

배추무사마귀병균의 토양내 분포

김충희* · 조원대 · 김홍모
농업과학기술원, 식물병리과

Distribution of *Plasmodiophora brassicae* Causing Clubroot Disease of Chinese Cabbage in Soil

Choong-Hoe Kim*, Won-Dae Cho and Hong-Mo Kim

Plant Pathology Division, National Institute of Agricultural Science & Technology, Suwon 441-707, Korea

Population density of *Plasmodiophora brassicae* in soil of severely infested fields of Chinese cabbage decreased as soil depth increases. More than 97% of total population was found in surface soil (0-5cm depth), and a few resting spores of the pathogen were also detected in 40 cm-deep soil. The clubroot pathogen was evenly distributed over the surface soil without clustering around a Chinese cabbage plant. Density of *P. brassicae* in soil at 23 Chinese cabbage fields in Pyongchang, Kangwon province ranged widely from less than 10^4 resting spores/g soil to above 10^6 resting spores/g soil. Few or none of *P. brassicae* was found in virgin soil without any cropping history, intermediate with $0.36-2.75 \times 10^4$ resting spores/g soil in fields of other crops but more than 10 times higher population was found in severely infected Chinese cabbage fields. Density of *P. brassicae* was highest in the fields of monocropping of crucifers with some exceptions, but was low in rotated fields with corn, rye, medicinal crops or other non-host vegetables. Pathogen density in soil was decreased rapidly when rye or medicinal crops were cultivated after Chinese cabbage, suggesting that survival of clubroot pathogen appears to be influenced greatly by cropping system. The improved method for detecting resting spores of *P. brassicae* in soil used in this study seemed to be adequate for estimating population density of *P. brassicae* in soil in aspects of clearer dyeing, increased detecting sensitivity, and simplicity in preparation.

Keywords : Chinese cabbage, clubroot, cropping system, *Plasmodiophora brassicae*, population density, resting spores, soil distribution.

배추 무사마귀병균은 토양내 휴면포자의 형태로 장기간 서식하여 전염원이 되는바(Karling, 1968; 田村, 1977) 현재까지 무사마귀병균의 인공배양기술이 확립되지 않아 토양내 무사마귀병균의 분포 및 밀도변화에 대한 연구가 매우 적다. 토양내 병원균의 밀도를 측정하는 방법중에서 (Buczack과 Ocendon, 1978; 有江 등, 1988; 内記 등, 1984) 최근 일본의 Takahashi와 Yamaguchi(1988) 등에 의하여 토양내의 휴면포자를 형광염색하여 그 밀도를 측정하는 방법이 개발되었으나 이를 이용한 토양내의 병원균의 분포, 조사 등에 관한 연구가 아직

많이 이루어지지 않고 있다. 윤작, 관수 등의 경종관리는 토양내 무사마귀병균의 생존 및 증식에 많은 영향을 끼치고 있는 것으로 보고되었으나(伊藤 등, 1983; 池上, 1985; 武藤, 1988; 大谷 등, 1983) 아직도 그 밀도변화의 양상에 관해서는 정보가 매우 적은 형편이다. 특히 재배 토양내 병원균의 수평, 수직분포에 대한 연구가 매우 적어(内記 등, 1985) 약제처리시 대상토양이 명확하지 않은 등의 문제점이 있었다. 작부체계 및 제반 경종관리의 효과를 구명하기 위해서는 토양내 병원균의 밀도가 그 처리에 의해 어떻게 달라지는가를 정확하게 사정할 필요가 있으며 이에 대한 기술이 확립되면 무사마귀병의 효과적인 경종적, 생태적 방제방법의 개발도 빨리 이루어질 수 있을 것으로 생각된다.

본 연구는 배추 무사마귀병균의 토양내 수직, 수평분포 및

* Corresponding author
Phone) +82-31-290-0402, Fax: +82-31-290-0453
E-mail) chkim@niast.go.kr

그 분포에 미치는 작부체계의 영향을 조사하기 위하여 수행되었다. 본 연구는 배추 무사마귀병의 발생생태를 구명하기 위한 시험의 일환으로 발생실태, 발생에 미치는 환경요인, 뿌리혹의 생성 및 부패, 감염시기와 피해에 관한 연구결과들을 이미 전문학술지에 발표한 바 있다(김 등, 1999a ; 김 등, 1999b ; 김 등, 1999c)

재료 및 방법

토양내 휴면포자 밀도측정. 토양내 휴면포자의 밀도는 Takahashi와 Yamaguchi(1988)의 형광염색법을 개량하여 사용하였다. 별도로 언급하지 않은 한 토양은 150-200g씩 포장당 5개 지점에서 표토(0-5cm) 토양을 채취하였으며 이들 토양을 잘 섞어서 실내에서 풍건한 후 10mesh 체로 걸러 50g을 취하여 토양표본으로 하였다. 토양표본으로부터 휴면포자의 밀도를 측정하는 방법은 Table 1에 표기하였다. 토양표본은 10g씩 평량하여 건열기에 건조시켜 수분함량을 측정하였으며 0.05% Tween 20을 첨가한 살균증류수를 가하여 50 ml 토양 현탁액을 조제하였다. 토양현탁액은 20°C, 160rpm에서 2시간 진탕한 후 140mesh, 325mesh 그리고 500 mesh로 순차 여과하여 잔재물을 제거한 후 미세현탁액을 만들었다. 미세현탁액의 5 µl에 염색액으로 calcofluor white M2R (100 µg/ml)과 Ethidium bromide (100 µg/ml)의 1:1 혼합액의 5 µl을 가한 후 형광현미경하에서 휴면포자수를 측정하였다. 휴면포자의 밀도는 [(200 배 시야의 포자수×6)×(토양건조중량×0.1)×10⁴포자/g 토양의 식에서 계산하였다. 현미경하 검경시 Takahashi의 방법(1990)에 의하여 구형형체가 손상되거나 속이 빈 포자, 혹은 붉은색~핑크색으로 염색된 포자는 생명력이 없는 불활성포자로 그리고 완전한 구형으로 명확한 푸른 형광색을 띄우는 포자를 활성포자로 간주하여 계산하였다.

수직분포조사. 1999년 6월 경기도 연천시 배추 중점관찰 포장중에서 무사마귀병으로 배추가 완전히 고사한 포장을 선정하여 토양의 깊이별 무사마귀병균의 밀도를 조사하였다. 토양은 포장의 한쪽 단면을 1m 깊이로 파내고 표토로부터 토양깊이 50cm까지 5cm 간격으로 해당지점에서 drug spoon을 사용하여 깊이별로 토양이 섞이지 않도록 조심스럽게 5-10g씩 채취하여 직경 2cm 높이 5cm의 screw cap vial에 넣어서 실내에 보관하였다. 토양표본은 앞서 설명한 방법으로 토양내 휴면포자의 밀도를 조사하였으며 처리당 20반복으로 2회 조사하고 그 표준편차를 구하였다.

수평분포조사. 1999년 5월 경기도 연천에서 배추 무사마귀병이 심하게 발생한 포장을 선정하여 배추포기를 중심으로 하여 동서남북 방향으로 3cm 간격의 지점에서 토양시료를 채취

하였다. 배추의 재식거리를 고려하여 남과 북 방향은 3, 6, 9, 12cm 되는 지점에서 그리고 동, 서 방향은 3, 6, 9, 12, 15, 18cm 지점에서 drug spoon으로 표토토양을 5-10g씩 채취하여 screw cap vial에 담아 시험에 공시하였다. 토양내 무사마귀병균의 밀도는 앞서 설명한 방법대로 조사하였으며 한 표본당 10반복하여 표준편차를 구하였다.

각종 포장의 무사마귀병균 밀도조사. 강원도 평창군 방림면 소재 능가 배추재배포장 23개를 선정하여 '99년 5월에 토양표본을 채취하여 무사마귀병균의 밀도분포를 조사하였다. 또한 경기도 수원, 연천, 강원도 평창 일대의 각종 작물재배포장 혹은 작물을 재배한 적이 없는 토양을 채취하여 무사마귀병균 밀도를 비교하였다. 작부 체계별로 무사마귀병균의 밀도 변화양상을 조사하기 위하여 연천, 평창, 태백의 42개 중점관찰포장을 대상으로 작부체계를 조사하고 토양표본을 채취하여 무사마귀병균의 밀도를 측정하였다. 또한 봄에 배추를 재배한 후 후작으로 무, 당귀, 메밀로 윤작한 밭과 아무 것도 심지 않은 휴한 밭, 그리고 배추를 윤작한 밭을 선정하여 6월, 7월, 9월에 토양표본을 채취하고 무사마귀병균의 밀도를 측정하여 작부체계에 따른 무사마귀병균의 밀도변화양상을 조사하였다.

결과 및 고찰

개량 형광염색방법에 의한 무사마귀병균 검출. 현 연구에서 사용한 무사마귀병균 휴면포자의 검출방법과 Takahashi의 방법(1988)을 비교하여 보면 현 방법에서는 토양시료를 10mesh체로 사전 여과하여 불순물을 제거하므로써 정량에 필요한 시간을 단축하였으며 토양현탁액의 조제시 여과정도를 500mesh까지 일단계 상향조정하여 현미경 검경시 시료내 휴면포자 균일도를 증진하였다. 또한 염색액의 조성을 개량하고 그 혼합비율도 1:1로 조정하여 휴면포자의 착색 명확도를 증진시켜서 휴면포자의 식별이 보다 용이하게 하였다. 현 방법은 휴면포자 식별에 숙련이 필요치 않고, 조작이 간편하고 신속하여 4시간내 정량이 가능하였으며 또한 한계 검출밀도가 1×10⁴/g 토양에서 1×10³/g 토양으로 검출의 정밀도가 향상되었다. 이와 같은 결과로 현 방법은 향후 토양내 무사마귀병균의 밀도를 측정하는 유용한 방법으로 이용될 수 있으리라 생각된다.

토양내 수직 및 수평분포. 무사마귀병균의 밀도는 표토에서부터 심도가 깊을수록 감소하여 지표에서 45cm 깊이에서부터는 전혀 검출되지 않았다(Table 2). 표토의 무사마귀병균 밀도는 1,049×10⁴/g 토양으로 가장 높았고 30cm 깊이까지 10⁴/g 토양 이상의 밀도가 유지되었고 그 이후 급격히 감소하였다.

Table 1. Diagram showing density measurement of resting spores of *Plasmodiophora brassicae* in soil by the improved fluorescent dye method used in this study

Step	Description
Soil sieving	Soil sample ↓ Sieving with 10 mesh ↓ 10 g weighing → dry : measuring soil moisture content ↓
Preparing soil suspension	Adding 0.05% Tween20 to make 50 ml ↓ Shaking 2hr at 160 rpm at 20°C ↓ Soil suspension ↓
Filtering soil suspension	Filter through 140 → 325 → 500 mesh sieve ↓ Filtered soil suspension ↓
Dyeing	5 μl of soil suspension + 5 μl of dye ^a ↓
Observation under a fluorescent microscope	Counting on a hemocytometer under 200×field ↓ Calculating no. of resting spores from the equation ^b

^aStock solution: ① Calcofluor white M2R (100 μg/ml), ② Ethidium bromide (100 μg/ml), Working solution: 50 μl of ① + 50 μl of ② = 100 μl (Preserve in dark condition and use immediatly)

^bNumber of resting spores = [(No. resting spores observed under a microscope × 6) × (weight of dried soil × 0.1) × 10⁴] spores / g soil.

이같은 결과를 보면 무사마귀병균은 대부분 5cm 이내의 표토에 분포하는 것으로 생각되며 이 토양을 대상으로 중점적인 방제가 이루어져야 할 것으로 사료된다. 또한 10⁴/g 토양 이상의 밀도가 지하 30cm 이내에서도 검출되므로 토양의 소독 시 이 깊이의 토양이 포함될 수 있도록 방제관리가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

배추와 배추 포기사이의 표토에서 무사마귀병균의 수평분포를 보면 이병주 포기로부터의 방향 및 거리와 상관없이 무사마귀병균의 밀도는 7.6 × 10⁴/g 토양에서 36.8 × 10⁴/g 토양까지 임의로 분포하였다(Fig. 1). 따라서 심하게 이병된 포장의 경우 전염원이 널리 퍼져 있어 무사마귀병균이 이병포기의 주위에 집중적으로 분포하기보다는 포장전체에 보다 균일하게 분포하는 것으로 생각된다.

각종 토양의 무사마귀병균 밀도분포. 작물을 재배하지 않은 토양의 무사마귀병균 밀도는 0~0.75 × 10⁴/g 토양으로 그 밀도가 극히 낮았으며 심하게 이병된 배추포장은 그 밀도가 10⁵/g 토양 이상으로 매우 높았다(Table 4). 배추 무발병 포장이나 고추, 쪽파등 타작물 재배지의 밀도는 0.36~0.39 × 10⁴/g 토양으로 이병토양에 비해 그 밀도가 훨씬 낮게 나타나고 있다. 평균군 방림면의 23개 배추 재배포장을 대상으로 무사마귀병균의 밀도분포를 조사한 결과 그 밀도가 1.0 × 10⁴/g 토양 미만인 포장이 35%, 1~9 × 10⁴/g 토양의 중간정도의 밀도를 보이는 포장이 39%, 그리고 10~100 × 10⁴/g 토양의 높은 밀도를 보이는 포장이 26% 나타나 같은 지역이라도 포장에 따라 무사마귀병균의 밀도에 큰 차이가 있었다(Table 3).

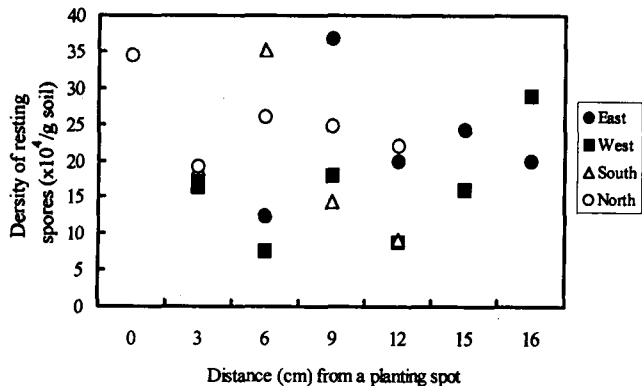


Fig. 1. Horizontal distribution of *Plasmodiophora brassicae* in soils in a heavily-infested Chinese cabbage field in Yeonchun, Kyonggi province.

Table 2. Vertical distribution of *Plasmodiophora brassicae* in soil sampled from a heavily-infested Chinese cabbage field in Yeonchun, Kyonggi province, Korea

Soil depth (cm)	Density of resting spore ($\times 10^4$ /g soil)	Standard deviation
Surface soil	1,049	60.5
5	17.3	3.5
10	9.3	4.8
15	8.0	1.4
20	9.2	1.8
25	3.9	1.3
30	3.5	1.6
35	0.9	0.6
40	0.4	0.5
45	0	0

Table 3. Distribution of density of *Plasmodiophora brassicae* in soil from 23 Chinese cabbage fields in Pyongchang, Kangwon province

Density range ($\times 10^4$ spores/g soil)	Frequency (No. fields)	Proportion
< 1.0	8	0.35
1 - 9	9	0.39
10 - 100	6	0.26
100 <	0	0
Total	23	1.0

작부체계별로 휴면포자 밀도분포를 조사하여(Table 5) 보면 배추, 무 등을 연작한 포장에 비해 높게 나타나서 그 밀도가 5.0×10^4 /g 토양 이상인 곳이 많았다. 그러나 무사마귀병균의 기주작물인 무, 배추를 연작한 포장에서도 예외적으로 밀도가 낮은 곳도 있었는데 이러한 포장은 작부체계보다는 약제방제등의 경종관리나 물빠짐이 좋은 경사지 등의 환경조건에 의해 병원균의 생존이 영향을 받았기 때문으로 생각된다. 대체적으로 병원균의 밀도가 낮은 포장의 작부체계를

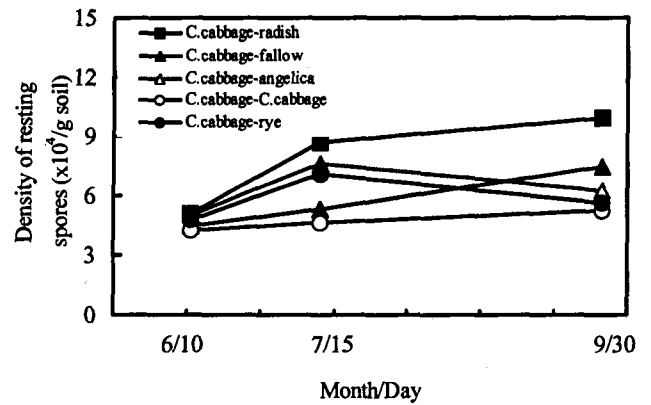


Fig. 2. Temporal change of density of *Plasmodiophora brassicae* in soil from fields with different cropping systems at Taebaek, Kangwon province in 1999.

보면 당귀, 셀러리 등의 양채류 재배지와 옥수수, 콩, 쪽파 등의 성질이 완전히 다른 작물을 심는 곳이었다.

무우를 심은 곳에서도 병원균의 밀도가 낮은 경우가 많았는데 이것은 무 품종중에 무사마귀병에 저항성인 품종이 비교적 많고 또한 이웃 일본의 보고에서 보는 바와 같이 저항성 무우의 연작에 의하여 병원균의 밀도가 점차 감소하였다는 사례(池上, 1985)도 있어서 본 시험에서도 유사한 결과를 가져오지 않았나 생각된다.

강원도 평창군 방림면에서 작부체계가 서로 다른 5개 포장을 선정하여 작부체계가 변화함에 따른 토양내 무사마귀병균의 밀도변화양상을 보면(Fig. 2) 배추-배추, 배추-무우의 작부체계에서는 무사마귀병균의 토양밀도도 점차 증가하거나 아니면 그 밀도가 그대로 유지되는 양상을 보였으나 배추 재배 후 당귀를 심은 밭이나 메밀을 재배한 포장에서는 재배기간 동안 무사마귀병균의 밀도가 급격히 감소하는 경향을 보여 재배작물의 종류가 토양내 무사마귀병균의 생존에 상당한 영향을 끼치는 것으로 나타나서 작부체계 운용에 의한 경종적 방

Table 4. Density distribution of *Plasmodiophora brassicae* in soils from various fields with different cropping history

Soil source	Sampled area	Soil density ($\times 10^4$ spores/g soil)	Standard deviation	Soil pH
Weed fields	Suwon	0.75	0.85	8.3
Mountain	Suwon	0	0	5.9
Pine field	Suwon	0	0	8.0
Playground	Suwon	0.23	0.50	8.2
Forest	Suwon	0.66	0.81	4.8
Chinese cabbage(diseased field)	Yeonchun	27.13	5.49	6.0
Chinese cabbage(healthy field)	Yeonchun	3.95	2.95	6.4
Red-pepper	Yeonchun	1.65	1.20	6.8
Welsh onion	Pyongchang	2.58	1.69	6.1
Corn	Yeonchun	2.75	1.95	7.2
Angelica	Pyongchang	0.36	0.67	5.8

Table 5. Grouping of cropping system in commercial fields at Yeonchun in Kyonggi province, Pyongchang and Taebeck in Kangwon province based on density of *Plasmodiophora brassicae* in soil^a

		Density of resting spores ($\times 10^4$ /g soil)					
		< 1	1-2.9	3.0-4.9	5.0-6.9	7.0-9.9	10.0 <
radish-rye	corn			W.onion-W.onion	radish-C.cabbage	C.cabbage-fallow(2)	C.cabbage-radish
angelica-celery	corn-mustard			W.onion-fallow	C.cabbage-rye	C.cabbage-radish	fallow-C.cabbage
	soybean			red-pepper	C.cabbage-C. cabbage(2)	C.cabbage-C. cabbage	C.cabbage-fallow(2)
	radish-soybean			cucumber-radish			C.cabbage-C.
	W.onion-radish			squash-radish			cabbage(2)
	W.onion-W.onion			radish-radish(3)			
	red-pepper(3) ^b			C.cabbage-fallow			
	potato-rye			C.cabbage-C.cabbage			
	radish-fallow						
	potato-C.cabbage						
	radish-C.cabbage						
	C.cabbage-fallow						
	C.cabbage-C.cabbage(2)						
2 ^c	16		10		4	4	6

^aW. onion : Welsh onion, C. cabbage : Chinese cabbage.

^bNumber of fields observed.

^cTotal number of fields observed.

제의 가능성을 시사하고 있다.

요 약

심하게 이병된 배추포장내 무사마귀병균의 수직분포를 보면 토양의 심도가 깊어질수록 무사마귀병균의 밀도는 급격히 감소하였으며 무사마귀병균의 97%가 지하 5cm 이내의 표토에 분포하였고 지하 40cm 토양에서도 소량 검출되었다. 수평 분포를 보면 무사마귀병균은 배추포기중심에 모여 있다기보다는 전 포장에 골고루 분포하고 있어서 한곳에 몰려 분포하는 현상은 발견되지 않았다. 평창의 23개 배추지역의 무사마귀병균 밀도는 1×10^4 포자/g 토양 이하의 밀도가 낮은 곳에서부터 10^6 /g 토양이상의 밀도가 높은 포장까지 폭넓게 분포하고 있었다. 작물을 재배하지 않은 처너지 토양은 밀도가 10^4 /g 토양 이하로 극히 낮거나 전혀 검출되지 않았으며 심하게 이병된 배추밭의 밀도는 10^5 /g 토양 이상으로 대단히 높았다. 건전 배추밭과 배추 이외의 타작물을 재배하고 있는 포장내 밀도는 이보다 상당히 낮아서 심고 있는 작물에 따라서 토양내 무사마귀병균 밀도에 큰 차이가 있었다. 작부체계별 밀도분포를 보면 다소 예외는 있으나 배추, 무 등의 기주작물을 연작한 곳일수록 밀도가 높게 나타났으며, 약초, 옥수수, 메밀, 기타 채소 등 비기주작물을 재배한 곳일수록 무사마귀병균의 밀도가 낮은 곳이 많았다. 배추, 무 등의 기주작물을 연작하면 토양내 무사마귀병균의 밀도는 점차 상승하는 경향이었고 반

면에 당귀, 메밀 등 비기주 작물로 윤작한 포장의 밀도는 급격히 감소하는 경향이어서 무사마귀병균의 토양내 생존은 작부체계에 의해 크게 영향을 받고 있는 것으로 나타났다. 본 연구에서 사용한 개량형광염색방법은 기존의 방법에 비해 토양내 휴면포자의 식별이 보다 용이해졌을 뿐만 아니라 그 검출효율도 증진되었고 조작이 간편하여 큰 숙련없이 밀도를 측정할 수 있어 향후 토양내 무사마귀병균의 동태를 연구하는데 유용하게 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

참고문헌

有江力, 難波成任, 山下修一, 土居養二. 1988. アブラナ科野菜根こぶ病菌(*Plasmodiophora brassicae* Woron.) 休眠胞子の螢光抗體法による土壤および植物體からの検出について. *日植病報* 54: 242-245.

Buczacki, S. T. and Ockendon, J. G. 1978. A method for the extraction and enumeration of resting spores of *Plasmodiophora brassicae* from infested soil. *Ann. Appl. Biol.* 88: 363-367.

池上八郎. 1985. 濃厚汚染土壤における各種作物の栽培による根こぶ病菌の減少. *岐阜大學農學研究報告* 50: 19-32.

伊藤克己, 菅原真治, 加藤喜重郎, 宮川壽之, 小出仁士, 木下忠孝. 1983. 作付體系, 地力維持對策等の組合せよるハクサイ根こぶ病の防除に關する研究. (第2報) 栽培作物の生育および收量について. *愛和農總試研報* 15: 250-258.

Karling, J. S. 1968. *The Plasmodiophorales*, 2nd ed. Hafner Publ. Co., N. Y. 256pp.

김충희, 조원대, 양종문. 1999a. 배추무사마귀병 발생실태와 뿌리혹의 생성생태. *식물병과 농업* 5(2): 77-83.

김충희, 조원대, 양종문. 1999b. 배추무사마귀병 뿌리혹의 형성에 미

- 치는 온도, 토양수분, 토양pH, 광의 효과. *식물병과 농업* 5(2): 84-89.
- 김충희, 조원대, 양중문. 1999c. 배추무사마귀병의 뿌리혹 형성에 미치는 묘령, 접종원 농도 및 접종방법의 효과. *식물병과 농업* 5(2): 90-94.
- 김충희, 조원대, 김홍모. 2000. 배추무사마귀병의 포장 감염시기와 피해. *식물병과 농업* 6(1): 23-26.
- 内記隆, 服部康人, 池上八郎. 1985. アブラナ科野菜根こぶ病菌の土壤中における垂直分布. *關西病蟲研報* 27: 1-5.
- 内記隆, 北澤宗一. 1984. 土壤中におけるアブラナ科野菜根こぶ病菌の定量法について. *關西病蟲研報* 26:9-14.
- 大谷英夫, 丸山進, 長瀬嘉油. 1983. 高冷地におけるハクサイ根こぶ病の綜合防除に關する實定的研究. III. 異科野菜類導入による作付體系の根こぶ病防除效果. *長野野菜化き時報* 3: 97-106.
- Takahashi, K. 1990. Methods for assessing viability of resting spores of clubroot fungi of crucifers. *Plant Prot.* 44(6): 22-25.
- Takahashi, K. and T. Yamaguchi. 1987. An improved method for estimating the number of resting spores of *Plasmodiophora brassicae* in soil. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 53(4): 507-515.
- 武藤正義. 1988. 輪作と藥劑によるキャベツ根こぶ病の防除. *植物防疫* 42(4): 190-193.
- 田村實. 1977. ハクサイ根こぶ病の發生生態. *植物防疫* 31(9): 362-366.