배추 산지 토양의 뿌리혹병균 오염

소재우* · 한경숙 · 이성찬 · 이중섭

국립원예특작과학원 원예특작환경과

Contamination of Chinese Cabbage Soil with *Plasmodiophora brassicae*

Jae-Woo Soh*, Kyung-Sook Han, Seong-Chan Lee and Jung-Sup Lee

Department of Horticultural Environment, National Institute of Horticultural and Herbal Science,
Suwon 440-706, Korea

(Received on April 17, 2013; Revised on July 3, 2013; Accepted on July 26, 2013)

This research was performed to establish basic technology for Chinese cabbage clubroot chemical control by investigating the soil contamination of *Plasmodiophora brassicae* in major producing regions of fall Chinese cabbage. PCR primers were developed to detect *P. brassicae*, a causal agent of Chinese cabbage club-root that generally occurs in *Cruciferae* family. A primer set, PbbtgF761 and PbbtgR961, specifically amplified a 245 bp fragment from *P. brassicae* only. At places well known for fall Chinese cabbage, 10 out of 33 in Haenam-gun, 5 out of 13 in Yeongam-gun and Yeonggwang-gun, 1 out of 6 in Gochang-gun, 2 out of 12 in Hongseong-gun, and 5 out of 17 in Dangjin-si resulted positive for *P. brassicae* contamination. The results show that the soil contamination rate of *P. brassicae* was 30.3% in Haenam-gun, 38.5% in Yeongam-gun and Yeonggwang-gun, 16.7% in Gochang-gun, 16.7% in Hongseong-gun, and 29.4% in Dangjin-si. The six places where Chinese cabbage clubroot was visible by naked eye were 100% confirmed by the PCR test of the *P. brassicae* contaminated soil. Thus, simple PCR test may be utilized as an index to decide on chemical control of *P. brassicae*.

Keywords : Beta-tubulin, Clubroot, PCR, Soil

서 론

우리나라 가을 배추는 2012년 재배 면적이 13,408 ha로 가장 중요한 김장 채소 중 하나이다(KOSTAT, 2013). 국내 가을 배추의 생산은 홍성군, 아산시, 영암군, 영광군, 해남군을 중심으로 연작 재배가 이루어지고 있다. 이러한 연작 재배와 친환경 제재의 사용이 늘어나면서 *Plasmodiophora brassicae*에 의한 배추 뿌리 혹병의 피해가 늘고 있다.

배추 뿌리 혹병은 *Brassica oleracea*, *B. napus*, *B. rapa* (Buczacki와 Ockendon, 1979)와 *B. nigra*, *B. juncea*, *B. carinata*(Vaughan, 1977)와 같은 배추과 작물 뿐만 아니라 *Sinapis alba*, *Thlaspi arvense*(Dixon, 2009)와 *Capsella*

bursapastoris(Buczacki와 Ockenodon, 1979)와 같이 배추과 잡초에 이르는 기주 범위를 가지고 있다. 국내 배추 뿌리혹병의 저항성 품종은 단인자 우성하는 것으로 알려진 CR Shinkki 계통에서 유래하였고, 최근 *P. brassicae* 방류 균주에 대한 연구가 진행중에 있다(Park 등, 2011; Voorrips, 1996).

*P. brassicae*는 토양 전염성 병으로 배추 뿌리 조직의 유관속부가 이상 비대하여 큰 혹이 생기기 때문에 양수분 흡수가 크게 저해되고 이로 인해 지상부 위조가 반복적으로 진행되면서 결국 고사하게 된다(Feng 등, 2012). 배추 뿌리 혹병이 진전되면서 근 부패가 이루어지고 뿌리 조직내 형성된 휴면 포자는 뿌리 밖으로 방출되어 토양에서 15년 이상 생존하면서 다음해 뿌리 혹병을 일으키게 된다(Mattush, 1977). 배추 뿌리 혹병의 방제는 매우 어렵기 때문에 연작 재배를 하는 국내에서는 많은 양의 토양 소독제를 사용하고 있어 환경 오염과 경영비 부담이 늘고 있다(Kim 등, 2002).

*Corresponding author

Phone) +82-31-290-6243, Fax) +82-31-290-6259

Email) tipburn@gmail.com

하지만 배추 재배지 토양의 *P. brassicae*의 오염 정도에 대한 실태 연구는 보고되지 않았다. 그 이유는 *P. brassicae*는 obligate parasite로 인공 배양이 불가능하여, 이 균의 진단을 bioassay에 의존하고 있기 때문인 것으로 보인다. 배추 뿌리혹병에 대한 PCR 유전자 진단에 관한 연구에서 *P. brassicae* 검출을 위한 primer가 보고되어 있으나 primer 특이성이 불안정하고 검출 민감도가 높지 않고, 토양 시료에 대한 적용에 대한 연구가 부족하다(Ito 등, 2001). 현재까지 토양병의 효과적인 PCR 진단을 위하여 토양으로부터 직접 genomic DNA 추출에 관한 연구는 Tiedje 등에 의한 토양 genomic DNA의 CTAB 추출법(Zhou 등, 1996), Yeates(1998) 등에 의한 토양 genomic DNA의 PEG 분리법, Yeates의 방법을 응용한 genomic DNA 분리법(Kang 등, 2005), 미생물의 genomic DNA 추출법(Lee와 Taylor, 1990)이 보고된 바 있다. 하지만 *P. brassicae*의 배추 산지의 토양내 오염 여부를 신속하게 진단할 수 있는 방법과 안정적으로 진단할 수 있는 특이 프라이머의 연구와 이를 통한 국내 배추 산지에 대한 *P. brassicae*에 의한 토양 오염에 관한 실태 연구가 미흡하였다. 따라서 본 연구에서는 가을 배추 산지로 알려진 지역의 토양내 *P. brassicae*의 오염 정도를 조사하여 배추 뿌리 혹병 방제의 기초 기술을 확립하고자 하였다.

재료 및 방법

공시 재료. 국내 배추 주산지로 알려진 해남군 33곳, 영암군 및 영광군 13곳, 고창군 6곳, 홍성군 12곳, 당진시 17곳 총 81곳의 재배 포장 토양을 수집하였다. 토양 시료는 배추 재배 포장에서 무작위 10점을 선정하여 표

Table 1. Bacteria and fungi used in the study

Name	Race	Source
<i>Plasmodiophora brassicae</i>	2	NIHHS ^a
<i>Plasmodiophora brassicae</i>	4	NIHHS
<i>Plasmodiophora brassicae</i>	11	NIHHS
<i>Plasmodiophora brassicae</i>	2 + 11	NIHHS
<i>Plasmodiophora brassicae</i>	2 + 4 + 11	NIHHS
<i>Fusarium</i> sp.	-	NIHHS
<i>Rhizoctonia</i> sp.	-	NIHHS
<i>Cladosporium</i> sp.	-	NIHHS
<i>Verticillium</i> sp.	-	NIHHS
<i>Pythium</i> sp.	-	NIHHS
<i>Phytophthora capsici</i>	-	NIHHS
<i>Phytophthora nicotianae</i>	-	NIHHS

^aNIHHS: National Institute of Horticultural & Herbal Science.

토 5 cm를 걷어낸 후 30 g씩 채취하였다.

균주 수집. 본 실험에 사용된 균주는 Table 1과 같이 토양병을 유발하는 주요 병원균으로 국립원예특작과학원 원예특작환경과에서 보유한 *P. brassicae*, *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Cladosporium* sp., *Verticillium* sp., *Pythium* sp., *Phytophthora capsici*, *Phytophthora nicotianae* 8종과 배추 전작지 혹은 재배지의 토양에서 분리된 미동정된 세균과 진균 11종을 사용하였다. *P. brassicae*의 경우 race 2, race 4, race 11, race 2과 race 11, 3 균주가 모두 존재하는 혼합 균주의 genomic DNA를 추출하여 본 실험에 사용하였다.

Primer 제작 및 선발. 배추 뿌리혹병의 진단용 primer를 설계하기 위하여 미국 국립생물정보센터(National Center for Biotechnology Information, NCBI)로부터 *P. brassicae*의 beta-tubulin 유전자의 염기 서열을 토대로 참고하여 Lasergene(Version 7.1, DNASTAR Inc., USA)을 이용하여 Table 2와 같이 *P. brassicae*에 대하여 정방향 8개와 역방향 7개 총 16개의 primer 세트를 설계하였다. 설계한 primer는 *P. brassicae*와 주요 토양병을 유발하는 세균 및 진균에 대한 특이적 반응을 걸쳐 선발하였다.

유전자 분석. 상온에서 음건한 토양 시료 10 g과 멸균수 10 ml를 혼합한 후 25°C, 150 rpm에서 10분간 교반하였다. 토양 시료는 유리 사발과 유리 막대를 이용하여 마쇄한 후 상등액 1 ml를 10,000 rpm, 5분간 원심 분리하여 상등액을 분석 시료로 사용하였다. 400 µl의 lysis buffer를 넣고 65°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 1:1로 혼합한 phenol과 chloroform을 400 µl를 넣고 vortex을 하였다. 실온에서 13,000×g로 15분간 원심분리한 후 DNA가 포함된 상층부를 새 튜브에 옮겼다. 3M NaOAc 10 µl를 넣고 상층액의 0.54배 isopropanol을 넣은 후 수회 invert 하였다. 실온에서 2분간 12,000×g로 원심 분리한 후 상층을 버리고 70% ethanol로 washing 하였다. Vacuum dry로 pellet을 건조한 다음 TE로 pellet을 용해한 후 DNA의 농도는 1.0 µg·µl⁻¹로 맞췄다. PCR 조성은 추출한 genomic DNA 0.4 µl, 본 실험에서 개발하여 선발한 5 pmoles·µl⁻¹의 프라이머 0.4 µl씩을 각각의 PreMix (AccuPowers Taq PCR PreMix, Bioneer Co., Korea)에 넣은 후 총 20 µl에 맞췄다. PCR(PTC-200, Bio-Rad) 조건은 denaturation 95°C에서 5초, annealing 60°C에서 5초, extension 72°C에서 20초를 40회 수행하였다.

결과 및 고찰

PCR 프라이머의 선발 및 특이성 검증. *P. brassicae*

Table 2. Nucleic acid sequence of oligonucleotide primers used in PCR assay of *Plasmodiophora brassicae* in this study

Primer name	Sequence	Length (bp)	Products size
PbbtgF716	5'-ATTGTGTTATTTCCGCGCTC-3'	20	245
PbbtgR961	5'-GTCGGAATGACTTCCCAGAA-3'	21	
PbbtgF755	5'-ATAACGTTGGGAACCTTCA-3'	17	
PbbtgR832	5'-CGTTCAAATTTGGGAAATGTAA-3'	22	
PbbtgF904	5'-TCGTCGTAATTCGTCGAGTG-3'	18	198
PbbtgR876	5'-AACGGTCCAGAAAACACCAAG-3'	21	
PbbtgF1055	5'-CCCCTGCTGTACGTAATCGT-3'	20	
PbbtgR976	5'-CTGGGTCCATTCGGAAGTAA-3'	20	
PbbtgF1152	5'-AACGATGGAATTTGCAGACC-3'	20	216
PbbtgR1009	5'-TGTTTCGAGGGAATATGACA-3'	20	
PbbtgF1624	5'-AGTGGATCCCGAACAACATC-3'	20	
PbbtgR876	5'-AACGGTCCAGAAAACACCAAG-3'	21	
PbbtgF2386	5'-TGCCCTAATCCACATGTCTG-3'	20	415
PbbtgR2801	5'-TGCACAGTGCTACAAGTTGG-3'	20	
PbbtgF2392	5'-ATCCACGATTCAATTGGTCG-3'	21	
PbbtgR2905	5'-GTCGTAAACCGAAGGTTCCCA-3'	21	

의 beta-tubulin의 유전자를 토대로 본 연구에서 디자인한 PbbtgF716과 PbbtgR961 세트, PbbtgF755와 PbbtgR832 세트, PbbtgF904와 PbbtgR876 세트, PbbtgF1055와 PbbtgR976 세트, PbbtgF1152와 PbbtgR1009 세트, PbbtgF1624와 PbbtgR876 세트, PbbtgF2386와 PbbtgR2801 세트, PbbtgF2392와 PbbtgR2905 세트 총 8개 세트에 대하여 *P. brassicae*에 감염되지 않은 건전한 배추 뿌리와 이병된 뿌리를 사용하여 비교하였다(Fig. 1). PCR 분석 결과 PbbtgF716와 PbbtgR961 세트 및 PbbtgF2386와 PbbtgR2801 세트에서 *P. brassicae*를 검출할 수 있었다.

이 중 200 bp에 가까운 PbbtgF716와 PbbtgR961 세트를 본 실험에 사용할 프라이머로 선택하고 프라이머 특이성을 확인하기 위하여 *P. brassicae*를 포함한 총 19종의 토양 미생물의 DNA를 이용하여 PCR을 수행하였다(Fig. 2). 그 결과 *P. brassicae*에서만 200 bp의 밴드를 확인할 수 있었고, *P. brassicae*의 race별 비교에서도 race 2, race 4, race 11 및 race 2와 race 11, 혼합 균주 모두 확인할 수 있었다. 국내 *P. brassicae*의 race는 race 10, race 12을 제외한 14개의 race가 존재하는데, 이 중 race 5, race 8이 전국적으로 우점한다고 하였다(Kim 등, 2003). 하지만 이

Fig. 1. Amplification of *Plasmodiophora brassicae* specific band from genomic DNA of normal roots (lanes 1-8) and club roots (lanes 9-16). M: 100bp DNA ladder. Lanes 1 and 9, primer set of PbbtgF716 and PbbtgR961; Lanes 2 and 10, primer set of PbbtgF755 and PbbtgR832; Lanes 3 and 11, primer set of PbbtgF904 and PbbtgR876; Lanes 4 and 12, primer set of PbbtgF1055 and PbbtgR976; Lanes 5 and 13, primer set of PbbtgF1152 and PbbtgR1009; Lanes 6 and 14, primer set of PbbtgF1624 and PbbtgR876; Lanes 7 and 15, primer set of PbbtgF2386 and PbbtgR2801; Lanes 8 and 16, primer set of PbbtgF2392 and PbbtgR2905.

Fig. 2. Amplification of *Plasmodiophora brassicae* specific band from genomic DNA of various fungal species with primers PbbtgF716 and PbbtgR961. Lane 1: 100 bp DNA ladder, lane 2: *P. brassicae* race 2, lane 3: *P. brassicae* race 4, lane 4: *P. brassicae* race 11, lane 5: *P. brassicae* race 2 + 11, lane 6: *P. brassicae* race 2 + 4 + 11, lane 7 and 8: *Fusarium* spp., lane 9 and 10: *Rhizoctonia* spp., lane 11: *Cladosporium* spp., lane 12 and 13: *Verticillium* spp., lane 14 and 15: *Pythium* spp., lane 16: *P. capsici*, lane 17: *P. nicotianae*.

Fig. 3. Amplification of *Plasmodiophora brassicae* specific band from various soils in Chinese cabbage growing areas. M: 100 bp DNA ladder, lanes 1-33: soils of Haenam-gun, Lanes 34-47: soils of Youngam-gun and Youngkwang-gun, lanes 48-53: soils of Gochang-gun, lanes 54-65: soils of Hongseong-gun, lanes 66-82: soils of Dangjin-si.

Fig. 4. Plantation of Chinese cabbages in autumn season (**left**) and symptoms of clubroot by *Plasmodiophora brassicae* (**right**).

들이 사용한 *P. brassicae* 균주는 단포자 분리가 되지 않은 혼합 균주였다. 국내 *P. brassicae*를 단포자 분리한 실험에서 race 4가 우점하고 그 다음으로 race 2와 race 11이 많이 발견된다고 하였는데(Jang 등, 2007), 본 실험에서 개발된 배추 뿌리혹병 프라이머는 국내에 우점하는 *P. brassicae* race를 모두 확인할 수 있는 것으로 생각된다.

배추 산지의 *P. brassicae* 오염 조사. 국내의 대표적인 가을 배추 재배 지역의 *P. brassicae* 오염여부를 조사하기 위해 해남군, 영암군 및 영광군, 고창군, 홍성군, 당진시의 산지 토양을 수집하여 PCR을 수행하였다. 해남군은 조사 지역 33곳 중 10곳, 영암군 및 영광군은 13곳 중 5곳, 고창군은 6곳 중 1곳, 홍성군은 12곳 중 2곳, 당진시는 17곳 중 5곳이 *P. brassicae*에 오염된 것으로 나타났다(Fig. 3). 이들 지역은 국내 가을 배추 주산지로 알려진 곳으로 특히 당진시와 해남군의 경우 친환경 재배, 연작 재배, 습지 재배에 따른 배추 뿌리혹병 피해가 높고

있다(Fig. 4). 이들 지역은 최근 답전 윤환 재배가 늘어나면서 토양의 과습 조건이 형성되면서 배추 뿌리 혹병 발생과 뿌리혹의 부패에 영향을 준 것으로 생각된다.

토양 수분과 배추 뿌리혹 발생은 *P. brassicae*에 의해 감염된 미세균 혹은 피질 세포의 포자낭으로부터 방출된 2차 유주자가 뿌리혹병을 야기하기 때문에(Karling, 1968), 노지 재배되는 배추의 경우 정식후 뿌리가 활착되는 시기의 초기 토양 수분과 뿌리의 생육 및 활착이 매우 중요하다(Takahashi, 1994). 이러한 토양내 수분 함량이 높을수록 *P. brassicae* 유주자의 이동성 증가에 따른 뿌리와 접촉 빈도와 이로 인한 뿌리혹병의 발생을 증가시킨다(Dobson 등, 1982). 배추 뿌리혹병의 발생은 최대용수량의 80% 수준의 토양 수분 조건하에서 뿌리혹의 비대 속도가 가장 빠르며, 100% 수준에서는 뿌리혹 뿐만 아니라 지상부 생육까지 위축되어 생육 불량(Kim 등, 1999)과 근 부패 발생(Kim 등, 2000)까지 나타난다.

Table 3. Comparison of visual detection of clubroot with PCR results using *Plasmodiophora brassicae* specific primers

No.	Location ^a	Visual test ^b	PCR method ^b	No.	Location	Visual test	PCR method
1	HN	–	–	42	YA and YK	–	–
2	HN	–	–	43	YA and YK	–	–
3	HN	–	–	44	YA and YK	–	–
4	HN	–	–	45	YA and YK	–	+
5	HN	–	+	46	YA and YK	–	+
6	HN	–	+	47	YA and YK	+	+
7	HN	–	+	48	GC	–	–
8	HN	–	–	49	GC	+	+
9	HN	–	–	50	GC	–	–
10	HN	–	–	51	GC	–	–
11	HN	–	–	52	GC	–	–
12	HN	–	–	53	GC	–	–
13	HN	–	–	54	HS	–	–
14	HN	–	–	55	HS	–	–
15	HN	–	–	56	HS	–	–
16	HN	–	–	57	HS	–	+
17	HN	–	–	58	HS	+	+
18	HN	–	–	59	HS	–	–
19	HN	–	–	60	HS	–	–
20	HN	–	–	61	HS	–	–
21	HN	–	–	62	HS	–	–
22	HN	–	–	63	HS	–	–
23	HN	–	–	64	HS	–	–
24	HN	–	+	65	HS	–	–
25	HN	–	+	66	DG	–	–
26	HN	–	+	67	DG	–	–
27	HN	–	+	68	DG	–	–
28	HN	–	–	69	DG	–	–
29	HN	–	–	70	DG	–	–
30	HN	–	+	71	DG	–	–
31	HN	–	+	72	DG	–	–
32	HN	–	–	73	DG	–	+
33	HN	–	+	74	DG	+	+
34	YA and YK	–	+	75	DG	–	–
35	YA and YK	–	+	76	DG	–	–
36	YA and YK	–	–	77	DG	–	–
37	YA and YK	–	–	78	DG	–	–
38	YA and YK	–	–	79	DG	–	–
39	YA and YK	–	–	80	DG	+	+
40	YA and YK	–	–	81	DG	+	+
41	YA and YK	–	–	82	DG	–	+

^aHN: Haenam-gun, YA and YK: Youngam-gun and Youngkwang-gun, GC: Gochang-gun, HS: Hongseong-gun, DG: Dangjin-si.^b–: no symptom or PCR product, +: clubroot visible or specific band amplified.

가을 배추 재배 산지의 토양 시료 채취시 배추 뿌리혹 발생 조사 결과와 PCR 검정 결과를 비교하였다(Table 3). 배추 뿌리혹이 육안으로 확인된 영암군 및 영광군 1곳, 고창군 1곳, 홍성군 1곳, 당진시 3곳의 PCR 검정 결과 이들 토양이 모두 *P. brassicae*에 오염된 것으로 나타났다. 이는 배추 뿌리 혹이 발견된 지역에서 토양내 *P. brassicae*가 100% 오염된 것이 확인된 것이다. 반면 배추 뿌리 혹의 발생이 육안으로 확인되지 않았으나 PCR 검정 결과 *P. brassicae*의 오염이 확인된 토양은 해남군 10곳, 영암군 및 영광군 4곳, 홍성군 1곳, 당진시 2곳으로 나타났다. 이는 배추 뿌리 혹병의 조사 및 토양 시료 채취 시기가 정식후 30일 내외로 뿌리 혹병의 발생을 조사하는 시기가 발병 초기이기 때문에 그 이병 정도가 미약했던 것으로 생각된다.

조사 지역의 토양내 *P. brassicae* 오염률을 상기의 PCR 진단 결과를 종합해 보면, 해남군 30.3%, 영암군 및 영광군 38.5%, 고창군 16.7%, 홍성군 16.7%, 당진시 29.4%로 나타났다(Table 4). 특히 해남군과 당진시의 경우 최근 친환경 재배의 증가와 습지 재배가 상대적으로 증가하고 있는데, 이들 지역에서 토양내 *P. brassicae*의 오염률이 높게 나타났다. 최근 배추 산지에서의 뿌리혹병의 발생이 증가하는 것은 토양 살균제의 연용(Choi 등, 2005), 연작 재배(Lee, 2004)와 친환경 농법(Jung 등, 2007)의 확산 때문인 것으로 보인다. 이 과정에서 *P. brassicae*는 여러 race가 함께 존재하면서 다년간 토양에서 생존하는 특성 때문에 병원성이 분화된다(Mattush, 1977). 또한 습지 재배에 따른 토양 수분의 증가는 이병된 뿌리 조직내 휴면 포자의 활동 재개와 방출을 유발하고(Mattush, 1977), *P. brassicae* 유주자의 뿌리 조직 세포 감염에 유리한 환경을 조성하는 것이다(Ingram와 Tommerup, 1972). 결국 국내 가을 배추 산지로 알려진 이들 지역에서 *P. brassicae*의 토양내 잔존이 증가하고, 병원성 분화가 증가될 것으로 예상되기 때문에 향후 이에 관한 연구가 추가적으로 필요할 것으로 생각된다.

Table 4. Contamination of Chinese cabbage plantation soils with *Plasmodiophora brassicae*

Location	No. of soils	No. of contamination	Contamination rate (%)
Haenam-gun	33	10	30.3
Youngam-gun and Youngkwang-gun	13	5	38.5
Gochang-gun	6	1	16.7
Hongseong-gun	12	2	16.7
Dangjin-si	17	5	29.4

2000년대 초반부터 배추 재배지를 중심으로 *P. brassicae*에 의한 배추 뿌리 혹병이 전국적으로 확산되고 있는데 (Kim 등, 2002), 배추 뿌리 혹병 피해를 줄이고 안정적인 생산을 위하여 fluazinam, flusulfamide, cyazofamid와 같은 화학적 방제가 많이 이용되었다(Mitani 등, 2003; Shimotori 등, 1996). 이러한 토양 살균제는 정식전 전면 토양 혼화 처리나 정식 시 관주처리를 통하여 *P. brassicae*에 의한 오염 및 배추 뿌리혹병 발생에 영향을 준 것으로 생각된다. 이 과정에서 토양 소독제의 관행적인 연용으로 인하여 토양내 *P. brassicae*의 병원균의 생존 여부 혹은 밀도 저하로 인하여 뿌리혹 발생 피해가 줄어들기 때문에 토양내 *P. brassicae*와 재배 중인 배추의 뿌리혹 발생 정도 간의 상호 간의 비교 실험에서 일치하는 결과를 얻기 어렵다. 향후 배추 산지 토양을 수집하여 지표 식물을 이용한 병 발생과 PCR 진단 간의 비교 실험을 수행하여 어느 정도 차이가 발생하는지에 대한 정량적 해석이 필요하다.

이상의 결과에서 가을 배추 재배 산지내 *P. brassicae*에 의한 토양 오염 정도가 확인되었다. 재배농가 입장에서는 배추 뿌리 혹병의 방제가 어렵고 이에 따른 비용 부담이 큰 만큼 토양내 *P. brassicae*에 대한 오염 여부를 매년 조사하고 이를 토대로 토양 살균 여부를 결정하는 기초 자료로 활용한다면 유용할 것으로 생각된다. 아울러 배추 재배지의 *P. brassicae* 감염 경로 추적 및 확산 여부를 판단하는 자료로 활용할 수 있을 것으로 보인다.

요 약

본 연구는 가을 배추 산지로 알려진 지역의 토양내 *P. brassicae*의 오염 조사를 통하여 배추 뿌리혹병 방제의 기초 기술을 확립하고자 수행하였다. 배추와 작물에 뿌리 혹을 유발하는 *P. brassicae*를 검출하기 위한 PCR primer를 개발하였다. PbbtgF761과 PbbtgR961의 primer 세트는 *P. brassicae*에 특이적인 245 bp 크기의 밴드를 증폭하였다. 가을 배추 재배지로 알려진 해남군은 33곳 중 10곳, 영암군 및 영광군은 13곳 중 5곳, 고창군은 6곳 중 1곳, 홍성군은 12곳 중 2곳, 당진시는 17곳 중 5곳이 *P. brassicae*에 오염된 것으로 나타났다. 토양내 *P. brassicae*에 의한 오염률 조사에서 해남군 30.3%, 영암군 및 영광군 38.5%, 고창군 16.7%, 홍성군 16.7%, 당진시 29.4%로 나타났다. 배추 뿌리혹이 육안으로 확인된 6곳은 PCR 검정에서 토양내 *P. brassicae*를 100% 확인할 수 있었다. 따라서 토양내 *P. brassicae*의 오염을 PCR 진단을 통해 화학적 방제여부를 결정하는 지표로 활용할 수 있을 것이다.

References

- Buczacki, S. T. and Ockendon, J. G. 1979. Preliminary observations on variation in susceptibility to clubroot among collections of some wild Crucifers. *Ann. Appl. Biol.* 92: 113–118.
- Choi, G. J., Jang, K. S., Kim, J. C., Lim, H. K., Chun, S. J., Kim, D. S. and Cho, K. Y. 2005. Control efficacy of ethaboxam on Chinese cabbage clubroot caused by *Plasmodiophora brassicae*. *Korean J. Pestic. Sci.* 9: 81–87. (In Korean)
- Dixon, G. R. 2009. The occurrence and economic impact of *Plasmodiophora brassicae* and clubroot disease. *J. Plant Growth Regul.* 28: 194–202.
- Dobson, R., Gabrielson, R. L. and Baker, A. S. 1982. Soil water matric potential requirements for root-hair and cortical infection of Chinese cabbage by *Plasmodiophore brassicae*. *Phytopathology* 72: 1598–1600.
- Feng, J., Xiao, Q., Hwang, S. F., Stephen, E. S. and Bruce, D. G. 2012. Infection of canola by secondary zoospores of *Plasmodiophora brassicae* produced on a nonhost. *Eur. J. Plant Pathol.* 132: 309–315.
- Ingram, D. S. and Tommerup, L. C. 1972. The life history of *Plasmodiophora brassicae* Woron. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 180: 103–112.
- Ito, S., Ichinose, H., Yanagi, C., Tanaka, S. and Kameya-Iwaki, M. 2001. Identification of differentially expressed genes in susceptible and resistant responses of Chinese cabbage to *Plasmodiophora brassicae*. *Phytopathology* 149: 227–231.
- Jang, S. J., Heo, S. H., Jang, C. S., Kang, S. W., Lim, Y. P. and Kim, H. G. 2007. Races and dominant population of Chinese cabbage clubroot pathogen *Plasmodiophora brassicae* in Korea. *Res. Plant Dis.* 13: 45–49. (In Korean)
- Jung, J. M., Yoon, B. K., Kim, H. J., Seo, Y. W., Yang, S. K. and Choi, K. J. 2007. The effects on resources of soil amendment matters friendly-environment on the marketing for agriculture of Chinese cabbage. *J. Korean Bio-Environ. Cont.* 16: 276–281.
- Kang, J. H., Kim, B. H., Lee, S. E., Kim, Y. J., Lee, J. W., Park, Y. M. and Ahn, S. C. 2005. Improved genomic DNA isolation from soil. *J. Life Sci.* 15: 851–856.
- Karling, J. S. 1968. The Plasmodiophorales. Hafner Publishing Company. New York. 256 pp.
- Kim, C. H., Cho, W. D. and Yang, J. M. 1999. Effects of temperature, soil moisture, soil pH and light on root gall development of Chinese cabbage by *Plasmodiophora brssicae*. *Plant Dis. Agric.* 5: 84–89.
- Kim, C. H., Cho, W. D. and Kim, H. M. 2000. Some environmental factors affecting decay of root galls in club root disease of Chinese cabbage. *Korean J. Pestic. Sci.* 4: 61–65.
- Kim, S. M., Choi, H. J., Kim, H. Y., Lee, D. K., Kim, T. H., Ahn, M. S. and Hur, J. H. 2002. Survey on pesticide use by Chinese cabbage growers in ganawon alpine farmland. *Korean J. Pestic. Sci.* 6: 250–256. (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)
- Lee, C. S. 2004. Actual condition survey of farms of summer Chinese cabbage on highland. *Korean Soc. Soil & Sci. Fert.* 18: 9–15. (In Korean)
- Lee, S. B. and Taylor, J. W. 1990. Isolation of DNA from fungal mycelia and single spores. In: PCR protocols, A guide to methods and applications, ed. by M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky and T. J. White, pp. 282–287. Academic Press, Sandiego.
- Mattush, P. 1977. Epidemiology of clubroot of crucifers caused by *Plasmodiophora brassicae*. In: Woronin 100 International Conference on Clubroot, ed. by S. T. Buczacki and P. H. Williams, pp. 22–28, Univ. of Wisconsin, Madison, WI, USA.
- Mitani, S., Sugimoto, K., Hayashi, H., Takii, Y., Ohshima, T. and Matsuo, N. 2003. Effects of cyazofamid against *Plasmodiophora brassicae* Woronin on Chinese cabbage. *Pest Manag. Sci.* 59: 287–293.
- Park, S. Y., Yoon, M. K. and Lee, Y. P. 2011. Development of clubroot race4 resistant inbreds using conventional breeding and microspore culture method in Chinese cabbage. *CNU J. Agri. Sci.* 38: 613–618.
- Shimotori, H., Yanagida, H., Enomoto, Y., Igarashi, K., Yoshinari, M. and Umemoto, M. 1996. Evaluation of benzenesulfonanilide derivatives for the control of Crucifers clubroot. *J. Pesticide Sci.* 21: 31–35.
- Statistics Korea (KOSTAT). 2013. Korean agricultural statistics survey. <http://kostat.go.kr>
- Takahashi, K. 1994. Influences of some environmental factors on viability of resting spores of *Plasmodiophore brassicae* wor. incubated in sterile soil. *Ann. Phytopath. SPC. Jpn.* 60: 658–666.
- Vaughan, J. G. 1977. A multidisciplinary study of the taxonomy and origin of *Brassica* crops. *Bioscience* 27: 35–40.
- Voorrips, R. E. 1996. Clubroot in the cole crops: the interaction between *Plasmodiophora brassicae* and *Brassica oleracea*. Thesis Wageningen.
- Yeates, C., Gillings, M. R., Davison, A. D., Altavilla, N. and Veal, D. A. 1998. Methods for microbial DNA extraction from soil for PCR amplification. *Biol. Proced. Online* 14: 140–147.
- Zhou, J., Bruns, M. A. and Tiedje, J. M. 1996. DNA recovery from soils of diverse composition. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 316–322.