

인삼 잘록병균 *Rhizoctonia solani* 의 균사융합군과 병발생 및 생육 특성

조대휘[#] · 강제용 · 유연현
KT&G 중앙연구원 원료연구소
(2004년 8월 3일 접수, 2004년 9월 27일 수리)

Anastomosis Group, Pathogenicity and Growth Characteristics of *Rhizoctonia solani* Causing Damping-off on *Panax ginseng*

Dae-Hui Cho[#], Je Yong Kang and Yun-Hyun Yu
Agro-Tech Research Group, KT&G Central Research Institute, Suwon 440-600, Korea
(Received August 3, 2004, Accepted September 27, 2004)

Abstract : On May of 2002, the 34 isolates of *Rhizoctonia solani* were isolated from the symptom of damping-off on basal stems of 2-year-old to 6-year-old *Panax ginseng* which were cultivated in the 17 fields in Kyunggi-do, Chungcheungnam-do and Jeollabuk-do province in Korea. All isolates were identified as anastomosis group 2-1. Pre-emergence damping-off occurred on underground part of stem of 2-year-old ginseng in the pot trial with artificial inoculation. However, in the 4-year-old ginseng field with artificial inoculation, post-emergence damping-off occurred. The severe incidence of damping-off was found in the 6-year-old ginseng field in Kimje-si, Jeollabuk-do province on June 5 of 2003, the rate of which showed 18.6% of area in the field by spread of the disease since 2-year-old. The sclerotia of *R. solani*, started to be formed after 7 days incubation on potato dextrose agar at 25°C, were grayish brown, spherical to irregular and about 500 µm in diameter, which became dark brown after 14 days incubation. The temperature range for the mycelial growth of *R. solani* isolates was 5~30°C, and the optimal temperature was 25°C, their growth were very poor at 5 or 30°C. The isolates grew at the range of pH 4.5~8.1 tested and optimal pH for growth was pH 4.5~5.8, whereas their growth were very poor above the pH 7.2.

Key words : *Rhizoctonia solani*, damping-off, anastomosis group, *Panax ginseng*

서 론

묘삼을 이식하여 재배하는 2년생 이상의 인삼 본포에서 발생하는 잘록병(입고병)은 토양전염성 병원균인 *Rhizoctonia solani* 에 의해서 발병된다. 실제로 전국 4~6년생 포장에서 잘록병 방별율은 평균 4~7%이고 최고 발병율은 4년생에서 12%로 보고¹⁾ 되고 있다. 특히 고년생 포장일수록 결주가 증가하여 4, 5, 6년생 이상 조사포장에서 결주가 각각 25, 36, 48%로 심하게 발생하는데²⁾ 그 원인 중에서 가장 크게 차지하는 것이 잘록병으로 판단되고 있다. 잘록병 병원균은 지체부 줄기에만 침입하여 병을 일으키지만 병을 일으킨 포장에

서 인삼이 결주 되는 이유는 잘록병이 발생한 줄기의 상처를 통해 잿빛곰팡이 혹은 선충 등이 부생적으로 침입, 너두로 부터 뿌리를 부패시키기 때문이다. 전국 인삼 묘포에서 흔하게 발생하는 모잘록병 역시 본포에서 발생하는 잘록병과 동일한 병원균인 *R. solani*에 의하여 발생하며 최고 10%의 병발생이 관찰되었고 병원균에 대한 특성이 보고된 바 있다.^{3,4)} *R. solani*는 균사융합군(Anastomosis Group, AG)에 따라 유전적으로 다른 형질을 갖고 기주범위도 각각 다른 특성을 보이기 때문에 이러한 AG 분류는 균 특성 연구에 상당히 중요하다. 하지만 현재까지 인삼 본포에 발생하는 잘록병 병원균 *R. solani*의 AG 분류와 생육특성이 보고되어 있지 않다. 따라서 병 예방차원의 경종적인 방법은 물론 방제약제 처리방법 수립의 기초 연구로서 병원균의 생리 생태적 특성 규명을 위한 잘록병 병원균의 균사융합군 분류 동정과 병원성 검정 및 배

[#]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 031-400-1530; (팩스) 031-419-9434
(E-mail) daehui99@ktng.com

양조건별 생육특성 등을 검토하였다.

재료 및 방법

1. 잘록병 이병조직에서 *Rhizoctonia solani*의 분리

전라북도 진안, 충청남도 부여 및 서산, 경기도 이천 및 안성 지역의 17개 2~6년생 포장에서 2002년도 5월 8일부터 21일까지 잘록병이 발생된 개체의 병징 줄기를 채취한 후, 병원균의 순수분리를 위해 줄기의 이병 및 건전부위 경계를 3~6mm 정도 절편으로 잘라서 70% 알콜용액에서 30초간 침지하여 표면살균 하였다. 그리고 조직절편을 멸균수에 씻은 후 멸균 여과지에 흡습시키고 Streptomycin 300ppm이 첨가된 2% Water agar 배지위에 치상하였다. 이를 25°C에서 1~2일간 배양하고 현미경 검경으로 *R. solani* 임을 확인한 후, 균사절편을 potato dextrose agar(PDA, Difco) 배지에 이식하여 균을 분리하였다.

2. 잘록병균 *R. solani*의 균사융합군(Anastomosis group, AG) 조사

R. solani AG별 표준균주인 AG 1, AG 2-1, AG 2-2, AG 3, AG 4, AG5 등 표준균주는 농촌진흥청 농업과학원 식물병리과에서 분양받아 각 지역 인삼포장에서 분리한 34개의 잘록병 균주를 대상으로 AG를 조사하였다. AG 분류는 Parmeter 등⁵⁾과 Ogoshi⁶⁾의 방법에 따라서 조사 균주와 AG별 표준 균주를 각각 4일간 25°C 항온기에서 PDA 배지에 배양한 후 생육한 균사체를 직경 5 mm cork borer로 취하였다. 그리고 각 절편을 2% Water agar 배지상에서 서로 약 3cm 간격으로 접촉하여 25°C 항온기에서 3~4일간 배양하면서 균주 간에 균사체가 엇갈려 생육하는 지점에 대해서 균사체 융합여부를 현미경으로 관찰하였다. 이후 7~8일간 배양하면서 배지상의 각 조사 균주와 표준 균주간 균사가 융합하여 생성된 균사체 층의 유무를 육안으로 조사하여 확인하였다.

3. 잘록병균 *R. solani*의 병원성 및 산지 병발생 조사

병원성 검정을 위한 공시균주는 KT&G 중앙연구원 원료연구소의 경기도 수원 소재 2년생 시험포장의 잘록병 증상에서 분리하여 보관 중인 *R. solani*, AG 2-1(균주번호 Rh 9801)을 사용하였다. 병원성 검정용 접종원은 종자용 호밀을 하룻밤 물에 불려 2리터용 삼각플라스크에 부피로 500 ml 정도 넣은 후 3% Sucrose 용액으로 호밀상면 1cm 부위까지 가하여 121°C에서 30분간 3회 간헐 멸균하였다. 멸균된 호밀배지는 상기 공시 균주 생육배지 절편을 접종하여 20°C에서

30일간 배양하였다. 한편 병원성 검정용 묘삼은 플라스틱 포트(폭, 길이, 높이: 29.5×80×23cm)에 토양을 3/4정도 채운 상태에서 포트당 12개씩 이식하였다(2003년 3월 26일). 이때 묘삼의 너두가 토양 상면에 접하여 묻히도록 하였다. 그리고 너두부터 상면 2cm 부위까지의 복토 토양 약 2kg에는 *R. solani*가 배양된 호밀 접종원 14 g을 혼합하여 처리하였다. 처리 후 1cm 높이로 모래를 상면에 처리하고 벚짖을 5cm 간격으로 잘라 부초를 하였다. 이 후 차광망 하우스에서 재배하면서 병 증상을 5월 9일까지 관찰하였다. 포장에서의 병원성 검정은 KT&G 중앙연구원 경기도 수원 소재 4년생 시험포장 중 1칸(180×90cm)을 선정하여 2003년 4월 4일 출아 전에 인삼 뿌리사이의 토양을 깊이 5cm 정도 파서 칸당 상기 호밀 접종원 100 g을 접종한 후 흙으로 덮고 상면에 벚짖 부초를 하였다. 잘록병 발생은 5월 9일부터 6월 2일까지 조사하였다. 산지의 잘록병 발생조사는 2003년 6월 5일에 전북 김제시에 소재한 잘록병 대발생 포장에 대해서 발병 면적율과 병발생 특성을 조사하였다. 또한 충청남도 서산시 소재 3년생 포장에서 발생한 잘록병 증상은 2004년 5월 6일 조사하였다.

4. 잘록병균 *R. solani*의 생육특성 조사

온도 및 pH별 배양조건에 따른 잘록병 병원균 *R. solani*의 생육특성을 조사하기 위해 각 지역에서 분리하여 *R. solani*, AG 2-1으로 동정된 균주 중에서 4개를 사용하였다(Table 1). 배양온도별 측정은 PDA 배지로 25°C 항온기에서 4일간 배양된 각 공시균주의 균총 직경 5 mm를 cork-borer로 취해 3번복으로 PDA 배지에 치상하고, 5, 10, 15, 20, 25, 30°C 배양온도별 항온기에서 4일간 배양한 후 균총의 직경을 캘리퍼스로 측정하였다. 배지 pH별 생육특성 조사를 위해서는 화학합성 배지인 Czapek solution broth (Difco)에 Citrate-phosphate (McIlvane) buffer로 pH 4.5~8.1 범위의 9개 단계별 pH 용액을 조제하고 agar를 첨가하여 공시배지로 사용하였다. 멸균 후 배지의 pH값이 약간 변화될 수 있으므로 각 공시배지의 실제 pH는 agar를 첨가하지 않은 각 pH의 배지를 조제하고 멸균 후 측정된 것으로 하였다. 생육특성

Table 1. Isolates of *Rhizoctonia solani* tested for growth characteristics

Isolate ^{a)}	Source of ginseng	Location	Date isolated
Rh 9801	2-year-old stem	Suwon-si	April, 1998
Rh 0201	4-year-old stem	Seosan-gun	May, 2002
Rh 0202	4-year-old stem	Ichon-si	May, 2002
Rh 0203	5-year-old stem	Buyeo-gun	May, 2002

^{a)} Isolate was identified as *R. solani* AG 2-1.

조사는 상기와 같은 방법으로 공시 잘록병균을 접종, 25°C에서 4일간 배양하고 균총의 직경을 측정하였다.

결과 및 고찰

전국 6개 지역의 17개 2~6년생 산지포장에서 2002년 5월 8일부터 5월 21일 발생한 잘록병 증상 개체에서 Table 2와 같이 34개의 *R. solani* 균주를 분리하였다. 분리균주에 대한 균사융합군 분류를 위해 각 표준 AG를 사용하여 균사체 융합유무를 조사한 결과, Table 3과 같이 전체 분리균주가 모두 AG 2-1으로 분류되었다. 균사융합은 Water agar 배지상에서 Plate 2의 A와 같이 동일한 AG 2-1 균사간의 접합으로 이루어지는 것이 관찰되었다. 이와같이 과거 인삼 묘포에서 분리하여 보고³⁾한 AG 2-1의 균주와 동일하게 본포에서 분리한 균주 역시 *R. solani*, AG 2-1으로 확인되었다. Kim⁷⁾에 의하

면 *R. solani*, AG 2-1은 이른 봄의 저온에서 잘록병을 일으키기 시작하며 기주는 인삼 외에 무, 배추, 양배추를 포함한 십자화과 작물과 상치, 아욱, 고추, 딸기 등에 병을 일으킨다고 보고하였다. 인삼 예정지 선정시 이러한 전작물 포장을 회피하는 것이 바람직하나 부득이 인삼포장으로 사용할 때에는 병방제에 주의해야 할 것으로 판단된다.

잘록병 병원균의 병원성을 검정하기 위해서 호밀 접종원을 인공접종한 2년생 풋트시험의 경우 출아 전 잘록병이 44% 발병되었고 출아 후 잘록병은 관찰되지 않았다(Plate 1의 A, Table 4). 그러나 포장에 직접 접종한 4년생의 경우는 출아 후 잘록병이 관찰되어(Plate 1의 B) 년생별로 잘록병 증상이 다르게 나타났다. 2년생의 경우는 4년생보다 줄기가 작고 연약한 상태이기 때문에 출아 전 잘록병이 많이 발생한 것으로 판단되나 동일한 포장조건에서 수행한 것이 아니므로 앞으로 년생별 포장조건에서 잘록병균을 접종하여 조사할 필요가 있다고

Table 2. Isolates of *Rhizoctonia solani* isolated from ginseng stem damaged by *Rhizoctonia* damping-off

Region Surveyed			Year of ginseng Field	No. of field surveyed	No. of isolates obtained	Date surveyed
Province	Location					
Do	City/Gun	Eup/Myon				
Jeollabuk	Jinan-gun	Jinan-eup	2	1	1	May 8, 2002
			4	5	9	
		Eunsan-myon	5	1	3	
Chungnam	Buyeo-gun	Chochon-myon	3	1	2	May 9, 2002
			5	1	2	
	Seosan-gun	Jigok-myon	4	4	8	May 10, 2002
6	2	2				
Kyunggi	Ichon-si	Sindun-myun	4	1	6	May 21, 2002
	Anseong-si	Yangsung-myon	4	1	1	
Total				17	34	

Table 3. Identification of anastomosis group(AG) of *Rhizoctonia solani* isolated from damping-off lesion of ginseng in the field

	AG 1	AG 2-1	AG 2-2	AG 3	AG 4	AG 5	Total isolates
Number of isolates ^{a)}	0	34	0	0	0	0	34
The component ratio (%)	0	100	0	0	0	0	-

^{a)} The 34 isolates of *Rhizoctonia solani* were isolated from the symptom of damping-off on basal stems of 2-year-old to 6-year-old *Panax ginseng* on May of 2002, which were cultivated in the 17 fields in Kyunggi-do, Chungcheungnam-do and Jeollabuk-do province in Korea.

Table 4. Pathogenicity of *Rhizoctonia solani* on 2-year-old ginseng in the pot trial with artificial inoculation^{a)}

Inoculum treatment	Emergence rate	Pre-emergence damping-off	Post-emergence damping-off
Inoculated	56 ± 7 ^{b)}	44 ± 17	0
Non-inoculated	100	0	8 ± 7

^{a)} The Inoculum was made on rye which was inoculated with *R. solani* AG 2-1 (isolate Rh-9801) and incubated for 50 days at 25°C.

^{b)} The datum was average and standard deviation of three replicates.

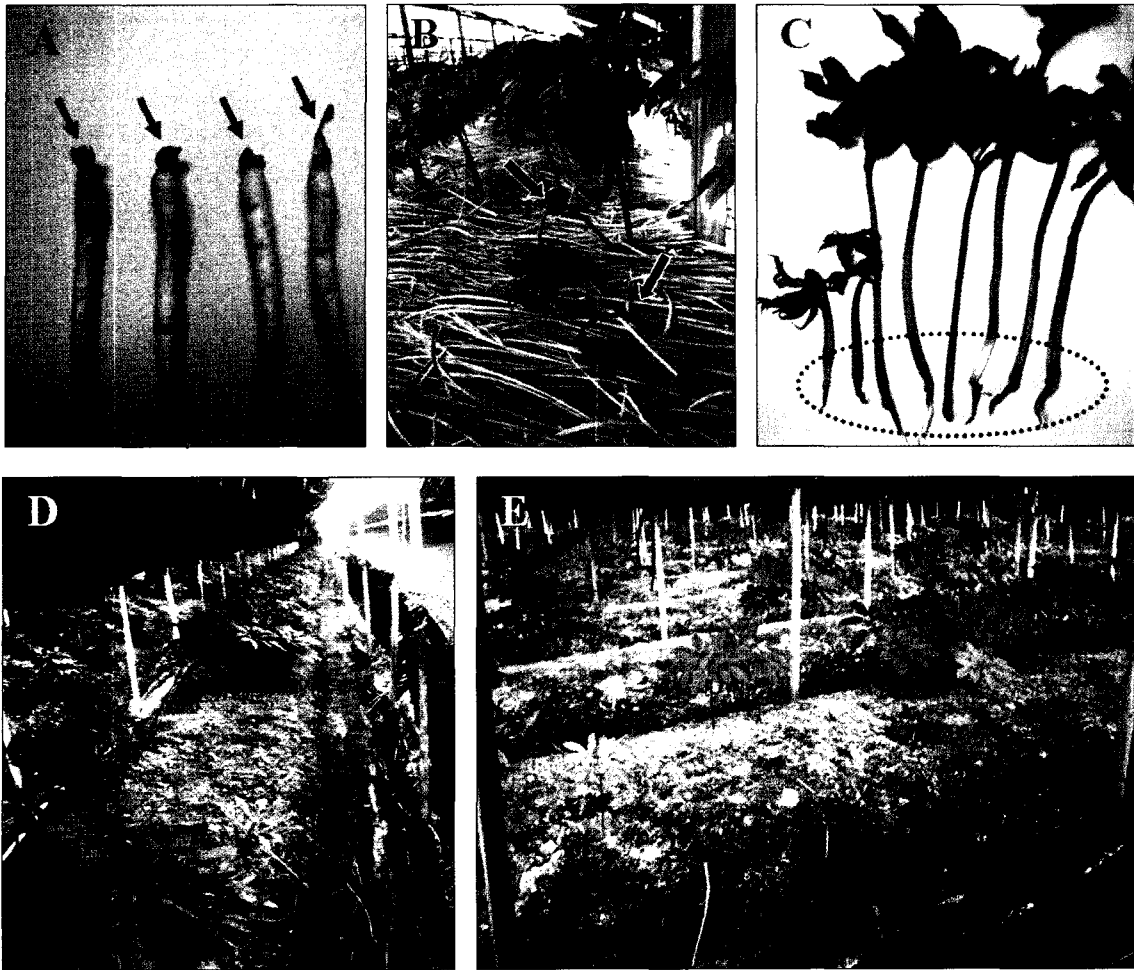


Plate 1. Symptoms of damping-off on ginseng caused by *Rhizoctonia solani*. **A:** Pre-emergence damping-off of 2-year-old ginseng in the pot trial by artificial inoculation. The emerging stems of underground were infected by the pathogen(arrow) on May 9 of 2003. **B:** Post-emergence damping-off of 4-year-old ginseng by artificial inoculation(arrow) in the field of Suwon-si, Kyunggi-do province on May 13 of 2003. **C:** Post-emergence damping-off of 3-year-old ginseng by natural infection in the field of Seosan-si, Chunchungnam-do province on May 6 of 2004. The basal stems were infected by the pathogen(circle of dot line) in the field. **D, E:** Severe loss of 6-year-old ginseng caused by damping-off with natural infection in the field of Kimje-si, Jeollabuk-do province on June 5 of 2003, in which rate of incidence was 18.6% during 5 years of cultivation.

판단된다.

잘록병이 발생된 산지 포장을 조사한 결과, Plate 1의 D, E와 같이 전북 김제시 소재 6년생 포장의 경우, 2년생부터 병이 확산되어 전체포장 500칸(1칸=180×90cm) 면적 중 18.6%에서 잘록병이 대발생 되었으며, 조사일인 2003년 6월 5일에도 건전지역 경계부위의 개체에 침입하여 병을 일으키는 것을 관찰하였다. 또한 Plate 1의 C와 같이 지제부의 줄기에 병원균이 침입하여 줄기를 암갈색으로 잘록하게 만드는 전형적인 증상이 서산시 소재 3년생 포장에서 2004년 5월 6일 관찰되었다.

인삼 잘록병균 *R. solani*의 지역별 분리균주(Table 1)에 대

한 배양학적 특성은 다음과 같다. 공시 잘록병균은 potato dextrose agar 배지에서 25°C, 1주간 배양 후 구형 또는 부정형의 열은 회갈색의 균핵을 형성하기 시작하여 직경이 500 μm 정도 되었고(Plate 2의 B, C), 배양 2주 후에는 배지내 생육균사가 서로 농축되어 생성된 동심원 모양의 층에 균핵이 서로 뭉쳐지면서 붉은색을 띄는 질은 갈색이 되었다(Plate 2의 D). 이것은 역시 Kim등⁸⁾이 보고한 AG 2-1의 균핵 형성특성과 일치하였다. 공시균주의 온도별 생육은 동일하게 생육최적 온도는 25°C이고 조사범위 5~30°C에서 생육이 가능하나 5°C와 30°C에서는 생육이 저조하였다(Fig. 1). 이것은 Kim 등⁸⁾이 *R. solani*, AG 2-1에 대한 온도별 생육

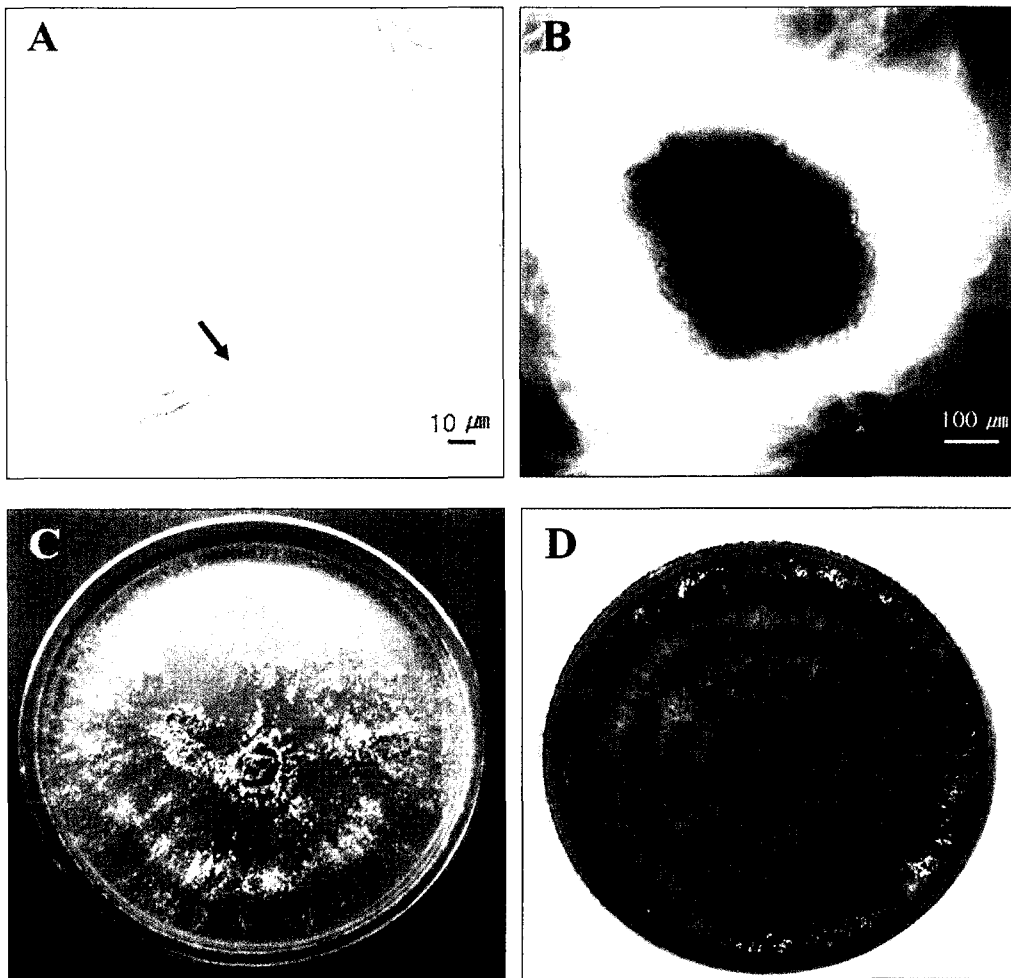


Plate 2. Mycological characteristics of *Rhizoctonia solani* AG 2-1 (isolate Rh 9801). **A:** Typical hyphae and anastomosis of touching hyphae (arrow) grown on potato dextrose agar (PDA). **B:** The sclerotium formation by intertwined hyphae. **C:** Mycelial mat and sclerotia with grayish brown color after 7 days of incubation on PDA at 25°C. **D:** The sclerotia with reddish dark brown color on concentric zone of hyphae after 14 days of incubation on PDA at 25°C.

시험에서 생육적온이 22~26°C 이고 2~3°C와 29~30°C에서 각각 생육이 저조하다는 것과 일치하였다. Fig. 1과 같이 공시 잘록병균은 배양온도 10~15°C에서 생육이 양호하여 인삼 출아기의 4월 중하순부터 전엽기인 5월 초순의 낮은 지온에서 출아 전 및 출아 후 잘록병을 일으킬 수 있을 것으로 예상된다. 배지 pH별로 잘록병균의 생육특성을 조사한 결과, Fig. 2와 같이 4개 공시균주의 배지 pH별 균사생육 신장도를 평균한 결과 pH 4.5~5.8 사이가 최적 생육범위였으며 이보다 pH가 증가함에 따라서 균사생육이 낮아져서 pH 7.2 이상에서는 pH 4.5의 균사생육보다 70% 이상 억제되었다. 공시균주들은 pH별로 약간의 생육차이를 보였는데 Rh 9801과 Rh 0201 균주에서는 조사된 pH 4.5~8.1에서 생육이 가능하며 pH 4.5에서 최적생육을 나타냈다. 그리고 이 보다 pH

가 높아짐에 따라 균사생육 신장도가 낮아지는 것으로 조사되었으며 특히 pH 7.2에서 급격하게 저조한 생육을 보였다. 공시균주 Rh 0202 및 Rh 0203 균주에서는 역시 pH 4.5~8.1에서 생육이 가능하였고 pH 5.5에서 최적생육을 나타냈다. 그러나 이보다 낮거나 높은 pH에서 균사생육 신장도가 낮아지기 시작하여 pH 7.2에서 균사생육 신장도가 급격하게 낮아졌다. 그러나 이와 같이 공시 잘록병균은 공통적으로 산성부위에서 최적생육이 이루어지는 것으로 보아 산성화된 토양에서는 잘록병 발생에 주의해야 할 것으로 판단된다.

요 약

인삼 재배시 고년생 결주의 원인으로 작용하는 잘록병균

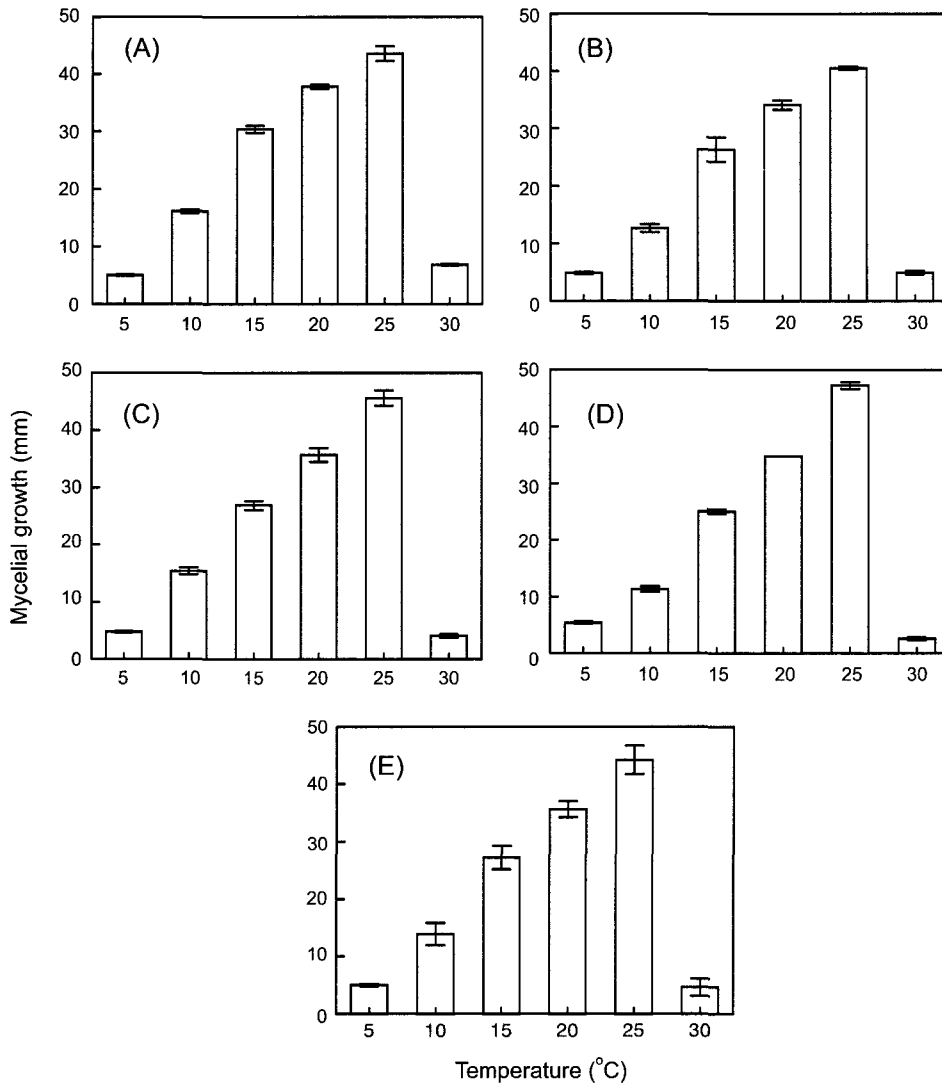


Fig. 1. Effect of temperature on mycelial growth of *Rhizoctonia solani* isolates [isolate Rh 9801(A), Rh 0201(B), Rh 0202(C), Rh 0203(D) and mean of the four isolates(E)] cultured on potato dextrose agar for 4 days. The datum is average of three replicates. Vertical bars indicate the standard deviation.

*Rhizoctonia solani*을 분리하여 균사융합군(Anastomosis Group, AG)을 분류하고, 병발생 및 생육특성을 조사하였다.

전북 진안, 충남 부여, 서산, 경기 이천, 안성지역 2~6년생 17개 산지포장에서 34개의 잘록병균을 분리하여 AG를 조사한 결과, 공시균주 모두 AG 2-1으로 분류되었다.

토양에 잘록병균을 인공 접종한 pot에 묘삼을 이식하여 차광망 하우스에서 재배한 결과, 잘록병균은 지하부 어린 줄기에 침입하여 출아전 잘록병을 일으키는 것이 관찰되었다. 이와는 다르게 4년생 포장에서는 출아 전에 병원균을 토양 접종하였을 때 출아 후 잘록병 증상이 관찰되었다. 잘록병이 대발생한 산지 6년생 포장의 병발생 특성을 조사한 결과, 2년

생부터 계속 병발생이 확산되어 병발생 누적 면적율이 18.6%로 조사되었다.

4개의 공시 잘록병균 분리균주에 대한 배양특성을 조사한 결과, 25°C로 1주간 배양 후부터 잘록병균은 구형 또는 부정형의 직경 약 500 μm 크기의 회갈색의 균핵을 형성하기 시작하며 2주 배양 후에는 붉은 색을 띠는 짙은 갈색의 균핵이 되었다. 균사생육 최적온도는 25°C이고 조사범위 5~30°C에서 생육이 가능하나 5°C와 30°C에서는 생육이 특히 저조하였다. 균사생육최적 pH 범위는 pH 4.5~5.8 로서 산성 범위에서 생육이 양호하였고 조사범위 pH 4.5~8.1에서 생육이 가능하나 특히 pH 7.2 이상에서는 생육이 저조하였다.

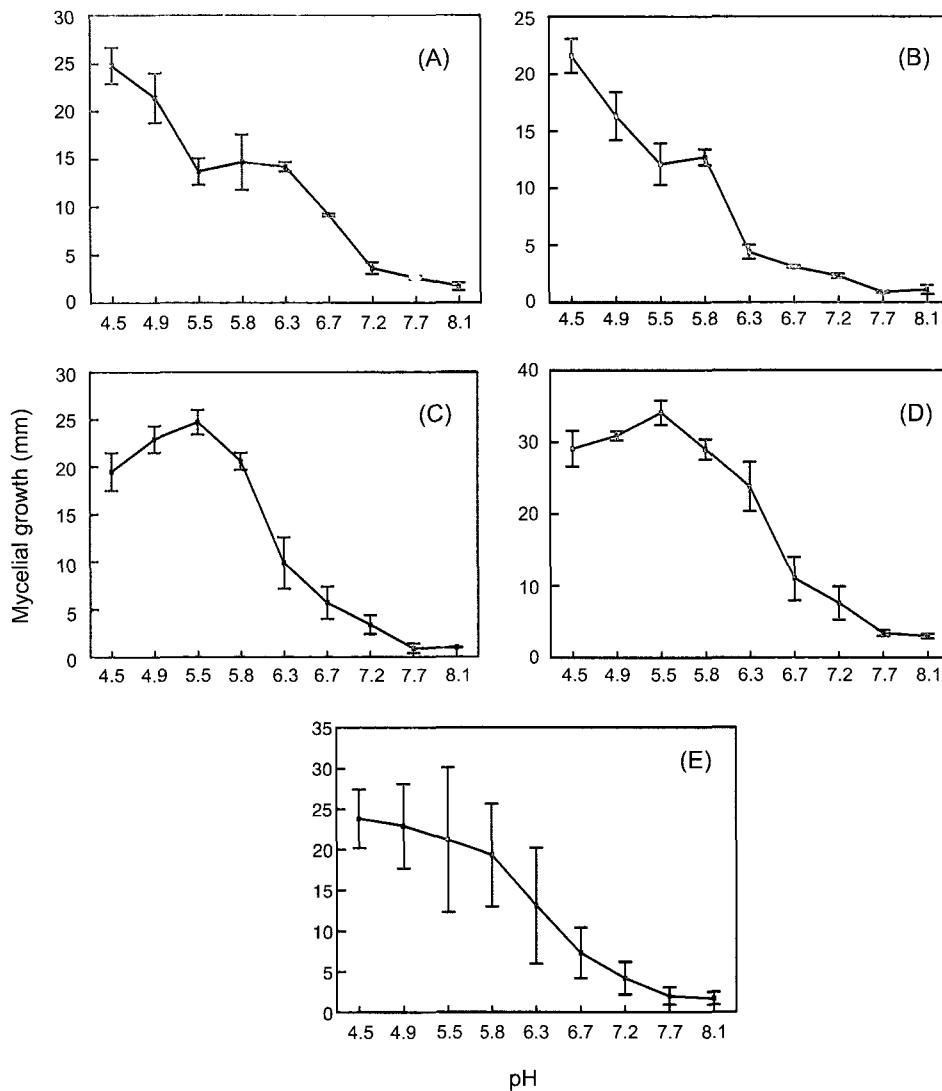


Fig. 2. Effect of pH on mycelial growth of *Rhizoctonia solani* isolates [isolate Rh 9801(A), Rh 0201(B), Rh 0202(C), Rh 0203(D) and mean of the four isolates(E)] cultured on Czapek-Dox agar for 4 days hrs at 25°C. The medium was adjusted to pHs with citrate-phosphate(McIlvane) buffer solution before added agar. The datum is average of three replicates. Vertical bars indicate the standard deviation.

감사의 글

본 연구 수행을 위해 잘록병균 *R. solani* AG별 표준균주를 제공하여 주신 농촌진흥청 농업 과학원 식물병리과 김완규 박사님과 잘록병 증상개체 수집을 위해 각 지역의 인삼포장을 안내하여 주신 진안, 서산, 용인 인삼협동조합 경작지도사 여러분께 감사 드립니다.

인용문헌

- 유연현, 목성균, 조대휘 : 근부관련 인삼 연작장해 해소 실용화 및 병해충 방제연구. 인삼연구보고서(재배분야), 한국인삼연초연구원, p. 74 (2001).
- 유연현, 오승환, 이윤환, 김기황, 박구진, 조대휘 : 근부관련 인삼 연작장해 해소 실용화 및 주요 병충해 방제연구. 인삼연구보고서(재배분야), 한국인삼연초연구원, p. 83-159 (1998).
- 오승환, 유연현, 김상석, 이일호, 김기황, 조대휘, 이장호 : 인삼 주요병해충 방제연구. 인삼 연구보고서(재배분야), 한국인삼연초연구원, p. 103-169 (1985).
- 오승환, 유연현, 김상석, 이일호, 김기황, 조대휘, 이장호: 인삼 주요병해충 방제연구. 인삼 연구보고서(재배분야), 한국인삼연초연구원, p. 103-158 (1986).
- Parmeter Jr. J. R. Sherwood, R. T. and Platt, W. D. : Anas-

- tomosis grouping among isolates of *Thanatephorus cucumeris*. *Phytopathology* **59**, 1270-1278 (1969).
6. Ogoshi, A. : Studies on the grouping of *Rhizoctonia solani* Kuhn with hyphal anastomosis and on the perfect stage of groups. *Bull. natl. Inst. Agric. Sci. Ser. C* **30**, 1-63 (1976).
 7. Kim, W. G.: Pathogenicity of anastomosis groups and cultural types of *Rhizoctonia solani* on crops. *Korean J. plant pathol* **12(1)**, 21-32 (1996).
 8. Kim, W. G., Cho, W. D. and Lee Y. H. : Anastomosis groups and cultural characteristics of *Rhizoctonia solani* isolates from crops in Korea. *Korean J. Mycology* **22(4)**, 309-324 (1994).