

## 생강연작재배지에서 *Pythium zingiberum* 경감을 위한 녹비작물 재배효과

정유진<sup>1,2</sup>, 노일섭<sup>3</sup>, 김용권<sup>4</sup>, 강권규<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>한경대학교 원예학과, <sup>2</sup>한경대학교 유전공학연구소, <sup>3</sup>순천대학교 원예학과 <sup>4</sup>신경대학교 생명공학과

## Effect of Green Manure Crops Incorporation for Reduction of *Pythium zingiberum* in Ginger Continuous Cultivation

Yu Jin Jung<sup>1,2</sup>, Il Sup Nou<sup>3</sup>, Yong Kwon Kim<sup>4</sup> and Kwon Kyoo Kang<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Horticulture, Hankyong National University, Ansong 456-749, Korea

<sup>2</sup>Institute of Genetic Engineering, Hankyong National University, Ansong 456-749, Korea

<sup>3</sup>Department of Horticulture, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

<sup>4</sup>Department of Life Science & Biotechnology, Shingyeong University, Hwaseong 445-741, Korea

**Abstract** - This experiment was carried out to evaluate the effects of green manure crops on the changes of chemical properties and microorganisms in soil of continuous ginger cultivation. The biomass and nitrogen absorption of green manure crop were the highest in crimson clover. After cropping, soil phosphate content was the lowest in orchard grass, however, T-N content was the highest of hairy vetch > crimson clover > orchard grass. Also real-time PCR analysis was conducted to measure density of *Pythium zingiberum* in soil of before and after incorporation of green manure crop. Density of *P. zingiberum* was the lowest of all the green manures. In this results are summarized that green manure cropping reduced salt accumulation and density of *P. zingiberum* in continuous ginger cultivation.

**Key words** - Green manure, Continuous ginger cultivation, *Pythium zingiberum*, Salt accumulation, Soil microorganisms

### 서 언

최근의 농업은 생산 환경의 중요성과 함께 단위면적당 생산량을 높이고 고소득을 목표로 하고 작물의 선점이 중요한 과제로 남아있다. 따라서 농가에서는 생산성을 증대시키기 위해 많은 퇴비와 비교적 저렴하고 양분의 이용률이 높은 화학비료를 사용하고 있다. 그러나 화학비료의 지속적 사용은 토양 환경의 질을 악화시키는 원인이 될 뿐만 아니라 토양 생물성을 해칠 수 있다(Tang *et al.*, 2008). 건전한 토양은 유용미생물의 밀도, 생물량, 효소활성 등의 상호작용에 의해 토양 내 원활한 물질순환이 진행되어 유기물 함량을 증가시킨다고 보고된 바 있다(Tate, 1995). 이러한 면에서 화학비료의 사용량을 줄이면서 토양비옥도를 높이고 작물의 품질을 향상시킬 수 있는 수단으로 녹비를 활용하는 방법이 연구되고 있다(Jeon *et al.*, 2010; Kim *et al.*,

2011). 대부분의 채소작물은 시설재배를 제외하고는 겨울용 녹비작물인 호밀과 헤어리베치를 많이 활용한다는 보고가 있으며, 다년간 재배하거나 녹비를 토양에 환원하였을 경우 지력개선 효과와 함께 토양의 물리성과 화학성의 개선으로 채소작물에 발생하는 병원성도 감소시킬 수 있다고 보고되었다(Kim *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2006). 생강은 농가 소득에 기여도가 높은 환금작물로 우리나라에서는 충남 서산, 태안 및 전북 완주 지역 등지에서 재배되고 있다. 그러나 생강이 고소득 채소임에도 불구하고 진균, 세균 및 바이러스를 포함하여 12종의 병해가 기록되고 있으며(한국 식물병리학회, 1998), 이 중에서 가장 큰 피해를 주는 병해는 *Pythium myriotylum* (유사종: *P. zingiberum*)에 의한 뿌리썩음병(근경부패병)으로 해마다 발생하여 큰 피해를 주고 있어 생강생산의 가장 큰 제한 요인이 되고 있다(농촌진흥청, 1998). *P. myriotylum* 병원균은 대부분 토양 속에서 생활하는 토양 서식균으로 균사편, 난포자, 피낭포자의 형태로 유행

\*교신저자(E-mail) : kykang@hknu.ac.kr

하여 이듬해 고온다습한 환경에서 병원균이 발아하여 유주자낭을 형성하고, 이 유주자들이 수분의 경로를 따라 생강으로 침입한다고 보고되고 있다(Kim *et al.*, 1998). 최근 들어 농업생산 환경의 중요성이 부각되면서 토양 미생물의 기능과 집적된 양분이 환경으로 유출될 수 있는 가능성을 평가하고 2차 오염을 방지하는 것이 중요하게 되었다(Cho *et al.*, 2002; Tang *et al.*, 2008). 건전한 토양은 경작지 내 미생물 군집의 다양성과 관련되어 있으며 미생물의 밀도, 생물량, 효소활성 등과 밀접한 관계가 있고(Cheng, 1990; Lee *et al.*, 2011), 토양 내 원활한 물질순환이 진행되고, 이 과정 모두 토양미생물이 관여하고 있다(Munnecke *et al.*, 1982; Tate, 1995). 논에서 녹비작물 재배는 토양의 유기물함량을 증가시켜 토양 미생물 밀도를 증가시킨다(Pollock *et al.*, 2008; Pretty, 2008; Zhao *et al.*, 2008; Lee and Lee, 2011). Suh (1998)의 연구결과에 따르면 토양과 작물 근계에는 수십만 종의 미생물이 군집을 이루면서 서로 경쟁, 보완 및 공생 등의 상호 관계를 이루면서 살아가고 있다. 이들 미생물 군집은 토양의 물리화학적 성질과 밀접한 관계를 맺고 있으며 미생물의 에너지원을 공급하는 유기물 함량과도 상관관계가 높은 것으로 알려져 있다. 특히 작물의 잔사나 토양 유기물의 저장은 토양의 물리적 특성 변화에 영향을 주며(Carter, 2002), 토양병해를 감소시키는 효과가 있다(Pedersen and Hughes, 1992; Scholte, 1987).

생강주산지인 서산지역은 1930년부터 재배되면서 연작 등에 의해 뿌리썩음병의 발생이 증가되고 있으며, 종강 소독뿐만 아니라 화학적 방제를 통해 토양 내 뿌리썩음병원균의 발생을 경감시키려는 노력을 하고 있다. 따라서 본 연구에서는 몇몇 녹비작물을 생강연작지에 적용하여 토양 화학성 변화 및 토양 내 뿌리썩음병원균의 경감 효과를 분석하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 시험포장

본 연구는 충청남도 서산시 인지면에 위치한 생강 연작 농가 포장에서 2년(2010년~2011년)에 걸쳐서 수행되었으며, 총 두 차례의 결과 수치를 평균하여 나타내었다. 시험에 사용된 공시토양의 화학적 조성은 pH 6.8, 전기전도도(Electrical conductivity, EC) 1.95 dS m<sup>-1</sup>, 토양유기물(Organic matter, OM) 함량 17.0 g·kg<sup>-1</sup>, 총 질소(Total-nitrogen) 함량 0.98 g·kg<sup>-1</sup>, 유효인산(Available phosphorus) 함량 559.5 mg·kg<sup>-1</sup>, 치환성 칼륨(Exchangeable potassium) 함량 1.2 cmol<sub>c</sub>·kg<sup>-1</sup>, 치환성 칼슘

(Exchangeable calcium) 함량 7.4 cmol<sub>c</sub>·kg<sup>-1</sup>, 치환성 마그네슘(Exchangeable magnesium) 함량 2.0 cmol<sub>c</sub>·kg<sup>-1</sup>, 치환성 나트륨(Exchangeable sodium) 1.2 cmol<sub>c</sub>·kg<sup>-1</sup>의 분포를 보였다.

### 녹비작물재배 및 식물체 분석

본 실험에 사용된 녹비 작물은 콩과 작물인 헤어리베치와 크립손클로버, 화본과 작물인 오차드글라스 등 3종이고 녹비 처리구, 대조구(무처리), 관행처리구로 설정하였다. 생강 연작재배지에서 각 처리구별 녹비작물 파종은 2월초에 10a당 10~14 kg을 파종하였고, 예취 및 환원 시기는 4월 20일 이후 생초 2,000~2,500 kg 10a<sup>-1</sup>를 건조 후 살포 하였다. 식물체 분석은 각 처리구별 식물체의 지상부와 지하부를 채취하여 80°C에 48시간 동안 건조하고 무게를 측정하였고, 식물체의 질소함량은 Kjeldhal (1883) 방법으로 측정하였다. 녹비작물의 양분공급량은 각 녹비작물의 T-N, T-P, K, Ca 및 Mg 함량과 생체중량을 고려하여 계산하였으며, 나온 결과를 N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, K<sub>2</sub>O, CaO 및 MgO의 비료공급 형태로 환산하였다. 녹비작물 토양환원 후 생강의 특성은 대조구와 녹비작물 처리구에서 10월 20일에 생강의 지상부, 지하부 및 종강 무게 등을 조사하였다.

### 토양 이화학분석

각각의 시험구내 다섯군데 작토(깊이 0~20 cm)로부터 채취한 토양은 식물 잔여물을 제거하고, 건조한 후에 2 mm 체를 통과한 것을 화학성분 분석에 사용하였다. 화학성분 분석은 농촌진흥청 농업과학기술원 토양 분석법(NIAST, 2000)을 적용하여 pH와 EC는 토양과 증류수의 비율을 1:5로 희석한 후 pH meter (Orion 520A pH meter, Orion Research Inc., Boston, USA)와, EC meter (Orion 3STAR EC meter, Orion Research Inc., Boston, USA)로 측정하였다. T-N은 Kjeldhal (1883) 방법으로, NH<sub>4</sub>-N은 건토 5 g을 0.5M K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 50 ml로 용액으로 침출 후 MgO로 알카리화하여 증류법으로 정량하였으며, NO<sub>3</sub>-N은 NH<sub>4</sub>-N을 정류 후 devarde's alloy를 가하여 NO<sub>3</sub>-N을 NH<sub>4</sub>-N로 전환시켜 증류법으로 정량, 유기물은 Tyurin (1931) 방법으로 측정하였으며, 유효인산은 Lancaster 방법으로 비색계(UV-1650PC, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 사용하였다. 치환성 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 나트륨 등의 양이온은 1M NH<sub>4</sub>OAc로 추출하여 ICP (DV-4300, Perkin-Elmer, Norwalk, USA)로 분석하였다. 식물체 분석은 습식분해법(H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:HClO<sub>4</sub>=1:1)으로 전처리하여 T-N은 Kjeldahl법(질소자동분석기, Gerhardt auto-sampler Vapodest 50 carouse, Germany)으로 분석하였고, T-P

는 Vanado molybdate법(UV2550PC, Perkinelmer)을 사용하였다. 무기성분 함량은 습식분해법으로 분해된 용액을 ICP (DV-4300, Perkinelmer)를 사용하여 각각 분석하였다(NIAST, 2000). 또한 분석된 토양 화학성은 SAS 프로그램 9.1.3 버전 (2006)을 사용하였다.

### 생강 재배지 토양으로부터 total DNA 추출

생강 재배지 토양으로부터 토양 샘플 5 g씩을 2일 동안 건조 후 분쇄하여 Takada 등의 bead beating 방법(Takada and Matsumoto, 2004)에 DNA 직접추출과정 중 skim milk가 첨가되어 토양 DNA안의 부식산 제거 효과가 탁월 하다고 밝혀진 ISOIL kit를 이용하여 부식층에서 채취한 시료로부터 total DNA를 추출하였다. 토양시료 0.5 g을 ISOIL kit (Nippon Kit co., Japan) 매뉴얼에 따라 lysis solution BB 950  $\mu$ l를 첨가하여 bead beater (Fast prep, Inc., Funakoshj. Japan)로 6 m/sec, 45초간 처리하고, 60°C에서 1시간 동안 반응시킨 후 10,400  $\times$  g에서 1분 동안 원심분리하였다. 상등액에 purification solution 400  $\mu$ l를 첨가하고 섞어준 후 600  $\mu$ l chloroform을 첨가하고 15초간 vortex한 후 10,400  $\times$  g에서 15분간 원심 분리하였다. 분리된 상등액에 precipitation solution 800  $\mu$ l를 첨가하여 혼합한 후 12,000  $\times$  g에서 15분간 원심분리하여 상등액을 제거하였다. 침전물에 washing solution 1 ml를 넣은 후 12,000  $\times$  g에서 10분간 원심 분리하였고 상등액을 제거하고 70% ethanol 1 ml와 ethachinmate 2  $\mu$ l를 첨가하여 12,000  $\times$  g에서 원심분리한 후 DNA pellet을 얻었다. DNA pellet을 진공건조(Micro Vac MV-100, TOMY)하고 100  $\mu$ l의 TE buffer를 첨가하여 전기영동(Mupid-21, Gel documentation system, Bio-Rad)을 통해 DNA를 확인하였으며, spectrophotometer (UV-1650PC, SHIMAZU)로 농도를 확인하고 흡광도  $A_{260}/A_{280}$ 비를 계산하여 순도를 측정하였다.

### 5.8S rDNA의 PCR 증폭 및 RT-PCR에 의한 토양 내 균의 밀도분석

생강 뿌리썩음병을 유발하는 *Pythium myriotylum*균의 5.8S rDNA를 증폭하기 위하여 NCBI data base로부터 5.8S rDNA (AJ233465) conserved sequence를 기초로 하여 5.8F (5'-acctctattggcggatgtt-3') primer와 5.8R (5'-ccaagagcagcaaaattcta-3') primer를 합성하여 이용하였다. PCR 조건은 1 $\times$  PCR buffer, 0.2 mM dNTPs, 0.2  $\mu$ M primer, 2.5 U *Taq* DNA polymerase(Solgent co., Korea), template는 10~50 ng으로

하였다. 반응 부피는 50  $\mu$ l로 핵산증폭기(GeneAmpR PCR System 9700, Applied Biosystems)를 이용하여 94°C에서 5분간 반응한 다음 94°C에서 denaturation 1분, 58°C에서 annealing 30초, 72°C에서 extension 1분을 30회 반복하고 72°C에서 10분간 final extension 반응시켰다. PCR 증폭산물은 1% agarose gel에서 전기영동(Mupid-21, Gel Documentation system, Bio-Rad)하여 증폭 여부를 확인하였다. 확인된 토양 샘플로부터 뿌리썩음병 균의 밀도는 토양균 유래 total DNA를 사용하여 real-time PCR 분석하였다. Real-time PCR을 이용한 5.8S rDNA의 standard curve를 얻어내기 위해 5.8S rDNA량을 나노드롭으로 1 ng부터 0.01 pg까지 serial dilution하여 반응시료를 조성하고 qualitative PCR의 결과에서 얻은 최적 PCR 조건으로 반응을 수행하여 standard curve를 얻어냈다. Qualitative PCR에서 얻은 최적 PCR 조건은 94°C에서 15초간 반응한 다음 94°C에서 denaturation 15초, 60°C에서 annealing 15초, 72°C에서 extension 15초를 45회 반복하였다. Cycling step에서 polymerization 후, 490 nm excitation/530 nm emission으로 700 msec 동안 sybr green의 형광값을 측정하였다. Post-polymerization은 수행하지 않았으며, cycling이 완결된 후, 45~94°C까지 초당 0.5°C씩 온도를 증가시키며 형성된 PCR 산물의 Tm 분석을 수행하여 PCR product의 동일성 여부를 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 녹비작물의 Biomass와 성분특성

생강연작지에서 녹비작물에 따른 녹비 수량성을 조사한 결과 Table 1과 같다. 녹비작물의 초장은 헤어리베치가 107.5 cm로 가장 길었으며, 생체중은 크립손클로버가 4,199 kg/10a로 가장 높게 나타났으며, 지상부의 건물중은 크립손클로버가 502 kg/10a로 가장 높게 나타났다.

또한 녹비작물 종류에 따른 식물체중의 성분함량을 지상부 및 뿌리를 나누어 분석한 결과 Table 2와 같다. 지상부의 T-N율에서는 크립손클로버에서 가장 높게 나타났으며, 지하부에서는 헤어리베치에서 높게 나타났다. P, K, Ca 및 Mg의 함량에서 지상부는 크립손클로버 > 오차드그라스 > 헤어리베치 순으로 나타났으나, 지하부에서는 오차드그라스 > 크립손클로버 > 헤어리베치 순으로 나타났다.

또한 생강연작재배지 토양에서 생육된 녹비작물의 토양환원시 양분공급량을 조사한 결과 Table 3과 같다. 지상부의 건물중 대비 인( $P_2O_5$ )공급량은 크립손클로버가 2.45 kg/10a, 오차드글

Table 1. Growth characteristics of green manure crops

Green manure crops	Plant heights (cm)	Fresh weights (kg/10a)			Dry weights (kg/10a)
		Underground parts	Aerial parts	Total	
Hairy vetch	107.5 ± 9.8	213 ± 12	1,727 ± 129	1,940 ± 141	262 ± 18
Crimson clover	59.8 ± 6.6	694 ± 9.0	3,505 ± 168	4,199 ± 177	502 ± 26
Orchard grass	78.7 ± 9.2	865 ± 9.0	2,182 ± 176	3,047 ± 185	348 ± 24

Table 2. Constituent analysis of green manure crops

Green manure crops	Aerial parts (g/kg)					Underground parts (g/kg)				
	T-N	P	K	Ca	Mg	T-N	P	K	Ca	Mg
Hairy vetch	18.4	3.3	20.8	6.9	2.7	19.5	5.3	17.9	18.6	4.1
Crimson clover	26.8	4.9	43.4	14.8	6.4	17.0	5.9	21.8	16.8	5.9
Orchard grass	24.8	5.3	45.1	9.9	5.5	19.0	6.5	17.6	19.1	4.9

Table 3. Nutrient contribution of green manure crop in ginger continuous cultivation

Green manure crops	Dry weights (kg/10a)	Nutrient contribution (kg/10a)				
		N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	CaO	MgO
Hairy vetch	262	4.82	0.86	5.44	1.80	0.70
Crimson clover	502	13.45	2.45	21.72	7.42	3.21
Orchard grass	348	8.63	1.84	15.69	3.44	1.91

라스가 1.84 kg/10a 헤어리베치가 0.86 kg/10a였다. 칼륨(K<sub>2</sub>O) 공급량은 크림손클로버가 21.72 kg/10a, 오차드글라스가 15.69 kg/10a 헤어리베치가 5.44 kg/10a였다. CaO 공급량은 크림손클로버가 7.42 kg/10a, 오차드글라스가 3.44 kg/10a 헤어리베치가 1.80 kg/10a였다. 지금까지 몇몇 연구자들은 양분공급에 있어서 녹비작물 종류 및 녹비작물 혼파비율이 중요한 영향을 미친다고 보고한 바 있다(Jeon *et al.*, 2011, 2012). 본 연구에서 크림손클로버의 양분공급은 같은 두과 작물인 헤어리베치보다 월등히 좋은 결과를 보여 주었다. 따라서 헤어리베치, 크림손클로버 및 오차드글라스의 혼파비율을 설정한다면 양분공급효과는 증대될 수 있을 것으로 판단되며, 과잉으로 공급되는 K와 같은 성분들을 감소할 수 있을 것으로 판단된다.

**녹비 환원 후 생강재배 토양 화학성**

생강 연작지에서 헤어리베치, 오차드그라스, 크림손클로버를 파종하여 80일 동안 재배 후 토양 화학성 변화를 조사한 결과는 Table 4와 같다. 토양의 pH 및 EC는 녹비작물을 환원한 토양의 모든 처리구에서 감소하는 경향을 보였으며, 특히 크림손클로버에서 가장 낮게 나타났다. 흔히 작물을 연작하였을 경우 이온의 불균형과 과다이온의 존재에 의한 이온 독성 발현과 타 유

효이온의 흡수를 저해하여 작물의 생육장해를 유발할 수 있다고 보고된 바 있는데(Chang and Drengé, 1955; Cho *et al.*, 2006), EC가 높아지면 뿌리에서 토양수 이용률을 저하시켜(Bernstein, 1975) 작물의 생육에 막대한 영향이 있다고 하였다. 생강연작 재배지의 연작장해 경감을 위해 크림손클로버, 헤어리베치 및 오차드글라스와 같은 녹비작물의 시용이 토양의 EC를 경감시킬 수 있는 방안이라 판단된다. 또한 유기물의 함량은 녹비작물 처리구가 처리전 토양(대조구)에 비해 증가하는 경향이었으며, 녹비작물 처리구별 유기물 함량의 증가량은 헤어리베치구(2.2 g/kg) > 크림손클로버구(1.7 g/kg) > 오차드글라스구(0.2 g/kg) 순이었다. Cho *et al.* (2003)은 토양에 녹비작물들과 같은 신선한 유기물이 가해지면 미생물들은 이를 분해하여 탄소는 에너지원으로 섭취하고, 질소는 영양원으로 섭취하여 세포구성에 이용하게 된다고 하였다. 따라서 유기질이 분해되기 위해서는 토양유기물중 탄소와 질소가 미생물의 생육에 직접 관계하여 분해속도를 결정하게 된다. 본 실험에서 헤어리베치 및 크림손클로버에서 비교적 유기물의 함량이 오차드글라스 보다 증가된 것은 토양에 혼입된 유기질들이 미생물의 생육이 빨라 분해속도가 높아진 것 때문으로 생각되어진다. T-N 함량은 녹비를 토양에 환원한 후 모든 녹비 처리구가 처리전 토양(대조구)에 비해

Table 4. Chemical properties in soil after incorporation of green manure crops

Treatment plots	pH	EC	OM	T-N	Avail. P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K	Ca	Mg	Na
	1:5	ds m <sup>-1</sup>	g kg <sup>-1</sup>	g kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>	Exchangeable (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )			
Soil of continuous cropping (SCC)	6.6	1.95	17.0	0.98	559.5	1.24	7.41	2.01	1.22
Hairy vetch	6.5	1.90	19.2	1.32	673.3	1.27	7.52	2.11	1.32
Crimson clover	6.3	1.89	18.7	1.28	598.2	1.23	7.57	2.09	1.27
Orchard grass	6.4	1.91	17.4	1.18	566.8	1.34	7.49	2.08	1.29

Table 5. Growth and yield characteristics of ginger after treatment green manure crops in soil

Treatment plot	Plant height (cm)	Aerial parts (cm)	Roots (cm)	Rhizomes weight (g/m <sup>2</sup> )
Soil of continuous cropping (SCC)	52.30	47.87	4.43	53.79
Hairy vetch	66.65	60.97	5.68	90.07
Orchard grass	64.05	58.47	5.59	78.33
Crimson clover	62.13	56.79	5.35	56.88

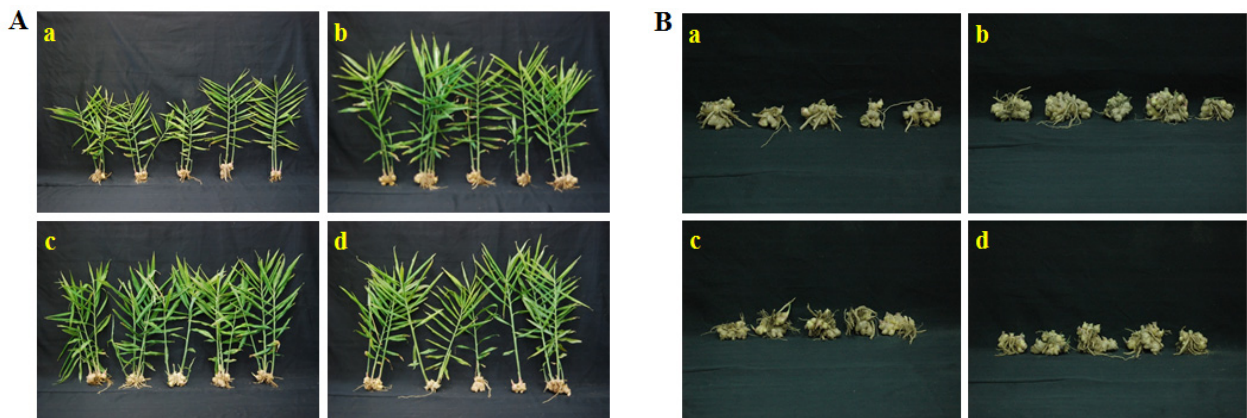


Fig. 1. Growth and yield of ginger in soils of continuous cropping (Seosan city, Chungnam). a; control, b; Hairy vetch, c; Orchard grass, d; Crimson clover.

증가하는 경향을 보였다. 녹비작물 중에서 두과 녹비는 공중질소를 고정하는 능력이 있어 토양에 환원시킨 후에 분해속도가 화분과 녹비에 비해 질소함량이 증가한다고 알려져 있다(Sung *et al.*, 2008, Sarrantonio and Scott, 1988; Jeon *et al.*, 2011). 본 연구에서도 두과인 헤어리베치와 크림손클로버가 화분과인 오차드글라스 보다 질소 함량이 높게 나타났다. 또한 생강연작재배지에서 녹비작물의 토양 환원 후 토양의 양이온 중 K의 함량은 오차드글라스구의 경우는 약간 증가하는 경향이었고, 헤어리베치와 크림손클로버에서는 거의 유사한 경향을 보였다. 무기성분 함량은 전반적으로 녹비작물 처리 전(대조구)에 비해 약간 증가하는 경향이였다.

### 후작물(생강) 생육특성

각 녹비작물의 토양 환원 후, 생강 생육특성을 조사한 결과 Table 5와 같다. 녹비작물 처리구는 대조구에 비해서는 우수한 생육을 보였다(Fig. 1). 특히 헤어리베치구에서 지상부 및 지하부의 생장이 가장 높게 나타났으며, 종강의 무게가 90.07g/lm<sup>2</sup>로 대조구에비해 70% 증수효과를 보였다. Kim *et al.* (2002)의 보고에 의하면 헤어리베치를 녹비로 투입하였을 경우 관행에 비해 m<sup>2</sup> 당 종강 수량이 60% 정도 증가되었으며, 풋내기 보리를 녹비로 사용하였을 경우 관행에 비해 수수의 수확량이 50%정도 증가되었다고 하였다(Sohn *et al.*, 2004). 이와 같이 녹비작물의 사용만으로도 생강의 생육에 일정부분 양분공급이 가능할 것

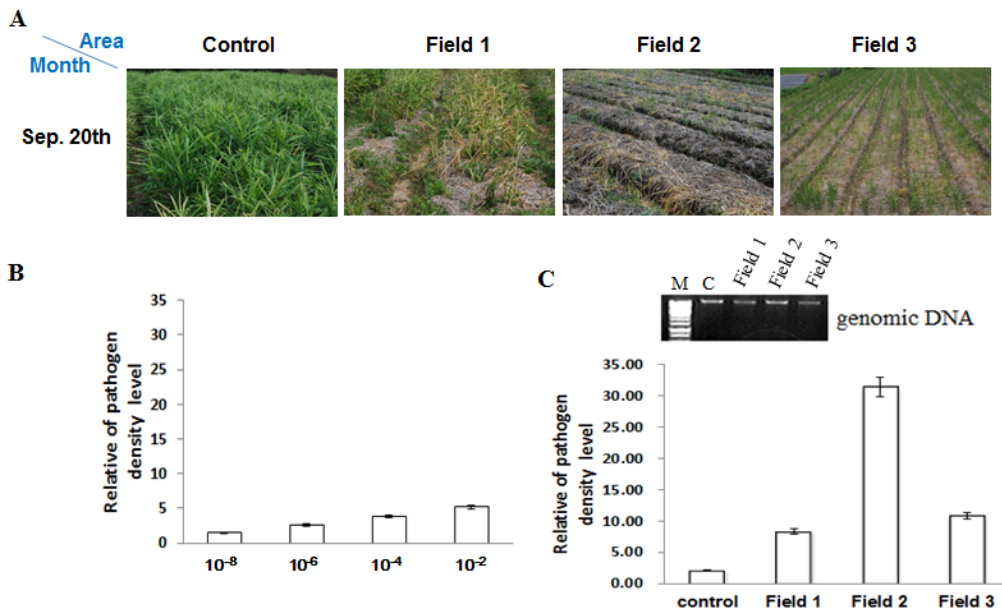


Fig. 2. Density analysis of *P. myriotylum* in ginger cultivation A; Soil of ginger cultivation, B; Standard pathogen density C; genomic DNA and realtime PCR analysis.

로 판단되며, 퇴비와 적절히 혼합 한다면 생강의 높은 생산성과 화학비료의 절감효과를 동시에 만족할 수 있을 것으로 사료된다.

**생강 연작재배지 토양에서 뿌리썩음병원균 밀도 경감 효과**

생강 연작재배지의 가장 큰 장애요인은 뿌리썩음병원균의 감염에 따라 생강생산에 막대한 영향을 주고 있다(농촌진흥청 1998). 따라서 본 연구에서는 생강의 뿌리썩음병의 밀도를 분석하기 위해 우선 충남 서산의 생강 연작지 3개소의 토양샘플을 채취하여 토양 내 genomic DNA를 추출한 후 real-time PCR 분석을 이용하여 뿌리썩음병원균(*P. myriotylum*)의 밀도 분석한 결과 Fig. 2와 같다. Real-time PCR을 이용한 5.8S rDNA의 standard curve를 얻어내기 위해 5.8S rDNA량을 나노드롭으로 1 ng부터 0.01 pg까지 serial dilution하여 반응시료를 조성하고 qualitative PCR의 결과에서 얻은 최적 PCR 조건으로 반응을 수행하여 standard curve를 얻어냈다(Fig. 2B). 연작하지 않고 뿌리썩음 병원균의 발생도 거의 없는 control 토양에 비하여 연작장해가 심하게 발생한 Field 1, 2, 3 토양에서는 뿌리썩음 병원균의 밀도가 Field 1의 8 level에서 높게는 Field 2에서 30 level 까지 높게 나타났다. 실험 재배지에서 병원균의 피해를 가장 많이 받은 처리구에서 토양 내 *P. myriotylum*의 밀도가 높게 나타났음을 알 수 있었다. 따라서 병 발생은 재배환경에서 발생하는 토양 내 균의 밀도와도 밀접한 관련이 있음을 추측할 수 있었고, 이러한 결과를 바탕으로 녹비작물 처리한 토양에서 뿌

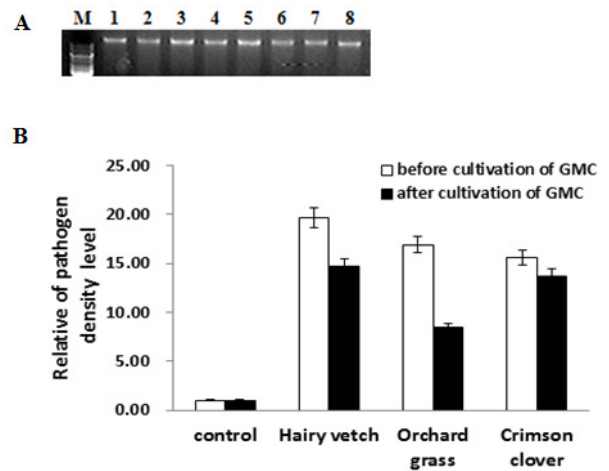


Fig. 3. Real-time PCR analysis for density of ginger rhizomes (*Pythium zingiberum*) from experimental soil. A, Gel electrophoresis of gDNA in soil. M: 1kb DNA ladder, Lanes 1~8: gDNA in soil samples from different green manure crops, lane 1~2; control, lane 3~4; Hairy vetch, lane 5~6; Orchard grass, lane 7~8; Crimson clover, B, Change of ginger rhizomes (*Pythium zingiberum*) density in soil before/ after incorporation of green manure crop.

리썩음 병원균 밀도를 분석한 결과 Fig. 3과 같다. 헤어리베치, 오차드그라스와 크림손클로버에서 대조구에 비해 병원균의 밀도가 각각 감소하였고, 그 중 화분과 작물인 오차드그라스에서 가장 많은 감소효과를 나타내었다(Fig. 3B). 뿌리썩음 병원균

은 토양 내에 균사절편, 팽윤 균사편, 난포자, 혹은 피낭포자의 형태로 존재하여 토양의 한곳에 모여 있기보다는 토양표면에 균등하게 분포한다고 하였다(Kim *et al.*, 1997). 따라서 적절한 녹비작물의 선택과 재배는 토양개량 효과로 인한 병원균의 밀도를 조금 감소시킬 수 있을 것으로 생각되며, 토양 내에  $1\sim 2 \times 10^2$  cfu/g 토양일 때 발병이 시작된다고 하였다(심 등, 2000). 따라서 본 연구의 결과에서 생강연작지 토양에 크림손클로버와 같은 녹비작물을 재배한다면 토양개량 효과를 가져와 배수가 양호하며, 토양 내 뿌리썩음 병원균의 밀도를 현저히 감소시켜, 친환경적 재배가 가능할 것으로 판단된다.

## 적 요

생강연작재배지 토양에 녹비작물의 재배가 토양 양분의 변화와 뿌리썩음병원균 경감효과를 알기위해 헤어리베치, 크림손클로버, 오차드글라스를 80일간 재배 후, 토양에 환원하여 토양분석 및 real-time PCR 분석한 결과는 다음과 같다. 녹비작물의 생육은 크림손클로버가 가장 좋았으며, 질수흡수량은 크림손클로버가 가장 높게 나타났으며, 토양의 인산함량은 오차드글라스가 가장 낮게 나타났다. T-N 함량은 헤어리베치 > 크림손클로버 > 오차드글라스 순으로 나타났다. 또한 토양 내 뿌리썩음 병원균 밀도분석을 위해 *Pythium zingiberum* 균 특이 5.8S rDNA를 이용하여 real-time PCR 분석한 결과 헤어리베치, 오차드그라스 및 크림손클로버 처리의 Ct값은 대조구보다 낮게 나타났다. 이상의 결과를 요약해볼 때 생강연작재배지에서 녹비처리 후 토양은 대조구에 비해 EC가 감소되고, 몇몇 무기성분은 증가하였으며, 뿌리썩음 병원균 밀도는 감소하였다.

## 사 사

이 논문은 농촌진흥청의 연구비 지원(PJ007358)에 의해 이루어진 결과로 이에 감사드립니다.

## References

Bernstein, L. 1975. Effects of salinity and sodicity on plant growth, *Ann. Rev. of Phytopathology* 13:295-312.  
 Carter, M.R. 2002. Soil quality for sustainable land management: organic matter and aggregation interaction that maintain soil functions. *Agron. J.* 94: 38-47.  
 Cheng, H.H. 1990. Pesticides in the soil environment; processes,

impacts and medeling. *Soil Sci. Soc. of America.* pp. 429-466.  
 Chang, C.W. and H.E. Drengel. 1955. The effect of exchangeable sodium on soil properties on growth and cation content of alfalfa and cotton. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 19:29-35.  
 Cho, K.R., C.S. Kang, T.J. Won and K.Y. Park. 2006. Effects of compressed expansion rice hull application and drip irrigation on the alleviation of salt accumulation in the plastic film house soil. *Korean J. Soil Sci. Fert.* 39(6):327-379.  
 Cho, J.Y., K.W. Han, J.K. Choi, Y.J. Kim and K.S. Yoon. 2002. N and P losses from a paddy field plot in central Korea. *Soil Sci. Plant Nutr.* 48:301-206.  
 Jeon, W.T., K.Y. Seong, M.T. Kim, G.J. Oh I.S. Oh and U.G. Kang. 2010. Change of soil physical properties by glomalin concentration and rice yield using difference green manure crop in paddy. *Korean J. Soil Sci. Fert.* 43(2):119-123.  
 Jeon, W.T., K.Y. Seong, M.T. Kim, I.S. Oh, B.S. Choi and U.G. Kang. 2011. Effect of biomass and N production by cultivation methods of Leguminous and Gramineae green mamure on rice growth in central regions of Korea. *Korean J. Soil Sci. Fert.* 44(5):853-858.  
 Jeon, W.T., K.Y. Seong, G.J. Oh, M.T. Kim, Y.H. Lee, U.G. Kang, H.B. Lee and H.W. Kang. 2012. Changes of biomass of green manure and rice growth and yield using leguminous crops and barley mixtures by cutting height at paddy. *Korean J. Soil Sci. Fert.* 45:192-197.  
 Kim, C.G., J.H. Seo, H.S. Cho, S.H. Choi and S.J. Kim. 2002. Effect of hairy vetch as green manure on rice cultivation. *Korean J. Soil Sci. Fert.* 35(3):169-174.  
 Kim, E.S. and Y.H. Lee. 2011. Response of soil microbial communities to applications of green manures in paddy at an early rice-growing stage. *Korean J. Soil. Sci. Fert.* Vol. 44(2):221-227.  
 Kim, C.H., S.S. Yang and K.D. Hahn. 1998. Effect of soil disinfection, fungicide application, and narrow ridge cultivation on development of ginger rhizome rot caused by *Pythium myriotylum* in fields. *Korean J. Plant Pathol.* 14(3):253-259.  
 Kim, C.H., S.S. Yang and K.D. Hahn. 1997. Ecology of ginger rhizome rot development caused by *Pythium myriotylum*. *Korean J. Plant Pathol.* 13(3):184-190.  
 Kjeldahl, J.Z. 1883. A new method for the determination of nitrogen in organic bodies. *Analytical Chemistry* 22:366.  
 Lee, B.H., J.W. Ahn, D.Y. Hwang, S.H. Oh, J.H. Kim, S.Y. Kim, Y.C. Ku and Z.R. Choi. 2006. Growth characteristics of six rice cultivars under rice-chinese milk vetch (*Astragalus sinicus* L.) cropping system. *Korean J. Crop Sci.* 51:84-91.

- Lee, Y.H. and S.T. Lee. Comparison of microbial community of orchard soils in gyeongnam province. Kor. J. Soil. Sci. Fert. 44:492-497.
- Munnecke, D.M., L.M. John, H.W. Talbot and S. Barik. 1982. Microbial metabolism and enzymology of selected pesticides: In Chakrabarty, A.M. (ed.), Biodegradation and Detoxication of Environmental Pollutants, CRC press, Boca Raton, FL (USA). 1-32.
- NIAST. 2000. Methods of soil and plant analysis. National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon, Korea.
- Pedersen, E.A. and G.R. Hughes. 1992. The effect of crop rotation on development of the septoria disease complex on spring wheat in SasKatchewan. Can. J. Plant Pathol. 14:152-158.
- Pollock, C., J. Pretty, I. Crute, C. Leaver and H. Dalton. 2008. Introduction sustainable agriculture. Philos Trans R. Soc. B. 363:445-446.
- Sarantonio, M. and T.W. Scott. 1988. Tillage effects on availability of nitrogen to corn following a winter green manure crop. Soil Sci. Soc. Am. J. 52:1661-1668.
- Scholte, K. 1987. The effect of crop rotation and granular nematicides on the incidence of *Rhizoctonia solani* in Potato. Potato Res. 30:187-199.
- Sohn, B.K., J.S. Cho, D.J. Lee, Y.J. Kim, S.Y. Jin and G.S. Cha. 2004. Paddy rice growth and yield as affected by incorporation of green barley and chinese milk vech. J. Korean Soc. Soil Sci. Fert. 37:156-164.
- Suh, J.S. 1998. Soil microbiology. Korean J. Soil Sci. Fert. 31(S):76-89.
- Tang, J., B. Zhang, C. Gao and H. Zepp. 2008. Hydrological pathway and source area of nutrient losses identified by a multi-scale monitoring in an agricultural catchment. Catena 72:374-385.
- Takada, H.Y. and N. Matsumoto. 2004. "An improved DNA extraction method using skim milk from soils that strongly adsorb DNA". Microbes Environ. 19:13-19.
- Tate, R. L. 1995. Soil microbiology. Energy Transformations and Metabolic Activities of Soil Microbes. John Wiley & Sons Inc. New York (USA). pp. 64-92.
- Tyurin, I.V. 1931. A new modification of the volumetric method of determining soil 344 organic matter by means of chromic acid. Pochvovedenie 5(6):36-47.
- Zhao, J., Q. Luo, H. Deng and Y. Yan. 2008. Opportunities and challenges of sustainable agricultural development in China. Philos Trans R. Soc. B. 363:893-904.
- 심형권, 이두구, 이용훈. 2000. 생강뿌리썩음병 생리생태 및 방제 연구. 호남농업시험장 시험연구보고서 pp. 367-379.
- 조성진, 박천서, 엄대익. 2003. 토양학. 향문사. 서울. pp. 137-143.
- 한국식물 병리학회. 1998. 한국식물병명목록. 제 3판. p. 436.

(Received 6 October 2014 ; Revised 11 February 2015 ; Accepted 10 April 2015)