

콩 黑色뿌리썩음病的 發生과 Propagule의 形成

成 載 模* 朴 貞 姬 李 升 燦 鄭 鳳 九

The Outbreak and Propagule formation of black root rot caused by *Calonectria crotalariae* in Korea

Sung, J.M.,* J.H. Park, S.C. Lee, and B.K. Chung

Summary

The infection rate of soybean black root rot disease caused by *Calonectria crotalariae* was about 14%. The isolated fungi from the infected soybean roots and stems were *Calonectria crotalariae*, *Fusarium solani*, *F. roseum*, *Phomopsis sojae*, *Pythium aphanidermatum*, *Rhizoctonia solani* and *Macrophomina* sp. Among them, *C. crotalariae* was the most virulent pathogen under the laboratory conditions. Mycelial growth and microsclerotial formation were good on PSA containing 1000cc of water, 100g of potato and 20g of sugar. Mycelial growth, sporulation and microsclerotial formation were good on sterilized root. Perithecial formation was better in the dark condition than in the light. Survival of macroconidia was not available between 0~25% soil water content. Microsclerotia and mycelium in infected plant debris were survived for 4 months at to 8% 50% soil water content. The plant height, when inoculated with 1.2% inoculum density, reached approximately half of uninoculated plants. Disease severity was much higher at non-sterilized soil than completely sterilized soil. It was determined that the host range of this pathogen includes soybean, peanut, green bean and red bean.

緒 論

콩에 黑色뿌리썩음病을 일으키는 *Cylindrocadium* (*Calonectria*) *crotalariae* (Loos) Bell & Sobers는 幼苗期에 뿌리에 侵入하여 黃化現象을 일으키는데 이 病에 甚하게 걸리면 收穫을 거의 期待할 수 없다. 이 病原菌에 對한 研究는 日本⁵⁾, 美國¹⁰⁾에서 主로 땅콩에 對하여 研究된 바 있고 콩에 대하여서는 日本^{5),6)}에서 病

原菌의 分離同定, 生理的 特性, 品種抵抗性選拔에 對하여 研究된 바 있다. 韓國에서는 本病原菌이 1976年에 처음 分離되었지만 研究된 바 없고 1979年에 再分離同定 報告되었으¹¹⁾ 본病原菌과 water potential과의 關係¹²⁾, 品種抵抗性¹³⁾을 報告하였으나 本病의 被害程度와 이 病原菌의 propagule形成과 propagule의 役割에 對한 研究가 未洽하여 本試驗研究를 實施하였다.

* 農村振興廳, 農業技術研究所

Institute of Agricultural Sciences, Office of Rural Development, Suweon Korea.

材料 및 方法

本 病의 被害程度를 究明하기 위하여 8~9월에 콩을 뽑아서 罹病有無를 調査하였고 罹病株에서 여러가지 菌을 分離하여 病原性을 檢定하고 子囊胞子를 單胞子 分離하여 實驗에 利用하였다. 菌絲伸長, 子囊殼과 微小菌核의 形成部位를 알고져 콩 種子, 幼苗, 뿌리, 줄기, 잎 등을 殺菌하여 물 培地에 놓고 菌絲의 조각을 接種한 다음 調査하였다. 아울러 光에 對한 子囊殼과 微小菌核의 形成도 調査하였다. 여기에서 形成된 propagule를 가지고 子囊殼, 子囊, 子囊胞子, 分生子梗, 分生子胞子를 顯微鏡 150배에서 시야당 20개씩 길이와 幅을 재었다.

이 病原菌의 菌絲伸長과 胞子形成이 잘되는 PSA 培地의 主成分含量을 알기 위하여 물 1000cc에 설탕 30g, 20g, 10g, 5g, 감자 300g, 200g, 100g의 各 培地上에 菌叢의 조각을 놓고 菌絲伸長과 微小菌核形成을 調査하였다. 이 病原菌이 Homothallism인가 Heterothallism인가를 究明하기 위해 殺菌된 뿌리나 줄기를 培地上에 놓고 물 培地에서 發芽한 胞子 하나를 移植하여 子囊殼形成關係를 調査하였다. 病原菌의 propagule이 땅속에서 어느 程度까지 生存하는지를 알기 위하여 胞子是 현탁액을 만들어 Millipore를 通過시킨 後 Nucleopore 속에 넣고, 微小菌核은 微小菌核이 形成된 콩 罹病組織의 조각을 Nucleopore로 싼 다음 土壤 200g을 물 濃度 0, 4, 8, 15, 25, 30, 50%로 調節하고 흙 130g을 큰 사레에 넣고 그 위에 Nucleopore를 놓은다음 나머지 70g의 흙을 붓고 胞子是 一週日後, 微小菌核은 4個月後에 生存有無를 觀察하였다. 이 病原菌의 接種源 密度와 發病과의 關係를 알기 위하여 Vermiculite에 接種源을 0.4, 0.6, 0.8, 10, 1.2%씩 섞은다음 콩을 播種하여 4葉期에 뽑아 草長을 재고 發病程度¹³⁾를 調査하였다. 本 病이 많이 發生된 土壤을 採取, Autoclave로 殺菌한 區와 無殺菌區로 나누어 콩을 播種하여 發病程度를 調査하였다.

結 果

1. 地域別 黑色뿌리썩음病의 發病率

表 1에서 보는 바와 같이 發病率은 半月 14%, 水原 14%, 扶餘 14%, 安東 13.0%, 永同 10.5%로 各地域에 따라 差異가 있지만 平均 13%의 發病率으로 이 病에 甚하게 罹病되면 收穫을 期待할 수 없다.

圃場條件下에서 이 病에 걸린 植物은 黃化되고 甚한 罹病株는 잘 뽑혀지며 罹病된 줄기나 뿌리에 붉은색의

Table 1. Infection rate of soybean black root rot at different locations.

Location	No. of soybean plants	No. of infected stems	Infection rate(%)
Banweol	230	32	14
Suweon	600	84	14
Buyoo	400	55	14
Youngdong	300	34	10.5
Andong	300	39	13.0
Total	1830	244	13

子囊殼을 많이 形成하는 것이 本 病의 特徵이다.

2. 罹病株로 부터 分離된 菌에 對한 病原性檢定

罹病된 줄기나 뿌리로 부터 *Cylindrocladium (Calonectria) crotalariae*, *Phomopsis phaseolorum*, *Pythium aphanidermatum*, *Fusarium solani*, *Fusarium roseum*, *Rhizoctonia solani*와 *Macrophomina phaseolina*를 콩에 接種하여 病原性을 檢定한 結果 表 2에서와 같이 *Cylindrocladium (Calonectria) crotalariae*가 病原性이 가장 강한 것으로 나타났다.

Table 2. Pathogenicity of isolated fungi from infected soybeans by stem and root black root rot.

Isolated fungus	Replication ^a		
	1	2	3
<i>Phomopsis sojae</i>	—	—	—
<i>Cylindrocladium crotalariae</i>	‡	‡	‡
<i>Pythium aphanidermatum</i>	+	+	+
<i>Fusarium solani</i>	+	+	+
<i>Fusarium roseum</i>	—	—	—
<i>Macrophomina phaseolina</i>	+	+	+
<i>Rhizoctonia solani</i>	+	+	+
Control	—	—	—

^a Degree of Pathogenicity: —none; +mild; †moderate ‡severe.

riae, *Fusarium solani*, *Pythium aphanidermatum*, *Macrophomina phaseolina*와 *Rhizoctonia solani*가 病原性이 있었으며 그 중에서도 *Cylindrocladium crotalariae*가 病原性이 가장 강한 것으로 나타났다.

3. 菌絲伸長과 培地濃度와의 關係

이 病原菌에 對한 菌絲伸長과 微小菌核形成을 감자와 실탕의 濃度를 달리한 培地에서 比較하였을때 물 1000ml, 감자 100g, 설탕 20g에서 가장 좋은 效果를 보였으며(表 3) 감자의 濃度는 100g보다 많았을때 싨

Table 3. Effect of PSA compositions on mycelial growth and microsclerotial formation.

Composition			Mycerial growth (mm) ^a	Microsclerotial formation ^b
Water(ml)	Potato(g)	Sugar(g)		
1000	300	30	23±1	+
		20	32±5	+
		10	41±1	+
		5	29±3	+
1000	200	30	38±4	+
		20	53±1	+
		10	44±4	+
		5	40±2	+
000	100	30	27±2	+
		20	27±2	+
		10	68±4	+
		5	46±3	+

^aStandard deviation of sample mean.

^bFormation intensity: -none; +slight; ++moderate; +++more; ++++most.

탕의 濃度에 關係없이 菌絲伸長과 微小菌核形成이 減少되었고 설탕은 감자의 量에 關係없이 20g 以上の 濃度나 以下の 濃度에서 菌絲伸長이나 微小菌核形成이 顯著히 減少되는 것으로 보아 病原菌의 培養을 위하여서는 물 1000cc 감자 100g 설탕 20g 寒天 18g의 培地를 使用하는 것이 가장 좋은 것으로 思料된다.

4. Propagule의 形成과 寄主部分과의 關係

Table 6. Comparisons of black root rot fungus between previously determined (a and b) and currently isolated.

	<i>C. crotalariae</i> (a)	<i>C. crotalariae</i> (b)	Isolated fungus
Perithecium	orange to red 320-465×290-370μ	orange to red 275-475×212-375μ	orange to red 310-450×250-360μ
Ascus	clavate 95-138×13-19μ	clavate 85-142.2×12.6-21.5μ	clavate 90.2-137.3×12-20μ
Ascospore	1-3 septate 34-58×6.3-7.8μ (mean 47.3×7.2μ)	1-3 septate 35.7-58.5× 5.7-7.6μ	1-3 septate 32-58×4-5μ (mean 49.6×4.5μ)
Conidiophore	globose vesicle 6×11μ	globose vesicle 5.8×11.5μ	globose vesicle 6×10μ
Conidium	mostly 3 septate 58-107×4.8-7.1μ	mostly 3 septate 53-94×5.5-7.2μ	mostly 3 septate 59-81×4-7μ

a) Bell and Sobers (1967).

b) Misonou Tsukaki (1973).

Table 4. Mycelial growth, perithecial and microsclerotial formation in the different parts of host.^a

Part of host	Mycelial growth	Perithecial formation	Sporulation
autoclaved seed	+	+	+
autoclaved seedling	+	+	+
autoclaved leaf	+	+	+
autoclaved root	+	+	+
autoclaved stem	+	+	+

^aFormation intensity; -none; +slight; ++moderate; +++more.

殺菌된 콩의 잎, 뿌리, 줄기, 종자, 幼苗 등에서 病原菌의 菌絲伸長 胞子와 子囊殼形成을 觀察한 結果 表4에서와 같이 菌을 移植한 寄主部分에서 菌絲伸長, 子囊殼과 微小菌核形成이 되었으며 특히 뿌리部分에서 가장 좋은 것으로 나타났다.

子囊殼과 微小菌核形成에 미치는 光과의 關係는 光을 차단한 沙베에서 光을 차단하지 않은 것보다 Propagule形成이 더 잘 되었다(表 5).

Table 5. Effect of light on propagule formation.^a

Treatment	Perithecium	Microsclerotium
dark for 21 days	+	+
light for 21 days	+	+

^aFormation intensity: -none; +slight; ++moderate; +++more.

5. *Calonectria crotalariae*菌과 分離菌과의 比較
Bell¹⁾과 御園生²⁾에 의하여 分離된 *Calonectria crotalariae*와 本病原菌과 比較하여 보면 子囊殼이 오랜 지색을 띤 붉은 색이며 子囊, 子囊孢子, 分生子梗, 分生子胞子の 모양과 크기가 거의 비슷한 것으로 보아 이 分離된 菌은 子囊菌類중 Sphaeriales Hypocreaceae에 屬하며 完全世代는 *Calonectria*屬이고 分生子胞子世代는 *Cylin drocladium*屬으로 同定되었다¹¹⁾.

6. 單胞子에 依한 子囊殼形成

Table 7. Perithecial formation on water agar media with sterilized stem.

Replication	No. of perithecia observed
1	7
2	32
3	172
4	83
5	75
6	112
7	87
8	183
9	17
10	37
Total	805

V=75.9

ote: Each medium was seeded with single spore.

이 病原菌이 Homothallism인가 Heterothallism인 를 究明하기 위하여 물培地에서 發芽한 單胞子를 물地上의 殺菌된 콩뿌리나 줄기에 移植한 結果 表 7에 와 같이 反覆에 따라 子囊殼의 形成數에는 差異가 있으나 모든 處理에서 子囊殼을 形成하는 것으로 보 Homothallism으로 生覺되며 自然狀態에서 罹病된

Table 8. Effect of different soil water potential on spore survival in soybean black root rot after one week of seeding.

Soil moisture (%)	No. of spore tested	No. of spore survived
25	100	0
15	100	0
10	100	0
7	100	0
4	100	0
0	100	0

콩의 줄기와 뿌리에 子囊殼形成이 많이 되는 것은 Homothallism이기 때문인 것으로 思料된다.

7. 土壤속에서의 propagule生存與否

이 病原菌의 分生子胞子는 土壤水分濃度에 關係없이 一週日後에는 生存하지 않았으나(表 8) 微小菌核은 土壤水分濃도가 0인 아주 乾燥한 處理에서만 生存하지 않았으며 다른 水分濃度에서는 四月後까지도 生存하였다(表 9)

Table 9. Effect of different soil water potential on microsclerotial survival in soybean black root rot after four months of seeding.

Soil moisture (%)	No. of microsclerotia seeded	No. of microsclerotia survived.
50	14	14
25	14	14
15	14	14
10	14	14
7	14	14
4	14	10
0	14	0

Note: Survival rate was observed after 4 months of seeding.

8. 接種源의 密度와 콩의 生長과의 關係

Table 10. Effect of inoculum density on soybean growth

Inoculum density(%)	Soybean growth(cm)
0	25.6±1*
0.4	24.4±1
0.6	18.4±2
0.8	15.2±1
1.0	13.0±1
1.2	13.0±1

*Standard deviation of sample mean.

Note: Measurement of height was made at 4th leaf stage.

表 10에서 보는바와 같이 接種源이 없는 區에서 25 ±1cm로써 콩의 生長이 가장 좋았고 0.4%의 接種源 區에서는 24.4cm로써 無接種區와 비슷하지만 接種源이 增加함에 따라서 生長이 더 많이 저지당하는 경향을 보였다.

9. 土壤殺菌과 發病과의 關係

콩의와 함안 品種을 供試한 結果 表 11에서와 같이

殺菌된 土壤에서는 두 品種 콩히 病이 發生하지 않았으나 殺菌하지 않은 土壤에서는 病的 1.72% 한안 2.00%의 發病이 있었다.

Table 11. Effect of sterilized and non-sterilized soils for disease occurrence.

Soil	Variety	Level of disease severity					Index
		4	3	2	1	0	
Sterilized soil	Bongui	0	0	0	0	29*	0
	Hamen	0	0	0	0	29	0
Non-sterilized soil	Bongui	1	6	8	14	1	1.7
	Haman	1	12	11	10	2	2

* Numbers in data are the number of individual plants belonging to that severity class.

또한 殺菌하지 않은 土壤에서 콩, 땅콩, 팥, 녹두등에 本病이 發生하며 罹病部分으로부터 病原菌을 再分離하였다.

Table 12. Host range of black rootrot by artificial inoculation.

Host plant	Parasitism*
<i>Glycine max</i> Merrill	##
<i>Arachis hypogae</i> L.	##
<i>Phaseolus aureus</i> Roxa	##
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	##

*Degree of parasitism - none; +slight; ## moderate; ### severe.

考 察

本 研究는 콩黑色뿌리썩음病을 일으키는 *C. crotalariae*에 對한 病發生과 病原菌의 propagule形成, 土壤속에서의 生存등에 對한 基礎研究로써 本病에 罹病된 콩은 먼저 地上部가 黃化하고 마르면서 죽게 되는데 罹病株의 地下部는 黑色으로 變하고 그 部位에서 orange色을 띤 붉은색의 子囊殼을 形成한다. 圃場에서 콩의 罹病程度를 調査한 結果 平均 14%가 發病되었으며 罹病植物은 거의 收量을 期待할 수 없었다. 이렇게 直接被害를 推定할 수 있는 것 외에도 病에는 걸렸지만 地上部에는 病徵이 잘 나타나지 않으면서 收量에 影響을 주는 罹病株를 포함한다면 罹病率은 增加 할 것으로 思料된다.

本 病原菌은 처음에는 propagule이 發芽하여 콩을 侵入하였지만 罹病된 部位에서는 *C. crotalariae*以外에도 *P. sojae*, *F. solani*, *P. aphanidermatum*, *M. phaseolina*, *R. solani* 등 여러가지 病原菌이 分離되었으나 病原性檢定 結果 *C. crotalariae*의 病原性이 가장 強했으며 이것은 生越⁶⁾의 結果와 一致되었다. 이와같이 土壤에는 많은 Microorganism이 있기 때문에 하나의 土壤病原菌에 依하여 土壤病害를 일으킨 後에는 많은 Microorganism이 罹病된 寄主에서 腐生菌으로써 살기 때문에 地上部에 病을 일으키는 病原菌과는 달리 分離하기가 어렵다고 生覺되어진다.

御園生⁵⁾에 依하면 감자한천배지가 이 病原菌의 基本培地로써 適合하였는데 감자한천배지 組成은 물 1000 ml, 감자 100g, 설탕 20g으로, 菌絲伸張과 微小菌核의 形成에 가장 적합하여 本 病原菌을 培養하기 위해서는 위와같은 組成으로 감자한천배지를 만들어 使用하여야 할 必要가 있다고 思料된다.

또 propagule形成은 뿌리에서 가장 잘 이루어졌으며 많은 條件에서보다는 어두운 條件에서 더 잘 이루어졌다. 이것은 Johnston³⁾이나 Rowe⁹⁾등이 微小菌核은 땅콩이나 콩의 뿌리에서 잘 形成된다는 報告와 一致하며 이 病原菌은 콩의 뿌리部分을 잘 侵入하여 土壤病害를 일으키는 것으로 自然狀態에서 子囊殼과 微小菌核形成이 植物體의 地下部에서 잘 이루어지는 것과 實驗室 暗처리에서 子囊殼과 微小菌核形成이 잘 되는 것과 같은 一致된 結果를 얻었다.

*C. crotalariae*는 單胞子에 依하여 完全世代인 子囊殼을 形成하는 것으로 보아 Homothallism이라고 生覺되어지며 그래서 自然狀態에서 罹病된 뿌리나 줄기에 오랜지색을 띤 붉은색을 가진 子囊殼을 많이 形成하지, 만 이 子囊殼이 一次傳染源이고 空氣傳染하여 地上部의 病을 일으키는지 혹은 줄기나 뿌리에 病을 일으키는지는 전혀 알려지지 않았다.

콩 黑色뿌리썩음病의 病原菌은 菌絲, 大型分生胞子, 子囊殼, 微小菌核등을 形成하며 大型分生胞子は 土壤水分濃도에 關係없이 土壤속에서 一週日後에 全部 사멸하는 反面 微小菌核은 土壤水分濃도가 0인 곳에서만 生存하지 못하였고 그 外 濃度에서는 4個月間 生存하는 것으로 보아 微小菌核이 가장 좋은 傳染源임을 알 수 있었으며 이에 對한 研究는 Hwang²⁾과 Rowe⁹⁾등에 依하여 微小菌核은 土壤속에서 生存하는 傳染源이며 分生胞子나 子囊胞子は 短期間동안 生存할 수 있다는 것과 Phipps⁸⁾의 微小菌核의 生存은 溫度와 水分의 關係에 依하여 影響을 받지 않는다는 報告와 一致되는 結果를 얻었다. *C. crotalariae*는 soil-invader로써 大型分生胞子は *Fusariums pp.*와 같이 나쁜環境下에서

견딜수 있는 厚膜胞子を 形成하지 않으므로 주로 地上部の 病을 일으키지만 微小菌核은 寄主體에서 形成되어 그 寄主體가 썩을지라도 얼마동안은 寄主體에 살아 남게 되어 콩을 심었을 때 콩 뿌리에서 나오는 Sugar, Amino acid와 같은 物質이 微小菌核의 Fungistasis를 깨뜨려서 發芽하며 콩의 뿌리를 侵入하여 病을 일으키는 것으로 믿어진다.

接種源의 密度에 對하여서는 Menge⁴⁾에 依하여 研究된 것과 같이 接種源의 密度가 높으면 病이 甚하게 發生하여 콩의 生育에 支障을 주고 있다. 本菌이 植物體의 表皮組織을 侵入함으로써 新陳代謝가 제대로 되지않아 뿌리혹박테리아의 形成을 막고 植物體의 發育이 줄어들어 質과 量을 떨어뜨리게 되는데 被害解析을 爲한 本病原菌의 密度와 被害關係에 對하여는 追後 더 研究되어야 할 것이다.

引用 文 獻

- Bell, D.K., and E.K. Sobers. 1966. A peg, pod, and root necrosis of peanuts caused by a species of *Calonectria*. *Phytopathology* 56 : 1361-1364.
- Hwang, S.C., and W.H. Ko. 1976. Biology of conidia, ascospores, and microsclerotia of *Calonectria crotalariae* in soil. *Phytopathology* 66 : 51-54.
- Johnston, S.A., and M.K. Beute. 1973. Susceptibility of *Cylindrocladium* blak root rot of peanut. *Phytopathology* 65 : 649-653.
- Menge, J.A., and D.W. French. 1976. Effect of plant residue amendments and chemical treatments upon the inoculum potential of *Cylindrocladium floridannum* in soil. *Phytopathology* 66 : 1085-1089.
- 御園生 尹 1973. *Calonectria crotalariae* ; 起るダイズとナンキンマメの新病害「黒根腐病」植物防疫 27(2) : 35-40.
- 生越明 : *Cylindrocladium scoparium* Morgan によるナンキンマメ(*Arachis hypogaea* L.)の根腐病. 農業技術研究所 C(24) : 153-163.
- Phipps, P.M., and M.K. Beute. 1977. Influence of soil temperature and moisture on the severity of *Cylindrocladium* black root rot in peanuts. *Phytopathology* 67 : 1104-1107.
- Phipps, P.M., and M.K., and M.K. Beute. 1979. Population dynamics of *Cylindrocladium crotalariae* microsclerotia in naturally infested soil. *Phytopathology* 69 : 240-243.
- Rowe, P.M., and M.K. Beute. 1973. Susceptibility of peanut rotational crops(tobacco, cotton and corn) to *Cylindrocladium crotalariae*. *Plant Dis. Rep.* 57 : 1035-1039.
- Sinclair J.B. and M.C. Shurtleff. 1975. Compendium of Soybean Diseases. The American Phytopathological Society. 69pp.
- 成載模 1980. 콩의 未記錄病인 *Cylindrocladium* (*Calonectria*) *crotalariae*에 依한 黑色뿌리썩음病 韓國菌學會誌, 8(1) : 53-57.
- Sung, J.M., N.Y. Heo., S.K. Kim. 1980. Effect of water potential on mycelial growth, reproduction, and spore germination by *Cylindrocladium crotalariae*. *Inpress on Kor. J. pl. Prot.*
- 成載模, 鄭鳳九 鄭 吉雄, 1980. 콩 黑色뿌리썩음病에 대한 品種間抵抗性差異調査, 楠石洪基昶博士 論文集.
- 柚木利文, 五味唯孝, 1979. ダイズ病害の現状と問題點. 植物防疫, 33(3) : 93-97.