Flavobacterium hercynium EPB-C313 균주를 이용한 배추 뿌리혹병 생물적 방제

함수상* · 김종태 · 한광섭 · 김병련 · 김홍규 · 남윤규 · 유승헌¹

충남농업기술원, ¹충남대학교 응용생물학과

Biocontrol Efficacy of Endophytic Bacteria *Flavobacterium hercynium* EPB-C313 for Control of Chinese Cabbage Clubroot

Soosang Hahm*, Jongtae Kim, Kwangseop Han, Byungryun Kim, Hongkyu Kim,
Yunkyu Nam and Seunghun Yu¹

Chungnam Agricultural Research and Extension Services, Yesan, Chungnam 340-861, Korea

¹Department of Applied Biology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

(Received on June 19, 2012; Revised on August 14, 2012; Accepted on August 21, 2012)

Clubroot of Chinese cabbage by *Plasmodiophora brassicae*, was found to be high virulent to the Chinese cabbage, turnips and cabbage. In this study, the endophytic bacteria *Flavobacterium hercynium* EPB-C313, which was isolated from tissues of Chinese cabbage, was investigated the antimicrobial activity on the inactivation of resting spores and its control effect on clubroot disease by bioassay. The bacterial cells, culture solutions, and culture filtrates of *F. hercynium* EPB-C313 inactivate the resting spores of *P. brassicae* with 90.4, 36.8, and 26.0%, respectively. The clubroot was inhibited with 100% by dipping the seedlings of Chinese cabbage in culture solutions of *F. hercynium* EPB-C313 before planting, however the chemical ‘fluazinam’ was 91.7% in pot tests. Complex treatment were highly enhanced control efficacy with 63.7% at field of 50% diseased plants by soil incorporation with the pellet contains organic matter and *F. hercynium* EPB-C313, seedling drench of culture solution of *F. hercynium* EPB-C313 and soil drench with 10 days after planting. These results imply that the *F. hercynium* EPB-C313 is a very useful biological control agent of clubroot disease of Chinese cabbage.

Keywords : Biological control, Chinese cabbage clubroot, *Flavobacterium hercynium*, Endophytic bacteria

서 론

최근 농산물에 대한 안정성과 환경오염 문제가 중요한 관심사로 대두되면서 국내 전체 농산물 중에서 친환경 농산물 생산비중이 2000년 0.4%에서 2010년 12.0%로 대폭 증가하였고 재배면적 또한 총 재배면적의 0.9%로 친환경 농산물 생산량이 급격하게 증가하고 있다(IFOAM, 2010). 2010년 국내 배추 재배면적은 양배추를 포함하여 29,094 ha이며 연간 생산량은 1,867천 톤으로 채소 중 고추에 이

어 두 번째로 많은 대표적인 채소류 작물이다(http://library.mifaff.go.kr/skyblueimage/705.pdf). 그러나 시설과 노지배추 포장의 대다수가 뿌리혹병이 발생하여 그에 대한 대책이 시급한 실정이다.

배추 뿌리혹병(Clubroot)은 전 세계적으로 배추(*Brassica rapa* subsp. *pekinensis*), 양배추(*B. oleracea* var. *capitata*), 순무(*B. rapa* var. *rapifera*) 등의 십자화과 작물에 발생하는 토양 전염성 병해로 방제가 까다롭다. 배추가 뿌리혹병에 감염되면 뿌리는 비대 성장하여 혹을 만들며 씹음으로써 양분이동이 어려워 지상부 생장은 억제되며 결국 지상부는 시들고 결국까지 않아 상품성을 잃게 된다(Arie 등, 1988; Kim 등, 2000c). 뿌리혹병균인 *Plasmodiophora brassicae*는 원생동물계(Protozoa) 뿌리혹균문(Plasmodi-

*Corresponding author

Phone) +82-41-330-6288, Fax) +82-41-331-1919

Email) hahmsoo@korea.kr

ophoromycota)에 속하는 절대기생균으로 휴면포자는 토양 내에서 장기간 생존하여 전염원이 되는데 조건이 맞으면 10년 동안 토양 속에서 살 수 있다고 한다(Arie 등 1988; Kim 등, 2000a, b, 2003).

배추 뿌리혹병의 방제는 전염원을 차단하는 것이 가장 좋은 방법이지만, 이미 발생한 포장에서 방제하는 방법으로는 병든 뿌리 제거, 토양 산도 교정, 윤작, 저항성 품종 재배 등의 경종적 방법과 *Heteroconium chaetospira*를 이용한 생물적 방법, 살균제를 이용한 화학적 방법, 태양열을 이용한 토양의 열처리와 같은 물리적인 방법을 제시하고 있다(Oh 등, 1997; Tanaka, 1996). 생물학적 방제로는 특히 작물 생육환경 조건이 악화된 상태에서 식물체 내에서 증식이 유리한 식물 내생세균(Endophytic bacterium)을 이용한 생물적 방제 연구가 진행 중에 있다. 식물 내생세균은 옥수수, 수수, 사탕수수, 목초, 각종 약용작물의 건전식물체에서의 분리가 보고된 바 있으며(James와 Olivares, 1998), 주로 도관 조직 또는 피층조직 등에 집락되어 있으나 병은 일으키지 않으며 벼에서는 내생세균의 수가 건조중량 g당 10^5 – 10^8 으로 존재한다는 것이 확인된 바 있다(Barraquio 등, 1997).

따라서 본 연구는 배추 뿌리혹병의 생물학적 방제에 실질적 효과가 있고 식물체 조직내에 정착과 증식이 용이한 신규 길항 내생세균을 분리하였고 배추 생육단계별 여러 가지 처리방법에 따른 배추뿌리혹병 발생을 실험하여 효과적인 방제법을 확립하는 등 농가 현장에서의 방제효과를 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

길항미생물 분리. 배추 뿌리혹병에 대한 길항세균을 분리하기 위하여 뿌리혹병이 발생한 포장의 건전한 배추 식물체의 뿌리와 줄기를 채취하여 NaOCl 1% 용액에 표면소독한 후 외피를 제거한 유관속의 절편을 NA 배지 (beef extract 1 g, peptone 5 g, sodium chloride 5 g, yeast extract 2 g, 증류수 1 l)에 배양하여 성장하는 세균만을 분리하였다. 분리된 세균은 20% 글리세롤이 첨가된 TSB 배지(tryptone 17 g, soytone 3 g, dextrose 2.5 g, sodium chloride 5 g, dipotassium phosphate 2.5 g, 증류수 1 l)에 혼합하여 -70°C 에 넣어 보관하여 사용하였다.

In vitro 항균활성 검정. 배추 뿌리혹병균 휴면포자 현탁액은 배추뿌리혹을 곱게 마쇄하여 여과지로 거른 다음 1×10^8 spores/ml 농도가 되도록 멸균수로 희석한 후 이용하였고, 내생세균인 EPB-C313 균주는 TSB 배지에서 5일 동안 27°C 에서 자란 배양액(1.0×10^8 cfu/ml), 배양액을

$11,000$ g로 원심분리하여 얻은 상층액은 배양여액, 균체는 다시 멸균수로 희석하여 각각 항균활성 검정에 사용하였다. 항균활성검정 방법은 Takahashi와 Yamaguchi(1987)의 방법을 개량한 형광현미경법(Kim 등, 2000c)을 이용하였다. 휴면포자 현탁액(1×10^8 spores/ml)과 EPB-C313 균주(1.0×10^8 cfu/ml)를 각각 1:1로 혼합한 용액을 27°C 인큐베이터에서 정치 배양하면서 3시간 간격으로 1 ml씩 꺼내어 표준용액 Calcofluor white M2R/Ethidium bromide (1:1) 50 μm 를 첨가하여 충분히 현탁한 다음, UV 형광현미경으로 휴면포자의 모양과 상태를 관찰하였다. 또한 배추 뿌리혹병균 이외의 중요한 식물병원성 진균인 감자 검은무늬썩음병균(*Rhizoctonia solani*), 감자 마른썩음병균(*Fusarium solani*, *F. oxysporum*), 감자 역병(*Phytophthora infestans*), 감자 잿빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*), 감자 더듬이병(*Streptomyces scanbies*, *S. acidiscabies*, *S. turgidies*)에 대한 EPB-C313 균주의 항균활성을 조사하였다. 항균활성 검정은 중층한천배양법으로 EPB-C313 균주를 페트리디쉬 중앙 paper disc에 치상하여 25°C 배양기에 배양한 후 형성된 저지원의 지름을 측정하여 조사하였다.

선발균주의 발아 안전성. 선발 길항미생물의 타과작물에 대한 발아 안전성 조사를 위해 무, 파, 콩, 참깨 종자 100립을 각각 TSB 배지에서 1.0×10^8 cfu/ml 농도로 배양된 EPB-C313 균주 배양액 5 ml에 1시간 동안 침지처리 한 후 종자의 발아상태를 관찰하였다. 종자는 여과지를 바닥에 깔고 습실 처리한 페트리디쉬에 치상한 후 25°C 인큐베이터에 배양하면서 싹의 길이가 0.5 cm 이상이면 정상적인 발아로 인정하였다.

온실 포트 검정시험. 선발된 EPB-C313 균주는 TSB 배지에 single colony를 접종한 후 진탕배양기(150 rpm, 27°C)에서 5일간 배양하면서 1일 간격으로 cell 농도를 측정하여 4°C 에 보관하면서 시험에 사용하였다. 한편, 배추 뿌리혹병 억제효과를 검정하기 위한 배추 유묘는 원예상토에 배추종자(저항성 ‘칠성’, 감수성 ‘심상’)를 층층남도예산균 충남농업기술원 유리온실에서 50일 동안 생육시켰다. 파종 후 30일된 배추유묘는 1.0×10^8 cfu/ml 농도의 EPB-C313 배양액 및 Fluazinam 액상수화제 200배액에 각각 6시간 동안 침지처리 한 후 1×10^8 spores/ml 농도의 뿌리혹병균 휴면포자 현탁액에 3일 간격으로 침지접종하여 pot에 이식한 뒤 뿌리혹의 형성정도에 따라 발병지수를 조사하였다. 뿌리혹 형성억제율은 배추 뿌리혹 발병지수 0–4(0 = 혹이 없는 것, 1 = 세균에 간혹 작은 혹이 형성, 2 = 주근과 세균에 간혹 작은 혹이 형성, 3 = 주근과 세균에 크기가 작은 혹이 많이 형성, 4 = 주근과 세균에 크기가 큰 혹이 많이 형성) 기준으로 병원균 접종

Disease index	0	1	2	3	4
	no symptom	1~25%	26~50%	51~75%	76~100%

Fig. 1. Disease index of clubroot disease used for seedling test.

40일 후에 조사하였으며(Fig. 1), 뿌리혹 형성억제율은 다음과 같이 구하였다. 뿌리혹 형성억제율 = $[1 - (\text{길항미생물 처리구의 발병지수}) / (\text{무처리구 발병지수})] \times 100$. 처리간 결과는 Duncan의 다중검정법($P = 0.05$)으로 비교하였다.

포장 검정시험. 선발된 길항미생물의 배추 뿌리혹병 방제효과를 검정하기 위하여 충남 예산군 신암면의 농가 시설포장(10a)을 이용하였으며, 다음과 같이 처리하였다. EPB-C313 균체를 1.0×10^8 cfu/ml 이상의 농도로 분사 처리하여 제조된 펠렛입제(탈지강 85%, 피마자박 10%, 제올라이트 5%)를 정식 전 토양혼화(250–300 kg/10a), 포장 정식 5일전 유묘를 동일한 농도의 EPB-C313 균주 배양액에 6시간 동안 침지, 정식 후 10일 간격으로 3회까지 EPB-C313 균주 배양액을 본포에 각각 관주 처리하였으며, 대조약제로는 플루아지남분제(40 kg/10a)를 정식 전 토양에 혼화 처리하였다. 배추 정식거리는 30×30 cm이며 3반복으로 반복별 150주를 정식하여 포트 검정시험과 같은 방법으로 발병지수를 조사하였다.

한편 여름재배에서 배추 뿌리혹병이 심하게 발생한 충남 청양군 화성면 농가 노지포장(10a)에는 길항미생물 펠렛입제를 정식전 토양에 혼화처리하고 본포 정식 5일전 유묘에 관주 후, 정식 10일 뒤에 1회 관주와 같이 순차적으로 처리하여 배추 뿌리혹병 방제효과를 확인하고자 하였다. 품종은 감수성 ‘노랑’과 저항성 ‘불암’을 이용하였으며 재배방법은 위와 같고 이병주율을 조사하여 방제가를 구하였다.

결과 및 고찰

배추 뿌리혹병 길항 내생세균 선발. 배추 조직내 정착력이 강한 내생세균을 분리하기 위하여 뿌리혹병이 발생한 포장내 건전한 배추 식물체의 뿌리와 줄기 조직에서 길항력이 우수한 세균만을 분리하였고, 선발한 균주의 균체(cell), 배양액, 배양여액 및 cyazofamid 액상수화제를 각각 배추 뿌리혹병 휴면포자와 혼합 처리하였을 때 24시

Fig. 2. The ratio of non-viability of resting spores of *Plasmodiophora brassicae* mixed by *Flavobacterium hercynium* EPB-C313 and Microscopic picture (up: viable, down: non-viable, $\times 400$, Scale bar: 10 μ m).

간 후 90.4%, 36.8%, 26.0%, 13.5%의 휴면포자를 불활성화 시키는 효과를 볼 수 있었다(Fig. 2). TSB 배지상에 배양하여 분리한 균체(cell)의 길항효과는 매우 우수한 반면 동일배지상의 배양액과 배양여액에서의 효과는 상대적으로 낮게 나타났는데, 이는 배양액과 배양여액내 대사물질이 휴면포자에 완충적인 작용을 한 것으로 추측된다. 따라서 내생세균 EPB-C313 균주의 배양배지 종류에 따른 배추 뿌리혹병균 길항력 검정, 대사물질 분석, 항균활

Fig. 3. Colony morphology of *Flavobacterium hercynium* EPB-C313 (left) and phylogenetic tree based on comparison of the 16S rDNA sequence indicating the position (right). The phylogenetic tree was generated using the neighbor-joining method. Bootstrap values, expressed as percentages of 1,000 replications, are given at branching points. Bar shows two nucleotide substitution per 1,000 nucleotides.

성 기작 등의 실험이 추가될 필요가 있다고 판단된다. 또한, 불활성화된 휴면포자는 Fig. 2와 같이 현미경상으로 정상포자의 푸른 형광색을 발하는 구형의 뚜렷한 모양과 달리 핑크색으로 염색되었거나 모양이 일그러진 형태를 보여 EPB-C313 균주를 배추 뿌리혹병에 대한 발병억제 효과가 우수한 길항 내생세균으로 선발하였다.

Kim 등(1999)은 배추 뿌리혹병균은 절대 활물기생균으로 인공적인 병 발생 유도에 어려움이 있어 형광현미경법을 이용하여 휴면포자 불활성 검정을 함으로써 환경적인 요인을 제어할 수 있고 또한 짧은 시간에 대량검정이 가능하다고 하였는데, 본 시험에서도 마찬가지로 Takahashi와 Yamaguchi(1987)의 방법을 개량한 형광현미경법으로 휴면포자의 형태를 관찰하면서 EPB-C313 균주에 의한 휴면포자의 불활성 정도를 명확하게 측정할 수 있었다.

한편, 선발된 EPB-C313 균주를 TSA 배지에 접종 후 28°C, 3일간 배양한 다음 콜로니 특성을 관찰한 결과, 원형(circular)의 오렌지색으로 이중의 단면(umbonate)을 가지고 있었고, 16S ribosomal RNA(rDNA) gene 염기서열 분석결과, *Flavobacterium*속의 종을 포함하는 계통학적 그룹에 속하는 균주로서 *Flavobacterium hercynium* (AM177627)과 99%의 유연관계를 나타내는 것으로 확인하였다(Fig. 3). 따라서 본 균주는 KACC에 기탁하여 (기탁번호 KACC91477P) *F. hercynium* EPB-C313으로 명명하였다.

***F. hercynium* EPB-C313 균주의 안전성 및 항균 spectrum.** 선발된 길항미생물의 발아 안전성 검정을 위해 무, 파, 콩, 참깨의 종자를 *F. hercynium* EPB-C313 균주에 침지

처리한 후 종자의 발아 상태를 관찰한 결과, 정상적인 발아기준에 적합하고 대조구와 비교하여 동일한 발아율을 보임으로써 선발된 균주는 타과 작물의 발아에 해가 되지 않음을 확인할 수 있었다.

한편 배추 뿌리혹병균에 강한 활성을 가지는 *F. hercynium* EPB-C313 균주에 대하여 배추 뿌리혹병균 이외의 중요한 식물병원성 진균에 대한 항균활성을 조사한 결과, *F. hercynium* EPB-C313 균주는 배추 뿌리혹병의 휴면포자에 대하여 강한 억제효과를 나타냈으나, 다른 식물병원균에 대해서는 다양한 항균활성을 보였다. 특히 감자 줄기 썩음병균에는 활성이 전혀 나타나지 않았고 감자 역병균과 감자 더듬이병균에는 활성을 나타내었다.

온실 포트 검정. *F. hercynium* EPB-C313 균주의 배양액을 이용하여 배추 뿌리혹병을 방제할 수 있는 적정 처리농도와 처리시기를 찾고자 포트 육묘 중인 배추 ‘칠성’ 품종을 선발 균주 배양액에 6시간동안 침지처리하고 병원균(*P. brassicae*) 휴면포자를 접종한 후 방제효과를 검정한 결과, 선발균주 배양액의 균체농도가 높을수록 뿌리혹병 방제효과가 증가하는 것으로 나타났으며, 특히 5.0×10^7 cfu/ml 농도 이상에서는 100%의 뿌리혹 형성 억제효과를 나타내었다(Fig. 4).

배추 뿌리혹병에 대한 길항미생물 *F. hercynium* EPB-C313를 선발하는 과정에서 형광현미경법으로 휴면포자의 활성검정을 하였을 때 길항미생물 배양액은 원심분리한 균체(cell)와 비하여 활성 억제효과가 떨어지는 것으로 조사되었다. 하지만 배양액을 토양에 관주하였을 때에는 배추 뿌리혹이 전혀 형성되지 않았는데 이러한 원인은 길

Fig. 4. Changes in suppression effect of different concentration of *Flavobacterium hercynium* EPB-C313 against clubroot formation on seedling of Chinese cabbage.

항미생물이 만들어내는 대사물질들은 토양중의 휴면포자 뿐만 아니라 유주자나 식물체내에 침입한 변형체에 대한 항균활성에도 관여하기 때문이라고 생각된다.

한편, 선발균주의 유묘 침지처리는 병원균을 접종하기 6일 전에 하였을 때 가장 우수한 효과를 나타내었는데 (Table 1), 이러한 결과는 내생세균이 배추 식물체 조직에 정착, 증식하여 배추 뿌리혹병균 불활성 기작을 발현 하는데 최소 5–6일 정도의 시일이 소요되므로 포장 정식 5일 전에는 처리하여야 할 것으로 판단된다. 하지만 침지처리 9일 이후에는 방제효과가 점차적으로 떨어지는

경향을 보이는데, 이는 길항미생물의 밀도가 감소하거나 일시적으로 항균활성효과가 떨어진 것으로 추측되며 포장 정식 후에 길항미생물 투입 등 추가적인 조치가 필요할 것으로 생각된다. 위와 같이 최적의 농도와 시기에 길항균을 처리한 저항성품종 ‘칠성’과 감수성품종 ‘싱싱’을 각각 정식하여 방제효과를 검정한 결과, 시험품종 모두에서 뿌리혹 형성 억제율이 100%로 대조약제인 fluazinam 액상수화제 91.794.3%보다 우수한 방제효과를 나타내었다 (Table 2).

Narisawa 등(2000)은 내생진균 *H. chaetospora*를 이용한 배추뿌리혹병 방제시 52–97%의 방제효과를 얻었으며, 배추의 뿌리조직으로부터 접종한 길항균을 다시 분리하였는데, 본 시험에서도 마찬가지로 배추뿌리 조직내에 처리한 길항균을 재 분리함으로써 시험에 사용된 내생세균이 안정적으로 정착하였음을 입증하였다.

농가포장 실증. 충남 예산군 봄배추 시설재배 포장에 *F. hercynium* EPB-C313 균체로 만들어진 입제를 정식전 10a에 250–300 kg 처리, 본포 정식 5일전 유묘에 5시간 침지처리, 포장 정식 후 1회 관주와 10일간격으로 2–3회 처리에 따른 방제효과를 검정하였다. 뿌리혹 형성 억제율은 입제 혼합처리, 유묘 침지처리에서 무처리에 비하여 각각 76.3%, 78.9%, 정식 후 1회, 2회 및 3회 관주 처리에서는 각각 39.5%, 63.2% 및 71.1%의 뿌리혹 형성 억제율을 보였다 (Table 3).

Table 1. Effect of inoculation time of resting spore after root dipping in *Flavobacterium hercynium* EPB-C313 against clubroot formation on seedling of Chinese cabbage

Isolate	Disease index ^a					
	1 day ^b	3 day	6 day	9 day	12 day	15 day
<i>F. hercynium</i> EPB-C313	2.6	0.9	0	1.6	2.9	3.5
Control	3.8	3.7	3.8	3.8	3.7	3.8

^aDisease index (0–4): 0 = health, 1 = 1–25%, 2 = 26–50%, 3 = 51–75%, 4 = 76–100% clubroot formation.

^bDays after root dipping in *F. hercynium* EPB-C313 culture solution.

Table 2. Control effect of *Flavobacterium hercynium* EPB-C313 and fungicide against clubroot formation on seedling Chinese cabbage

Treatment	Disease index ^a		Suppression of clubroot (%) ^b	
	Chilseong	CR singsing	Chilseong	CR singsing
<i>F. hercynium</i> EPB-C313	0 b ^d	0 b	100	100
Fluazinam SC ^c	0.2 b	0.1 b	94.3	91.7
Control	3.5 a	1.2 a	-	-

^aDisease index (0–4): 0 = health, 1 = 1–25%, 2 = 26–50%, 3 = 51–75%, 4 = 76–100% clubroot formation.

^bSuppression of clubroot (%) = $1 - \frac{\text{index of treated plot}}{\text{index of untreated plot}} \times 100$

^cSC: Suspension Concentrate.

^dValues designated by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test ($P \leq 0.05$).

Table 3. Effect of treatment methods on the control of *Flavobacterium hercynium* EPB-C313 against clubroot on Chinese cabbage ‘Bommat’ in field

Treatment	Disease index ^a	Suppression of clubroot (%)
Pellet mixed soil	0.9 d ^b	76.3
Root dipping	0.8 d	78.9
1 time soil drench	2.3 b	39.5
2 time soil drench	1.4 c	63.2
3 time soil drench	1.1 cd	71.1
Fluazinam DP ^c	0.6 d	84.2
Untreated	3.8 a	–

^aDisease index (0–4): 0 = health, 1 = 1–25%, 2 = 26–50%, 3 = 51–75%, 4 = 76–100% clubroot formation.

^bValues designated by the same letter are not significantly different by Duncan’s multiple range test ($P \leq 0.05$).

^cDP: Dustable Powder.

한편 여름재배에서 배추 뿌리혹병이 50%이상 발병된 포장에 입제를 정식전 처리하고 본포 정식 5일전 유묘관주 처리한 후 정식 10일 후 1회 관주와 같이 순차적으로 처리한 가을배추 노지포장의 경우, 감수성 품종 ‘노랑’은 26.1%, 저항성 품종 ‘불암’은 63.7%의 방제가를 나타내었다(Table 4).

유묘침지 방법은 그 효과는 우수하지만 대량 육묘에는 많은 시간이 소요되는 단점이 있어 관주처리로 대체하였다. 또한 저항성 계통 ‘불암’의 방제가는 fluazinam 분제 87.1%와 비교하여 낮았고 Table 3의 입제혼합, 유묘침지, 토양관주 각각 단일처리에 비하여 뿌리혹 억제효과가 떨어지는 것으로 나타났는데 이러한 원인은 Kim 등(1999)의 토양내 배추 뿌리혹균 밀도가 높을수록 피해정도가 심하다는 결과와 일치하는 것으로 뿌리혹병 피해가 컸던 연작 포장에서는 병원균 밀도가 너무 높아 방제효과가 떨어지는 것으로 추측된다. 따라서 상습적으로 배추 뿌리혹병이 심하게 발생하는 포장에서는 펠렛 토양혼화, 유묘관

주, 포장 1회 관주와 같이 순차적인 방제와 더불어 이병 잔재물 제거 등 경종적 방법을 이용하는 것이 배추 뿌리혹병 방제에 가장 효과적인 방법이라 판단된다. 본 연구를 통하여 선발한 *F. hercynium* EPB-C313 균주는 내생세균으로 식물체 조직에 조기 정착하는 것이 중요하므로 토양에는 정식 전 살포, 유묘에 관주처리뿐 아니라 정식 후에도 지속적으로 관리하면서 적정밀도를 유지하여야 방제효과를 높일 수 있다. 또한 본 연구의 EPB-C313 균주는 당 이용성 등 영양요구도가 비교적 까다롭지 않아 인공 대량배양 시 생산경비 측면에서 절감효과가 커 미생물농약으로서 개발 가능성은 더욱 높을 것으로 생각된다.

요 약

*Plasmodiophora brassicae*에 의한 배추 뿌리혹병은 배추뿐만 아니라 순무, 양배추에 발병하여 큰 피해를 주는 병원균이다. 배추 뿌리혹병균에 길항효과가 있는 미생물을 선발하기 위하여 배추 조직에서 분리한 *Flavobacterium hercynium* EPB-C313 균주의 항균활성 검정을 하였고, 포장시험을 통하여 배추 뿌리혹병에 대한 방제효과를 조사하였다. *F. hercynium* EPB-C313의 균체, 배양액, 배양여액을 배추 뿌리혹병 휴면포자와 혼합 처리하여 24시간 후 조사하였을 때 각각 90.4%, 36.8% 및 26.0%의 휴면포자가 불활성화 되었다. 온실 포트검정에서는 배추의 어린묘를 *F. hercynium* EPB-C313 배양액에 침지한 후 정식하면 뿌리혹 형성 억제율이 100%로 대조약제 fluazinam액상수화제의 91.7%보다 우수한 효과를 나타내었다. 배추 뿌리혹병이 50% 이상 발병되었던 재배포장에 *F. hercynium* EPB-C313 혼합펠렛을 토양혼화 하고, *F. hercynium* EPB-C313 배양액의 유묘관주 및 정식 10일 후 1회 토양관주하면 63.7%의 방제효과를 보였다. 이상의 결과로 볼 때 *F. hercynium* EPB-C313 균주는 매우 유용한 배추 뿌리혹병 생물적 방제제로 판단된다.

Table 4. Control effect *Flavobacterium hercynium* EPB-C313 against clubroot on Chinese cabbage in field

Treatment	CR Bulam		Norang	
	Disease incidence	Control value ^a	Disease incidence	Control value ^a
<i>F. hercynium</i> EPB-C313 ^b	9.3 ab ^d	63.7	13.3 b	26.1
Fluazinam DP ^c	3.3 b	87.1	2.4 c	86.6
Untreated	25.6 a	–	18.0 a	–

^aControl value (%) = $1 - \frac{\text{Treated Disease Incidence}}{\text{Untreated disease incidence}} \times 100$

^b*F. hercynium* EPB-C313: Complex treatment (incorporate antagonistic pellets with the soil + seedling drench + soil drench)

^cFluazinam DP: After dusting, incorporate with the soil

^dValues designated by the same letter are not significantly different by Duncan’s multiple range test ($P \leq 0.05$).

References

- Arie, T., Kobayashi, Y., Okada, G., Kono, Y. and Yamaguchi, I. 1988. Control of soilborne clubroot disease of cruciferous plant by epoxydon from *Phoma glomerata*. *Plant Pathol.* 47: 743–748.
- Barraquio, W. L., Revilla, L. and Ladha, J. K. 1997. Isolation of endophytic diazotrophic bacteria from well and rice. *Plant Soil.* 194: 15–24.
- Chang, S. W., Hong, S. S., Kim, S. K., Kim, H. D. and Yi, E. S. 2000. Improvement of control effect by change of chemical application method on clubroot disease of Chinese cabbage caused by *Plasmodiophora brassicae* in field. *Res. Plant Dis.* 6: 39–42. (In Korean)
- Dymock, D., Weightman, A. J., Scully, C. and Wade, W. G. 1996. Molecular analysis of microflora associated with dentoalveolar abscesses. *J. Clin. Microbiol.* 34: 537–542.
- IFOAM. 2010. The World of Organic Agriculture : Statistics and Emerging Trends. (In Korean)
- James, E. K. and Olivares, F. L. 1998. Infection and colonization of sugar cane and other graminaceous plants by endophytic diazotrophs. *Criti. Rev. Plant Sci.* 17: 77–119.
- Kim, C. H., Cho, W. D. and Kim, H. M. 2000a. Yield loss of spring Chinese cabbage as affected by infection time of clubroot disease in fields. *Res. Plant Dis.* 6: 23–26. (In Korean)
- Kim, C. H., Cho, W. D. and Kim, H. M. 2000b. Some environmental factors affecting germination and survival of resting spores of *Plasmodiophora brassicae*. *Korean J. Pesti. Sci.* 4: 66–71. (In Korean)
- Kim, C. H., Cho, W. D. and Kim, H. M. 2000c. Distribution of *Plasmodiophora brassicae* causing clubroot disease of Chinese cabbage in soil. *Res. Plant Dis.* 6: 27–32. (In Korean)
- Kim, C. H., Cho, W. D. and Lee, S. B. 2003. Review of researches on clubroot disease of Chinese cabbage in Korea and future tasks for its management. *Res. Plant Dis.* 9: 57–63. (In Korean)
- Kim, C. H., Cho, W. D. and Yang, J. M. 1999. Effects of plant age, inoculum concentration, and inoculation method on root gall development of clubroot disease of Chinese cabbage caused by *Plasmodiophora brassicae*. *Plant Dis. Agric.* 5: 90–94. (In Korean)
- Narisawa, K., Ohki, K. T. and Hashiba, T. 2000. Suppression of clubroot and Verticillium yellows in Chinese cabbage in the field by root endophytic fungus, *Heteroconium chaetospora*. *Plant Pathol.* 49: 141–146.
- Narisawa, K., Tokumasu, S. and Hashiba, T. 1998. Suppression of clubroot formation in Chinese cabbage by the root endophytic fungus, *Heteroconium chaetospora*. *Plant Pathol.* 47: 206–210.
- Oh, J. H., Cho, J. H., Kim, B. G., Chae, J. C., Chung, G. U., Hwang, C. H. and Kim, D. W. 1997. Environmental factors favoring the disease development and chemical control of clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) in Chinese cabbage. *Korean J. Plant Pathol.* 13: 244–247. (In Korean)
- Takahashi, K. and Yamaguchi, T. 1987. An improved method for estimating the number of resting spores of *Plasmodiophora brassicae* in soil. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan* 53: 507–515.
- Tanaka, S. 1996. Recent progress in studies on clubroot disease of crucifers. *Shokubutsu Bokei (Plant Protection)* 50: 281–284.
- Zhang, X. Z., Lee, S. U., Kim, J. S., Yoon, Choi, G. S., Kim, H. K. and Kim, B. S. 2005. Control efficacy of flusulfamide GR on Chinese cabbage clubroot caused by *Plasmodiophora brassicae*. *Res. Plant Dis.* 11: 43–47.