

과제 구분	기관프로젝트	Code:LS060 3	수행구분	전반기	연구기관	'01 ~ '02(완결)
연구과제명	고랭지 농업 안정생산기술 개발			연구책임자	김 승 경	
연구항목명	무 위황병 발병생태 및 방제연구					
연구원별임무						
구 분	소 속	성 명	직 급	담 당 임 무		
세부과제책임자	환경농업연구과	김 성 일	지방농업연구사	연구계획, 수행, 총괄		
공동연구자	"	사 종 구	지방농업연구관	연구계획 및 협조		
색인 용어	무위황병, 후막포자, 길항미생물, 선택배지					

ABSTRACT

Fusarium wilt of radish caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani* and it alives for several years in soil as chlamydospore without host plant. Chlamydospore formation induced more effectively in soil extract than carbon source sufficient PDB or inorganic nutrient source added Joffe's broth. In artificial culture chlamydospore formation rate was 76.3% after 18 days. In 2000, the soil samples collected from disease developed and health upland counted the pathogen density. the pathogen density of diseased and health soil was 6,000 ~ 10,000cfu/g.soil and the pathogen density had no corelation on radish wilt development. The agrochemicals copperside(copper hydroxide) and basamid(dazomet) decreased the pathogen density in soil. Microconidia and mycelia debris was effectively controled and fungicidal effect was 86, 100% after 8days. In chlamidospore inoculated soil, fungicidal effect decreased to 50, 20%. The plot treated with two antagonistic bacteria and galic debris, wilt development rate was 3.9, 2.4%. and control plot was 4.7%. but the disease developing rate between biocontrol plot and untreated plot has no difference in statistical analysis.

1. 연구배경

여름 무 재배지에서 6월 말~7월 초 무 생육기에 하엽부위 부터 시들음 증상과 함께 황변하는 증상이 관찰되고, 수확기에 지상부위가 말라죽는 병이 발생하였다. 발병한 뿌리는 생육이 불량하여 상품성이 없고, 뿌리 절단시 도관부가 황변되거나 조직이 경화되어 기능을 상실하였으며, 비온 후 굴취한 뿌리 표면에는 균사생장이 관찰되었다. 병 피해농가는 수량이 1/3이상 줄었으며 심한 농가는 수확이 불가능하였다. 이 병은 무위황병으로 명명되어 있으며, 병원균은 *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*(Bosland 등 1987, Kendrick 등 1942)으로 보고되어 있다. 무 위황병은 불완전균류로 기주식물이 없는 토양내에서 후막포자를 형성하여 수년간 휴면상태로

잠복한 후 기주식물 재배시에 병을 유발한다. 국내에는 이 병에 대한 방제약제가 없으며(농약사용지침서, 2003) 대면적재배 특성상 토양훈증처리와 같은 토양살균처리는 비용과 노동력에 의한 생산비가 경제성이 없어 적용이 불가능한 실정이다. 이에 본연구는 무 위황병의 발생요인을 구명하고 효과적인 방제법을 개발하여 고품질 무 생산기반을 구축하고자 시험에 임하였다.

2. 재료 및 방법

(시험 1) 병원균분리

무위황병 피해농가 밭에서 굴취한 발병된 뿌리를 수세후 0.5% sodiumhypochlorite에 5분간 침지하여 표면살균하고, 멸균수로 희석한 후 뿌리 내부조직을 떼어내어 한천배지에 치상한 후 28℃에서 배양하였다. 이병조직을 배양하여 형성된 포자는 멸균수로 현탁하여 수확하고 선택배지에 도말하여 순수분리하였다. 분리한 균주는 PDA사면배지에 보관하면서 다음 시험에 이용하였다.

(시험 2) 병원균분포조사

무재배지 표토를 걷어낸 후 2~5cm깊이에서 토양을 채취하여 0.85% 생리식염수로 10⁻²배 희석한후 준비된 Kimmada평판배지에 0.1ml씩 접종배양하여 형성된 집락중 연분홍색의 균사생장을하는 집락들을 무위황병원균으로 조사하였다

(시험 3) 약제방제 기내시험

- 병원균 접종원 준비 - PDA평판배지에 10일 간 배양한 후 멸균수(0.1N phosphate buffer pH 6.0)를 넣어 접종바늘로 microconidia를 수확하고 4겹의 가아제로 걸러 균사를 제거한 후 원심분리세척(3000rpm, 5min)하였으며, 후막포자는 경작지토양 1kg을 증류수 3l에 넣어 고압증기멸균(121℃, 1.5atm, 1hr)시킨 후 여과(Whatman No.1)한 토양추출액에 준비한 microconidia를 10⁵conidia/ml 농도로 접종한 후 15일간 진탕배양(25℃, 12rpm)하였다. 후막포자형성 유무는 400배 광학현미경으로 확인하였다.
- 토양 병원균접종 - 준비한 microconidia와 후막포자를 원심분리하여 포자농도가 10⁹cells/ml가 되도록 혈구계산기를 이용하여 조정한 다음 밭에서 채취한 토양에 고르게 혼합하여 이병토를 조성하였다.
- 약제방제 효과조사 - 토양살균효과는 광범위 살균제인 쿠퍼수화제와 토양훈증처리제 밧사미드를 준비된 이병토에 처리한 후 일정기간 간격으로 토양을 채취하여 병원균 생균수 변화를 조사하여 살균효과를 조사하였다.

(시험 4) 농가포장시험

평창군 방림면 무 위황병 피해 농가포장에서 여름 무(태청무)를 공시작물로하여 농약방제 시험 및 생물적방제시험을 수행하였다. 생물적방제에 사용한 길항세균은 *Pseudomonas fluorescens*와 *Bacillus polymixa* 2종으로 처리방법은 *P. fluorescens*는 K.B.액체배지, B.

polymixa는 Nutrient broth 와 Potato dextrose broth를 1:1로 혼합한 액체배지에 각각 배양한 후 원심분리(6,000rpm, 10min)세척하여 균체를 수확하고, 분쇄 후 고압증기멸균한 마늘짚에 분사하여 고루 섞은 다음 10a 당 50kg씩 살포한 후 경운하여 처리하였다. 밭사미드는 관행에 준하여 처리하였다.

3. 결과 및 고찰

무 위황병에 걸린 무는 생육중기 시들음 증상이 관찰되고 재배기간이 길어질수록 잎이 황색으로 퇴색되면서 고사하는(그림 1) 증상을 보였으며 병발생이 심한 농가는 수확을 포기하였다(그림 2). 발병된 무 조직에서 분리한 균주는 PDA평판배지에 배양하면 균사생장이 왕성하고, 접종부위에서 부터 연분홍색을 띄고 배양기간이 길어질수록 색소형성부위가 가장 자리까지 진행된다. CLA배지에 접종하여 배양한 후 포자를 관찰하면 Macroconidia는 약간 굽은 타원형을 하고 격막은 3개 형성되었다. Microconidia는 짧은 외대의 병자작에 격막이 없는 계란형태를 보였다. 이러한 배지상의 생육상태와 균사 분지 및 conidia 형태는 *Fusarium solanii*, *F. subglutians*(Summerell 1993)등이 보고되어 있으나 도관병(Beckman,1987)을 일으키는 *Fusarium*은 *F. oxysporum*으로 알려져 있으며 특히 무에 시들음병(Toit 등 2003)을 일으키는 종은 *F. oxysporum* f. sp. *raphani*(Bosland 등 1987, Kendrick 등 1942)로 알려져 있다.

평창군과 인제군의 무 재배지에서 발병지 토양과 건전지 토양시료를 채취하여 Kommada 선택배지에 접종하여 병원균 밀도를 조사한 결과 병원균은 모든 조사포장에서 분리되었다. 인제군의 경우 병원균 밀도가 낮은 토양에서 발병이 심하였으며, 평창군의 경우 병원균 밀도가 $9.9 \times 1000 \text{cfu/g.soil}$ 로 높았으나 병피해는 없었다. 시험결과 조사지역의 모든 토양은 무위황병에 걸릴 잠재력을 가지고 있는 것으로 확인되었다(표 1).

표 1. 무위황병 발생토양 병원균분포

채집토양	×1000cfu/g.soil					평균
	1	2	3	4	5	
인제1(피해농가)	2.3	4.7	2.8	2.6	3.4	3.2
인제2(피해농가)	5.7	8.7	15.3	2.6	8.3	8.1
인제3(피해농가)	6.7	11.3	9.4	15.1	3.7	9.2
인제4(건전농가)	6.7	8.4	3.3	4.8	6.3	5.9
인제5(건전농가)	11.2	6.3	4.7	2.7	6.3	6.2
평창1(피해농가)	13.7	8.6	5.4	14.7	12.3	11.0
평창2(피해농가)	16.3	8.7	15.4	7.6	13.7	12.3
평창3(건전농가)	16.4	14.3	4.7	6.3	7.8	9.9



그림 1. 무위황병 발생 주 시들음 및 황화증상



그림 2. 무위황병 피해농가

무 위황병원균은 기주식물이 없거나 주변환경이 열악한 상태에서 후막포자를 형성하여 수년간 토양에 살아남아 기주식물 재배시 병을 발생시키는 특성을 가지고 있다. 이러한 후막포자를 인위적으로 생산하기 위해 3종의 배지에 micronidia를 접종하여 배양한 결과 토양침출액에서 후막포자형성이 왕성하였으며 배양 18일 후에는 76.3%가 후막포자로 성장하였다. 영양원이 풍부한 PDB와 Joffe's broth에서는 균사생장이 왕성하고 microconidia 만이 형성되었다(표2, 그림 3). 억제방제 시험결과 후막포자는 microconidia에 비해 억제방제효과가 낮아 억제저항성이 큰 것으로 확인되었다. microconidi의 경우 5일 후에 쿠퍼수화제 처리구는 63.3%, 밧사미드처리구는 94.7%의 병원균 밀도감소과 확인되었으나 후막포자의 경우 쿠퍼수화제 처리구 17.2%, 밧사미드 처리구 21.9%의 낮은 병원균밀도 감소가 확인되었다. 시험결과 무 위황병원균방제를 위해 살균제사용은 방제효과를 기대하기 어렵고 토양훈증제 처리만이 살균효과에 의한 병방제가 가능할것으로 확인되었다(표 3).

표 2. 후막포자유도시험

공시배지	후막포자생성율(%)			
	배양 5일후	10일	15일	18일
토양침출액	0	0	14.4	76.3
PDB	0	0	0	-
Joffe's broth	0	0	0	-



그림3. *F. oxysporum* f. sp. raphani 후막포자유도

표 3. 균체 및 포자처리토양 억제처리효과시험

(단위 : ×1000cfu/g.soil)

처리약제	균체 및 포자처리토양					후막포자처리토양				
	2일후	5일	8일	15일	25일	2일후	5일	8일	15일	25일
쿠퍼수화제	186.7	68.7	27.4	13.7	28.7	176.8	146.3	105.4	38.7	23.8
밧사미드	43.7	2.3	0	0	0	112.3	87.6	23.3	5.4	0.2
무 처 리	243.3	217.4	187.6	110.3	39.7	184.7	182.7	179.7	103.7	86.4

농가포장 시험결과 무위황병 발생율은 무처리구 4.7%, 밧사미드 처리구 5.9%, 길항균처리구에서 2.4%, 3.9%이었으며 처리간의 통계적유의차는 없었다(그림 4, 표 4).



그림 4. 길항균처리

표 4. 무위황병 방제시험

시험구	발병율(%)			평균
	1	2	3	
A	4.3	2.7	7.1	4.7
B	5.2	2.3	4.1	3.873.9
C	2.5	3.1	1.7	2.4
D	6.2	5.3	6.1	5.875.9

A:무처리구, B:농산부산물 + *Pseudomonas fluorescens* 50kg/10a, C:농산부산물 + *Bacillus* sp. 50kg/10a, D:밧사미드 20g/m²

4. 적 요

- 가. 무위황병 병원균은 *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*에 의한 병으로 이균은 토양에서 후막포자를 형성하여 기주식물이 없는 상태에서 수년간 생존하는균으로 탄소영양원이 풍부한PDB나 무기영양원을 첨가한 Joffe's배지에서 보다 토양침출액에서 후막포자 유도가 용이하였으며, 인공배양시에는 배양18일 후에 후막포자형성율이 76.3%에 이르렀다.
- 나. 2000년도 무위황병 피해농가 토양과 병피해가 없었던 토양을 수집하여 병원균분포를 조사한 결과 인제군의 경우 병원균 밀도가 토양 1g당 6,000개 정도이고, 평창군은 10,000여개 정도이나 두 지역의 병원균 밀도와 병발생과의 관계는 중요하지 않은 것으로 확인되었다.
- 다. 약제처리효과시험에서는 쿠퍼수화제, 밧사미드 모두 살균효과를 보였다. 포자나 균사형태로 접종처리한 토양에서 쿠퍼수화제와 밧사미드의 살균효과는 처리 8일 후 각각 86%, 100%로 높았으나, 후막포자를 처리한 토양에서는 살균효과가 50%, 20%로 크게 낮아졌다.
- 라. 무위황병을 억제하는 길항세균을 곱게 부순 마늘잎에 접종하여 토양전면에 살포한 후 무재배후 발병율은 각각 3.9%, 2.4%이었으나 이는 전체적인 발병율이 낮아 병방제효과로 판단할 수 없었다

5. 인용문헌

- Beckman, C. H. 1987. The nature of wilt disease of plants. APS press, Minesots.
- Bosland, P.W., and Williams, P. H. 1987. An evaluation of *Fusarium oxysporum* from crucifers based on pathogenicity, isozyme polymorphism, vegetative copatability, and geographic origin. Can. J. Bot. 65:2067-2073.
- Burgess L.W., Summerell B. A., Bullock S., Gott K.P., and Backhouse D. 1994. Laboratory manual for *Fusarium* Research.(3rd ed.) *Fusarium* research laboratory department of crop sciences university of sydney and royal botanic gardens.
- Smmerell, B. A., Rugg, C. A. and Burgess, L. W. 1993. Mycogyography of *Fusarium*: a survey of *Fusarium* species in forest and woodland soils in north qeensland, Australia. Mycological Research 97:1015-1019.
- Kendrick, J. B., and Snyder, W. C. 1942. *Fusarium* wilt of radish. Phytopathology 32:1031-1033.
- du Toit L.J. and Pelter G.Q. 2003. Wilt of Radish caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. in washington state. <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/brief/2003/radish>

6. 연구결과 활용제목

- 고랭지 무 위황병 방제를 위한 기초자료 활용