

## 인삼 뿌리썩음병 발병에 미치는 환경 요인

# Environmental Factors on the Development of Root Rot on Ginseng Caused by *Cylindrocarpon destructans*

이중섭<sup>1\*</sup> · 한경숙<sup>2</sup> · 이성찬<sup>2</sup> · 소재우<sup>2</sup> · 김두욱<sup>2</sup>

<sup>1</sup>국립원예특작과학원 사과시험장, <sup>2</sup>국립원예특작과학원 원예특작환경과

Jung Sup Lee<sup>1\*</sup>, Kyung Sook Han<sup>2</sup>, Seong Chan Lee<sup>2</sup>, Jae Woo Soh<sup>2</sup> and Doo Wook Kim<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Apple Research Station, National Institute of Horticultural and Herbal Science, Gunwei 716-812, Korea

<sup>2</sup>Department of Horticultural Environment, National Institute of Horticultural and Herbal Science, Suwon 440-706, Korea

**\*Corresponding author**

Tel : +82-54-380-3170

Fax : +82-54-380-3125

E-mail: suel3841@korea.kr

The fungus *Cylindrocarpon destructans* is the cause of root rot in many ginseng production areas in Korea. A total of 57 isolates of *C. destructans* were recovered from diseased roots in a survey of ginseng-growing fields from 2011–2012. Among these isolates, 37% were classified as highly virulent (causing lesions on unwounded mature roots) and 61% were weakly virulent (causing lesions only on previously wounded roots). Radial growth of highly and weakly virulent isolates on potato dextrose agar was highest at 20°C and there was no growth at 35°C. Mycelial mass production was significantly ( $P = 0.05$ ) lower at pH 7.0 compared with pH 5.0. To study the effects of pH (5.0 and 7.0) and wounding on disease development, ginseng roots were grown hydroponically in nutrient solution. Lesions were significantly larger ( $P < 0.01$ ) at pH 5.0 compared with pH 7.0 and wounding enhanced disease by a highly virulent isolate at both pHs. In artificially infested soil, 2-year-old ginseng roots were most susceptible to *Cylindrocarpon* root rot among all root ages tested (1 to 4 years) when evaluated using a combined scale of disease incidence and severity. Root rot severity was significantly ( $P < 0.05$ ) enhanced by increasing the inoculum density from  $3.5 \times 10^2$  cfu/g of soil to  $2.0 \times 10^3$  cfu/g of soil.

**Keywords :** Disappearing root rot, Disease index, Epidemiology, Pathogenicity

Received February 28, 2014

Revised May 20, 2014

Accepted May 28, 2014

## 서 론

한국 인삼(*Panax ginseng* Meyer, *Araliaceae*)은 두릅나무과에 속하며 약용작물로서의 가치가 높기 때문에 중국, 일본, 대만 등 아시아 국가들에서 주로 재배되고 있다. 최근에는 인삼의 약용 가치가 널리 알려지면서 미국과 캐나다 등 북아메리카 인근 지역에서도 약용작물로서 재배되고 있다(Kim 등, 2010). 인삼의 재배는 4–6년간 재배되기 때문에 각 생육 단계와 잎, 줄기 및 뿌리에 이르기까지 모든 생육기관에서 많은 병들이 발생하고 있다. 인삼 재배 포장에서 뇌두와 뿌리에 발생하는 부패병이 발생함에 따라 품질 저하와 수량이 현저히 감소되고 있다(Hankins,

2009; Jang 등, 2011). 특히 국내 인삼 재배 환경을 보면, 저온 처리를 위해 가을에 묘삼을 심게 되는데 이 과정에서 토양 피복과 차광막 시설 환경은 토양 병원균의 생존과 증식에도 유리한 환경을 제공하는 것으로 알려져 있다(Lee, 2004). 이러한 재배방법은 인삼 뿌리가 토양 속에서 성장하는 동안 여러 종류의 토양 병원균에 감염 될 가능성이 높지만 토양병 방제에 관해서는 매우 제한된 선택만이 적용되고 있다(Jang 등, 2011; Rahman과 Punja, 2005). 인삼 재배 중에 뿌리에 발생하는 병원균은 *Cylindrocarpon destructans*로 뿌리썩음병의 주요 원인균으로 밝혀졌다(Reeleder 등, 1999). *C. destructans* 균은 인삼의 뿌리에서 부패와 갈변 증상을 일으키기 때문에 인삼의 연작을 어렵게 하는 것으로 알려져 있다(Jang 등, 2011; Rahman과 Punja, 2005; Seifert 등, 2003). Ziezold 등(1998)은 기내시험을 통하여 몇 가지 살균제가 *C. destructans*의 균사 생장에 미치는 영향과 발병

역제에 관하여 연구한 결과 병원균에 대하여 매우 제한적이라고 하였다.

한편, 토양 병원균인 *Fusarium spp.*와 *Rhizoctonia solani* 등은 *Cylindrocarpon* 속과 마찬가지로 인삼과 일부 침엽수 기주 범위에서는 강한 병원성과 약한 병원성을 나타낸다고 보고되어 있다(Rahman과 Punja, 2005; Seifert 등, 2003). Seifert 등(2003)에 의하면 인삼을 다량 재배하고 있는 한국, 캐나다 온타리오 재배 지역에서 수집한 병원균중 병원성이 강한 것이 존재하기 때문에 생육 중 발병 가능성이 매우 높다고 보고하고 있다. 이들의 연구에 의하면 인위적으로 병원균을 접종한 뿌리와 자연적으로 감염된 뿌리에서 서로 다른 크기와 깊이의 병반이 형성되는 것을 확인하여 병원성에서 차이가 있다고 하였다. 최근 인삼에서 분리한 *C. destructans*의 병원성과 분자생물학적 유연관계를 분석한 결과 인삼 뿌리의 부패 증상은 강한 병원성을 나타내고(Seifert 등, 2003), 적변 증상은 약한 병원성과 관련되어 있다고 보고하고 있다(Rahman과 Punja, 2005).

인삼 뿌리썩음증상과 적변증상은 발생양상이 다소 차이를 나타내는데 *C. destructans*의 강한 병원성을 가진 균은 인삼뿌리의 끝에서 처음 병징이 나타나면서 잔뿌리들을 파괴하고 주로 뿌리 바깥층에 영향을 미치면서 수관 중심부로 발병이 진전되어 뿌리 전체를 부패시킨다. 그러나 적변증상은 주로 곧은 뿌리의 수관 근처에서 작지만 볼록한 붉은 갈색으로 변색된 부분이 먼저 나타나고 감염된 부분은 주로 뿌리 표면이며 대부분 뿌리내부로 깊게 침투하지 않고 서서히 진행되는 특징을 갖고 있다(Kim 등, 2006). 한편, 약한 병원성의 *C. destructans*가 이러한 병징과 관련이 있는지는 불확실하며, 오히려 *Fusarium spp.* 균이 적변 증상과 관련 있다는 보고도 있다(Rahman과 Punja, 2005). *C. destructans*에 의한 인삼 뿌리썩음병은 18–21°C의 저온과 pH 7.0의 중성 토양과 같은 병 발생 환경에서 뿌리의 부패와 무름 증상이 현저히 높아진다고 하였다(Rahman과 Punja, 2005). 이러한 환경 요인들은 배추과 작물의 뿌리혹병, 밀 조반병, *Pythium*과 *Phytophthora* 속에 의한 뿌리썩음병과 같은 토양 전염병의 기주와 병원균간 상호작용이 발병에 영향을 주는 것으로 알려져 있다(Blank와 Murray, 1998; Cho 등, 1996; Sang 등, 2006).

특히 인삼의 국내 재배 환경을 고려할 때 재배 년수와 *C. destructans*과 같이 유사한 뿌리썩음병 증상을 유발하는 토양 병원균 간의 특성이 명확하지 않았다. 따라서 본 연구는 *C. destructans*에 의한 인삼 뿌리썩음병 발병에 영향을 주는 환경 요인을 구명하고, 인삼 뿌리의 상처 유무, 재배 년수, *C. destructans* 분리 균주의 병원성 및 접종 농도에 따른 특성을 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

***C. destructans* 분리.** 인삼뿌리 표면의 짙은 갈색의 움푹패

인 병반들과 주근 끝과 측근에서 적변 증상 없이 부패 병징을 보이는 뿌리들을 2012–2013년에 걸쳐 농가 포장으로부터 수집하였다. 1–4년생 뿌리로부터 수집한 뿌리를 0.1%의 NaOCl에 3분 동안 침지 후 멸균수에 2회 씻어 살균처리 하였다. 병반 조직으로부터 조각들을 분리하여 Reeleder 등(1999)의 rose bengal agar(RBA) 배지상에 치상하여 뿌리썩음병원균의 균사가 성장하여 육안으로 확인할 수 있을 때까지 20±2°C 배양기에서 3–5일간 배양하였다. 이후 균사체를 potato dextrose agar(PDA; dextrose 20 g, agar 20 g, 증류수 100 ml)를 넣은 배양접시에 옮겨 14일 동안 성장시킨 후 접종에 이용하였다. 분리된 균주는 현미경 검경을 통해 동정한 다음 이를 ITS 염기서열을 분석 의뢰하여 Blast를 통해 확인한 후 실험 균주로 공시하였다.

**병원성 검정.** 4년생 인삼뿌리로부터 분리된 8종의 *C. destructans*를 건전한 인삼 뿌리에 접종하여 검정하였다. PDA에서 성장 중인 0.5 cm<sup>2</sup>의 균총을 2–3개(4반복)씩 뿌리에 접종한 후 젖은 여과지를 넣은 플라스틱 용기(15×25 cm)에 넣어 20°C 항온기에 보관하였다. 이때 뿌리표면 접종 부위에 미세바늘로 깊이 1.0 mm, 지름 0.25 mm의 상처를 내거나 무상처로 접종하였다. 접종부위에 병반 형성정도는 균 접종 22일 후에 측정하였으며 병원균 접종 후 상처유무에 따른 짙은색의 병반 형성 정도에 따라 병원성을 구분하였다.

**균사생장 및 병포자 형성.** *C. destructans* 균주중 강한 병원성을 나타내는 3균주와 약한 병원성을 나타내는 3균주를 선발하여 PDA 배지상에 접종한 후 20±2°C의 실온에 보관하였다. 균사생장 길이는 배양 2주 후 균총의 성장정도를 측정하였고 포자 형성정도는 배양 4주 후 15 ml의 증류수를 첨가한 후 성장 중인 균총 표면을 슬라이드 글라스를 이용하여 긁어낸 다음 10 ml의 증류수로 2번 씻은 후 포자 측정기를 이용하여 조사하였다. 균사 생장에 미치는 온도의 영향을 측정하기 위해 PDA 배지상에 14일 동안 배양한 *C. destructans* CD-1(병원성 강)과 CD-14(병원성 약)으로부터 취한 0.5 cm 균사 조각을 PDA 배지상에 재접종 후 배양기의 온도를 5–35°C 사이로 설정하여 3일 간격으로 균사의 성장정도를 측정하였다. 대부분 강한 병원성을 지닌 균주들은 PDA 배지상에서 포자 형성정도가 높지 않기 때문에 포자 형성을 확대하기 위해 modified potato ginseng agar(MPGA), 물 1,000 ml의 인삼뿌리 20 g, 감자 20 g을 넣고 15분간 끓인 후 거즈로 걸러 300 ml의 추출물을 만든 후 agar 15 g과 증류수 700 ml 첨가) 배지를 이용하였다.

**pH 변화에 의한 균사 성장조사.** 뿌리썩음병원균 생장 배지의 pH를 pH 3.0, 5.0, 7.0으로 조절하기 위하여 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>/NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>와 구연산과 구연산나트륨이 함유된 버퍼 용액 0.01 M을 조제하여 사용하였다. 조제된 버퍼 용액 100 ml을 250 ml 플라스크에 넣고 potato dextrose broth(PDB)를 적정량 넣은 다

음 121°C에서 15분간 멸균하였다. 멸균 후 최종적으로 1 N HCl 또는 NaOH를 소량첨가 하여 pH를 조절하였다. 미리 14일 동안 PDA 배지상에서 배양하였던 *C. destructans* CD-1에서 취한 0.5 cm 균사 조각을 삼각플라스크에 접종한 후 회전 배양기에 고정하여 15일 동안 배양한 후 플라스크로부터 균사체를 여과해 40°C에서 72시간 건조한 다음 무게를 측정하였다.

**pH 변화와 상처유무가 발병에 미치는 영향.** 인삼뿌리 발병 진전에 대한 pH의 영향과 뿌리상처 접종 후 병반 크기를 측정하기 위하여 인삼포장에서 성장중인 2년생 건전뿌리를 재배 토양과 함께 캐낸 후 뿌리 흙을 모두 제거하여 스티로폼을 이용하여 수경재배 하였다. 이때 사용한 국립원예특작과학원 표준 배양액을 1 N HCl 또는 NaOH를 이용하여 pH 5.0 또는 7.0으로 조절하였다. *C. destructans* 접종은 인삼 뿌리에 무상처 접종과 상처 접종으로 2가지 방법으로 처리하였다. 인삼 뿌리의 상처 접종은 미세바늘을 이용하여 깊이 1.0 mm, 지름 0.25 mm 크기로 8-10회 상처를 유발하였다. 병원균 접종은 potato ginseng agar에서 성장한 분리균 CD-1의 포자 농도를  $5 \times 10^5$  spores/ml 개로 조절하여 1,000 ml 배양액이 담긴 용기 속에 넣어 각각 접종하였다. 또한, 인삼뿌리는 상처유무에 따라 각각 3개의 배양 용기(각 용기당 6주)에 넣어 pH 5.0과 7.0으로 구분하여 재배 하였다. 또 다른 용기에는 병원균을 접종하지 않고 6주의 인삼을 재배하면서 대조구로 사용하였다. 각 용기의 배양액은 공기 분사 호스를 통해 공기를 주입하였고 실내의 낮은 광조건 ( $40 \mu\text{mol/m}^2$ )에서 재배하였다. 뿌리의 발병정도는 3일 간격으로 조사하였으며, 병반크기는 발병정도에 따라 6단계로 나누었다. 즉, 1 = 무발병, 2 = 직경 0.9 mm 갈변, 3 = 직경 1-4.0 mm 짙은 갈변, 4 = 직경 5-7 mm 짙은 갈변, 5 = 직경 7.0 mm 이상 짙은 갈변, 6 = 완전부패로 각각 구분하였다. 그 다음 발병지수 (disease severity index, DSI)를 다음 식을 사용하여 환산하였다.

$$DSI = \frac{(X_1 \times 1) + (X_2 \times 2) + (X_3 \times 3) + (X_4 \times 4) + (X_5 \times 5) + (X_6 \times 6)}{(X_1 + X_2 + X_3 + X_4 + X_5 + X_6)}$$

여기서 각 처리구당  $X_1, X_2, X_3, X_4, X_5, X_6$ 은 1-6의 뿌리썩음병 발병등급에 해당하는 발병 주수를 조사하였다.

**재배연수별 발병에 미치는 영향.** 인삼 연령별 포트내 이식을 위해 인삼 뿌리썩음병이 다발생하여 고사한 중복 음성의 인삼 재배농가로부터 재배토양을 수집하였다. 수집토양 분석 결과 유기물 함량 4.5%,  $\text{NO}_3$  27 ppm, P 108 ppm, K 525 ppm, Ca 950 ppm, Mg 880 ppm, S 66 ppm이었다. 이들 토양을  $45 \times 70$  cm 포트에 담아 차광 온실내에서 유지하였고 대조구는 처너지 토양을 이용하였다. 국립원예특작과학원 인삼포장에서 생육중인 건전한 1-4년생 인삼뿌리를 채취하여 뿌리부위 토양을 모두 제거한 다음 포트당 3주씩 이식하여 차광 온실내에 재배하면서 포트 하부를 15 cm 정도 토양내에 묻어 완전임의 3반

복으로 처리하였다. 차광온실은 주위 온도가  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 로 유지하였고 광도는 40 정도로 낮게 관리하였다. 포트내 이식 후 30일 동안 재배하면서 뿌리썩음병 발병률과 발병정도에 따라 1-6등급으로 구분하여 표시하였다.

**균점종 농도 및 상처가 발병에 미치는 영향.** *C. destructans* 접종원은 PDA 배지로부터 성장된 균사 plug를 멸균된 2 l 플라스크의 oatmeal 배지에 접종하여 3주간 실온( $20 \pm 2^\circ\text{C}$ )에서 배양하여 이용하였다. 배양 후 균총으로 덮인 oat meal 배지를 포장의 흙으로 1, 5, 10% (v/v) 혼용하여 접종농도를  $3.5 \times 10^2$ ,  $2.0 \times 10^3$  그리고  $3.5 \times 10^3$  cfu/g으로 각각 조절하였다. 각각의 접종농도는 균사체를 함유한 oatmeal 배지로부터 1, 5, 10 ml 현탁액을 PDA 배지위에 도말처리 하였다. PDA 배지상에 형성된 콜로니 수는 실온( $20 \pm 2^\circ\text{C}$ )에서 3일간 배양하여 콜로니 수를 측정하였다. 또한, 2년생 인삼 뿌리를 원예과학원 재배포장으로부터 수집하여 건전 뿌리만 병원균 감염 포트와 대조구 포트에 각각 이식하여 재배하였다. 각 접종 농도별로 처리된 포트당 3개에는 무상처 뿌리를, 또 다른 3개 병원균 접종 포트에는 상처유발 후 이식하였다. 이때 뿌리상처는 미세바늘로 깊이 1.0 mm, 지름 0.25 mm 크기로 8-10개 처리하였다. 이식 후 초기 10일 동안 포트를 비닐로 덮어 수분손실을 최소화 하였으며, 포트내 수분정도는 3일 간격으로 관수하여 포장용수량 수준으로 유지하였다. 이식 30일 후 뿌리썩음병 발병률을 조사하였으며 발병지수 계산을 통하여 1-6등급으로 구분하였다.

## 결 과

***C. destructans* 분리 및 병원성 검정.** 짙은 갈색의 뚜렷한 인삼뿌리썩음병 증세를 보이는 뿌리조직으로부터 *C. destructans* 57균주를 분리하였다(Table 1). 수집한 1-4년생 발병 뿌리로부터 뿌리썩음병 평균 분리률은 55%였으며, 1, 2년생 뿌리에서의 뿌리썩음병균 분리률은 65%, 3, 4년생 뿌리에서의 분리률은 35%를 나타내었다. *C. destructans*의 분리 과정에서 대다수 병반에서 *Fusarium* spp.가 공존하면서 *Cylindrocarpon* spp.보다 성장속도가 빠른 특성을 나타내었다. 분리된 *C. destructans* 57균주중에서 61%(34균주)는 병원성이 낮았으며, 나머지 37%(21균주)는 무상처 접종에서도 병반을 형성하여 강한 병원성을 나타내었다(Fig. 1A). 또한 이들 분리균들을 PDA 배지에서 2주 성장시킨 결과 강한 병원성을 나타낸 균주들의 표면은 짙은 갈색을 나타낸 반면 병원성이 약한 균주들은 베이지색 또는 옅은 갈색을 나타내었다(Fig. 2).

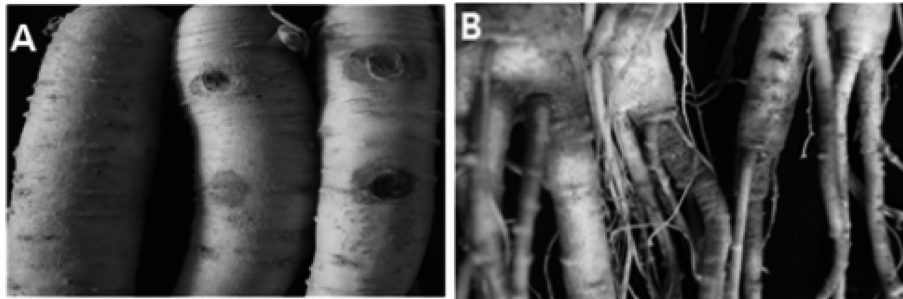
**균주에 따른 병포자 형성 정도.** 강한 병원성을 지닌 CD-2, 8, 19 균주의 PDA 배지상에서 포자 생성량은 균총당  $1.1 \times 10^6$ ,  $3 \times 10^5$ ,  $2 \times 10^6$ 의 포자를 나타낸 반면 병원성이 약한 CD-6, 16, 17은  $7.2 \times 10^9$ ,  $6.6 \times 10^8$ ,  $7.2 \times 10^8$ 의 포자를 생성하였다. 한편,



**Table 1.** Analysis rate of related pathogens of root rot and symptom of root rot disease in infected ginseng

Compartment	Number of isolate	Isolation of pathogens (%)				
		<i>Fusarium solani</i>	<i>Cylindrocarpon destructans</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	Bacteria sp.	Others
Dark reddish epidermis	75	3 (4.0 <sup>2</sup> )	41 (54.6)	22 (29.3)	2 (2.7)	7 (14.6)
Dark elliptical shape rot	72	6 (8.3)	12 (16.7)	45 (62.5)	4 (5.6)	5 (6.9)
Dark rotting root	6	–	4 (66.7)	–	2 (33.3)	–
Total	147	9 (5.9)	57 (37.3)	67 (43.8)	8 (5.2)	12 (7.2)

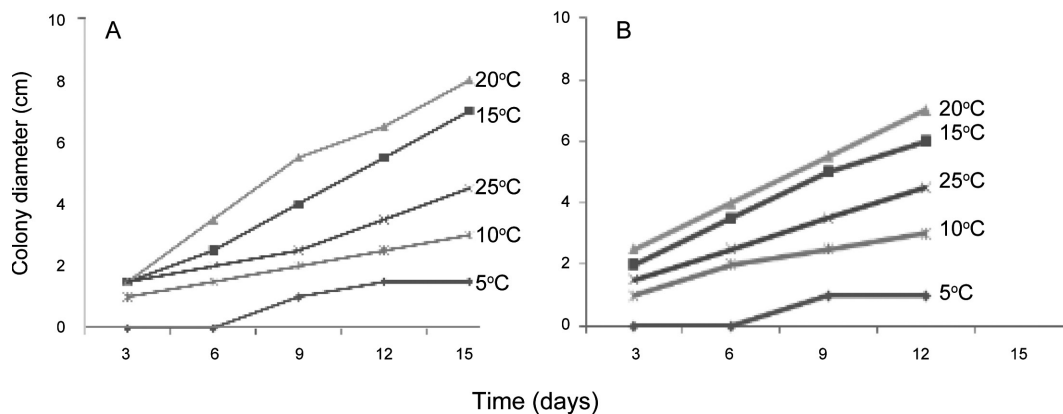
<sup>2</sup>Isolation rate.



**Fig. 1.** Growth and development of *Cylindrocarpon destructans* on ginseng roots. **A:** Lesion development by highly (right) and weakly (middle) virulent isolates on 3-year-old roots 2 weeks after inoculation. A wound (1.0 × 0.25 mm in diameter) was created with a sharp pin on the upper inoculation site while the lower inoculation site was unwounded. **B:** Lesions developing mainly at the junctions of primary and lateral roots cultivated in pathogen inoculated soil.



**Fig. 2.** Growth and development of *Cylindrocarpon destructans* on ginseng roots. Two-week-old colonies of highly virulent (**left**) and weakly virulent (**right**) isolates of *C. destructans* growing on potato dextrose agar.

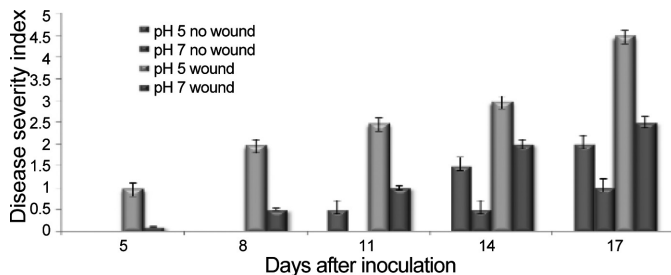


**Fig. 3.** Effect of temperature (°C) on radial growth of *Cylindrocarpon destructans* on potato dextrose agar. **A:** Isolate 2 (highly virulent), **B:** Isolate 16 (weakly virulent).

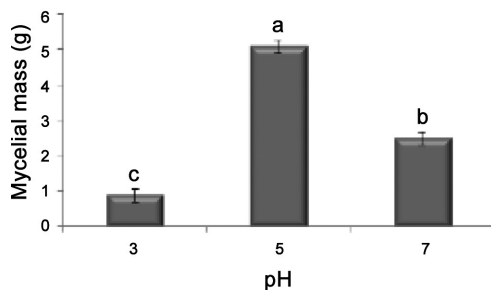
*C. destructans* 분리균을 5–35°C의 온도범위에 노출시켜 성장시킨 결과 강한 병원성을 지닌 CD-2는 20°C가 생육적온이었고 (Fig. 3A), 약한 병원성을 나타낸 CD-16 균주도 20°C가 생육적온이었다 (Fig. 3B). 두 분리균 모두 5°C에서는 생장이 낮았으며, CD-2가 CD-16보다 생장이 느린 경향이었으며, 35°C에서는 두 분리균 모두 성장하지 못하였다.

**온도가 균사생장에 미치는 영향.** *C. destructans* 분리균을 5–35°C의 온도범위에 노출시켜 성장시킨 결과 (Fig. 3) 강한 병원성을 지닌 CD-2와 약한 병원성을 나타낸 CD-16 균주 모두 20°C가 생육적온이었다. 또한 두 균주 모두 5°C에서는 생장이 낮고, 35°C에서는 성장하지 못하였으며, CD-16보다 CD-2의 생장이 느린 경향이였다.

**pH 균사 성장 및 발병에 미치는 영향.** 상처접종과 무상처 접종 인삼뿌리를 pH 5.0과 7.0의 배양액내에서 성장시키면서 경시적으로 발생하는 발병도를 조사하여 Fig. 4에 나타내었다. 상처접종 뿌리에서의 병반은 pH에 관계없이 접종 후 5일에 나타났다, 전체적인 발병도는 pH 5.0에서 보다 pH 7.0에서 현저히 낮았다 (Fig. 4). 또한, 무상처 접종 뿌리에서도 pH 7.0에서의 발병도가 훨씬 더 낮았으며, 병반이 상처 접종 뿌리에서 보다 현저히 늦게 형성되었다. 뿌리썩음병원균의 균사생장에 미치는 pH 효과를 PDB 배지에서 조사한 결과 pH 3.0과 7.0에서보다



**Fig. 4.** Effect of pH and wounding on disease severity index due to *Cylindrocarpon destructans* on hydroponically maintained roots. Vertical bars represent the standard errors of means from three experiments (n = 30).



**Fig. 5.** Effect of pH on mycelial mass production by *Cylindrocarpon destructans*. Bars followed by different letters are significantly different from each other according to Fisher' protected LSD test ( $P \leq 0.05$ ). Vertical bars on the top represent the standard errors of means from three experiments each having three replicate flasks (n = 9).

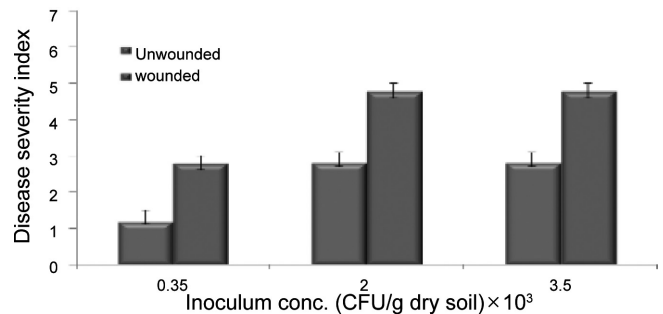
pH 5.0에서 현저하게 높게 성장되었으며, pH 3.0보다는 pH 7.0에서 더 양호한 결과를 나타내었다 (Fig. 5).

**뿌리 년수가 발병에 미치는 영향.** 발병 토양내에 생육중인 인삼뿌리를 년수별로 이식하여 재배한 결과 2년생 뿌리에서 발병률 79.5%로 높은 경향이였으며, 발병정도는 4.5로 가장 높았다 (Table 2). 반면 1년생 뿌리는 2년생 뿌리에 비해 발병정도는 낮았지만 몇 개의 발병뿌리에서 거의 완전히 분해된 것처럼 부패 정도가 심하였다. 또한, 3, 4년생 뿌리 대부분은 뿌리 표면에 다수의 작고 열은 침입병반이 형성되었으며, 2년생 뿌리와 비교시 발병률이 낮았다 (Table 2).

**Table 2.** Effect of ginseng root age on *Cylindrocarpon* root rot severity<sup>2</sup>

Root age (years)	Highest rotting severity observed	Disease incidence (%)	Plant survival at 30 days after inoculation (%)	Disease severity index
1	5.5 a	50.00 c	50.00 a	2.90 b
2	4.8 b	79.50 b	13.60 c	4.50 a
3	3.0 c	100.00 a	28.50 bc	3.40 b
4	2.9 c	100.00 a	40.10 b	3.20 b

<sup>2</sup>Means followed by a different letter in a column are significantly different according to Fisher's protected LSD test ( $P = 0.05$ ).



**Fig. 6.** Effect of inoculums concentration and wounding on *Cylindrocarpon* root rot development; Data from three experiments having three replicate pots for each treatment with two roots in each pot were pooled after testing the homogeneity of variance. Vertical bars represent the standard errors of means (n = 18).



**Fig. 5.** Effect of pH on mycelial mass production by *Cylindrocarpon destructans*. Bars followed by different letters are significantly different from each other according to Fisher' protected LSD test ( $P \leq 0.05$ ). Vertical bars on the top represent the standard errors of means from three experiments each having three replicate flasks (n = 9).

**균집중 농도가 발병에 미치는 영향.** 뿌리썩음병 발병정도는 토양 내 집중 병원균의 밀도에 따라 크게 영향을 받는 것으로 나타났다. 뿌리썩음병 발병정도는 병원균 집중농도  $3.5 \times 10^2$  cfu/g 처리구 보다  $2.0 \times 10^3$  cfu/g 처리구에서 높았다. 그러나 병원균 집중농도  $2.0 \times 10^3$  cfu/g 보다 높은  $3.5 \times 10^3$  cfu/g 집중농도에서는 발병정도가 더욱 높아지지는 않았다(Fig. 6). 한편, 뿌리표면 상처 집중처리구에서는 무상처 집중 뿌리보다 현저하게 높은 썩음 병반을 형성하였다.

## 고 찰

인삼 재배단지에서 *C. destructans*는 토양속에 존재하면서 뿌리썩음병을 일으키는 병원균으로 방제하기가 매우 어렵기 때문에 매년 큰 피해를 나타내고 있다(Rahman과 Punja, 2005; Jang 등, 2011). 인삼뿌리썩음병균은 18–21°C의 저온과 pH 7.0의 중성 토양에서 뿌리의 부패가 발생하는데, 토양 수분이 높은 경우 무름 증상을 동반한다고 하였다. 인삼을 연작하는 과정에서 뿌리 표면에 적변증상을 나타내어 상품성을 저하시키기 때문에 재배중 약제 방제를 실시하여도 효율이 높지 않아 매우 제한적이다(Rahman과 Punja, 2005). 본 연구에서 4년근에 대한 분리균의 병원성 검정 결과 *C. destructans* 분리균 61%는 무상처 집중에서는 병반이 형성되지 않고 상처 집중처리구에서 병반이 형성된 것으로 보아 병원성이 약한 것으로 분류하였다. 이러한 병원성이 약한 균들은 포장재배시 인삼 뿌리썩음병 발병 및 확산을 위해서는 상처 유무가 매우 중요하다고 판단된다.

이러한 작은 표면 상처는 인삼뿌리가 토양속에서 성장하는 동안 토양내 존재하는 선충과 겨울철 동해 또는 토양 해빙작용 등에 의해 생육중 쉽게 상처가 발생 할 수 있기 때문이다. Mahesh 등(2006)은 *C. radicola*를 감자 뿌리에 단독으로 접종 처리한 결과 병반을 형성하지 않았지만 *Pratylenchus penetrans*와 같이 두 종의 병원균을 접종한 경우 병반 형성이 용이하였다고 보고하고 있다. Kim 등(2006)도 토양속에 존재하는 선충들이 인삼뿌리에 상처를 유발할 경우 쉽게 *C. destructans*에 감염된다고 보고하였다. 이와 같이, 토양속에 존재하는 병원성이 약한 *C. destructans*도 인삼 뿌리에 상처가 발생되었을 경우 쉽게 침입하여 발병할 수가 있는 것이다. 선충에 의해 인삼뿌리에 상처가 발생할 경우 대다수의 뿌리에서 *Cylindrocarpon spp.*에 의한 병징을 나타내었다(Kim 등, 2006). 생육중인 인삼 뿌리중에서도 뿌리끝의 상처 또는 분지되는 측지부위가 *C. destructans*에 의한 자연적인 침입부위라 할 수 있다. 이는 인삼 재배 포장에서 뿌리 감염부위가 주로 분지된 어린뿌리 또는 측지발생 부위에서 형성되었기 때문이다(Fig. 1B). 이와 같이 인삼뿌리썩음병의 발생은 뿌리 표피세포에서 병원성이 강한 균이 먼저 침입한 후 병원성이 약한 균의 2차 감염 및 진전이 이루어진 것으로 추정된다.

한편, Punja 등(2007)에 따르면 적변병징 발현이 *C. destructans*

에 의해서가 아니라 *Fusarium spp.*에 감염되어 발생된 것이라고 보고하고 있다. 이러한 결과는 인삼 뿌리에서 분리한 *C. destructans* 균주들보다 *Fusarium spp.* 균주에서 분리한 펙티나제 효소의 활성이 높았기 때문이라고 보고하고 있다(Rahman과 Punja, 2005). 이러한 펙티나제 효소의 고활성은 병원성이 강한 균주들이 약한 균주들 보다 높기 때문이다. 이는 옥수수 유묘에서 시들음병을 일으키는 *Fusarium sp.* 분리균들의 펙틴분해효소 활성분석에 대한 연구에서도 비슷한 결과를 나타내었다(Lee, 2004).

한편 생육중인 인삼에 관주하는 배양액의 산성의 토양 pH와 뿌리 상처가 다른 토양 전염 병원균들도 토양의 pH에 따라 병발생의 차이가 나타나는 것으로 알려져 있다. 배추과의 뿌리혹병은 pH 7.0 이상에서 발병이 현저히 줄어들었고 pH 7.8에서는 발병이 억제되었다(Cho 등, 1996). Blank와 Murray(1998)의 보고에 의하면 조반병(*cephalosporium stripe*)에 감염된 줄기 발병률은  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 를 토양 처리 후 pH를 5.2에서 6.0으로 높이자 크게 감소하였으며, 반대로  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 를 토양내 처리하여 pH를 4.5로 낮추자 다시 증가하였다. *Cylindrocarpon* 감염에 의한 뿌리썩음병 발병정도는 뿌리의 년한에 영향을 받으며, 연한이 높은 뿌리일수록 얇고 작은 병반이 다수 형성되었으며 어린 뿌리 발병주에서는 완전히 부패되었다. 또한, 인삼을 재배하는 포장에서 재배연한이 높은 뿌리일수록 뿌리썩음병 발병률이 높아지는데 이는 시간이 경과 할수록 토양내 균밀도가 높아져서 2년근에서 3, 4년근으로 병원체가 전이되기 때문으로 판단된다. 1년근에서 뿌리썩음병 감염 빈도가 낮은 것은 토양내 존재하는 병원균 집중원과 접촉할 수 있는 표면적이 낮다는 것을 의미한다고 볼 수도 있으며, 재배기간이 길어질수록 뿌리에 펙틴과 다른 여러 세포벽 구성성분이 축적되면 뿌리썩음병 감염에 대한 저항력도 있다고 할 수 있다(Reeleder 등, 2003). 본 연구에서도 비록 어린뿌리에서 낮은 발병률이 확인되었지만, 이미 발병된 어린뿌리는 높은 발병정도를 보였다.

한편, *Cylindrocarpon spp.*에 의한 발병 및 진전에 영향을 미치는 온도범위를 조사한 결과 병원체 성장에 최적 온도 범위인 20°C에서 가장 높게 나타내었으며, 10, 25°C 처리구에서는 낮은 성장량을 보였다. 또한, Rahman과 Punja(2005)의 토양 속 습도변화 연구에서 -0.02 MPa 이상의 다습 조건에서도 발병진전에 매우 적은 작용을 나타내었다고 보고하고 있어 습도보다는 온도 변화가 뿌리썩음병 발병 진전에 더 큰 영향을 미친다고 볼 수 있다. 그러나, 인삼 재배토양내 높은 습도는 *Pythium spp.*과 *Phytophthora spp.*와 같은 토양내 서식하는 병원균들에 의한 뿌리에서의 발병확산에 영향을 미칠 것으로 생각된다(Sang 등, 2006). 한편, 재배중 발생하는 뿌리 상처는 병원성이 약한 균들이 뿌리표면에 병반을 진전시키기 위한 전제조건이라고 할 수 있지만 병원성이 강한 균들에게는 발병도를 높여주는 요인으로 작용하게 된다. 인삼을 수경재배 형태로 재배하면서 뿌리에 상처 발생 후 뿌리썩음병원균의 집중농도를  $2.0 \times 10^3$  cfu/



g으로 처리한 결과 발병정도는 낮은 밀도에서 보다 높게 나타났으며, 높은 접종농도  $3.5 \times 10^3$  cfu/g 처리구에서도 비슷한 발병정도를 나타내었다. 그러나, 인삼재배지 토양내 자연적으로 존재하는 *C. destructans*의 분포정도는 일반적인 토양희석 검사로 병원체를 검출하여 밀도분석을 하기는 쉽지 않다. 그러나, Reeleder 등(2003)은 토양 내 존재하는 병원균의 밀도를 예측하기 위한 방법으로 여러 토양 표본으로부터 *C. destructans* DNA를 추출하는 방법을 보고하여 앞으로는 토양내에서 균 밀도를 측정하는 것이 가능 할 것으로 추정된다. 또한, 뿌리썩음 병원균의 후막 포자가 토양 내에서 생성되고 병원체가 넓은 범위의 기주를 갖는 점을 고려하면, 인삼을 재배하는 농가에서 *C. destructans*를 재배토양으로부터 살균하는 것은 여전히 어려움이 있을 것으로 판단된다(Reeleder 등, 2003). 한편, 인삼 재배토양의 pH변화와 같은 토양환경 관리 및 토양선충 또는 극심한 기후변화에 의한 뿌리의 상처 발생억제는 뿌리썩음병 발병억제에 부분적으로 효과가 있을 것으로 보인다.

본 연구를 통해 국내 인삼 주요 산지에서 수집한 57종의 *C. destructans* 중에서 21 균주는 강한 병원성을 나타내는 것으로 확인되었다. *C. destructans*의 생육 특성은 기존의 보고와 비교하여 20°C에서 균사 생육이 가장 양호하여 유사하였지만 병원성에 따라 담황색에서 담갈색에 이르기까지 균총의 색상과 생육 속도가 다르다는 것을 확인할 수 있었다. 또한 뿌리의 상처는 토양의 pH보다 발병도를 높이는 것으로 확인되어 토양 해충 등에 의한 상처도 인삼 뿌리썩음병의 발생이 크게 증가시킬 수 있음을 확인할 수 있었다. 무엇보다 직파보다 묘삼의 이식재배가 널리 보급된 국내 인삼 재배 여건을 감안할 때 2년생 뿌리에서 가장 높은 발병을 보인 점도 향후 인삼의 재배 방법 및 이식 시기에 관한 연구도 뒤따라야 할 것으로 생각된다.

## 요 약

인삼 재배지에서 가장 큰 피해를 나타내고 있는 뿌리썩음 병원균은 *Cylindrocarpon destructans*로 연작장해의 원인으로 작용하고 있다. 2011과 2012년에 걸쳐 인삼 뿌리썩음병 발병포장으로부터 뿌리를 수집하여 병징 구분 후 57종의 *C. destructans*를 분리하였다. 분리한 뿌리썩음병원균중에서 34균주(61%)는 병원성이 낮았으며, 21균주(37%)는 무상처 접종에서도 병반을 형성하여 강한 병원성을 나타내었다. 또한 이들 분리균들을 PDA 배지에서 15일 배양한 결과 최적의 생장온도는 20°C였으며, 35°C에서는 병원성에 관계없이 모두 생장하지 못하였다. 병원성에 따라 균총의 색과 균사의 생장정도에 차이를 나타내었다. 강한 병원성 균주는 짙은 갈색을 나타낸 반면 병원성이 약한 균주들은 베이지색 또는 옅은 갈색을 나타내었다. pH 변화에 따른 균사 생장에 미치는 효과 조사를 위해 수경 재배한 결과 pH 7.0에서 보다 pH 5.0에서 균사생장이 양호하였다. 뿌리에서의 상처는 pH 변화와 관계없이 발병도를 더욱 증가시켰다.

인위적으로 조성한 발병 토양에 1-4년생 인삼뿌리를 이식하여 재배한 결과 2년생 뿌리에서 가장 감수성이었으며, 발병률도 79.5%로 가장 높았다. 뿌리썩음병 발병정도는 토양 내 접종 병원균의 밀도에 따라 영향을 받는 것으로 나타났으며, 병원균 접종농도  $3.5 \times 10^2$  cfu/g 처리구 보다  $2.0 \times 10^3$  cfu/g 처리구에서 높았다.

## References

- Blank, C. A. and Murray, T. D. 1998. Influence of pH and matric potential on germination of *Cephalosporium gramineum* conidia. *Plant Dis.* 82: 975-978.
- Cho, D. H., Yu, Y. H., Ohh, S. H. and Lee, H. S. 1996. Effect of incubation time, temperature and pH on the production of conidia and chlamydospores of *Cylindrocarpon destructans*(Zinssm.) Scholten causing root rot of *Panax ginseng*. *Korean J. Ginseng Sci.* 20: 88-95. (In Korean)
- Hankins, A. 2009. Producing and marketing wild simulated ginseng in forest and agroforestry systems. Virginia Cooperative Extension Publication. 312-354.
- Jang, Y. L., Kim, S. G. and Kim, Y. H. 2011. Biocontrol efficacies of *Bacillus* species against *Cylindrocarpon destructans* causing ginseng root rot. *Plant Pathology J.* 27: 333-341.
- Kim, J. H., Jeon, Y. H., Park, H., Lee, B. D., Cho, D. H., Park, B. Y. and Kim, Y. H. 2006. The root-lesion nematode, *Pratylenchus subpenetrans*, on ginseng (*Panax ginseng*) in Korea. *Nematology* 8: 637-639.
- Kim, G. S., Hyun, D. Y., Kim, Y. O., Lee, S. E., Kwon, H., Cha, S. W., Park, C. B. and Kim, Y. B. 2010. Investigation of ginsenosides in different parts of *Panax ginseng* cultured by hydroponics. *Korean J. Hort. Sci. Technol.* 28: 216-226. (In Korean)
- Lee, S. G. 2004. *Fusarium* species associated with ginseng (*Panax ginseng*) and their role in the root rot of ginseng plant. *Res. Plant Dis.* 10: 248-259. (In Korean)
- Mahesh, P. P., Cornelia, H. S., Thomas, H. B. and Maurice, M. 2006. Vertical distribution of the plant-parasitic nematode, *pratylenchus penetrans*, under four field crops. *Phytopathology* 96: 226-233.
- Murray, T. D., Walter, C. C. and Anderegg, J. C. 1992. Control of cephalosporium stripe of wheat by liming. *Plant Dis.* 76: 282-286.
- Punja, Z. K. 2006. Recent developments toward achieving fungal disease resistance in transgenic plants. *Can. J. Plant Pathol.* 28: 298-308.
- Punja, Z. K., Wan, A., Goswami, R. S., Verma, N., Rahman, M., Barasubiye, T., Seifert, K. A. and Levesque, C. A. 2007. Diversity of *Fusarium* species associated with discolored ginseng roots in British Columbia. *Can. J. Plant Pathol.* 29: 340-353.
- Rahman, M. and Punja, Z. K. 2005. Factors influencing development of root rot on ginseng caused by *Cylindrocarpon destructans*. *Phytopathology* 95: 1381-1390.
- Reeleder, R. D., Roy, R. and Capell, B. B. 1999. Seed and root rots of ginseng (*Panax quinquefolius*) caused by *Cylindrocarpon de-*

- structans* and *Fusarium* spp.. *J. Ginseng Res.* 26: 151–158.
- Reeleder, R. D., Capell, B. B., Tomlinson, L. D. and Hickey, W. J. 2003. The extraction of fungal DNA from multiple large soil samples. *Can. J. Plant Pathol.* 25: 182–191.
- Sang, M. K., Chiang, M. H., Yi, E. S., Park, K. W. and Kim, K. D. 2006. Biocontrol of korean ginseng root rot caused by *Phytophthora cactorum* using antagonistic bacterial strains ISE13 and KJIR5. *Plant Pathology J.* 22: 103–106.
- Seifert, K. A., McMullen, C. R., Yee, D., Reeleder, R. D. and Dobinson, K. F. 2003. Molecular differentiation and detection of ginseng-adapted isolates of the root rot fungus *Cylindrocarpon destructans*. *Phytopathology* 93: 1533–1542.
- Ziezold, M., Hall, R., Reeleder, R. D. and Proctor, J. T. A. 1998. Toxicity of fungicides *in vitro* to *Cylindrocarpon destructans*. *J. Ginseng Res.* 22: 223–228.