큐피랑 품종과 베네키아 220 품종에서 비슷한 수준으로 관찰됨.

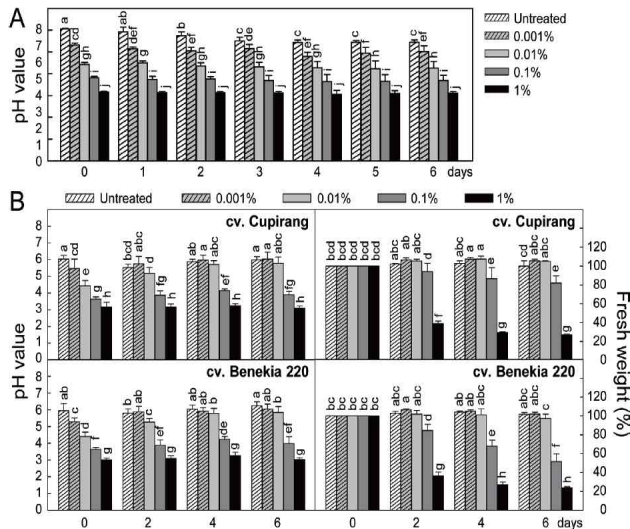


Fig. 1-1. Temporal pH changes of aqueous solution containing different concentrations of Perosan and responses of Perosan-treated detached tomato leaves by the Perosan treatments. (A) The pH changes in Perosan-treated water (0.001, 0.01, 0.1 and 1%) for 6 days without placing petioles of detached tomato leaves (B) The pH changes in Perosan-treated water (0.001, 0.01, 0.1 and 1%) with petioles of detached tomato leaves (cv. Cupirang and cv. Benekia 220), and growth of the detached tomato leaves treated with different concentrations of Perosan for 6 days. Relative fresh weights were measured in the detached tomato leaves.

- 큐피랑 품종과 베네키아 220 품종을 포트에서 4주간 재배한 후 포트에 농도별로 희석한 페로산 수용액을 토양 관주하여 토마토 식물의 약해를 관찰함(Fig. 1-2)

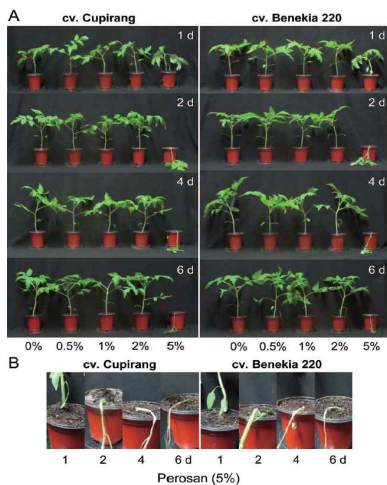


Fig. 1-2. Phytotoxic effect of Perosan treatment onto tomato seedlings growing in pots. (A) Phytotoxic effect in the four-week-old tomato seedlings (cv. Cupirang and cv. Benekia 220) by drenching different concentrations (0, 0.5, 1, 2 and 5%) of Perosan solution into the soil mixtures in pots. Photos were taken 1, 2, 4 and 6 days after Perosan treatments. (B) Collapsed stem basal parts of the tomato seedlings damaged by 5% of Perosan treatment. Enlarged photos were taken at 6 days. Values presented are means, and error bars indicates the standard errors of the means of four independent experimental replications. Means followed by the same letter are not significantly different at 5% level by least significant difference test.

- 5% 페로산 수용액 처리에 의하여 두 품종의 토마토 식물은 심각한 약해를 받았으나, 2% 이하의 페로산 수용액 처리에 의해서는 식물 약해가 발생하지 않았음.
- 딸기 매향 품종을 포트에서 재배한 후 포트에 농도별로 희석한 페로산 수용액을 토양 관주하여 식물의 약해를 관찰함(Fig. 1-3).
- 10% 페로산의 토양 관주로 인하여 딸기 식물체는 심각한 약해를 받았으며, 1% 이하의 페로산 농도에 의해서 눈에 띄는 약해는 관찰할 수 없었음(Fig. 1-3A).
- 심각한 약해가 초래된 식물의 뿌리는 갈변되어 있었음(Fig. 1-3B).
- 페로산에 의한 약해를 정량화하기 위해 잎에서의 전해질 유출을 측정한 결과, 10% 페로산 처리에 의하여 심각한 전해질 유출이 나타남(Fig. 1-3C).

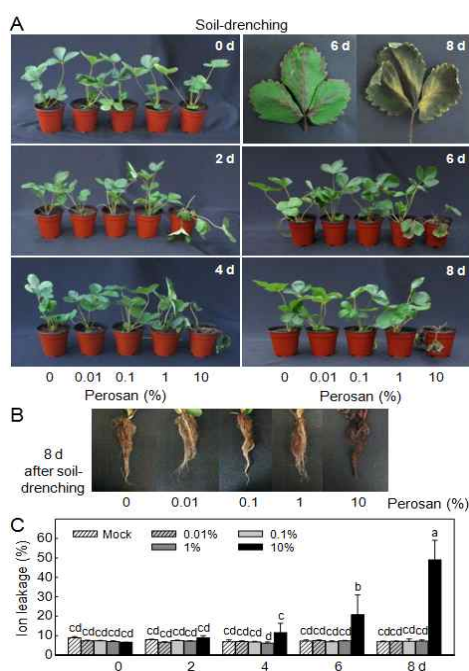


Fig. 1-3. Responses of strawberry plants treated with different concentrations of Perosan (0, 0.01, 0.1, 1 and 10%). Twenty ml of each Perosan solution was poured into crown part of the plants. (A) Phytotoxicity in the aerial parts of strawberry plants treated with high concentration of Perosan overtime. (B) Phytotoxicity in the strawberry plant roots treated with high concentration of Perosan. (C) Increases in electrolyte leakages from the leaves damaged from Perosan drenching application. Means followed by the same letter are not significantly different at 5% level by least significant difference test. Error bars represent the standard errors of the means of four individual experimental replications.

나) 과산화초산 혼합물의 토마토 풋마름병 세균에 대한 *in vitro* 항균 활성 검증

- 토마토 풋마름병 세균의 배양: *Ralstonia pseudosolanacearum* 균주 GMI1000을 TTC 고체 배지에서 이를 간격으로 계대 배양하여 주며 액체 배양시 단일 균총을 취하여 15 ml-짜리 코니칼 튜브에 담긴 4 ml의 TTC 액체 배지에 접종. 30°C 진탕 배양기에서 하루 동안 배양하여 토마토 풋마름병 세균 배양액을 얻음.
- 토마토 풋마름병 세균 배양액을 마이크로튜브에 옮겨 원심분리하고 상등액을 버린 후 세균 침전물을 살균수로 희석하고 이를 다시 원심분리하고 상등액을 버림으로써 남은 배지 성분을 모두 제거. 최종 세균 침전물(pellet)을 살균수로 희석하여 세균 현탁액 농도를 분광광도계 600nm 조건에서 흡광도가 0.15가 되도록 조정, 이는 토마토 풋마름병

세균의 현탁액이 10^8 cfu/ml로 존재함을 의미.

- 10^8 cfu/ml 농도의 세균 현탁액을 10 배 희석하여 10^7 cfu/ml의 균 농도가 되도록 조정하여 *in vitro* 항균 활성 시험을 위한 접종원으로 준비하고 15 ml-짜리 시험관에 담긴 4 ml의 TTC 액체 배지에 40 μ l 씩 접종하여 배양. 이 과정을 통하여 4 ml 액체 배지 내에 초기 세균 접종원의 농도는 10^5 cfu/ml로 설정됨.
- 저농도의 풋마름병 세균 현탁액(10^5 cfu/ml)으로 배양이 시작되었을 때 분주된 여러 개의 4 ml의 TTC 액체 배지에 과산화화합물 혼합물을 최종 농도 기준으로 0, 0.0005, 0.001, 0.002, 0.005, 0.001, 0.002% 농도로 첨가하고 vortexing하여 혼합 한 후 30°C 진탕 배양기 에서 적정시간 배양 하여 600nm에서 흡광도를 측정하여 균 성장을 측정. 무처리 시험구 액체 배지에서의 OD₆₀₀ 값이 0.30 ± 0.03 에 도달하는 시간에 과산화초산 혼합물 처리구에서의 OD₆₀₀ 값을 동시에 측정. 무처리구에서 세균의 성장에 대비하여 과산화초산 혼합물 처리구에서의 세균의 성장을 퍼센트(%)로 표시.
- 고농도의 풋마름병 세균 현탁액(10^7 cfu/ml)을 준비하고 모든 세균을 사멸시키기 위한 과산화초산 혼합물의 농도를 결정. 과산화초산 혼합물을 농도별로 세균 현탁액에 처리하고 1시간 동안 배양하고 세균 현탁액의 0.1 ml를 채취하여 TTC 고체 배지에 도말. 30°C 배양기에서 2일 동안 배양하여 형성된 균총을 수를 셈.
- 위의 두 가지 검정법에 대하여 최소 4반복 시험을 수행하여 평균과 표준 편차를 계산.
- 10^7 cfu/ml과 10^8 cfu/ml의 고농도의 현탁액 내의 토마토 풋마름병균은 페로산의 처리로 인하여 생존 수가 감소했음(Fig. 1-4).
- 10^7 cfu/ml의 세균을 완전히 사멸시키기 위하여 1 시간 배양 시에는 0.0006%의 페로산 농도가 필요하며, 24 시간 배양 시에도 동일한 농도가 필요함.
- 10^8 cfu/ml의 세균을 완전히 사멸시키기 위하여 1 시간 배양 시에는 0.006%의 페로산 농도가 필요하며, 24 시간 배양 시에는 0.004%의 페로산 농도로 가능함.

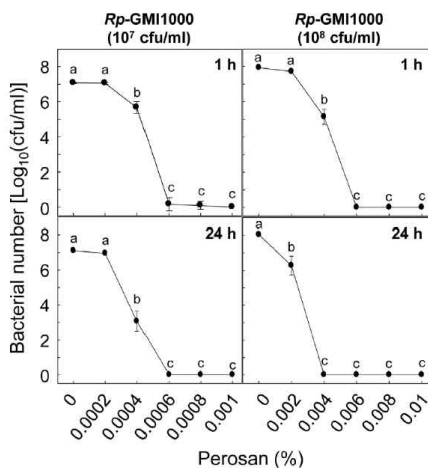


Fig. 1-4. *In vitro* inhibitory activity of peroxyacetic acid mixture Perosan against *Ralstonia pseudosolanacearum*. Survival of *R. pseudosolanacearum* (10^7 cfu/ml) treated with different concentration of Perosan (0.0002, 0.0004, 0.0006, 0.0008 and 0.001%) for 1 and 24 h (left). Survival of *R. pseudosolanacearum* (10^8 cfu/ml) treated with different concentration of Perosan (0.002, 0.004, 0.006, 0.008 and 0.01%) for 1 and 24 h (right). Bacterial numbers were counted on the TTC agar plate 2 days after incubation at 30°C. Independent experiments were performed four times with similar results. The data points are the mean \pm standard errors. Means followed by the same letter are not significantly different at 5% level by least significant difference test. The same letter above bars represented no significant difference between treatments.

다) 과산화초산 혼합물의 딸기 위황병 진균에 대한 *in vitro* 항균 활성 검정

- *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* 균주 SFW-10는 감자한천배지(potato dextrose agar, PDA)에서 3일 간격으로 계대배양하고 25°C 배양기에서 생육.
- 과산화초산 혼합제의 딸기 위황병 진균 분생포자 발아 억제 효과 검정을 위하여 streaking 방법으로 PDA에 접종하고 배양기에서 14일 동안 생육한 균주의 균총에 1/2 PDB를 붓고 분생포자 현탁액 10^6 conidia/ml의 농도로 준비.
- 위의 10^6 conidia/ml 분생포자 현탁액 0.5 ml와 최종 부피 1 ml에 0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1% 처리하도록 2배 농도로 제조한 과산화합물 혼합제를 0.5 ml를 1.5-ml microtube 내에서 혼합 후 균일하게 현탁. 최종적으로 5×10^5 conidia/ml의 분생포자에 상이한 농도의 과산화합물 혼합물을 처리하도록 함. 두 개의 글라스슬라이드에 20 μ l의 혼합액을 4방울을 떨어뜨리고 습실 처리를 하면서 포자 발아를 관찰. 과산화초산 혼합제의 휘발 효과가 예상되므로 일정 부피의 습실을 사용. 무처리 시험구에서의 평균적인 분생포자 발아율이 90% 이상 나타났을 시각에 과산화초산 혼합제 처리구에서의 분생포자 발아율을 측정하여 발아 억제 효능을 퍼센트(%)로 표현. 일정 시간에 완전히 분생포자 발아를 억제하는 과산화초산 화합물의 농도를 구명할 뿐만 아니라 상대적으로 낮은 농도의 과산화초산 화합물 혼합물에 의하여 완전히 분생포자 발아가 억제되는 시간을 구명.
- 과산화초산 혼합제 함유 PDA 배지에서 딸기 위황병 진균 균사 생육 억제 효과 검정. PDA 배지를 100 ml 제조하여 멸균 후 과산화초산 혼합제의 최종 농도가 0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2%가 되도록 원액을 처리하고 섞어 준 후 5개의 Petri dish에 균일하게 부어줌. 과산화초산 혼합물이 농도별로 포함된 배지가 굳은 후 7일간 배양한 딸기 위황병균 균총의 가장자리로부터 얻은 균사 disc(5 mm 지름)를 배지의 한 가운데에 접종하고 25°C 배양기에서 7일간 배양. 무처리구 대비 처리구에서의 균총 지름의 감소 정도를 측정.
- 휘발 효과를 통한 과산화합물 혼합물의 항균 활성 검정을 위하여 paper disc에 과산화합물 혼합물을 원액 기준으로 0, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1 μ l를 처리하고 건조시킨 후 PDA 배지의 뚜껑 안쪽이 부착. 딸기 위황병균 균사 disc(5 mm 지름)를 배지의 한 가운데에 접종 후 7일간 배양 후 생육 상태를 조사.
- 위의 검정법에 대하여 최소 4반복 시험을 수행하여 평균과 표준 편차를 계산함.
- 페로산의 처리로 인하여 딸기 위황병균의 분생 포자 발아와 발아관의 신장은 억제되었으며 페로산의 처리 농도가 높아질수록 항균 활성은 더욱 높게 나타남(Fig. 1-5). 분생포자의 발아는 0.015% 페로산에 의해, 발아관이 신장은 0.02% 페로산에 의하여 완전히 억제됨.

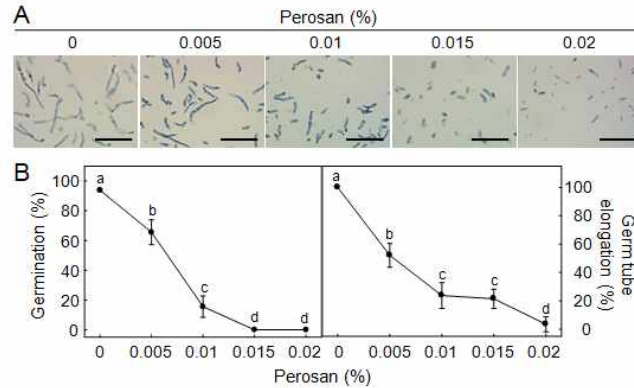


Fig. 1-5. *In vitro* antifungal activity of Perosan during conidial germination and germ tube elongation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*. (A) Conidial germination of *F. oxysporum* f. sp. *fragariae* treated with different concentrations of Perosan (0, 0.005, 0.01, 0.015 and 0.02%). The germination was observed under light microscope (x400). Photos were taken 10 h after inoculation at 25 °C. Scale bar represent 50 μ m. (B) Relative conidial germination and germ tube elongation reduced by increasing Perosan treatments. Means followed by the same letter are not significantly different at 5% level by least significant difference test. Error bars represent the standard errors of the means of four individual experimental replications.

- 페로산의 처리로 인하여 딸기 위황병균의 균사 생장은 억제되었으며 페로산의 처리 농도가 높아질수록 항균 활성은 더욱 높게 나타남(Fig. 1-6). 2% 페로산에 의해서 균사 생장은 전혀 나타나지 않았음.

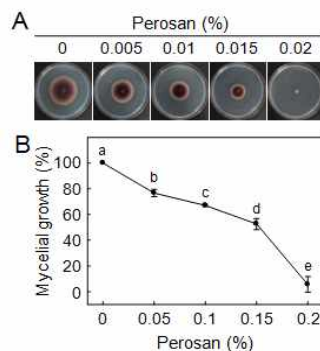


Fig. 1-6. *In vitro* antifungal activity of Perosan during mycelial growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*. Fungal colonies on PDA media containing different concentrations (0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2%) of Perosan. Photos were taken 7 days after inoculation at 25 °C. Fungal mycelial growth inhibited by Perosan treatments shown as percentage of the fungal colonies on PDA media with different concentrations of perosan. Means followed by the same letter are not significantly different at 5% level by least significant difference test. Error bars represent the standard errors of the means of four individual experimental replications.

- 상토를 코니칼 튜브에 넣은 후 딸기 위황병균 분생 포자를 접종 한 직후 페로산 수용액을 농도별로(0, 0.01, 0.1, 1%)로 처리로 한 결과, 0.01% 페로산 처리에 의하여 오히려 분생 포자 발아가 촉진되는 것이 관찰되었으며, 0.1%로 페로산 농도를 높였을 때에 다시 무처리 정도의 분생 포자 발아가 나타났음. 1% 페로산 처리에 의해서 딸기 위황병균의 분생 포자 발아는 25% 수준으로 억제되었음(Fig. 1-7).

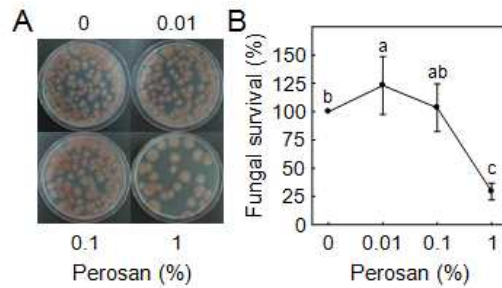
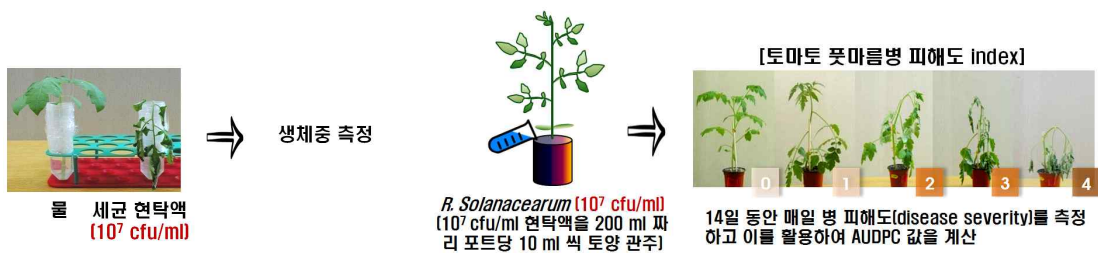


Fig. 1-7. Antifungal activity of Perosan against conidial germination of *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* in soil mixture. Conidial suspension was applied into soil mixture in tubes and different concentrations (0, 0.01, 0.01, 1%) of Perosan were drenched onto the soil surface. Conidia were recovered from the soil mixture at 1 h after Perosan treatment. Relative number of fungal colonies on PDA media from Perosan-treated soil mixtures was counted and shown as percentage of the fungal colonies. Photos were taken 2 days after inoculation at 25 °C. Means followed by the same letter are not significantly different at 5% level by least significant difference test. Error bars represent the standard errors of the means of four individual experimental replications.

라) 과산화초산 혼합제가 토마토 풋마름병 발생에 미치는 영향 분석

- 토마토와 딸기 식물에 약해를 유발하지 않는 과산화초산 혼합제의 농도를 기준으로 하여 그 이하의 농도로 몇 가지 농도를 설정하여 시험 평가.
- 토마토의 절단 잎을 사용하여 과산화초산 혼합제의 다양한 농도의 용액 10 ml에 침지하고, 각각 토마토 풋마름병 세균 현탁액이 10^7 cfu/ml 초기 접종원 양을 설정하고 매일 잎의 무게를 측정하여 병 진전을 관찰하며 시들음 증상에 따른 생체중 감소를 정량화.
- 과산화초산 혼합제의 처리 시기에 따른 병 방제 효과를 검증하기 위하여 우선적으로 병원균 접종 직후 처리에 의하여 병 방제 효과를 검증.



- 병 방제 효과가 뚜렷한 과산화 초산 혼합제의 한 가지 농도를 기준으로, 토마토 풋마름 병 세균 및 딸기 위황병 진균의 접종 전 1일, 3일, 접종 직후, 접종 후 1일, 3일에 병원 균을 접종하고 병 진전을 관찰하여 과산화초산 혼합제에 의한 병 방제의 예방 효과와 치료 효과를 구명.
- 병원균 접종 직후 과산화초산 혼합제의 처리 후 병 진전과 1일 후, 1일과 3일 후 추가 적으로 동일 농도의 과산화초산 혼합제를 처리해 준 경우 병 진전을 관찰하여 병 방제 효과를 비교 검증.

- 큐피랑과 베네키아 220 두 품종의 토마토의 절단 잎을 사용하여 평가한 과산화초산 혼합제의 토마토 풋마름병 방제 효과 검정 결과, 0.001% 페로산의 처리는 접종 2-6일에 걸쳐서 방제 효과를 발견할 수 없었으나, 0.01% 페로산의 처리는 두 품종에서 접종 2-6일에 방제 효과가 나타났음(Fig. 1-8A).
- 에탄올을 이용하여 엽록소를 제거한 결과, 풋마름병 발생에 의하여 피해가 심한 토마토 엽병은 심한 갈변이 관찰되었으나 페로산 첨가로 병이 발생하지 않은 엽병은 조직의 갈변이 관찰되지 않았음(Fig. 1-8B).

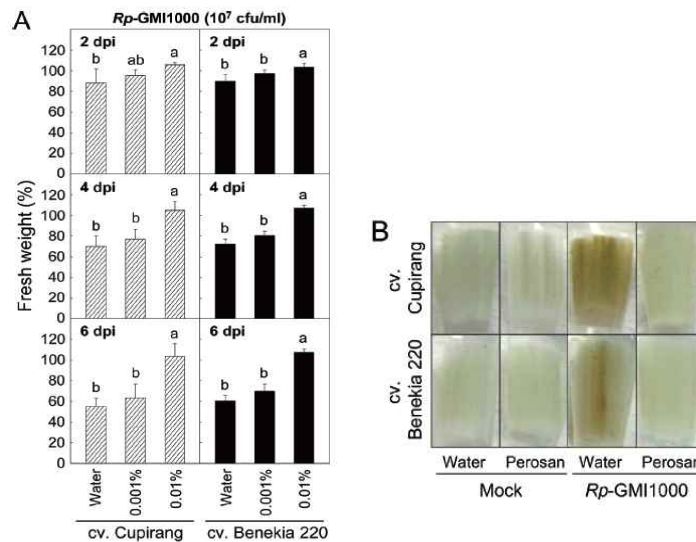


Fig. 1-8. Effects of Perosan treatments on bacterial wilt disease of detached tomato leaves. (A) Relative fresh weight of the detached tomato leaves (cv. Cupirang and cv. Benekia 220) inoculated by *Ralstonia pseudosolanacearum* GMI1000 (10^7 cfu/ml) using a petiole-dipping inoculation. Values presented are means, and error bars indicates the standard errors of the means of four independent experimental replications. Means followed by the same letter are not significantly different at 5% level by least significant difference test. (B) Attenuated brown discoloration of tomato petioles infected by *Ralstonia pseudosolanacearum* GMI1000 (10^7 cfu/ml) by Perosan treatment. Tomato petioles were cleared with 95% ethanol overnight. Photos were taken at 6 days after the bacterial inoculation with or without 0.01% Perosan treatment.

- 4주간 성장한 큐피랑과 베네키아 220 두 품종의 토마토 식물이 있는 포트에 토마토 풋마름병균을 토양 관주하여 접종 직 후에 페로산 수용액을 토양 관주하여 병 발생을 평가한 결과, 0.1% 페로산의 처리는 방제 효과를 발견할 수 없었으나, 1% 페로산의 처리는 두 품종에서 방제 효과가 나타났음(Fig. 1-9).

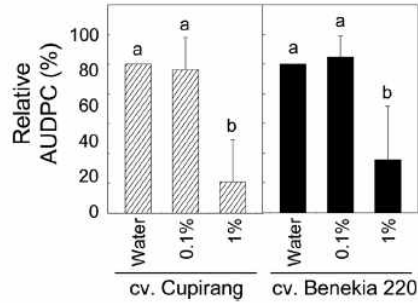


Fig. 1-9. Reduced bacterial wilt in tomato seedlings in pots by Perosan treatment. Relative areas under disease progress curve (AUDPC) for evaluating tomato bacterial wilt caused *R. pseudosolanacearum* (10^8 cfu/ml) inoculated by soil-drenching for 12 days. The data points are the means relative AUDPC \pm standard errors. Values presented are means, and error bars indicates the standard errors of the means of four independent experimental replications. Means followed by the same letter are not significantly different at 5% level by least significant difference test.

[제1협동과제: 과산화초산 화합물 활용 식량 작물 병해 관리]

가) Perosan 처리에 대한 벼 식물의 약해(phytotoxicity) 검정

○ 벼 잎에 직접 접촉을 통한 Perosan의 약해 검정

- Perosan이 식물의 병방제에 사용될 수 있는지를 알아보기에 앞서서 식물에 약해 (phytotoxicity)를 나타내는지 알아보기 위하여 다양한 종류의 실험을 수행하였음.
- 벼의 절단 잎을 과산화초산 혼합제에 엽병 침지하여 약해 여부를 조사하였을 때 10%의 고농도 페로산에서는 잎의 전체에 황화(chlorosis)가 발생하였고 3%와 5%의 페로산에서는 부분적인 황화가 발생. 1%의 페로산에서는 눈에 띄는 약해를 발견할 수 없었음
- 벼의 잎을 절단하여 습실 처리하고 과산화초산 혼합제의 종이 디스크를 올려 약해 발생 여부 조사하였을 때 25%의 고농도 페로산 종이 디스크에서는 디스크 밑의 잎에 심한 약해 발생하고 10%의 페로산에서는 일부 약해가 관찰 됨. 5% 이하의 페로산에서는 눈에 띄는 약해가 관찰되지 않음.

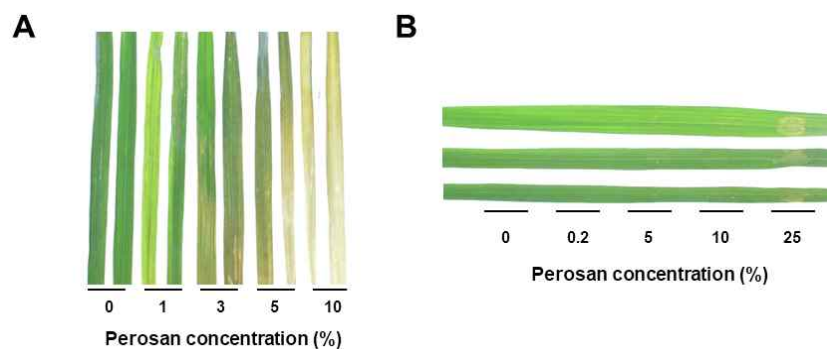


Fig. 2-1. Phytotoxicity of Perosan on rice leaves. (A) Fully expanded leaves were harvested and then dipped in the different concentrations of Perosan (1, 3, 5, and 10%) for one day. Discoloration of rice leaves were photographed one day after Perosan treatment. (B) The sterilized paper discs containing 20 μl of Perosan (0, 0.2, 1, 5, 10, and 25%) were placed on the detached rice leaves. One hour later, the discs were removed and the rice leaves were maintained in transparent containers at room temperature. Chlorosis caused by phytotoxicity were photographed 18 hours after Perosan treatment. Experimental results were repeated three times, with similar results.

○ 이온 전도도(ionic conductivity)를 이용한 약해 검정

- 벼의 잎 디스크 조각들을 물이나 페로산 혼합제에 띄우고 이온 전도도를 조사하여 약해 여부 조사하였을 때 5%, 10%, 15%의 페로산에서는 농도와 시간에 따른 이온 전도도 증가를 보여 약해가 발생함을 보여줌
- 1%의 페로산의 경우 1시간이 지나도 이온 전도도가 거의 증가하고 있지 않아 약해가 거의 없는 것으로 관찰 됨

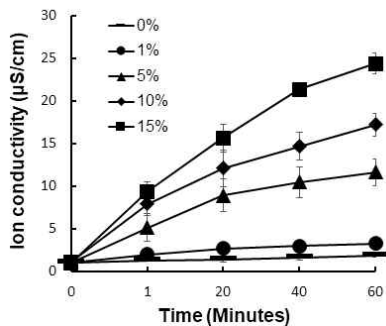


Fig. 2-2. Ion conductivity of rice leaf discs after Perosan measurements. Phytotoxicity of Perosan was quantified by measuring ionic conductivity. Rice leaf pieces were floated on the distilled water containing different concentrations of Perosan (0, 1, 5, 10, and 15%). Ion leakage caused by phytotoxicity was monitored over time (0, 1, 20, 40, and 60 min).

○ 페로산에 의한 벼 유묘의 성장 저해 실험

- 수경 재배로 발아된 벼 유묘의 뿌리를 페로산에 6일 동안 침지하고 성장 저해를 관찰 하였을 때 0.001%의 페로산에서는 성장 저해를 보이지 않음.
- 0.005%에서 0.5%의 페로산 농도에서는 약 35% 정도의 성장 저해를 보여주었음.
- 기존의 약해 실험에서 보다 민감하게 저농도에서도 역해를 보인 이유는 유묘 상태에서 지속적으로 페로산에 노출된 상태로 페로산을 흡수하였기 때문으로 생각 됨.

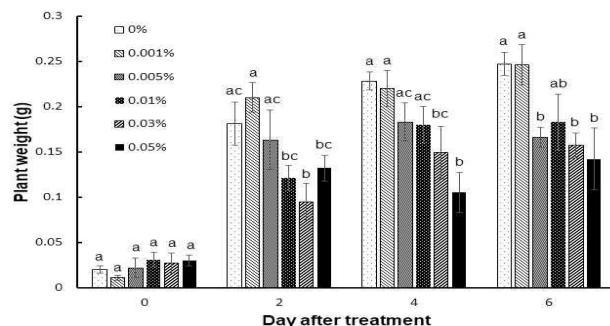


Fig. 2-3. Growth of analysis of Perosan-treated rice plants in the hydroponic system. Six to seven rice seedlings raised in the dishes with distilled water for two weeks. The distilled water in each dishes was substituted with 20 ml of Perosan solution (0, 0.001, 0.005, 0.01, 0.03, and 0.05%). Growth in mean biomass of rice seedlings was monitored for eight days. The error bars represent standard error of three replicates.

○ 벼 재배 환경에서 페로산에 의한 pH 변화

- 물이 채워져 있는 tub 안의 화분에서 정상적으로 자라고 있는 벼에 페로산을 첨가하여 특정 농도가 되게 한 후 해당 농도에서 pH의 변화 정도를 측정하였음.
- 최종 농도가 0.07%이 될 때까지 페로산을 첨가했을 때까지는 통계적으로 유의미한 pH 변화가 관찰되지 않음.
- 0.1%에서 pH의 변화가 나타나서 비록 약간의 변화지만 약한 산성으로 바뀌는 것을 관찰 할 수 있었음.

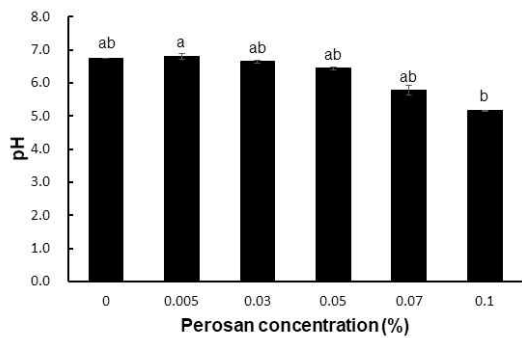


Fig. 2-4. Effect of pH changes in a rice-growing tub after Perosan treatment. Perosan was added into a plastic tub containing rice-growing pots (rice field-mimicking condition), generating different concentrations of Perosan (0, 0.005, 0.03, 0.05, 0.07, and 0.1%). After approximately five minutes, the pH changes were checked by a pH meter. The error bars represent standard error of three replicates. The difference in letters on each bar means statistically significant.

나) Perosan의 *in vitro* 항세균 활성 검정

○ Disc diffusion method을 이용한 페로산의 *in vitro* 항세균 활성 검정

- 벼 흰잎마름병 세균(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, *Xoo*)이 도말된 배지에 다양한 농도의 페로산 다스크를 올려놓고 clear zone의 지름을 측정함.
- 1% 이상의 페로산(20ul)을 적신 종이 디스크(paper disc)를 올렸을 때에 세균의 clear zone이 관찰됨.
- 8% 이상의 페로산에서는 세균의 생장이 거의 관찰되지 않을 정도로 넓은 clear zone이 형성 됨.
- 비교적 높은 농도의 페로산에서 농도 의존적인 clear zone이 나타났는데 페로산이 아가 배지에 직접 침투 확산(diffusion)하는 효과가 적기 때문인 것으로 생각 됨. 따라서 1%는 되어야 항세균 활성을 보인다고 해석해서는 안 된다고 생각 됨.

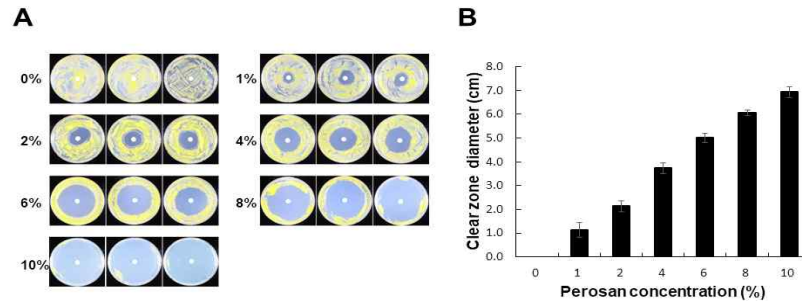


Fig. 2-5. Antibacterial activity of Perosan using disc diffusion method. (A) 100 μ l of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) (OD600=0.8) was spread on peptone sucrose agar (PSA) plates. Sterilized paper discs were impregnated with 20 μ l of different concentration of Perosan (0, 1, 2, 4, 6, 8, and 10%) and placed on the center of each PSA plates. The plates were incubated at 28°C and then zones of inhibition for *Xoo* was photographed four days after Perosan treatment. (B) The diameter of the zone of inhibition was measured four days after Perosan treatment. The error bars represent standard error of three replicates.

○ Optical density 측정을 통한 페로산의 *in vitro* 항세균 활성 검증

- 확산(diffusion)하는 효과를 고려해야 하는 위의 disc diffusion method 실험과는 달리 직접적인 antibacterial activity를 보여주는 실험을 수행함.
- Peptone sucrose broth에 페로산을 넣어주고 항세균 활성을 보여주는 것을 *Xoo*의 생장을 optical density 측정으로 알아봄.
- 0.0005%의 낮은 페로산에서도 *Xoo*의 생장은 처리 후 12시간부터 억제되는 것으로 보이나, 24 시간 후에는 더 이상 그 억제 효과가 관찰 되지 않음.
- 이는 낮은 페로산 (0.0005%)이 *Xoo*의 일부를 죽이기는 하지만 일부 살아남은 *Xoo*가 배양 중에 회복되는 것으로 생각 됨.
- 0.07%의 페로산을 처리하였을 때는 36시간이 지난 후에도 *Xoo*의 optical density 값이 전혀 증가하지 않음. 이는 0.07%의 페로산에 의해서 초기 접종 *Xoo*가 모두 사멸 (microbicidal) 되었거나 강력한 성장 억제(microstatic) 효과를 보임을 의미함.

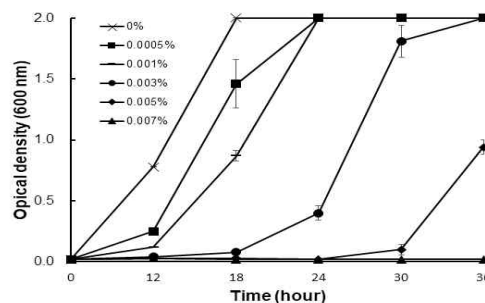


Fig. 2-6. Growth inhibition of *Xoo* by optical density measurements after Perosan treatment. Single colony of *Xoo* was inoculated in peptone sucrose broth in the presence of different concentrations of Perosan (0.0005, 0.001, 0.003, 0.005, and 0.007%) and incubated at 28°C in a shaking incubator. For 36 hours after inoculation, optical density at 600 nm was measured. The error bars represent standard error of two replicates.

○ Colony counting을 통한 페로산의 *in vitro* 항세균 활성 검정

- 페로산 1시간 처리를 통해서 *Xoo*를 실제 사멸(microbicidal) 시키는지를 알아보기 위하여 페로산 처리 후 도말하여 CFU를 측정하였음.
- 0.0002%의 페로산을 처리한 후 도말하였을 때 어느 정도의 CFU의 감소를 보여주었으나 통계적으로 유의미한 수준은 아니었음.
- 그러나 0.0006% 이상의 페로산 처리에서는 흡광도 0.3에 해당하는 농도의 거의 모든 *Xoo*를 사멸 시켜 도말하였을 때 colony를 형성하지 않는 것으로 나타남.

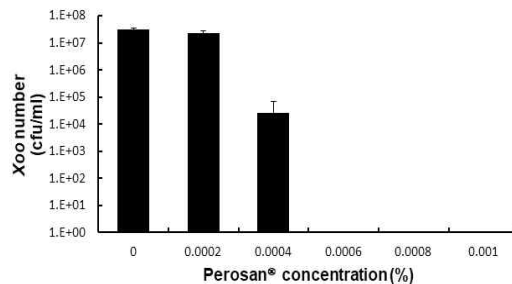


Fig. 2-7. Inhibition of *Xoo* survival after Perosan treatment. The diluted *Xoo* (OD600=0.03) was incubated in the presence of different concentrations of Perosan (0, 0.0002, 0.0004, 0.0006, 0.0008, and 0.001%) for one hour and then plated on PSA media containing 7.5 mg/L cephalexin. After one day incubation at 28°C, the colonies of *Xoo* were counted as *Xoo* survival in Perosan.

다) Perosan의 *in vitro* 항세균 활성 검정

○ Agar dilution method을 이용한 페로산의 항세균 활성 검정

- 서로 다른 농도의 페로산이 함유된 배지의 중앙에 벼 잎집무늬마름병 진균(*Rhizoctonia solani* AG-1, *R. solani*)의 디스크를 올리고 페로산 농도에 따른 균사 성장의 차이를 관찰하였음.
- 0.05%의 페로산이 함유된 배지에서는 진균의 균사가 어느정도 성장하는 모습을 보임
- 0.07%, 0.1%의 페로산이 함유된 배지에서는 진균의 균사 생장이 몹시 저해 되는 모습을 보임.
- 0.2%의 페로산이 함유된 배지에서는 진균의 균사가 전혀 성장하지 못하는 것으로 관찰 됨.

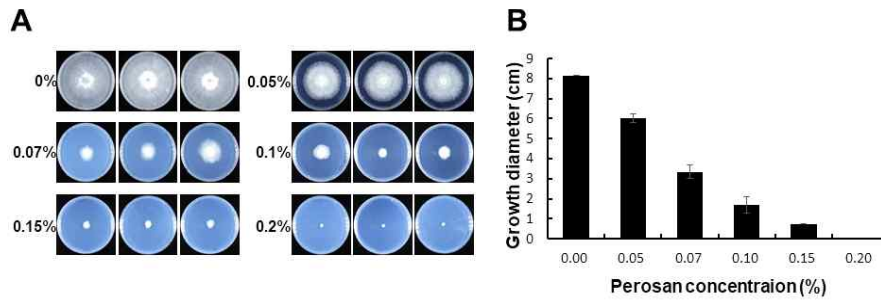


Fig. 2-8. Growth inhibition of *Rhizoctonia solani* AG-1 (*R. solani*) by agar dilution method. (A) 6.5 mm diameter of mycelial agar discs were prepared from edge of the growing *R. solani* in potato dextrose agar (PDA) media and placed in the center of new PDA media containing different concentrations of Perosan (0, 0.05, 0.07, 0.1, 0.15, and 0.2%). The plates were incubated at 28°C for two days and the hyphal growth was photographed. (B) The diameters of hyphal growth of *R. solani* on PDA media containing Perosan were measured after two days. The error bars represent standard error of three replicates and the difference in letters on each bar means statistically significant.

○ Disc diffusion method을 이용한 페로산의 *in vitro* 항진균 활성 검정

- *R. solani*는 무성생식을 통한 많은 포자 생산을 하지 않아서 사실 이 disc diffusion method를 이용한 실험에는 적당하지 않음.
- 그러나 진행된 실험에서 2%에서 10%까지 페로산의 농도 의존적인 진균 균사 성장 억제 효과를 보여주어 항진균 활성을 가지는 것으로 결론 내릴 수 있었음.
- 세균에서 실험 되었던 disc diffusion method과 유사하게 페로산의 농도가 높은 경우에 만 항진균 활성이 보였는데 이것 역시 페로산이 아가 배지에서 확산이 잘 되지 않아서 나타난 결과로 생각됨.

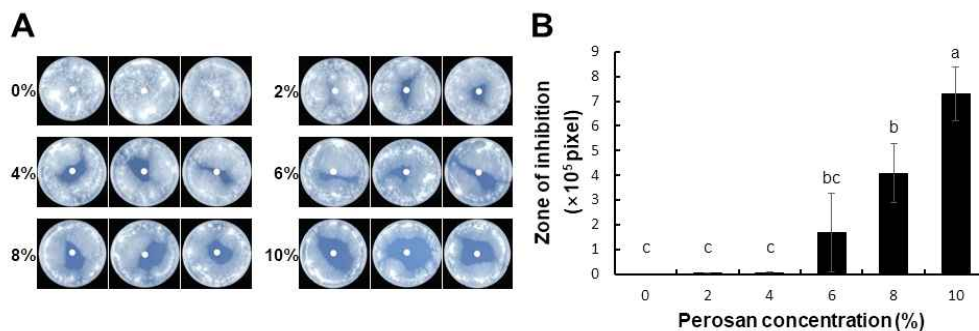


Fig. 2-9. Growth inhibition of *R. solani* by paper disc diffusion method. (A) Mycelium harvested from actively growing *R. solani* in PDA were suspended and vortexed in 1 ml of distilled water. After 50 μ l of mycelial suspension was spread on new PDA media and sterilized paper discs impregnated with 40 μ l different concentrations of Perosan (0, 2, 4, 6, 8, and 10%) were placed in the center of the PDA media. The plates were incubated at 28°C for two days and then digital images were obtained by Digital Gel Documentation. (B) The area of the zone of inhibition were measured using digital images. The images were analyzed by ImageJ program. The error bars represent standard error of three replicates and the difference in letters on each bar means statistically significant.

라) Perosan의 *in vivo* 병 보호 검정

○ 벼 흰잎마름병 방제 검정

- 벼의 잎에 *Xoo*를 scissors-dip 방법을 사용하여 접종하여 주고(Song et al. 1995), 페로산을 처리하여 *Xoo* 감염에 의한 병반의 길이에 감소가 있는지 측정하였음.
- 2% 이하의 페로산에서는 유의미한 수준의 *in vivo* 항세균 활성이 관찰 되지 않았음 (data not shown)
- 5%까지 올린 고농도의 페로산에서는 유의미한 수준의 비교적 높은 *in vivo* 항세균 활성이 관찰되었음.
- 그러나 *in vitro* 항세균 활성이 0.0004%의 낮은 농도에서 높은 살균력을 보인 것과 비교하여 볼 때 5%의 페로산 농도는 *in vivo* 실험이라는 것을 고려하더라도 비교적 높은 농도로 생각됨.
- *Xoo*의 경우 물관 조직에 침입하여 증식하는 특성상 외부에서 살포된 페로산에 영양을 덜 받게 되는 것으로 생각 됨.
- 접촉된 페로산에 의해서 *Xoo*의 살균이 일어난다 할지라도 일부 생존한 *Xoo*가 xylem vessel에 침입하여 증식하면서 병징을 보이는 것으로 생각 됨.
- 페로산의 반복 살포로 어느 정도 약효의 증가를 기대할 수는 있을 것으로 생각 됨.

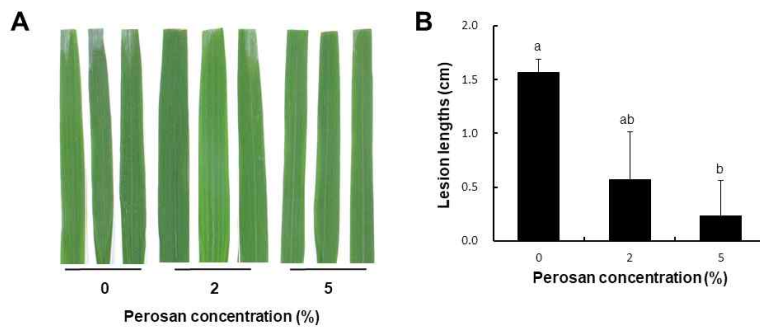


Fig. 2-10. Antibacterial assay of Perosan on *Xoo*-inoculated rice leaves. (A) After fully-expanded rice leaves were inoculated with *Xoo* by scissors-dip method, 10 ml of different concentrations of Perosan (0, 2, and 5%) was sprayed on the inoculated rice plants. Four days after inoculation, rice leaves were harvested and photographed. (B) Lesion lengths were measured four days after inoculation. The error bars represent standard error between three biological replicates. Experimental results were repeated three times with similar results.

○ 벼 잎집무늬마름병 방제 효과 검정

- *R. solani*의 접종을 위하여 균사 디스크 부착법(Delventhal et al. 2016)를 이용하였으며 접종 후 페로산을 처리하여 4일까지 관찰하였음

- 0.5%의 페로산을 1회 처리하였을 때 4일차에서 눈에 띄는 차이를 보였음.
- 0.5%의 페로산을 3회에 걸쳐서 반복 살포 하였을 때에는 4일차에서 거의 병징의 진전이 일어나지 않았음.
- 반복 살포에 의한 약효의 증가가 확실하게 나타났으며 발병 초기 등의 낮은 농도의 진균병이 발병하기 시작할 때 충분한 방제 효과를 기대할 수 있을 것으로 생각 됨.
- 벼 잎집무늬마름병은 포장에서 균핵으로 월동하여 이듬해의 전염원이 되고 있으므로 추후 페로산에 의해 균핵의 생존 능력을 감소 시킬 수 있는지 가능성을 평가할 필요가 있음.

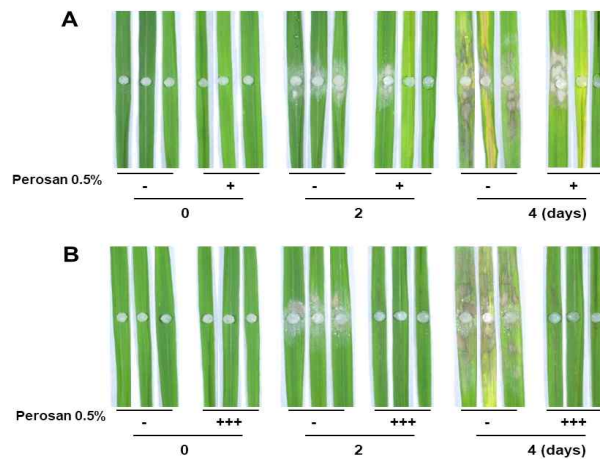


Fig 2-11. Antifungal assay of Perosan against *R. solani* on rice leaves. Mycelial agar discs of 6.5 mm diameter were prepared from the margin of and actively growing *R. solani* AG-1 and placed on the fully expanded rice leaves. The inoculated rice leaves were sprayed with five ml of 0.5% of Perosan once (A) or thrice (B). The rice leaves were incubated in transparent containers at 23°C in dark/light condition. Experimental results were repeated three times with similar results.

[제2협동과제: 과산화초산 화합물 개발 및 상품화]

가) 과산화초산 화합물 조성물 개발 및 조성물 최적화

○ 과산화초산 합성 및 그 혼합물 개발

- 과산화수소와 초산 성분의 함량 조절 및 반응을 통해 과산화초산 혼합물 개발하고 두 가지 조성물이 가장 안정적임 (A: 과산화수소 25~30%, 과산화초산 1~5%, 초산 10~15% B: 과산화수소 10~15%, 과산화초산 1~5%, 초산 2~7%)
- 유효 성분에 대한 온도 안정성 확인 결과, 두 조성물 모두 안정.

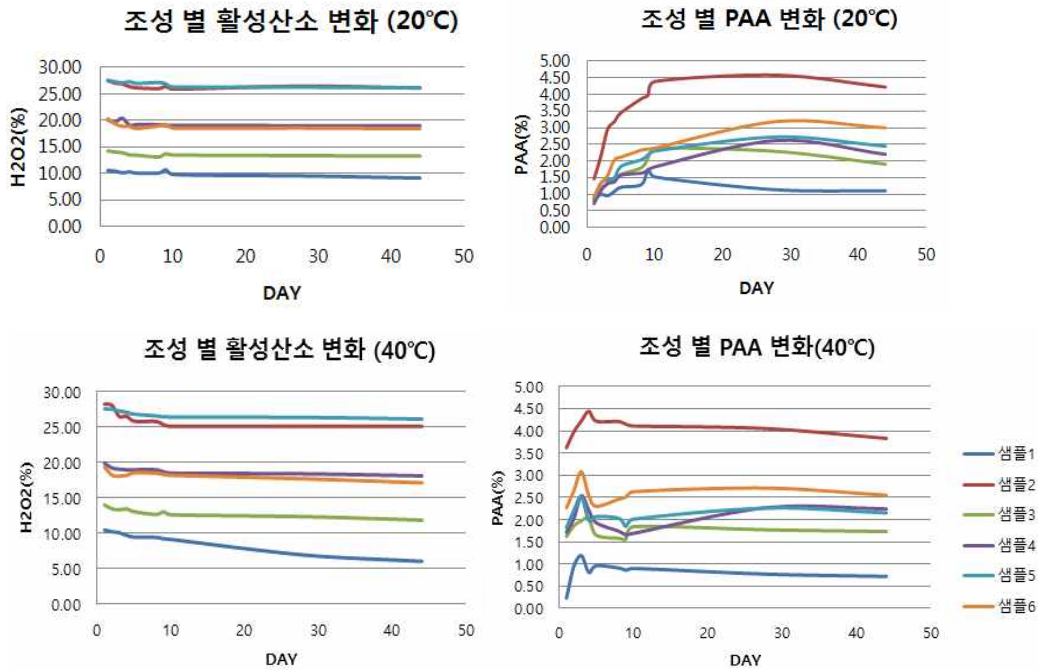


Fig. 3-1. 몇 가지 종류의 과산화초산 화합물의 안정성 평가.

○ 과산화초산 혼합물의 주요 식품 및 식물 병원 미생물 대상 살균력 검증

- 주요 식품 병원 미생물인 *Escherichia coli*에 대한 최소 살균 농도는 과산화초산 혼합물 A가 0.01% 이상, 과산화초산 혼합물 B는 0.1% 이상이며 *Salmonella enterica* 는 두 혼합물 모두 0.01% 이상의 농도에서 살균 효과를 보이며 각 최소 살균 농도에서 3시간 이후에 생육이 억제 됨
- 식물 병원성 진균 시험균주 총 5가지(*Alternaria panax*, *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizotonia solani*)에 대한 살균력 검증 결과, *Alternaria panax*는 과산화초산 혼합물 A, 과산화초산 혼합물 B 각 0.2%에서 생육을 저해시키고, *Botrytis cinerea*는 과산화초산 혼합물 A, 과산화초산 혼합물 B 각 0.5%에서 생육이 저해되며, *Colletotrichum gloeosporioides*는 각 개발품 0.1% 이상에서, *Fusarium oxysporum* 는 각 개발품 0.2% 이상에서, *Rhizotonia solani*의 경우 과산화초산 혼합물 A는 0.1% 이상, 과산화초산 혼합물 B는 0.2% 이상에서 생육이 저해됨.
- 두 과산화초산 혼합물 모두 미생물에 대한 살균 효과와 유효 성분에 대한 안정성이 확인되기에 시생산을 진행하고, 차후 추가 약해, 약효 검증을 통해 선정하기로 함.

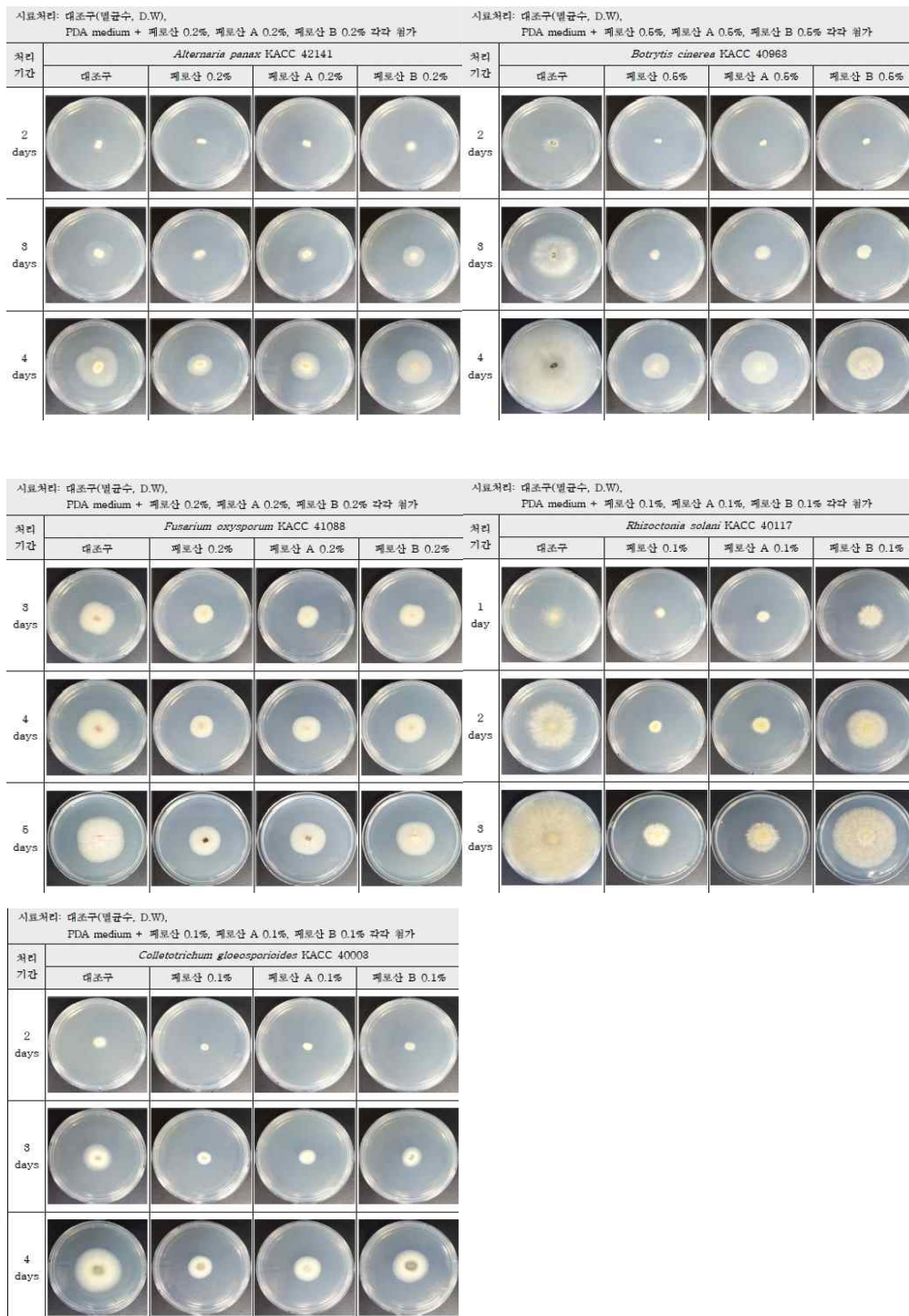


Fig. 3-2. 다양한 식물 병원성 진균에 대한 페로산, 페로산A, 페로산B의 항균 활성

나) 과산화초산 혼합물의 약해 실증 시험

○ 딸기에 대한 약해 시험

- 약해시험은 농촌진흥청 발간 농약등록 약효·약해시험 세부지침(살균제편) 기준에 따라 다음과 같이 실시함.
- 시험물질을 처리한 기준량구와 배량구 시험포트에서 딸기의 생육양상을 처리 후 3일, 7일, 14일 3회에 걸쳐 달관조사 한 결과, 기준구, 시험물질 A 및 시험물질 B에서 기준량 및 배량의 농도의 증가에 대하여 무처리구와 동일하게 황화, 위축, 오갈, 반점 등의 증상을 보이지 않았음. 따라서, 시험물질(과산화초산 화합물) 처리에 의한 딸기에 대한 약해는 없는 것으로 판단된다.



Fig. 3-3. 딸기에 대한 과산화초산 혼합물 처리농도에 따른 약해 검정 (처리14일째)

- 추가적으로 실시한 생육조사에서 딸기의 경우 아래 Table 3-1에서와 같이 기준물질을 포함한 시험물질에서 엽장, 엽폭 및 엽록소함량이 무처리구에 비하여 적게 나타나 시험물질에 의해 딸기의 생육이 약간 저해 되는 양상을 보였다. 따라서, 사용 농도를 10배 정도 더 희석하여 사용하는 것이 좋을 것으로 사료된다.

Table 3-1. 과산화초산 혼합물 처리농도에 따른 딸기의 생육정도

	페로산 처리		딸기 생육 정도		
			엽장 (cm)	엽폭 (cm)	엽록소 함량 (mg/100 cm ²)
시험물질 B	배량	0.8 %	6.14bc	5.10bc	37.64a
	기준량	0.4 %	5.56bc	5.71bc	37.68a
시험물질 A	배량	0.8 %	5.97c	5.42bc	36.98a
	기준량	0.4 %	6.81b	5.80bc	37.14a
기준구	배량	0.4 %	6.10bc	5.52bc	37.77a
	기준량	0.2 %	6.69bc	5.96b	37.24a
무처리구		0 %	7.90a	6.72a	39.22a

*Duncan's multiple range test (P<0.05). 평균차이는 유의수준 p<0.05 수준에서 유의함. 평균값 및 동질적부분집합(a-c)으로 표시

○ 토마토에 대한 약해 시험

- 약해시험은 농촌진흥청 발간 농약등록 약효·약해시험 세부지침(살균제편) 기준에 따라 다음과 같이 실시함.
- 시험물질을 처리한 기준량구와 배량구 시험포트에서 토마토의 생육양상을 처리 후 3일,

7일, 14일 3회에 걸쳐 달관조사 한 결과, 기존구, 시험물질 A 및 시험물질 B에서 기준량 및 배량의 농도의 증가에 대하여 무처리구와 동일하게 황화, 위축, 오갈, 반점 등의 증상을 보이지 않음. 따라서, 시험물질 처리에 의한 토마토에 대한 약해는 없는 것으로 판단 됨.



Fig. 3-4. 토마토에 대한 과산화초산 혼합물 처리농도에 따른 약해 검정 (처리14일째)

- 추가적으로 실시한 생육조사에서 아래 Table 3-2과 같이 기존물질을 포함한 시험물질에서 엽장, 엽폭 및 엽록소함량이 무처리구에 비하여 비슷하거나 적게 나타났으며 시험물질 B의 경우가 무처리구와 비교하여 생육정도가 가장 양호함.

Table 3-2. 과산화초산 혼합물 처리농도에 따른 토마토의 생육정도

페로산처리			토 마 토 생 육 정 도		
			초장 (cm)	직경 (cm)	엽록소함량 (mg/100 cm ²)
시험물질 B	배 량	0.8 %	22.41ab	5.59b	44.53b
	기준량	0.4 %	23.73a	5.49b	46.72a
시험물질 A	배 량	0.8 %	21.57abc	5.62b	44.48b
	기준량	0.4 %	21.63abc	5.70b	45.68ab
기존구	배 량	0.4 %	19.64bc	5.21b	45.44ab
	기준량	0.2 %	19.26c	5.20b	44.11b
무처리구		0 %	23.33a	6.51a	44.31b

*Duncan's multiple range test (P<0.05). 평균차이는 유의수준 p<0.05 수준에서 유의함.
평균값 및 동질적부분집합(a-c)으로 표시.

○ 벼에 대한 약해 시험

- 약해시험은 농촌진흥청 발간 농약등록 약효·약해시험 세부지침(살균제편) 기준에 따라 다음과 같이 실시함.
- 시험물질을 처리한 기준량구와 배량구 시험포트에서 벼의 생육양상을 처리 후 3일, 7일, 14일 3회에 걸쳐 달관조사 한 결과, 기존구, 시험물질 A 및 시험물질 B에서 기준량 및 배량의 농도의 증가에 대하여 무처리구와 동일하게 황화, 위축, 오갈, 반점 등의 증상을 보이지 않았다. 따라서, 시험물질 처리에 의한 벼에 대한 약해는 없는 것으로

판단되었다.

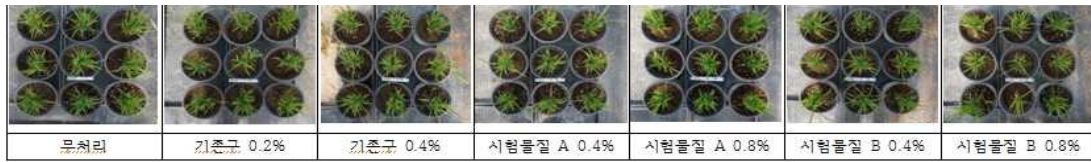


Fig. 3-5. 벼에 대한 과산화초산 혼합물 처리농도에 따른 약해 검정 (처리14일째)

- 추가적으로 실시한 생육조사에서 아래 Table 3-3과 같이 기준물질을 포함한 시험물질에서 엽장, 엽폭 및 엽록소함량이 무처리구에 비하여 비슷하게 나타났으며 시험물질 B의 경우가 무처리구와 비교하여 생육정도가 더 좋게 나타났다.

Table 3-3. 과산화초산 혼합물 처리농도에 따른 벼 생육

	페로산 처리		벼 생육	
			초장 (cm)	엽록소 함량 (mg/100 cm ²)
시험물질 B	배 량	0.8 %	23.24ab	31.21a
	기준량	0.4 %	23.74a	30.41a
시험물질 A	배 량	0.8 %	21.69bcd	32.0a
	기준량	0.4 %	21.16cd	31.69a
기준구	배 량	0.4 %	20.42d	29.53a
	기준량	0.2 %	20.42d	31.66a
무처리구		0 %	22.86abc	30.69a

*Duncan's multiple range test (P<0.05). 평균차이는 유의수준 p<0.05 수준에서 유의함. 평균값 및 동질적부분집합(a-c)으로 표시.

다) 과산화초산 혼합물의 약효 실증 시험

○ 딸기 위황병에 대한 약효 시험

- 딸기 위황병 방제효과를 확인하기 위하여 인위발병시험을 실시함
- 농촌진흥청의 농약등록 약효·약해시험 세부지침 (살균제편)에 따라 대전 유성구 소재 목원대학교 시험포장에서 실시함
- 처리구 시험포트당 2주씩 5반복으로 수행하였다. 딸기는 원예용 상토에 파종하여 약 4주간 키운 유묘를 이용하였으며, 딸기 위황병 인위발병 유도 및 이식 이틀 전 과산화초산 혼합물을 처리농도별 무처리, 대조구(0.01% 및 0.02%), 처리구(0.04% 및 0.08%)로 시험포트에 1일 1회씩 2차에 걸쳐 균체현탁액을 관주함
- 시들음병에 대한 포트에서의 효과를 검정한 결과, 과산화초산 혼합물 처리 대조구 0.02%에서 무처리에 비하여 75%의 방제가 나타났으나 나머지 농도에서는 효과가 없

있고 농도가 높아질수록 이병주율이 오히려 증가하여 처리구 0.08% 처리농도에서도 무처리에 비하여 이병주율이 높게 나타남으로서 고농도인 처리구 농도에서는 방제효과가 없었으나 저농도인 대조구에서는 0.02% 농도에서 방제효과가 있는 것으로 판단 됨

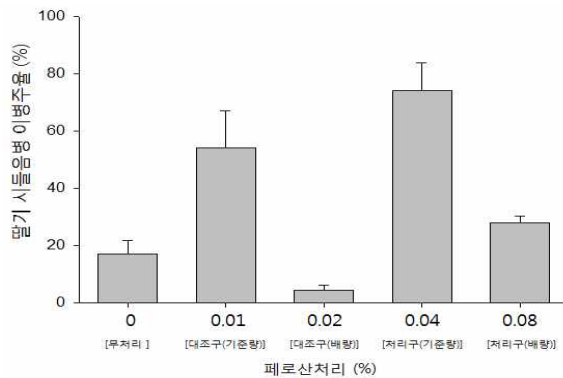


Fig. 3-6. 페로산 처리농도에 따른 딸기 시들음병의 이병주율(%)

○ 토마토 풋마름병에 대한 약효 시험

- 토마토 풋마름병 방제효과를 확인하기 위하여 인위발병시험을 실시함
- 농촌진흥청의 농약등록 약효·약해시험 세부지침 (살균제편)에 따라 대전 유성구 소재 목원대학교 시험포장에서 실시함
- 처리구 시험포트당 2주씩 5반복으로 수행하였다. 딸기는 원예용 상토에 과중하여 약 4주간 키운 유묘를 이용하였으며, 토마토 청고병 인위발병 유도 및 이식 이틀 전 과산화초산 혼합물을 처리농도별 무처리, 대조구(0.1% 및 0.2%), 처리구(0.4% 및 0.8%)로 시험 포트에 1일 1회씩 2차에 걸쳐 균체현탁액을 관주함
- 청고병에 대한 포트에서의 효과를 검정한 결과, 모든 페로산 처리구에서 무처리보다 낮은 이병주율을 나타냄. 페로산 농도 0.1%, 0.2%, 0.4% 및 0.8% 처리는 무처리 대비 34.5%, 22.1%, 71.9% 및 72.4%의 방제가 각각 나타내었고, 각각의 페로산 처리농도에 대한 약해는 없는 것으로 판단되었으며, 페로산 처리농도는 0.4%가 적절한 것으로 판단 됨.

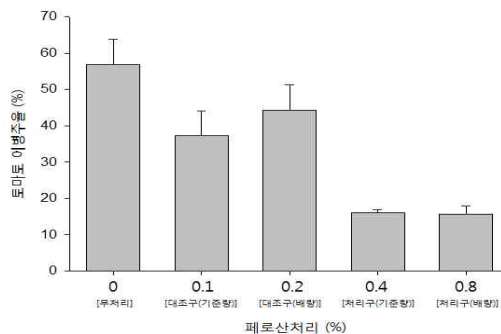


Fig. 3-7. 페로산 처리농도에 따른 토마토의 이병주율(%)

○ 토마토 풋마름병에 대한 상토내 병원균 밀도 변화 조사

- 토마토 청고병 방제효과를 확인하기 위하여 시험 포트 내 풋마름 병원균의 밀도 변화를 조사함.
- 토마토 근권토양내 병원균 밀도는 감염처리 직후, 감염처리 14일, 21일 및 42일 후에 조사함.
- 처리 농도별 시험포트의 토마토 근권으로부터 채취한 토양시료 10g을 90ml 멸균수에 넣고 150 rpm으로 1시간 동안 진탕처리 한 후 시료를 10^{-3} ~ 10^{-5} 까지 희석하여 토마토 병원균 *Ralstonia* 선택배지(SMSA배지)에 $100\mu\text{l}$ 씩 접종하고, 28°C 에서 2일간 배양한 후, 형성된 붉은색 콜로니를 계수하여 병원균의 밀도를 측정
- 페로산 처리농도에 따른 발병정도와 병원균체량의 밀도의 상관관계는 정확하게 일치한다고 판단하기는 어려우나 병원균체의 밀도는 무처리구에 비하여 감소하는 것으로 판단됨

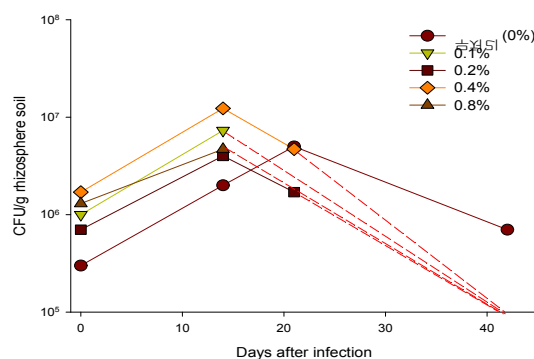


Fig. 3-8. 페로산 처리농도에 따른 시기별 풋마름병 병원균 밀도변화

○ 벼 흰잎마름병에 대한 약효 시험

- 페로산 처리 농도에 따른 벼 흰잎마름병 방제효과를 확인하기 위하여 인위발병시험을 실시함. 생물검정 시험은 농촌진흥청의 농약등록 약효·약해시험 세부지침 (살균제편)에 따라 충북농업기술원 시험포장에서 실시하였으며, 각각의 처리구 시험포트당 5주씩 2반복으로 수행하였음. 벼는 수도용 상토에 파종하여 약 4주간 키운 유묘를 정식하여 사용함
- 처리농도별 [무처리, 대조구(0.1% 및 0.2%), 처리구(0.4% 및 0.8%)로 시험포트에 1일 1회씩 2차에 걸쳐 균체현탁액을 분무처리 함 벼 흰잎마름병 병원균 *Xanthomonas oryzae*는 LB 고체배지에서 2-3일 키운 후 LB 배양액에 접종하여 2일간 진탕배양(150rpm) 한 다음, 균체현탁액을 살균수로 1×10^6 cfu/ml 농도로 희석하여 사용하였으며, 병원균은 균체현탁액에 가위를 담근 후 벼 잎 끝을 가위로 잘라 감염시켰으며, 남은 균체현탁액을 벼 줄기에 분무처리 함. 접종 후 일주일 간격으로 4차에 걸쳐 생육양상 및 병 발생정도를 확인하고 접종 직후 2차에 걸쳐 페로산을 처리농도별로 추가로 분무처리 하였으며, 발병조사는 병원균 감염 후 28일째에 발병도를 조사하여 산출함

- 페로산 농도별로 분무처리하여 가위감염 시킨 후 흰잎마름병에 대한 포트에서의 효과를 검정한 결과, 처리구 농도에서 무처리보다 낮은 발병도를 나타냈다. 인위발병 28일 후 결과와 같이, 페로산 처리에 의한 발병도는 무처리구가 34% 이었으며 페로산 처리농도가 증가함에 따라 발병도는 감소하는 경향을 나타내어 0.1%에서 34.2%, 0.2%에서 46.9% 이었으며, 0.4% 및 0.8% 처리구에서는 각각 26% 및 17%로 0.8% 처리구에서 가장 낮게 나타남. 모든 측정값은 처리구간 발병도에 있어 통계적으로 유의적인 상관관계 ($P < 0.05$)를 나타내는 것으로 분석됨. 따라서, 페로산 농도 0.1% 및 0.2%에서는 효과가 없었으며 0.4% 및 0.8% 처리에서는 무처리에 비하여 23.5% 및 50%의 방제효과를 각각 나타냈다. 각각의 페로산 처리농도에 대한 약해는 없는 것으로 판단되었으며, 처리구의 배양구 (0.8%)에서 페로산처리 효과가 무처리구 대비 50% 까지 방제효과가 있는 것으로 나타났다.

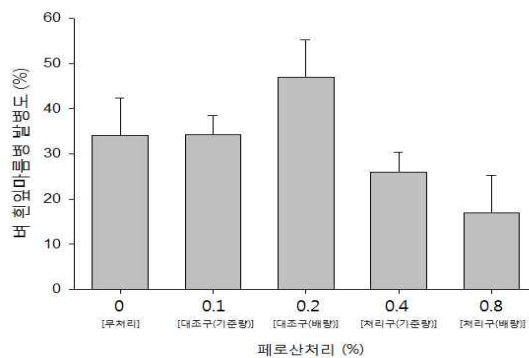


Fig. 3-9. 페로산 처리농도에 따른 벼 흰잎마름병의 발병도(%)

○ 벼 잎집무늬마름병 대한 약효 시험

- 페로산 처리 농도에 따른 벼 잎집무늬마름병 방제효과를 확인하기 위하여 인위발병시험을 실시함. 생물검정 시험은 농촌진흥청의 농약등록 약효·약해시험 세부지침 (살균제편)에 따라 충북농업기술원 시험포장에서 실시하였으며, 각각의 처리구 시험포트당 5주씩 3반복으로 수행함. 벼는 수도용 상토에 파종하여 약 4주간 키운 유묘를 정식하여 사용하였으며, 벼 잎집무늬마름병 인위발병 유도 이틀 전 페로산을 처리농도별 [무처리, 대조구(0.1% 및 0.2%), 처리구(0.4% 및 0.8%)]로 시험포트에 1일 1회씩 2차에 걸쳐 균체현탁액을 분무처리함
- 벼 잎집무늬마름병 병원균 *Rhizoctonia solani*는 PDA 고체배지에서 7일 동안 키운 후 PDB 배양액에 접종하여 5일간 진탕배양(150rpm) 한 다음, 포자농도가 10^6 spore/ml 이 되도록 균체현탁액을 멸균수로 희석하여 사용함. 병원균은 균체현탁액에 가위를 담근 후 벼 잎 끝을 가위로 잘라 감염시켰으며, 남은 균체현탁액을 벼 줄기에 분무처리 하였음. 접종 후 일주일 간격으로 4차에 걸쳐 생육양상 및 병 발생정도를 확인하고 접종 직후 2차에 걸쳐 페로산을 처리농도별로 추가로 분무처리 하였으며, 발병조사는 병원균 감염 후 28일째에 피해도를 조사하여 산출하였다.

- 페로산 농도별로 분무처리하여 가위감염 시킨 후 잎집무늬마름병에 대한 포트에서의 효과를 검정한 결과, 처리구 농도에서 무처리보다 낮은 피해를 나타냈다. 인위발병 28일 후 결과와 같이, 페로산 처리에 의한 피해도는 무처리구가 35.7% 이었으며 페로산 처리농도가 증가함에 따라 피해도는 감소하는 경향을 나타내어 0.1%에서 44.7%, 0.2%에서 35.7% 이었으며, 0.4% 및 0.8% 처리구에서는 각각 60.6% 및 36%로 0.8% 처리구에서 가장 낮게 나타남. 모든 측정값은 처리구간 피해도에 있어 통계적으로 유의적인 상관관계 ($P < 0.05$)를 나타내는 것으로 분석됨. 따라서, 페로산 농도 0.1%, 0.2% 및 0.4%에서는 효과가 없는 것으로 나타났으나 0.8% 처리구에서는 무처리에 비하여 36%의 방제효과를 나타냄. 각각의 페로산 처리농도에 대한 약해는 없는 것으로 판단되었으며, 처리구의 배양구 (0.8%)에서 페로산처리 효과가 무처리구 대비 36% 까지 방제효과가 있는 것으로 확인됨.

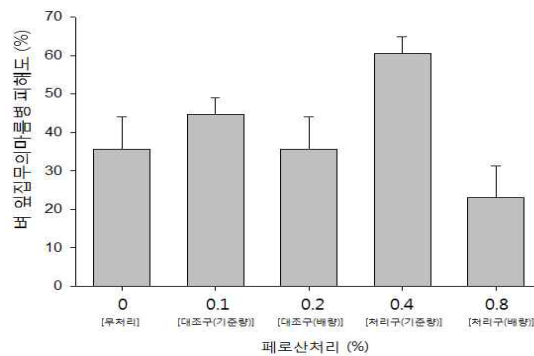


Fig. 3-10. 페로산 처리농도에 따른 벼 잎집무늬마름병의 피해도(%)

4. 과산화초산 혼합물의 독성 시험

○ 과산화초산 혼합물의 급성 경구투여 독성 시험 (독성등급법)

- 과산화초산 혼합물의 Sprague-Dawley 랫드에 급성 경구투여 하였을 때 독성 반응을 관찰하고, GHS (Globally harmonized system of classification and labelling of chemicals)의 category를 구분하고자 수행.
- 과산화초산 혼합물 2,000 ppm 내 과산화수소 및 아세트산의 함량은 약 100~300ppm, 과산화초산이 약 20~100 ppm이며 확실한 독성 징후를 평가하기 위해서 2000ppm으로 설정한 후 시험함. 3일간 사망개체가 발생하지 않아 2단계 용량을 2000ppm으로 설정 함
- 군 구성은 각 단계별로 3 마리를 사용하였고, 시험 물질 투여 후 14일간 관찰하며 관찰 기간동안 사망률, 일반증상 및 체중변화를 확인하였고, 부검 시육안적 관찰을 수행함.
- 시험 결과로서 모든 단계에서 사망동물, 이상증상, 체중의 이상변화는 관찰되지 않았으며, 부검 관찰결과 모든 단계에서 시험물질 투여와 관련된 이상변화는 관찰 되지 않음.
- 모든 단계에서 사망동물은 관찰되지 않음. (1단계 및 2단계 : 2000 ppm)

Table 3-4. 사망율

Sex: Female		Days														Total Mortality	
Step / Dose (mg/kg)	Animal ID	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		14
Step I 2,000	2101	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0 / 3
	2102	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	2103	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Step II 2,000	2201	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0 / 3
	2202	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	2203	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

-: No observable abnormality

- 투여당일(0 일)에 투여 후 30 분까지는 적어도 1 회 이상, 1, 2, 3 및 4 시간째에 일반 상태(독성징후의 종류, 발현시기, 회복시기 등) 및 사망유무를 관찰.
- 모든 단계에서 이상 증상은 관찰되지 않음.

Table 3-5. 일반 증상

Sex: Female		Clinical Sign	Hours				
Step / Dose (mg/kg)	Animal ID		0.5	1	2	3	4
Step I 2,000	2101		-	-	-	-	-
	2102		-	-	-	-	-
	2103		-	-	-	-	-
Step II 2,000	2201		-	-	-	-	-
	2202		-	-	-	-	-
	2203		-	-	-	-	-

Step / Dose (mg/kg)	Animal ID	Clinical Sign	Days													
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Step I 2,000	2101		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	2102		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	2103		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Step II 2,000	2201		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	2202		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	2203		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

-: No observable abnormality

- 체중은 전자저울을 사용하여 동물입수 시, 군 분리 시, 투여당일(투여 전), 투여 후 1, 3, 7 일 및 14 일(부검일)에 측정.
- 1 단계에서 투여 후 1 일에 1 마리(개체번호: 2101)에서 약 2.5%의 체중감소가 관찰되었고, 2 단계의 1 마리(개체번호: 2201)에서 투여 후 1 일 및 3 일째에 각각 1.4 및 2.7 %의 체중의 감소가 관찰되었다. 1 단계 및 2 단계에서 관찰된 체중의 감소는 같은 투여량을 투여한 다른 개체에서는 관찰되지 않았고, 시험물질 투여후 이상증상이 관찰되지 않았기 때문에 시험물질에 의한 영향이 아닌 우발적인 체중의 감소로 생각되나, 시험군이 2 개 군 6 마리 이므로 추가적인 실험을 통해 시험물질이 체중감소에 미치는 영향을 판단해야 할 것으로 판단 됨.

Table 3-6. 체중

Sex: Female							(g)
Step / Dose (mg/kg)	Animal ID	Days					Gain
		0	1	3	7	14	
Step I 2,000	2101	192.34	187.45	205.96	220.94	240.97	48.63
	2102	188.44	193.78	213.92	228.42	244.25	55.81
	2103	192.64	193.19	211.84	226.41	245.47	52.83
	Mean	191.14	191.47	210.57	225.26	243.56	52.42
	S.D.	2.34	3.50	4.13	3.87	2.33	3.61
	N	3	3	3	3	3	3
Step II 2,000	2201	198.01	195.27	189.99	221.81	242.84	44.83
	2202	196.24	206.85	229.52	244.37	270.96	74.72
	2203	205.83	206.17	219.21	239.60	255.47	49.64
	Mean	200.03	202.76	212.91	235.26	256.42	56.40
	S.D.	5.10	6.50	20.50	11.89	14.08	16.05
	N	3	3	3	3	3	3

S.D.: Standard Deviation, N: Number of animals

- 관찰기간 종료 후, 모든 생존동물에 대해서 CO2 가스를 흡입시켜 후대정맥/배대동맥에서 방혈하여 안락사 시키고 부검하여 육안적으로 모든 장기를 관찰.
- 모든 단계에서 시험물질 투여와 관련된 이상변화는 관찰되지 않음.

Table 3-7. 부검 소견

Sex: Female				
Step / Dose (mg/kg)	Animal ID	Organ	Necropsy Findings	Fate
Step I 2,000	2101		No abnormality detected	Sacrifice
	2102		No abnormality detected	Sacrifice
	2103		No abnormality detected	Sacrifice
Step II 2,000	2201		No abnormality detected	Sacrifice
	2202		No abnormality detected	Sacrifice
	2203		No abnormality detected	Sacrifice

○ 과산화초산 혼합물의 급성 경피투여 독성 시험

- 과산화초산 혼합물의 Sprague-dawley 랫드에 급성 경피투여 하였을 때 관찰되는 독성 반응과 반수치사약량(LD50)을 알아보기 위하여 실시함.
- 과산화초산 혼합물의 각 성분의 반수치사량(랫드, 경피)은 과산화수소가 4,060mg/kg, 과산화초산이 1,410 mg/kg, 아세트산이 1,060 mg/kg 이며 시험물질 4,000 mg/kg 내 과산화수소 및 아세트산의 함량은 약 200 ~ 600 mg/kg, 과산화초산이 약 40 ~ 200 mg/kg 이므로, 시험물질 투여군은 4,000 mg/kg 을 투여하는 한계용량군을 설정함
- 암수 각 5 마리를 사용하여 투여한 후 14 일간의 사망률, 일반증상, 체중변화 및 부검 소견을 관찰함.
- 시험 결과로서 수컷에서 사망동물은 관찰되지 않았지만, 암컷에서 1 마리가 투여 후 8

Group / Dose (mg/kg)	Animal ID	Clinical Sign	Days													
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
G1 4,000	1101	Ulceration	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		Crust formation	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	1102	Ulceration	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		Crust formation	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	1103	Ulceration	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
		Crust formation	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
	1104	Ulceration	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		Crust formation	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	1105	Ulceration	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		Crust formation	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	2101	Ulceration	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		Hemorrhage	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		Decreased locomotor activity	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		Death	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	2102	Ulceration	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		Crust formation	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	2103	Ulceration	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		Crust formation	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	2104	Ulceration	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		Crust formation	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
2105	Ulceration	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
	Crust formation	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+		

-: No observable abnormality +: Observable abnormality

- 체중은 전자저울을 사용하여 동물입수 시, 군 분리 시, 투여당일(투여 전), 투여 후 1, 3, 7 일 및 14 일(부검일)에 측정.
- 수컷의 1 마리(개체번호: 1105)에서 투여 후 3 일에 약 0.3 % 의 체중의 감소가 관찰되었고, 암컷의 3 마리(개체번호: 2101, 2103, 2105)에서 투여 후 3 일에 약 2.3 ~ 2.9 % 체중의 감소가 관찰됨. 또한, 암컷의 1 마리(개체번호: 2101)에서 투여 후 7 일 쯤의 체중이 투여당일에 비하여 약 20.2 % 감소함.

Table 3-10. 체중

Sex: Male						(g)
Group / Dose (mg/kg)	Animal ID	Days				Gain
		0	3	7	14	
G1 4,000	1101	231.41	240.28	284.47	345.25	113.84
	1102	233.32	243.45	288.96	338.88	105.56
	1103	236.46	240.60	281.72	341.81	105.35
	1104	239.34	243.05	280.06	327.24	87.90
	1105	235.92	235.33	281.81	331.54	95.62
	Mean	235.29	240.54	283.40	336.94	101.65
	S.D.	3.05	3.24	3.48	7.41	10.04
	N	5	5	5	5	5
	2101	235.48	229.98	187.89	-	-
	2102	226.09	231.30	251.27	261.54	35.45
2103	241.79	234.85	254.61	273.69	31.90	
2104	247.49	248.49	286.87	297.78	50.29	
2105	257.21	250.63	261.59	277.02	19.81	
Mean	241.61	239.05	248.45	277.51	34.36	
S.D.	11.79	9.79	36.61	15.06	12.55	
N	5	5	5	4	4	

N: Number of animal, S.D.: Standard deviation

- 관찰기간 종료 후, 모든 생존동물에 대해서 CO2 가스를 흡입시켜 후대정맥/배대동맥에서 방혈하여 안락사 시키고 부검하여 육안적으로 모든 장기를 관찰.
- 모든 개체에서 이상 소견은 관찰되지 않음.

Table 3-11. 부검 소견

Sex: Male				
Group / Dose (mg/kg)	Animal ID	Organ	Necropsy Findings	Fate
G1 4,000	1101		Unremarkable Findings	Sacrifice
	1102		Unremarkable Findings	Sacrifice
	1103		Unremarkable Findings	Sacrifice
	1104		Unremarkable Findings	Sacrifice
	1105		Unremarkable Findings	Sacrifice
	2101		Unremarkable Findings	Death
	2102		Unremarkable Findings	Sacrifice
	2103		Unremarkable Findings	Sacrifice
	2104		Unremarkable Findings	Sacrifice
	2105		Unremarkable Findings	Sacrifice

○ 과산화초산 혼합물의 피부감작성 시험 - 국소림프절시험

- 과산화초산 혼합물의 피부감작성 유·무를 확인하기 위해 수행함. 피부감작성 유·무는 암컷 CBA/J 마우스를 이용한 국소림프절시험(Local Lymph Node Assay, LLNA)-BrdU-ELISA 법을 통하여 확인함
- 예비 시험을 통해 과산화초산 혼합물 도포 용량을 5%로 설정하였으며 마우스 양쪽 귀 등에 25 μ 씩 3일간 1일 1회씩 투여하였고, 투여 후 4일째 BrdU를 복강 투여하였음. 동물의 일반증상 및 처치부위의 국소피부자극성(홍반)을 관찰하고, 체중과 귀두께를 총 3회 측정함. 투여 후 5일째 이개 림프절을 채취하였고 림프절은 단일 림프절세포로 분리하고, 다음날 세포의 건조, 고정 및 변성 과정을 거쳐, ELISA reader로 흡광도(370 nm 와 492 nm)를 측정함, 결과는 평균 자극지수(Stimulation index, SI)로 표현하였고, SI가 1.6 이상일 때 양성으로 판정하였으며 시험물질군 및 양성대조군은 음성대조군과 비교함
- 시험 결과로서 시험기간 동안 사망개체 및 시험 물질 투여과 관련된 증상은 관찰되지 않았음. 또한 시험물질을 처리한 국소부위를 관찰한 결과, 모든 개체에서 홍반 및 부종 등의 피부자극이 관찰되지 않았으며 체중 및 귀두께 측정결과 통계적으로 유의한 변화는 관찰되지 않음. 자극지수(Stimulation index, SI)를 산출한 결과, 시험물질 1, 2.5 및 5% 투여 시 자극지수는 0.9, 1.3, 2.0으로 산출됨. 이때 양성대조물질인 25% Eugenol의 자극지수는 5.0으로 산출되었다. (SI가 1.6 이상일 때 양성으로 판정)
- 과산화초산 혼합물은 1, 2.5% 농도에서 음성으로, 5% 농도에서 양성으로 판정되어, 5% 농도에서 감작성을 유발하는 것으로 판정됨.
- 전 시험기간 중 매일 1회 이상 귀의 국소피부자극성(홍반) 유무를 관찰하고, 일반 상태(독성징후의 종류, 발현시기, 회복시기 등) 및 사망유무를 관찰하였다.
- 시험기간 동안 사망개체 및 일반증상의 이상변화는 관찰되지 않음. 시험물질을 처리한 국소부위를 관찰한 결과, 모든 개체에서 홍반 및 부종 등의 피부자극이 관찰되지 않음.

Table 3-12. 일반 증상

Sex: Female									
Group	Treatment	Animal ID	Clinical Sign. Erythema	Days					
				0	1	2	3	4	5
G1	Vehicle control (AOO)	2101		-	-	-	-	-	-
		2102		-	-	-	-	-	-
		2103		-	-	-	-	-	-
		2104		-	-	-	-	-	-
G2	Eugenol 25 %	2201		-	-	-	-	-	-
		2202		-	-	-	-	-	-
		2203		-	-	-	-	-	-
		2204		-	-	-	-	-	-
G3	Test material 1 %	2301		-	-	-	-	-	-
		2302		-	-	-	-	-	-
		2303		-	-	-	-	-	-
		2304		-	-	-	-	-	-
G4	Test material 2.5 %	2401		-	-	-	-	-	-
		2402		-	-	-	-	-	-
		2403		-	-	-	-	-	-
		2404		-	-	-	-	-	-
G5	Test material 5 %	2501		-	-	-	-	-	-
		2502		-	-	-	-	-	-
		2503		-	-	-	-	-	-
		2504		-	-	-	-	-	-

-: No Observable Abnormality
AOO (Acetone : Olive Oil = 4 : 1)

- 체중은 전자저울을 사용하여 동물입수 시, 군 분리 시, 물질도포하기 직전(0 일), 도포개시 후 2 일, 5 일(부검일)에 측정하였다.
- 음성대조군과 비교 시 통계적으로 유의한 변화는 관찰되지 않음.

Table 3-13. 체중

Sex: Female					
Group	Treatment	Animal ID	Days		
			0	2	5
G1	Vehicle control (AOO)	2101	24.06	23.61	24.27
		2102	22.96	23.45	23.96
		2103	24.99	25.62	24.34
		2104	22.63	23.00	21.53
		Mean	23.66	23.92	23.53
		S.D.	1.08	1.16	1.34
G2	Eugenol 25 %	2201	23.87	24.21	24.02
		2202	23.70	23.89	22.19
		2203	24.75	25.13	25.33
		2204	21.06	21.10	22.05
		Mean	23.35	23.58	23.40
		S.D.	1.59	1.74	1.57
G3	Test material 1 %	2301	22.90	23.64	23.90
		2302	22.39	23.99	23.96
		2303	22.04	22.75	23.86
		2304	24.03	24.53	25.01
		Mean	22.84	23.73	24.18
		S.D.	0.87	0.75	0.55
G4	Test material 2.5 %	2401	22.90	22.66	22.64
		2402	24.09	23.09	23.56
		2403	21.43	22.76	22.95
		2404	23.78	24.08	23.14
		Mean	23.05	23.15	23.07
		S.D.	1.19	0.65	0.38
G5	Test material 5 %	2501	23.00	22.79	22.36
		2502	23.21	22.89	23.71
		2503	24.53	23.11	24.35
		2504	23.44	22.14	23.14
		Mean	23.55	22.73	23.39
		S.D.	0.68	0.42	0.85

AOO (Acetone : Olive Oil = 4 : 1)
S.D.: Standard Deviation

- Digimatic Micrometer(ID-C112XBS, Mitutoyo, Japan)를 사용하여 물질 도포하기 직전 (0 일), 도포개시 후 2 일, 5 일(부검일)에 측정
- 음성대조군과 비교 시 통계적으로 유의한 변화는 관찰되지 않음.

Table 3-14. 귀 두께

Sex: Female

Group	Treatment	Animal ID	Days		
			0	2	5
G1	Vehicle control (AOO)	2101	0.264	0.266	0.268
		2102	0.262	0.265	0.268
		2103	0.266	0.269	0.272
		2104	0.263	0.265	0.267
		Mean	0.264	0.266	0.269
		S.D.	0.002	0.002	0.002
G2	Eugenol 25 %	2201	0.268	0.269	0.270
		2202	0.265	0.266	0.265
		2203	0.269	0.271	0.272
		2204	0.262	0.264	0.267
		Mean	0.266	0.268	0.269
		S.D.	0.003	0.003	0.003
G3	Test material 1 %	2301	0.266	0.267	0.269
		2302	0.267	0.267	0.268
		2303	0.268	0.268	0.270
		2304	0.270	0.271	0.273
		Mean	0.268	0.268	0.270
		S.D.	0.002	0.002	0.002
G4	Test material 2.5 %	2401	0.264	0.262	0.266
		2402	0.271	0.272	0.274
		2403	0.264	0.264	0.265
		2404	0.268	0.270	0.273
		Mean	0.267	0.267	0.270
		S.D.	0.003	0.005	0.005
G5	Test material 5 %	2501	0.270	0.271	0.272
		2502	0.265	0.268	0.271
		2503	0.272	0.270	0.273
		2504	0.271	0.272	0.273
		Mean	0.270	0.270	0.272
		S.D.	0.003	0.002	0.001

AOO (Acetone : Olive Oil = 4 : 1)
S.D.: Standard Deviation

- SI 는 시험물질군과 음성대조물질군 및 양성대조물질군의 흡광도를 ELISA reader(Epoch, Biotek, USA)를 사용하여 측정
- BrdU 표지지수(BrdU Labelling Index)를 다음과 같이 산출하며, SI 가 1.6 이상일 때 양성으로 판정
- 자극지수(Stimulation index, SI)를 산출한 결과, 시험물질 1, 2.5 및 5 % 투여 시 자극지수는 0.9, 1.3, 2.0 로 각각 산출됨. 이때 양성대조물질인 25 % Eugenol의 자극지수는 5.0 으로 산출됨.

Table 3-15. 자극 지수

Group	Treatment	Animal ID	Absorbance		BrdU Index	SI Index
			370 nm	492 nm		
Blank			0.180	0.053	-	-
G1	Vehicle control (AOO)	2101	0.474	0.065	0.282	1.0
		2102	0.479	0.065	0.287	
		2103	0.465	0.064	0.274	
		2104	0.556	0.068	0.361	
		Mean	0.493	0.066	0.301	
		S.D.	0.042	0.002	0.040	
G2	Eugenol 25 %	2201	1.483	0.102	1.255	5.0
		2202	1.666	0.108	1.431	
		2203	1.918	0.119	1.672	
		2204	1.948	0.122	1.699	
		Mean	1.754	0.113	1.514	
		S.D.	0.220	0.009	0.211	
G3	Test material 1 %	2301	0.456	0.064	0.265	0.9
		2302	0.448	0.064	0.258	
		2303	0.464	0.064	0.272	
		2304	0.572	0.070	0.375	
		Mean	0.485	0.065	0.292	
		S.D.	0.058	0.003	0.055	
G4	Test material 2.5 %	2401	0.629	0.074	0.428	1.3
		2402	0.543	0.068	0.348	
		2403	0.755	0.076	0.552	
		2404	0.447	0.064	0.255	
		Mean	0.593	0.070	0.396	
		S.D.	0.131	0.005	0.126	
G5	Test material 5 %	2501	0.741	0.074	0.540	2.0
		2502	0.758	0.077	0.554	
		2503	0.865	0.081	0.657	
		2504	0.881	0.080	0.674	
		Mean	0.811	0.078	0.606	
		S.D.	0.072	0.003	0.069	

AOO (Acetone : Olive Oil = 4 : 1)
S.D.: Standard Deviation

5. 과산화초산 혼합물의 제형화와 상품화

- 농가 사용의 편리성과 안전성을 위해 제품을 4리터 단위로 소포장화를 진행중임.
- 기존 판매중인 제품 페로산의 매출 추이를 바탕으로 페로산 마일드(가칭, 페로산 B)의 무상 공급을 통해 영업 루트 및 그 효과를 확인하고, 차후년도부터 본격적으로 영업/판매 활성화 예정



Fig. 3-11. 4리터 소포장된 페로산 마일드 시제품

- 과제 종료후 사업화 계획

년차	생산량 (kg)	매출액 (천원)	비고
2018년 (종료후 1년차)	500	750	생산량의 절반 수준을 무상 공급, 실제 포장에서의 방제 효과, 보완 개선점 확인 (경남 지역)
2019년 (종료후 2년차)	1,000	2,000	연구과제 종료 1년차까지 실제 포장 데이터를 근거로 판매 활성화 (경남, 전라 지역)
2020년 (종료후 3년차)	2,000	4,000	농가 판매 활성화, 대리점 상품 홍보 (경남, 전라, 강원 지역)

○ 연구개발 성과 정량적 목표와 실적

성과목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인 증	학술성과			교육 지 도	인 력 양 성	정책 활용·홍 보		기 타 (타 연 구 활 용 등)
	특 허 출 원	특 허 등 록	품 종 등 록	건 수	기 술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논 문		학 술 발 표			정 책 활 용	홍 보 전 시	
												SCI	비 SCI						
최종목표																			
1 차 년 도	목 표				1								1		-				
	실 적												5		1				
2 차 년 도	목 표	1				1	1					2	2		-				
	실 적	1			0	0	0					1	1		1				
소 계	목 표	1			1	1	1					2	3		-				
	실 적	1			0	0	0					1	6		2				
종 료 1 차 년 도	목 표											2							
	실 적											2							
종 료 2 차 년 도	목 표	1				1	1							1	1				
	실 적																		
소 계		1				1	1					2		1	1				
합 계		2			1	2	2					4	3	1	1				

○ 연구개발 성과

가) 지식재산권 출원

No	지식재산권 등 명칭	국명	출원			등록			기여율
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
1	과산화초산을 포함하는 친환경 병해 방제제	대한민국	안동완 김량환 김효중	2017.12.15.	10-2017-0172931				100%

나) 논문 게재

No	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)	게재일	등록번호
1	Functional roles of the pepper leucine-rich repeat protein and its interactions with pathogenesis-related and hypersensitive-induced proteins in plant cell death and immunity	Planta	홍점규	246: 351-364	독일	Springer	SCI급	2017. 9. 1.	
2	Reduced bacterial wilt in tomato plants by bactericidal peroxyacetic acid mixture treatment	The Plant Pathology Journal	홍점규	34: 78-84	한국	한국 식물 병리 학회	SCI급	2018. 2. 1. 예정	
3	First report of fungal leaf spot disease in <i>Echeveria</i> spp. caused by <i>Cladosporium tenuissimum</i> in Korea	Plant Disease	조혜수		미국	미국 식물 병리 학회	SCI급	(출판 중)	

다) 학술대회 발표

No	학술대회 명칭	발표제목/발표자	발표일시	장소	국명
1	한국식물병리학회 2016 춘계학술대회 및 국제 학술대회	Potential application of Perosan as a green chemical to control rice pathogens 조혜수, 장민, 홍점규, 박창진	2016. 4. 21.-22.	농촌진흥청	대한민국
2	한국식물병리학회 2016 춘계학술대회 및 국제 학술대회	<i>In vitro</i> growth inhibition of <i>Botrytis cinerea</i> and <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>fragariae</i> by plant essential oils and peroxyacetic acid treatments 박진영, 정대훈, 우성민, 도유진, 김나희, 김수현, 이영희, 이상우, 박창진, 홍점규	2016. 4. 21.-22.	농촌진흥청	대한민국
3	6th International Bacterial Wilt Symposium	Treatment with thiamine, Mn/Zn nutrients and peroxyacetic acid mixtures reduced tomato bacterial wilt caused by <i>Ralstonia solanacearum</i> 이영희, 김현지, 하주희, 장민, 박창진, 홍점규	2016. 7. 3.-8.	INRA /CNRS	프랑스
4	한국식물병리학회	Application of peroxyacetic acid mixture to	2016.	서울대학교	대한민국

	2016 추계학술대회 및 국제 학술대회	reduce tomato bacterial wilt and strawberry fusarium wilt diseases 이영희, 박진영, 도유진, 김혜원, 하주희, 박창진, 김효중, 홍점규	10. 19.-22.	평창캠퍼스	
5	한국식물병리학회 2016 추계학술대회 및 국제 학술대회	Potential application of peroxyacetic acid as a green chemical to control rice bacterial and fungal pathogens 조혜수, 장민, 홍점규, 김효중, 박창진	2016. 10. 19.-22.	서울대학교 평창캠퍼스	대한민국
6	한국식물병리학회 2017 춘계학술대회 및 국제 학술대회	Effect of peroxyacetic acid-based chemical as a green chemical on rice bacterial and fungal pathogens 조혜수, 장민, 홍점규, 박창진	2017. 4. 27.-28.	한국과학기술회관	대한민국

라) 인력 양성

No	분류	기준 년도	현 황											
			학위별				성별		지역별					
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타	
1		2017. 8		1				1	1					
2		2018. 2		1	1			2	2					

○ 연구개발 종합분석

- 전반적으로 당초 연구 계획에 따라 기반 연구가 잘 진행되었으며, 정성적 목표를 이루었다고 판단됨
- 정량적으로 논문 게재는 일부 성과를 이루었으나 종료 후 1-2년 사이에 최종적으로 논문 게재의 정량적 성과에 도달 할 것으로 예상됨
- 학술대회 발표는 국내외 관련 학술대회에 참여하여 정량 목표 이상의 성과를 이룩하였음
- 과산화초산 화합물의 동물 독성 시험 자료를 얻을 수 있었음
- 과산화초산 화합물에 대하여 친환경 병해 방제용으로 특허 출원을 하였으며 연구종료 1-2년 사이에 특허 등록 될 것으로 예상함
- 추가적으로 과산화초산 화합물의 영농활용을 위하여 보다 구체적인 사용 매뉴얼의 작성이 필요하므로 작물별로 이를 제작하기로 함
- 제1협동기관에서 수행한 실험실 내에서는 과산화초산 화합물 페로산이 벼 흰잎마름병과 잎집무늬마름병 방제 효과를 보였으나 제2협동기관에서 수행한 온실 시험에서는 병 방제 효과가 뚜렷하지 않았음. 벼 흰잎마름병의 경우 뚜렷한 방제 효과를 위하여 온실에서 더 높은 페로산 농도가 처리되어야하며, 벼 흰잎마름병의 경우 3회 이상의 반복 처리가 필요함을 알 수 있음.
- 작물 병해 방제를 위한 과산화초산 화합물의 상업화를 위하여 보다 안정적이고 방제 효과를 증가시키기 위한 추가적인 물질 및 제형에 대한 탐색이 추후 필요함

4. 목표달성도 및 관련분야 기여도

		코드번호	D-06
4-1. 목표달성도			
성과목표	개발내용	달성도 (%)	
○ 과산화초산 혼합제에 의한 토양 pH 변동과 토마토, 딸기 및 벼에 대한 약해검정	<ul style="list-style-type: none"> - 농도별로 희석하여 처리한 과산화초산 혼합제에 의하여 토마토, 딸기 및 벼 식물에 상이하게 발생하는 약해의 범위를 구명함 - 산성의 pH를 가지고 있는 과산화초산 혼합제에 의하여 변동되는 식물 재배 환경 및 pH의 변동을 밝힘 - 페로산 처리에 의한 토마토와 딸기 재배 토양에서의 pH 변동과 회복 양상에 대한 연구가 미진함 - 벼 유묘를 대상으로 페로산의 농도별 처리에 대한 약해 반응을 다양한 방법으로 검정함 	90	
○ 과산화초산 혼합제의 토마토, 딸기 및 벼의 주요 병원균에 대한 <i>in vitro</i> 항균 활성 검정	<ul style="list-style-type: none"> - 토마토 풋마름병 세균과 벼 흰잎마름병 세균에 대한 과산화초산 혼합제 페로산의 <i>in vitro</i> 성장 억제력을 구명 - 딸기 위황병 진균에 대한 페로산의 <i>in vitro</i> 분생포자 발아 억제 및 균사 성장 억제력을 구명 - 벼 잎집무늬마름병 진균에 대한 페로산의 <i>in vitro</i> 분생포자 발아 억제 및 균사 성장 억제력을 구명 	100	
○ 토마토, 딸기 및 벼의 주요 세균 및 진균 병해 방제를 위한 과산화초산 혼합제의 적정 처리 시기 및 방법 제안	<ul style="list-style-type: none"> - 토마토 풋마름병 세균 접종 직후 처리된 1%의 페로산 수용액의 처리에 의해서 풋마름병의 발생이 지연됨 - 1%의 페로산 수용액의 처리가 딸기 생육 상태에 따라 약해를 초래하는 경우가 있어 페로산의 딸기 위황병 방제 효과에 대한 재평가가 필요함 - 1% 페로산에 의해서 딸기 위황병균의 포자 발아가 상당히 억제되어 딸기 재배용 상토 소독용으로 적용 가능성을 제시함 - 벼 흰잎마름병과 잎집무늬마름병 방제를 위하여 페로산 희석액의 엽면 살포가 효과적임을 제시함 	95	
○ 과산화초산 혼합제의 효능 강화 방안 탐색	<ul style="list-style-type: none"> - 소독용으로 개발된 기 제품인 페로산과 조성의 변경물을 비교 분석하여 페로산 제품의 항균 활성에 있어 우수성을 입증함 	100	
○ 과산화초산 혼합제의 농자재 등재	<ul style="list-style-type: none"> - 작물 병의 방제 효과와 더불어 작물 약해 시험 및 동물 독성 자료를 근거로 하여 특허 출원을 하여 농자재로의 등록을 앞두고 있음 	95	

4-2. 관련분야 기여도

- 친환경 병해 방제제로서 과산화초산 화합물이 적용될 수 있음을 시사하는 국내 최초의 연구 결과이며, 국외의 사례로 볼 때 본 연구 결과를 바탕으로 과산화초산 화합물을 다양한 작물 병에 적용하기 위한 상업화가 가능할 것으로 생각됨
- 일반적으로 병해 방제가 어렵다고 알려진 세균병(토마토 풋마름병, 벼 흰잎마름병)과 진균병 중 딸기 위황병과 같은 *Fusarium* 속과 벼 잎집무늬마름병과 같은 *R. solani*를 친환경적으로 방제하기 위한 기술 개발에 기여하였음

5. 연구결과의 활용계획

	코드번호	D-07
○ 국내 주요 생산 작물인 토마토, 딸기 및 벼를 대상으로 친환경적 병 방제를 위하여 적용한 과산화초산 화합물의 적용 연구를 바탕으로, 국내에 경제성이 높은 다른 주요 원예 작물(고추, 오이, 배추, 사과, 배, 복숭아) 및 식량 작물(콩, 감자)에 적용할 계획임		
○ 페로산 처리 방법(엽면 살포, 토양 관주, 양액에 주입) 및 처리 농도와 양, 횟수에 따라 대상 작물의 품종, 생육기(유묘, 성체), 식물 기관(잎, 줄기, 뿌리, 과실)에 따라 변화할 수 있는 약해의 범위를 추가적으로 구명할 예정임		
○ 페로산은 대부분의 세균 및 진균에 대하여 광범위한 항균 활성을 나타내는 물질로 작물 재배 전후에 토경 재배에서는 토양에, 수경 재배에서는 배지 살균용 소독제로 활용이 가능하므로, 이를 위한 구체적인 적용 매뉴얼을 작성할 수 있음		
○ 잔류성은 매우 낮은 물질로 생각되나 처리후 일정 기간 후의 잔류 페로산에 의하여 작물에 약해 발생 여부도 추가적으로 구명되어야 함		
○ 페로산의 소량 혼합 처리로 기존의 화학 살균제의 병 방제 효과를 향상 시켜 살균제의 사용량과 빈도를 감소시키는 연구가 필요함		
○ 페로산과 다양한 종류의 친환경 방제제와의 조합으로 주요 작물의 세균 및 진균 병해 방제 효율을 증가시킬 수 있을 것으로 기대됨		
○ 페로산을 수확 후 오염될 수 있는 식중독균을 살균하기 위한 제재로 활용이 가능함		

6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

	코드번호	D-08
<p>○ Peroxyacetic acid의 상업화 산물인 PERACLEAN[®]5의 첨가로 토마토 잿빛곰팡이병균인 <i>Botrytis cinerea</i>의 포자 발아와 균사 생장 억제를 위한 두 종류의 살균제 SWITCH(26.7% boscalide, 6.7% pyraclostrobine)와 SIGNUM(37.5% cyprodinil, 25% fludioxonil)의 효과를 상당히 증가시킬 수 있었음(Ayoub et al., 2017).</p> <p>○ 딸기 열매를 8℃에서 보관하는 중에 열매에 발생할 수 있는 다양한 미생물들을 제어하기 위한 시도로 과산화초산 화합물이 매우 효과적이었으며, 초음파(ultrasound)를 함께 처리하면 그 효과가 매우 증가하였음(Rosário et al. 2017).</p>		

7. 연구개발결과의 보안등급

	코드번호	D-09
공개 가능		

8. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

해당 없음

9. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적

	코드번호	D-11																
<p>○ 연구실 안전 점검 수행 계획</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 15%;">점검 유형</th> <th style="width: 20%;">점검 시기</th> <th style="width: 25%;">점검 수행자</th> <th style="width: 40%;">점검 대상</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>일상 점검</td> <td>연구 활동 수행하기 전 오전 9시 수행</td> <td>연구 활동 종사자 (과제책임자 수행감독)</td> <td>설치 및 운영 기기 및 장비, 재료에 대한 보관상태 및 보호상태에 대한 육안검사 실시</td> </tr> <tr> <td>정기 점검</td> <td>분기별 실시 (매월 분기시작 월)</td> <td>기관별 과제책임자 (참여연구원 전원)</td> <td>안전점검기기(도입장비)를 활용한 세부 점검 수행</td> </tr> <tr> <td>특별 안전 점검</td> <td>안전 위험 예고시</td> <td>기관별 과제책임자 (필요시 안전 점검 대행업체)</td> <td>폭발 및 화재사고 등 연구 활동 종사자의 안전상의 치명적인 위험 가능성 발견시</td> </tr> </tbody> </table> <p>- 연구대상 실험실은 각 기관별 과제책임자가 안전관리규정에 명시한 연구실 및 위험물 보관소</p> <p>○ 연구실 정밀 안전 진단 실시 계획</p> <p>- 수행시기 : 각 기관별 운영하는 연구실에 대한 1년에 1회 자체 계획에 의거하여 수행</p>	점검 유형	점검 시기	점검 수행자	점검 대상	일상 점검	연구 활동 수행하기 전 오전 9시 수행	연구 활동 종사자 (과제책임자 수행감독)	설치 및 운영 기기 및 장비, 재료에 대한 보관상태 및 보호상태에 대한 육안검사 실시	정기 점검	분기별 실시 (매월 분기시작 월)	기관별 과제책임자 (참여연구원 전원)	안전점검기기(도입장비)를 활용한 세부 점검 수행	특별 안전 점검	안전 위험 예고시	기관별 과제책임자 (필요시 안전 점검 대행업체)	폭발 및 화재사고 등 연구 활동 종사자의 안전상의 치명적인 위험 가능성 발견시		
점검 유형	점검 시기	점검 수행자	점검 대상															
일상 점검	연구 활동 수행하기 전 오전 9시 수행	연구 활동 종사자 (과제책임자 수행감독)	설치 및 운영 기기 및 장비, 재료에 대한 보관상태 및 보호상태에 대한 육안검사 실시															
정기 점검	분기별 실시 (매월 분기시작 월)	기관별 과제책임자 (참여연구원 전원)	안전점검기기(도입장비)를 활용한 세부 점검 수행															
특별 안전 점검	안전 위험 예고시	기관별 과제책임자 (필요시 안전 점검 대행업체)	폭발 및 화재사고 등 연구 활동 종사자의 안전상의 치명적인 위험 가능성 발견시															

- 점검 대상 연구실 :
산업안전보건법 제 39조에 의거 지정된 유해인자를 취급하는 연구실
- 수행방법 : 정밀 안전 진단을 실시할 수 있는 자격요건을 갖춘 정밀 안전 진단 업체 및 전문가를 통하여 안전검사 실시
- 안전 분야별 수행요건 자격자 :
방화관리자, 산업안전기사, 산업위생기사, 소방설비기사, 가스기사
- 정밀안전진단 비용은 연구 활동비에 통하여 집행

○ 참여연구원 연구실 안전 교육 훈련 계획

교육훈련과제	교육 내용	대상자	수행 시기
소방안전교육	화재 및 폭발 등의 안전사고 예방교육	참여연구원	연 1회
가스안전교육	유해 가스 사용 및 안전취급 교육	참여연구원	연 1회
전기안전교육	전기안전 관련 교육	참여연구원	연 1회

○ 참여연구원 건강 검진 계획

- 수행시기 : 참여연구원 중 건강위험에 노출대상이 높은자를 과제책임자가 선정하여 연 1회 실시함
- 수행내용 : 참여기관의 장은 해당 과제개발 및 연구수행자 중 건강검진 대상자에 대한 건강검진을 수행하도록 여건을 보장함

10. 연구개발과제의 대표적 연구실적

번호	구분 (논문/ 특허/ 기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국가	코드번호		D-12	
						Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/ 인용횟수 등)
1	특허	과산화초산을 포함하는 친환경 병해 방제제	㈜대성 C&S	발명자 (김효중)	대한민국		2017.12.15.	단독사사	
2	논문	Functional roles of the pepper leucine-rich repeat protein and its interactions with pathogenesis-related and hypersensitive-induced proteins in plant cell death and immunity	경남 과기대	제1저자 (홍점규)	Planta	3.361	2017. 9. 1.	중복사사	SCI
3	논문	Reduced bacterial wilt in tomato plants by bactericidal peroxyacetic acid mixture treatment	경남 과기대 세종대 (주)대성 C&S	교신저자 (홍점규)	The Plant Pathology Journal	1.255	2018. 2. 1	단독사사	SCIE
4	논문	First report of fungal leaf spot disease in <i>Echeveria</i> spp. caused by <i>Cladosporium</i> <i>tenuissimum</i> in Korea	경남 과기대 세종대	교신저자 (박창진)	Plant Disease	3.173	https://doi.org/10.1094/PDIS-08-17-1277-PDN	중복사사	SCI

11. 기타사항

	코드번호	D-13
○ 없음		

12. 참고문헌

	코드번호	D-14
Abd-Alla MA, Abd-El-Kader MM, Abd-El-Kareem F, El-Mohamedy RSR (2011) Evaluation of lemongrass, thyme and peracetic acid against gray mold of strawberry fruits. J Agric Technol 7:1775-1787		
Alvaro JE, Moreno S, Dianez F, Santos M, Carrasco G, Urrestarazu M (2009) Effects of peracetic acid disinfectant on the postharvest of some fresh vegetables. J Food Eng 95:11-15		
Ayoub F, Ben oujji N, Chebli B, Ayoub M, Hafidi A, Salghi R, Jodeh S (2017) Antifungal effectiveness of fungicide and peroxyacetic acid mixture on the growth of Botrytis cinerea. Microb Pathog 105:74-80		
Ben-Jabeur M, Ghabri E, Myriam M, Hamada W (2015) Thyme essential oil as a defense inducer of tomato against gray mold and <i>Fusarium</i> wilt. Plant Physiol Biochem 94:35-40		

- Ben-Shalom N, Ardi R, Pinto R, Aki C, Fallik E (2003) Controlling gray mould caused by *Botrytis cinerea* in cucumber plants by means of chitosan. *Crop Protect* 22:285-290
- Carrasco G, Moggia C, Osses IJ, Álvaro JE, Urrestarazu M (2011) Use of peroxyacetic acid as green chemical on yield and sensorial quality in watercress (*Nasturtium officinale* R. Br.) under soilless culture. *Int J Mol Sci* 12:9463-9470
- Delventhal R, Loehrer M, Weidenbach D, Schaffrath U (2016) Inoculation of rice with different pathogens: Sheath blight (*Rhizoctonia solani*), damping off disease (*Pythium graminicola*) and barley powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*). *Bio-protocol* 6:e2070
- Fang XL, Li ZZ, Wang YH, Zhang X (2011) *In vitro* and *in vivo* antimicrobial activity of *Xenorhabdus bovienii* YL002 against *Phytophthora capsici* and *Botrytis cinerea*. *J Appl Microbiol* 111L145-154
- Hanks GR, Linfield CA (1999) Evaluation of a peroxyacetic acid disinfectant in hot-water treatment for the control of basal rot (*Fusarium oxysporum* f. sp. *narcissi*) and stem nematode (*Ditylenchus dipsaci*) in narcissus. *J Phytopathol* 147:271-279
- Hong S-J, Park J-H, Kim Y-K, Jee H-J, Han E-J, Shim C-K, Kim M-J, Kim J-H, Kim S-H (2012) Study of the control of leaf mold, powdery mildew and gray mold for organic tomato cultivation. *Kor J Organic Agri* 20:655-668 (in Korean)
- Imada K, Tanaka S, Ibaraki Y, Yoshimura K, Ito S (2014) Antifungal effect of 405-nm light on *Botrytis cinerea*. *Lett Appl Microbiol* 59:670-676
- José JFBS, Vanetti MCD (2012) Effect of ultrasound and commercial sanitizers in removing natural contaminants and *Salmonella enterica* Typhimurium on cherry tomatoes. *Food Cont.* 24:94-99.
- Kim H, Ryu J-H, Beuchat LR (2006) Survival of *Enterobacter sakazakii* on fresh produce as affected by temperature, and effectiveness of sanitizers for its elimination. *Inter J Food Microbiol* 111:134-143
- Kim Y-K, Choi E-J, Hong S-J, Shim C-K, Kim M-J, Jee H-J, Park J-H, Han E-J, Jang B-K, Yun J-C (2013) Biological control of tomato and red pepper powdery mildew using *Paenibacillus polymyxa* CW. *Kor J Pestic Sci* 17:379-387 (in Korean)
- Liu J, Tian S, Meng X, Xu Y (2007) Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. *Postharvest Biol Technol* 44:300-306
- Marvasi M, Durie IA, Henríquez T, Satkute A, Matuszewska M, Prado RC (2016) Dispersal of human and plant pathogens biofilms via nitric oxide donors at 4 °C. *AMB Expr* 6:49
- Puopolo G, Cimmino A, Palmieri MC, Giovannini O, Evidente A, Pertot I (2014) *Lysobacter capsici* AZ78 produces cyclo(L-Pro-L-Tyr), a 2,5-diketopiperazine with toxic activity against sporangia of *Phytophthora infestans* and *Plasmopara viticola*. *J Appl Microbiol* 117:1168-1180
- Rosário DKAd, Mutz YdS, Peixoto JMC, Oliveira SBS, Carvalho RVd, Carneiro JCS, São José JFBd, Bernardes PC (2017) Ultrasound improves chemical reduction of natural contaminant microbiota and *Salmonella enterica* subsp. *enterica* on strawberries. *Inter J Food Microbiol* 241:23-29

- Vines JRL, Jenkins PD, Foyer CH, French MS, Scott IM (2003) Physiological effects of peracetic acid on hydroponic tomato plants. *Ann Appl Biol* 143:153-159
- Segarra G, Reis M, Casanova E, Trillas MI (2009) Control of powdery mildew (*Erysiphe polygoni*) in tomato by foliar applications of compost tea. *J Plant Pathol* 91:683-689
- Song WY, Wang GL, Chen LL, Kim HS, Pi LY, Holsten T, Gardner J, Wang B, Zhai WX, Zhu LH, Fauquet C, Ronald P (1995) A receptor kinase-like protein encoded by the rice disease resistance gene, Xa21. *Science* 270:1804-1806
- Wang C, Fan Y (2013) Eugenol enhances the resistance of tomato against tomato yellow leaf curl virus. *J Sci Food Agric* 94:677-682
- Yamamoto S, Shiraishi S, Kawagoe Y, Mochizuki M, Suzuki S (2015) Impact of *Bacillus amyloliquefaciens* S13-3 on control of bacterial wilt and powdery mildew in tomato. *Pest Manag Sci* 71:722-727
- Yan Z, Reddy MS, Ryu C-M, McInroy JA, Wilson M, Kloepper JW (2002) Induced systemic protection against tomato late blight elicited by plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 92:1329-1333
- Yanar Y, Yanar D, Gebologlu N (2011) Control of powdery mildew (*Leveillula taurica*) on tomato by foliar sprays of liquid potassium silicate (K₂SiO₃). *African J Biotechnol* 10:3121-3123
- Yildiz F, Yildiz M, Delen N, Coşkuntuna A, Kinay P, Türküsay H (2007) The effects of biological and chemical treatment on gray mold disease in tomatoes grown under greenhouse conditions. *Turk J Agric For* 31:319-325
- Yuk H-G, Bartz JA, Schneider KR (2006) The effectiveness of sanitizer treatments in inactivation of *Salmonella* spp. from bell pepper, cucumber, and strawberry. *J Food Sci* 71:M95-M99
- Zhang P-Y, Chen K-S, He P-Q, Liu S-H, Jiang W-F (2008) Effects of crop development on the emission of volatiles in leaves of *Lycopersicon esculentum* and its inhibitory activity to *Botrytis cinerea* and *Fusarium oxysporum*. *J Integr Plant Biol* 50:84-91

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 첨단생산기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 첨단생산기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.