

과수화상병 방제를 위해 수간주입한 옥솔린산의 잔류특성

이재인, 강광식, 박은서, 박우식, 최영준*, 정한주, 강민수, 윤태용, 남혁우

Residual Characteristics of Trunk-Injected Oxolinic Acid for Control Fire Blight

Jae-In Lee , Kwang-Sik Kang , Eun-Seo Park , Woo-Sik Park , Young-Joon Choi , Han-Ju Jeong ,
Min-Su Kang , Tae-Yong Yun  and Hyeok-Woo Nam 

동방아그로 기술연구소

Technical Research Institute, Dongbang-agro, Buyeo 33216, Korea

* Correspondence: residue@dbagro.co.kr

<https://doi.org/10.5338/KJEA.2025.44.02>

Agric. Environ. Sci. 2025, 44, 12-20

Received: November 29, 2024

Revised: December 14, 2024

Accepted: January 2, 2025

Published: January 15, 2025

Online ISSN: 2233-4173

Print ISSN: 1225-3537



© The Korean Society of Environmental Agriculture 2025



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract: Fire blight is a pathogen that is prohibited from being introduced, such as causing the entire tree to wither. It is virtually impossible to completely eradicate and treat it once it breaks out. Therefore, because it causes economic and psychological losses to farms, this study was conducted to develop more effective pesticide by supplementing the pesticides that have been previously used. oxolinic acid (10%) SL, which is effective in controlling pathogens, was selected as the target pesticide. The spraying method was changed to a method that has a more direct effect, and the apple and pear trees were trunk-injected right before flowering. samples were collected and the pretreatment method and instrumental analysis method were established. Based on the analysis results, there was a possibility of developing a new pesticide even within the limited experimental method. However, it is difficult to apply it to commercial orchards, so further review is necessary.

Keywords: Fire blight, Oxolinic acid, Residue, Trunk injection

서 론

과수화상병은 그람 음성 세균인 *Erwinia amylovora*에 의해 사과(*Malus pumila*)나 배(*Pyrus pyrifolia*) 등 장미과 식물에 발생하는 병이다[1]. 화상병의 증상은 꽃과 잎자루가 갈변되며, 줄기와 가지의 끝이 갈고리 모양으로 굽는 증상을 띤다. 그다음 과실의 줄기 또한 갈변 현상이 생기며 최종적으로 과실이 썩으며 우윳빛 또는 갈색 빛의 세균액이 노출된다[2].

*E. amylovora*가 궤양 조직에서 월동한 다음 온도가 높아진 개화기에 주 감염 경로인 꽃이나 신초의 상처 및 수공과 같은 부위에 침투하여 빠르게 감염된다. 한번 감염되면 잠복기가 길어 궤양 등의 감염원을 사전에 제거하거나 개화기 이후 신초를 통해 감염되는 것을 차단할 필요가 있다[3,4]. 특히, 미국은 2000년대 발생

한 과수화상병에 의해 1억 달러 이상의 경제적 피해가 발생한 것으로 조사되었다[5]. 따라서, 감염원을 사전에 차단하기 위해 개화 시기에 항생제를 살포하는 방법이 가장 보편적으로 이루어지고 있다[6]. 국내에서도 60억 원 이상의 경제적 손실이 발생하였으며[7], 피해를 최소화시키고자 화상병을 식물방역법상 도입금지 검역병으로 지정하여 발생한 과원의 기주식물은 모두 폐기 시키며 인접주 또한 제거시키고 있다. 현재 농촌진흥청에서는 화상병 방제를 위한 약제를 매년 2종을 보급함과 동시에 2회 살포 하도록 규정하고 있으나[3], 농가에서는 항생제 살포에 의한 약해의 우려, 화상병에 등록된 농약이 실제로 방제 효과에 대한 의문을 제기하고 있다. 따라서 화상병에 대한 기존 약제들의 방제 효과 검증은 물론 더욱 효과적인 약제를 요구하는 시점이나, 화상병은 도입금지 검역병으로써 특정 수준의 격리 연구동이 아닌 이상 시험포장이 불가능하다[8].

현재 과수화상병의 방제는 항생제를 통한 경엽처리가 주로 이뤄지고 있다. 노지에서 경엽처리는 재배환경 특성상 기상 요인의 영향을 크게 받아 비효율적이므로 수간주입법으로 선택하였다. 수간주입법은 비산에 의한 주변 과원의 피해가 없고, 나무에 약액을 전부 주입하여 약제의 손실 또한 없으므로 농가의 입장에서 더욱 효과적일 것이다[9,10].

화상병 방제에 꾸준히 사용되고 있는 Quinolone계 항생제인 oxolinic acid는 광범위한 세균에 대해 DNA Topoisomerase를 저해시켜 세포분열을 억제시키며, 꽃에서 화상병균의 증식을 억제한 것이 (주)동방아그로의 특허와 선행연구를 통해 입증되어 있다[3]. 따라서, 본 연구는 제한된 실험방법 내에서 Oxolinic acid를 사과나무와 배나무에 수간주입 한 다음 잔류 분석을 통해 수체 내 이동성과 지속성을 확인하여 화상병 제어에 더욱 효과적인 약제 개발 가능성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

시약 및 기구

Oxolinic acid (99.7%) 표준물질, citric acid (99.5%) 및 triocylamine (98.0%)은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)사에서 구매하여 사용하였다. Acetonitrile 및 methanol은 J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA)의 HPLC급을 사용하였으며, sodium chloride (99.5%) 및 sodium hydroxide (97%)는 Junsei Chemical (Tokyo, Japan), tetrahydrofuran은 Duksan Science (Seoul, Korea)사의 제품을 사용하였다. 또한, SPE-NH2 (solid phase extraction, 0.5 g, 6 cc)는 Agilent (Santa Clara, CA, USA)사, syringe filter (PTFE, 0.22 µm)는 Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA, USA)사의 제품을 사용하였다. 이외에 전지가위(35 mm, Narion, Seoul, Korea), 감압농축기(Rotavapor® R-100, Buchi, Flawil, Switzerland), 원심분리기(Combi R545, Hanil Science, Gimpo, Korea), 진탕 추출기(VIBA 330, , Collomix GmbH Gaimersheim, Germany) 및 분쇄기(SHMF-3260S, Hanil Electric, Seoul, Korea)를 사용하였다. 시험농약인 Oxolinic acid (10%) 액제는 (주)동방아그로에서 직접 제조하여 사용하였다.

수간주사 방법

국내에서 과수화상병의 발생 현황은 사과 및 배가 대부분을 차지하였으며[1], 해외의 선행연구에 따라 대체적으로 수령이 어린 나무에서 감염이 빠른 것을 참고하여[11] 본 실험의 대상 작물과 수령에 적용하였다. 수령과 품종은 사과나무의 경우 4년생 감홍(흉고직경 2-3 cm, 평균수고 2 m)을 대상으로 하였으며, 배나무의 경우 4년생 신고(흉고직경 3-4 cm, 평균 수고 1.5 m)를 대상으로 하였다.

수간주사 시기는 본 연구과제에서 선행된 수간주입법 최적의 방제시기 조사를 통해 개화 직전으로 확립하였다. 실제 진행된 수간주사 처리는 사과나무의 경우 2022년 4월 23일, 배나무의 경우 2022년 4월 7일이었따. 수간주사 방법은 지상부 20 cm에 전동드릴(3 mm)을 이용하여 한 개의 천공을 한 다음 5 mL 사이즈의 원뿔형 팁을 꽂은 후 oxolinic acid (10%) 액제를 20배 희석하여 흉고직경(cm) 당 원액 0.5 mL씩 중력에 의해 주입하였다(Fig. 1).

시료 채취 방법

수간주입 후 10, 20, 30 및 50일 차에 뿌리를 제외한 지상부에서 10 cm 위로 나무를 절단하였다(Fig. 2). 절단한 나무는 총 높이를 기준으로 하여 동일한 비율로 상, 중, 하를 나눈 다음 전지가위로 절단하였다. 이후 잎을 제거한 다음 나무의 몸통과 가지 부분만 분쇄기로 마쇄하여 분석 전까지 -20°C 냉동고에 보관하였다.

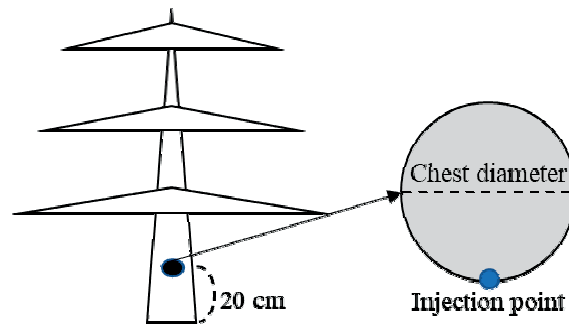


Fig. 1. Trunk injection method per chest height diameter.

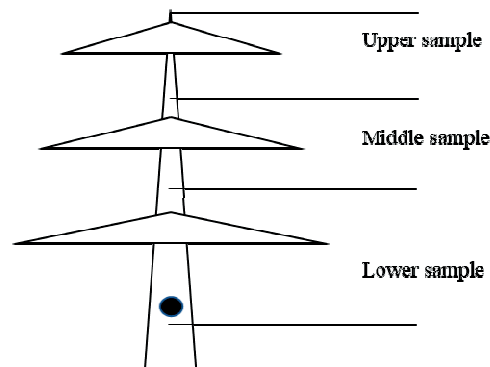


Fig. 2. Days after trunk-injection sampling parts of height.

표준원액 및 표준용액 조제

Oxolinic acid 표준물질의 순도를 고려하여 10.0 mg을 20 mL의 methanol/0.25M NaOH (90/10, v/v)에 용해하여 500 mg/L의 stock solution을 만들었다. 이를 acetonitrile/deionized water (30/70, v/v)로 희석하여 2 mg/L를 조제한 다음 단계적으로 희석하여 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5 및 1 mg/L의 working solution을 조제하였다.

전처리법

마쇄한 사과나무와 배나무 시료 10 g에 증류수 30 mL를 첨가한 후 30분간 습윤화시켰다. 이후 acetonitrile 40 mL 및 sodium chloride 7.5 g을 첨가하여 800 rpm으로 1시간 동안 진탕추출한 다음 3,000 rpm으로 5분간 원심분리하였다. 이후 활성화시키지 않은 SPE-NH₂에 앞서 원심분리 한 시료의 상등액을 loading과 동시에 oxolinic acid를 용출하였다. 용출액에서 10 mL를 취하여 40°C 수욕상에서 감압농축한 다음 acetonitrile/deionized water (30/70, v/v)를 이용하여 4 mL의 최종 부피가 되도록 정용하였다. 정용한 시료를 syringe filter로 여과한 다음 HPLC-FLD로 기기분석하였다. 이후 chromatogram 상에 나타난 peak의 면적을 측정 한 다음 표준 검량선에 대입하여 농도를 산출하였다.

HPLC-FLD 기기분석 조건

Oxolinic acid의 분석은 액체크로마토그래프(Ultimate 3000, Thermo Fisher Scientific Waltham, MA, USA)와 형광검출기 (RF-10A XL, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 사용하였고 칼럼은 Cosmosil 3C18-EB [(3.5 μ m, 2.1 I.D. $\times$ 100 mm L.) Nacalai Tesque, Kyoto, Japan]를 사용하였다. 이동상의 초기 조성은 Acetonitrile/0.45% citric acid in deionized water/0.31% trioctylamine in tetrahydrofuran (13/78/9, v/v/v)이었으며 기울기 용리 방식을 통해 분석 대상 물질을 분리시켰다. 또한, 유속은 1.0 mL/min, 시료주입량은 20 μ L, Excitation은 330 nm, Emission은 365 nm로 수행하였다.

잔류분석법 검증

확립된 전처리 방법과 기기분석법으로 정확성(Accuracy), 재현성(Reproducibility), 직선성(Linearity), 검출한계(LOD, limit of detection)와 정량한계(LOQ, limit of quantitation)를 검증하였다. 표준용액과 무처리 시료의 기기분석 결과를 비교하여 간섭물질의 영향이 없음을 확인하였으며(Fig. 3), stock solution을 차례로 희석하여 6 points의 working solution을 분석한 다음 peak의 면적으로 검량선을 작성한 후 결정계수(R^2 , coefficients of determination)를 산출하였다. 또한, 검출한계 및 정량한계의 최소검출량을 peak의 S/N (signal-to-noise ratio)비가 각각 3과 10 이상으로 나타났음을 확인하였다. 검출한계와 정량한계는 최소검출량, 시료 무게, 희석배수, 주입량을 사용하여 산출하였다. 분석법의 정확성을 판단하기 위해 정량한계와 정량한계의 10배 수준에 해당되는 oxolinic acid 표준용액을 첨가하여 상기 분석법과 동일하게 3반복으로 분석한 다음 회수율의 평균과 상대표준편차(RSD, relative standard deviation)를 산출하였다.

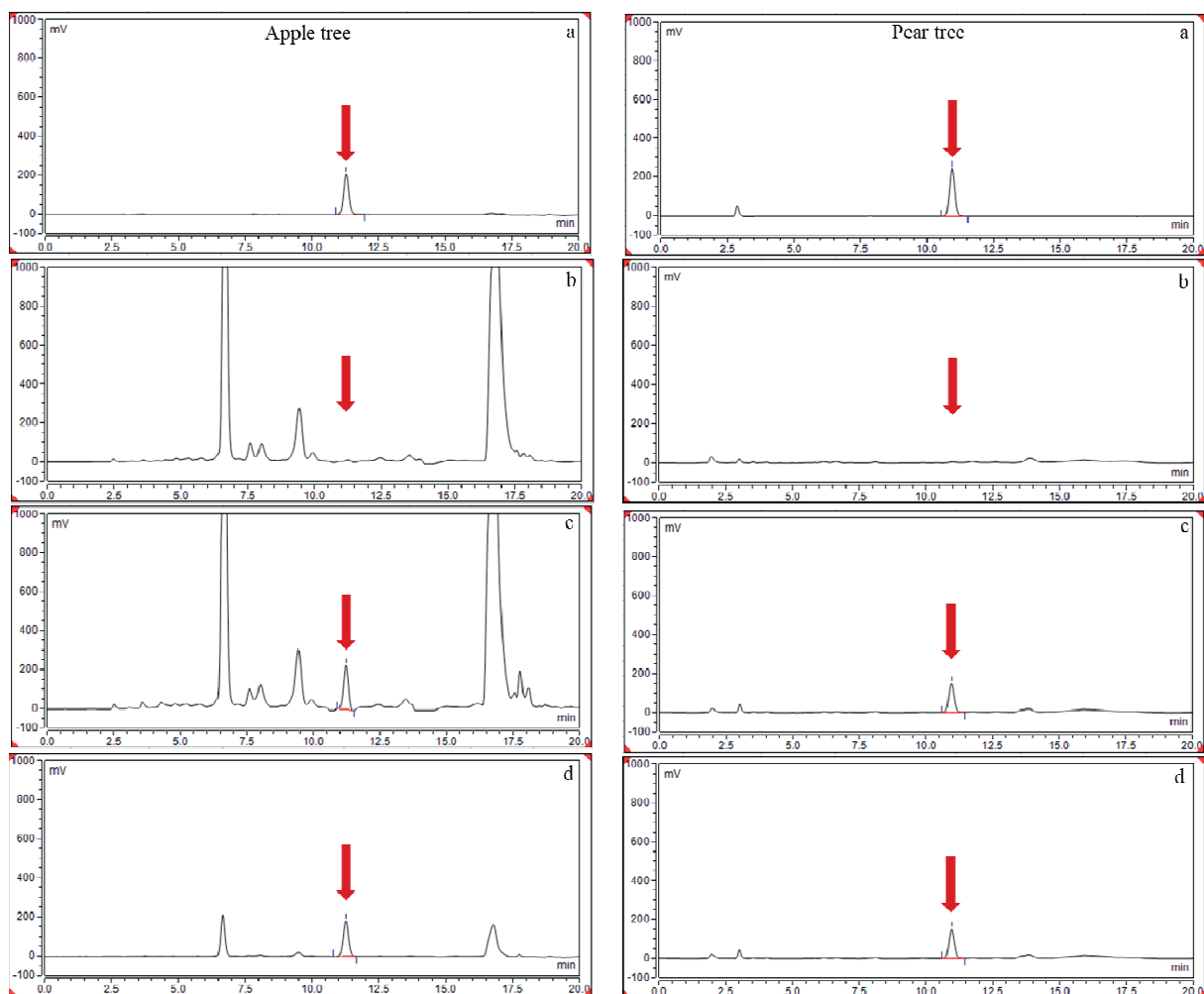


Fig. 3. Chromatograms of oxolinic acid a) standard 10.0 ng, b) control, c) recovery test 0.2 mg/kg, d) sample.

결과 및 고찰

분석법의 유효성 검증

Oxolinic acid의 머무름시간에 방해물질이 영향을 받지 않았으며, 높은 분리능과 선택성으로 분석을 진행하였다. 0.025 mg/L 부터 1 mg/L의 working solution을 이용하여 검량선을 작성하였으며, 결정계수 값은 0.99 이상으로 높은 직선성을 나타냈다(Fig.

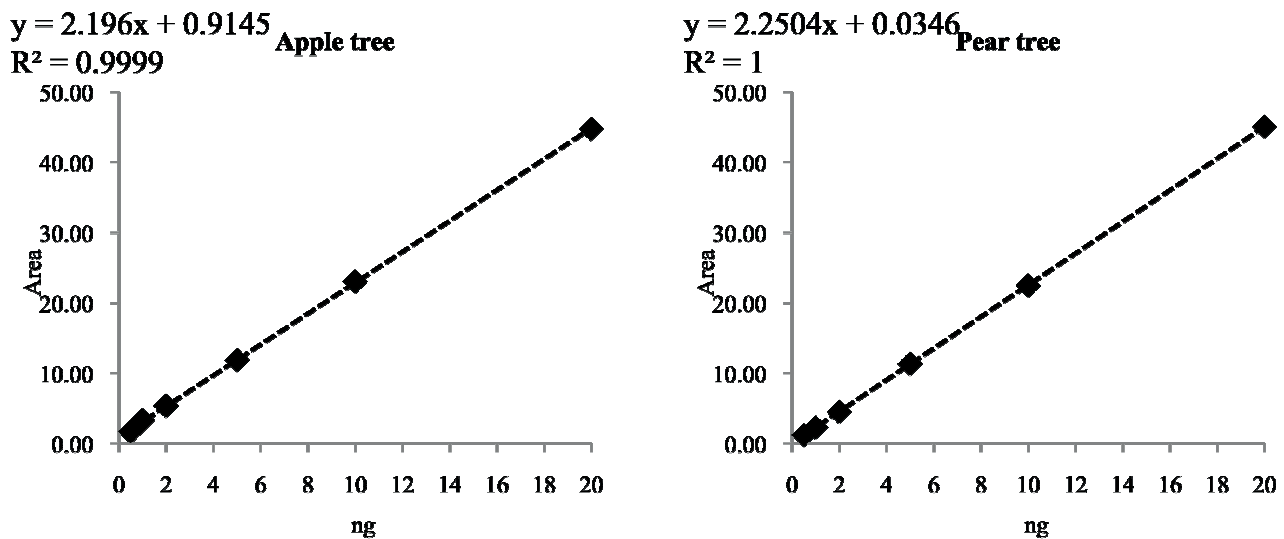


Fig. 4. Calibration curves of oxolinic acid in apple tree & pear tree.

4). 검출한계는 0.01 mg/kg, 정량한계는 0.02 mg/kg이었다. 회수율 시험 결과는 평균 70-120% 이내로 나타났으며, 상대표준편차는 20% 미만으로 산출되어 Codex 가이드라인의 잔류농약 분석 기준(CAC/GL 40-1993, 2003) 및 농촌진흥청의 농약 및 원제의 등록기준에 적합하였다(Table 1).

$$\begin{aligned} \text{정량한계(mg/kg)} &= {}^1\text{정량한계 최소검출량(ng)} \times (\text{최종정용부피(mL)} / \text{시료무게(g)}) \times (1 / \text{주입량(}\mu\text{L)}) \\ &= 1 \text{ ng} \times (4 \text{ mL} / 10 \text{ g}) \times (1 / 20 \mu\text{L}) = 0.02 \text{ mg/kg} \end{aligned}$$

$${}^1\text{정량한계 최소검출량} = \text{기기상 정량한계(ng/}\mu\text{L)} \times \text{주입량(}\mu\text{L)}$$

수체 내 Oxolinic acid의 잔류양상

나무 내 유효성분의 이동성과 지속성을 조사하기 위해 수간주입 후 경과일차별 나무의 높이에 따라 시료를 채취한 뒤 잔류량을 조사하였으며 그 결과는 Table 2와 같다. 수체 내에서 수간주입된 약제의 이동성을 결정짓는 요인은 나무의 생리적 특성, 기후 및 토성 환경, 물질의 화학적 특성 및 주입 환경과 시기 등이 있다[12-15]. 보고된 바에 따르면 사과나무와 배나무는 속씨식물이자 활엽수로써 환공재(ring porous wood)와 산공재(diffusive porous wood)가 적절히 혼합되어 주입된 농약이 물의 이동에 따라 하부에서 상부로 원활하게 이동할 것이며, 개화기에 수간주입하였으므로 약제의 이동과 분산 속도도 비교적 빠를 것으로 예측하였다[16].

특히, 수체 내에서 물질의 이동은 주입물질의 물리화학적 특성과 제형에 큰 영향을 받는다. 모든 물질이 수간주입에 문제없이 사용할 수 있는 것은 아니며, 수용성이 높을수록 수체 내에서 효율적으로 이동한다[17,18]. 또한, 제형에 따라 물질의 수체 내

Table 1. Recovery result and Limit of quantitation

Compound	Sample	Fortification (mg/kg)	Recovery (% ± RSD)	LOQ (mg/kg)	Minimum detection amount (ng)
Oxolinic acid	Apple tree	0.02	74.8 ± 7.9	0.02	1.0
		0.2	99.0 ± 0.1		
	Pear tree	0.02	104.2 ± 4.0	0.02	1.0
		0.2	100.7 ± 0.4		

Table 2. Oxolinic acid residues in the apple and pear trees after trunk injection

Compound	Sample	Days after Injection	Residue (mg/kg±RSD ¹⁾)		
			Lower part	Middle part	Upper part
Oxolinic acid	Apple tree	10	23.60±21.97	4.41±2.17	6.38±5.13
		20	5.94±5.43	4.48±2.15	1.04±0.86
		30	7.76±7.26	1.99±2.69	6.97±8.70
		50	0.25±0.23	0.27±0.34	0.41±0.37
	Pear tree	10	50.84±12.32	0.04±0.00	0.04±0.05
		20	33.69±10.47	0.13±0.06	0.07±0.03
		30	<0.02	<0.02	<0.02
		50	<0.02	<0.02	<0.02

¹⁾ Relative standard deviation

이동 적합성이 다르며 수화제 및 유제의 경우 이동성이 현저하게 떨어질 수 있다. Oxolinic acid의 물리화학적 특성 중 옥탄올-물 분배계수(K_{ow} , octanol/water partition coefficient)의 값은 0.94로 친수성이지만, 물에 대한 용해도는 3.2 mg/L (20-25°C)로 비교적 낮은 편이다[19]. 따라서 Oxolinic acid의 수체 내 이동성을 높이기 위해 수용성이 뛰어난 제형인 액제의 특성을 활용하였고 추가적으로 물로 20배 희석한 다음 수관에 직접 주입하였으므로 물관에 더욱 효율적으로 이행되어 시간 경과에 따라 모든 방향으로 이동이 이뤄질 것이라 예측하였다[20,21]. 또한, 수간주입법은 자외선에 의한 분해가 없고 기상 요인의 영향도 크게 받지 않아서 지속성이 긴 장점이 있다[22]. 따라서, 사과나무와 배나무의 생리학적 특징이 비슷하고 제형의 특성과 희석된 oxolinic acid를 개화전에 수간주입 함으로써 원활한 이동성과 함께 꾸준히 잔류할 것으로 예측하였다.

Oxolinic acid의 잔류분석 결과에 따르면 사과나무에서 잔류 양상은 10일차 시료부터 약제 주입구를 포함한 하부부터 중·상부에 높은 잔류량이 확인되었다. 이후 30일차까지 지속적으로 검출된 후 50일차 시료에서 전체적으로 잔류량이 감소하는 경향을 보여 이동성과 지속성이 양호하였다. 배나무의 경우 20일차까지 약제주입구를 포함한 하부에서 높은 잔류량이 확인되었고, 10일차 시료의 중부, 20일차 시료의 중·상부에서의 잔류가 확인되었으나, 하부에 비해 미량으로 조사되었고 20일차 이후 하부에 집중되어 있던 농약이 전부 소실되었다(Fig. 5).

사과나무와 배나무의 잔류분포 양상이 다르게 나타난 원인은 생육 과정과 기후, 어린 수령과 품종 등 여러 요인에 의한 것으로 사료되는데 그 중 토성 환경을 가장 큰 요인으로 추정하였다. 그 이유는 뿌리에서 흡수된 물이 증산작용을 통해 수간주입

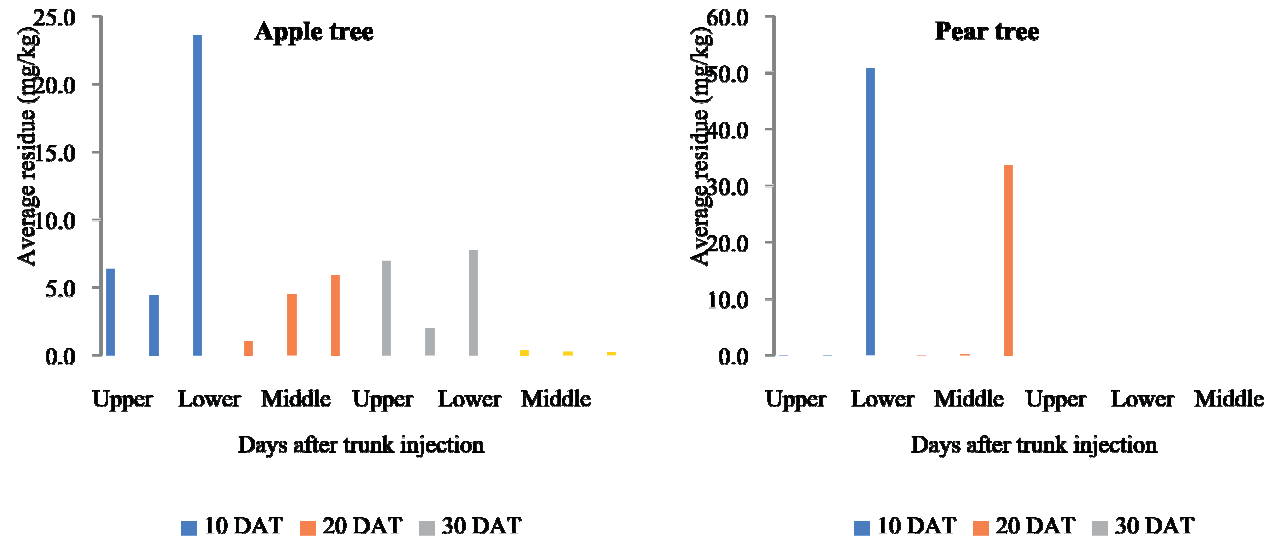


Fig. 5. Average residual amount graph over time after trunk-injection as apple tree & pear tree.

된 농약의 이동성에 영향을 미치게 되는데, 사과나무의 포장 소재지에 비해 배나무의 포장 소재지는 매우 건조한 환경이었으며, 건조한 토양에서 흡수되는 물의 양이 적어 이동성에 영향을 미친 것으로 판단하였다. 토성이 건조할 경우 관수 처리하여 적당한 습도를 유지한 다음 수간주입하는 것을 추천하고 있다[9]. 사과나무와 배나무의 이동성과 지속성 차이의 원인 규명을 위해 동일한 토성환경과 기상조건에서의 실험 수행, 수간주입 시 권장 흉고직경에 따른 수령 선택 등 추가 연구가 필요하다.

약제 개발 가능성 검토

화상병은 궤양에서 월동한 *E. amylovora*에 의해 5월에서 7월 사이에 집중적으로 발생하고 있고 국내의 과수 화상병 예찰·방제 지침에는 외국의 방제 방법에 따라 만개 시점에 약제처리를 추천하고 있다. 그러나, 농가에서는 개화기에 항생제를 살포하게 되면 약해와 함께 착과에 영향을 줄 수 있고 상품성 또한 저하될 가능성이 있어 개화기에 약제 살포를 통한 방제 방법은 철저히 배제하고 있다[1]. 국내의 재배환경과 방법은 외국과 다르기 때문에 만개 시점보다 빠른 개화기나 동계기에 약제 처리를 통해 화상병을 효과적으로 제어할 수 있는 방안이 필요한 시점이므로 약해 발생의 유·무를 조사하는 것 또한 매우 중요하다.

수간주입식 방법은 용기의 압력에 의해 주입되는 압력식 방법이 있고 용기를 일정 높이에 매달아 중력에 의해 주입하는 방법이 있다. 압력식 주입 방법은 빠른 시간 내 고농도의 농약이 상당량 주입되어 약해가 발생할 확률이 높지만 중력식 주입 방법은 비교적 주입 속도가 느리고 양도 적어 약해 발생 가능성이 낮고 수관에 고르게 분포되는 장점이 있다[9]. 본 연구는 약해 발생 가능성을 최소화하고자 oxolinic acid를 희석하여 중력식 주입 방법을 활용하였으며 그 결과 약해는 발생하지 않았다.

본 과제의 선행연구에 따라 *E. amylovora*가 oxolinic acid에 의한 최소억제농도(MIC, minimum inhibitory concentration)는 0.25 mg/L 이하로 확인되었다. 잔류량 분석 결과(Table 2), 배나무의 경우 수간주입 후 20일차까지 하부에만 집중적으로 잔류하다가 전부 소실되어 결과를 도출하기 어려웠으나 사과나무의 경우 10일차부터 50일차의 상·중·하부 모든 시료의 평균 잔류량이 0.25 mg/L 이상으로 확인되어 약효 발현에 부정적인 영향을 미치지 않는 수준이었다. 또한, 화상병의 생활환에 비교하였을 때 수간주입 후 10일 전·후 만개 시점부터 30일 전·후 신초로 확산·감염되기 이전 시점에 방제 효과가 있을 것으로 사료된다. 그러나, 수간주입된 물질은 수체 내에서 증산작용의 원리가 적용되는데 뿌리로부터 흡수된 물에 의해 이동하며 잎의 기공을 통해 배출되므로 꽃까지 이동하는 것은 확실하지 않다[9,23]. 화상병은 주로 *E. amylovora*가 꽃을 통해 감염된 후 발병되는 것에 반해 본 연구는 나무의 가지와 몸통만 분석하였으므로 추후 꽃과 잎을 분석 대상으로 추가하여 나무의 모든 부위에 잔류양상을 확인해야 한다.

본 연구를 수행한 결과 Oxolinic acid (10%) 액제의 수간주입에서 약해가 발생하지 않았고 사과나무에서의 약제의 이동성과 지속성이 확인되었다. 또한, MIC 이상 잔류하며 약효 발현의 가능성이 확인되었으므로 추가적인 연구를 거치면 제한적인 시험방법 내에서도 약제 개발 가능성이 있다. 그러나 수간주입법은 나무에 천공을 뚫어 약제를 주입하는 방법으로 상업목적의 과수원에 적용하기엔 한계점이 명확하여 수간주입법의 효율성 개선과 실제 약효 발현 시점을 최적화하기 위한 연구를 통해 실제 활용 가능성을 높일 필요가 있다.

Data Availability: All data are available in the main text or in the Supplementary Information.

Author Contributions: J.-I.L. performed the liquid chromatography analysis, summary of analysis data results, prepared relevant figures, wrote the first manuscript, revised the manuscript. K.-S.K. supervised the project. W.-S.P. and E.-S.P. led the field experiment. Y.-J.C. conceived and designed the research. H.-J.J. provide critical feedback. M.-S.K. feedback on analysis results. T.-Y.Y and H.-W.N. grind of branch sample.

Notes: The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments: This study was carried with support of the National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration of Republic of Korea (project no. PJ015059).

Additional Information:

Supplementary information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.5338/KJEA.2025.44.02>

Correspondence and requests for materials should be addressed to Young-Joon Choi.

Peer review information Korean Journal of Environmental Agriculture thanks the anonymous reviewers for their contribution to the peer review of this work.

Reprints and permissions information is available at <http://www.korseaj.org>

References

1. Ham HH, Lee KJ, Hong SJ, Kong HG, Lee MH, Kim HR, Lee YH (2020) Outbreak of fire blight of apple and Asian pear in 2015–2019 in Korea. *Research in Plant Disease*, 26(4), 239–249. <https://doi.org/10.5423/RPD.2020.26.4.222>.
2. Stockwell VO, Duffy B (2012). Use of antibiotics in plant agriculture. *Revue Scientifique Et Technique-Office International Des Epizooties*, 31(1), 199–210. <https://doi.org/10.20506/rst.31.1.2104>.
3. Ham HH, Lee MH, Roh EJ, Lee WH, Choi HW, Yang MS, Lee YH (2023) Effect of the registered control agents for fire blight on fire blight disease at flowering stage of apple in Korea. *The Korean Journal of Pesticide Science*, 27(4), 344–351. <https://doi.org/10.7585/kjps.2023.27.4.344>.
4. van der Zwet T, Orolaza-Halbrendt N, Zeller W (2012) Growth and physiology of *Erwinia amylovora*, in: *Fire Blight: History, Biology, and Management*. pp. 83–108, The American Growth and Physiology of *Erwinia amylovora* Phytopathological Society, USA. <https://doi.org/10.1094/9780890544839.008>.
5. Stockwell VO, Johnson KB, Loper JE (2002) Biological control of fire blight: understanding interactions among introduced and indigenous microbial communities. In: *Phyllosphere Microbiology*, eds. by SE Lindow, EI Hecht-Poinar, VJ Elliot, pp. 225–239. APS Press, St. Paul, MN, USA.
6. Johnson KB, Stockwell V (1998) Management of fire blight: a case study in microbial ecology. *Annual Review of Phytopathology*, 36(1), 227–248. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.36.1.227>.
7. Park DH, Lee MS, Lee IG, Kim SK, Oh CS (2018) In vitro screening of antibacterial agents for suppression of fire blight disease in Korea. *Research in Plant Disease*. 24(1), 41–51. <https://doi.org/10.5423/RPD.2018.24.1.41>.
8. Ham HH, Lee KJ, Hong SJ, Kong HG, Lee MH, Kim HR, Lee YH (2020) Outbreak of fire blight of apple and pear and its characteristics in Korea in 2019. *Research in Plant Disease*, 26(4), 239–249. <https://doi.org/10.5423/RPD.2020.26.4.239>.
9. Cha BJ, Han SS, Kim KW, Kim DS, Lee DW (2020) Improving strategies for trunk injection considering tree anatomy and physiology. *The Korean Journal of Pesticide Science*, 24(2), 344–351. <https://doi.org/10.7585/kjps.2020.24.2.218>.
10. Wise JC, VanWoerkom AH, Acimovic SG, Sundin GW, Cregg BM, Vandervoort C (2014) Trunk injection: a discriminating delivering system for horticulture crop IPM. *Entomology, Ornithology & Herpetology*, 3(2), 1000126. <https://doi.org/10.4172/2161-0983.1000126>.
11. Johnson KB, Temple TN (2016) Comparison of methods of acibenzolar-S-methyl application for post-infection fire blight suppression in pear and apple. *Plant Disease*, 100(6), 1125–1131.
12. Sundin GW, Werner NA, Yoder KS, Aldwinckle HS (2009) Field evaluation of biological control of fire blight in the Eastern United States. *Plant Disease*, 93(4), 386–394. <https://doi.org/10.1094/PDIS-93-4-0386>.
12. Reil W (1979) Pressure-injecting chemicals into trees. *California Agriculture*, 33(6), 16–19.
13. Perry TO, Santamour FS, Stipes RJ, Shear T, Shigo AL (1991) Exploring alternatives to tree injection. *Journal of Arboriculture*, 17(8), 217–226.
14. Zamora MS, Escobar RF (2000) Injector-size and the time of application affects uptake of tree trunk-injected solutions. *Scientia Horticulturae*, 84(1–2), 163–177. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(99\)00095-3](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(99)00095-3).
15. Sur R, Stork A (2003) Uptake, translocation and metabolism of imidacloprid in plants. *Bulletin of Insectology*, 56, 35–40. <https://doi.org/10.1016/j.jecoenv.2022.113243>.
16. Clifford DR, Gendle P, Holgate ME (1987) Uptake and movement of the fungicide imazalil following trunk injection into apple and plum trees by a novel, rapid technique. *Annals of Applied Biology*, 111(3), 541–551. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1987.tb02012.x>.
17. VanWoerkom AH, Acimović SG, Sundin GW, Cregg BM, Mota-Sanchez D, Vandervoort C, Wise JC (2014) Trunk injection: An alternative technique for pesticide delivery in apples. *Crop Protection* 65, 173–185. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.05.017>.
18. Percival GC, Boyle S (2005) Evaluation of microcapsule trunk injections for the control of apple scab and powdery mildew. *Annals of Applied Biology* 147(1), 119–127. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2005.00019.x>.
19. MacBean C (2012) *The Pesticide Manual: A World Compendium*. pp. 1070–1071, 16th edition, Cambridge: BCPC, UK.
20. Tattar TA, Tattar SJ (1999) Evidence for the downward movement of materials injected into trees. *Journal of Arboriculture*, 25, 325–332. <https://doi.org/10.48044/jauf.1999.043>.
21. Cha BJ, Kim MY, Kim JK, Kim CE, Lee KJ (2019) Influence of the injection wound size and the crown condition on the trunk-injection efficiency in Zelkova trees. *Journal of Agriculture & Life Science*, 53(1), 73–84. <https://doi.org/10.14397/jals.2019.53.1.73>.

22. VanWoerkom AH (2012) Trunk injection: a new and innovative technique for pesticide delivery in tree fruits. Masters Thesis, p. 150, Michigan State University, USA. <https://doi.org/10.25335/q4fr-kh61>.
23. Takai K, Suzuki T, Kawazu K (2004) Distribution and persistence of emamectin benzoate at efficacious concentrations in pine tissues after injection of a liquid formulation. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 60(1), 42-48. <https://doi.org/10.1002/ps.777>.
24. Billing E (2011) Fire blight. Why do views on host invasion by *Erwinia amylovora* differ?. *Plant Pathology*, 60(2), 178-189. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2010.02382.x>.
25. Chaney WR (1986) Anatomy and physiology related to chemical movement in trees. *Arboriculture & Urban Forestry*, 12(4), 85-91. <https://doi.org/10.48044/jauf.1986.019>.
26. Sinclair WA, Larsen AO (1981) Wood characteristics related to 'injectability' of trees. *Journal of Arboriculture*, 7(1), 6-10. <https://doi.org/10.48044/jauf.1981.002>.