

오이덩굴썩김병의 교차보호에 관한 연구 III. 비병원성균의 선발 및 온실에서 교차보호 효과

양성석* · 김충희
농업기술연구소 병리과

Studies on Cross Protection of Fusarium wilt of Cucumber III. Selection of Nonpathogenic Isolates and Their Protective Effects in the Greenhouse

Sung Seok Yang* and Choong Hoe Kim

Department of Plant Pathology, Agricultural Sciences Institute, Suwon 441-707, Korea

ABSTRACT : One hundred fifty four out of 262 isolates of *Fusarium oxysporum* obtained from healthy plant tissues of various crops and their rhizosphere soil were found to be nonpathogenic to cucumber plants. The nonpathogenic isolates were frequently found from sesame plant tissues and rhizosphere soil, but less from healthy plant tissues of cucumber and water melon. When the 154 nonpathogenic isolates were preinoculated into cucumber seedlings, and then challenge-inoculated with *Fusarium wilt* pathogen, 21 isolates protected effectively cucumber plants from *Fusarium wilt* infections. A year later, 9 out of 21 isolates fully sustained their protective effect. Among 9 isolates showing good protective effects, 7 were isolates from cucumber plants. These 9 isolates, except 1 isolate, were not pathogenic to water melon, chinese melon, tomato and sesame.

Key words : *Fusarium oxysporum*, cucumber, fusarium wilt, cross protection.

오이덩굴썩김병은 오이재배에 있어서 가장 피해가 큰 병의 하나로 토양전염성이며 도관병이기 때문에 방제가 곤란하다. 이 병을 방제하기 위하여 주로 저항성 대목을 이용하고 있는데, 이 방법 또한 품절면에서 오이 고유의 맛이 떨어지며, 극과 발생이 많아 상품가치를 낮추고 접목시 노력이 많이 드는 결점이 있다. 최근에 농약의 부작용에 대한 사회적 관심이 높아지면서 약제방제가 어려운 토양병해에 대하여 생물학적 방제방법에 관한 연구가 많이 시도되고 있다(2, 5, 6, 8, 10). 식물의 *Fusarium*병 방제를 위하여 비병원성이나 약병원성균을 이용한 연구 또한 활발한데(1, 3, 4, 13, 17~20), 이것은 약병원성 혹은 비병원성 계통을 미리 기주에 접종하므로써 기주체 내에 생기는 저항성반응을 이용한 방제방법으로 이를 교차방어, 혹은 유도저항성이라 부르고 있다(3, 8, 10). 1929년 McKinney(11)는 담배모자이크 바이러스(TMV)의 한 계통에 감염된 담배에 다른 계통의 TMV를 접종하면 잘 감염되지 않는 성질을 발견하

였다. 진균병에 있어서도 Muller 등(12)은 비친화성 계통의 사전접종에 의해서 감자역병의 저항성이 유도된다고 하였다. *Fusarium*에 의한 시들음병에 대한 연구는 1940년 아마 시들음병에 대하여 그 약병원성 계통이 발병을 경감시킨다고 하는 보고를 시작으로 많이 연구되고 있는데(14, 16, 18) 최근에는 딸기시들음병(21)과 고구마덩굴썩김병(13, 15)에 대한 비병원성균의 사전접종에 의한 방제효과가 인정되었으며 특히 고구마 덩굴썩김병의 경우는 실용화가 가능한 것으로 알려져 있다.

본 연구에서는 오이덩굴썩김병의 교차보호 방법을 개발하기 위한 연구의 일환으로 먼저 비병원성 균주를 선발하고 이들에 의한 오이덩굴썩김병 발병 억제효과를 온실에서 조사하였다. 토양내 덩굴썩김병균의 분포 및 생태에 관한 연구의 일부는 이미 논문으로 발표된 바 있다(26, 27).

재료 및 방법

공시균의 분리 및 증식. *Fusarium oxysporum*은

*Corresponding author.

춘천, 수원 등 8개 지역의 식물체와 근권토양에서 분리하였다. 식물체로 부터 *Fusarium*균의 분리는 오이, 참외, 수박, 참깨가 재배되고 있는 포장에서 외관상 건전하게 보이는 식물체를 채집하여 지체부로부터 5 cm 정도의 줄기를 1 cm씩 잘라 표피를 제거하고 유관속 부위를 sodium hypochlorite 1% 용액에 2분간 표면살균하여 *Fusarium* 선택배지인 Komada medium(7)에 올려 분리하였다. 또, 근권토양에서의 균분리는 배추 등 4개의 채소작물 근권토양, 카네이션 등 4개의 화훼재배 근권토양, 산토양 등 4개 지역의 작물 비재배토양에서 분리하였는데, 각 공시토양의 식물 근권토양을 채취하여 토양희석법에 준하여 Komada배지에서 분리하였다. 분리된 *F. oxysporum*은 단포자분리하여 PSA slants에 이식, 보존하면서 시험에 사용하였다.

*F. oxysporum*은 토양과 corn meal의 혼합배지에서 증식하였다. 토양은 부농원예용 상토(부농산업사)를 이용하였으며 부농원예상토 480 g에 corn meal 20 g을 넣어 물 800 ml을 붓고 잘 섞어서 배지를 조제한 후 poly propylene 봉투(가로 15 cm×세로 5 cm)에 500 g을 담아 121°C에서 50분간 멸균하여 PSA slants의 *F. oxysporum*균 절편(가로 2 cm×세로 2 cm)을 점적종하여 28°C 항온기에서 20일간 배양하였다.

비병원성균의 선발 및 교차보호 효과검정. *F. oxysporum*균을 균주별로 증식한 토양배지를 직경 10 cm×높이 12 cm의 원형 플라스틱 pot에 담아서 은성백다다기 오이(홍농종묘)종자를 7립씩 파종하여 3 반복으로 비닐하우스에서 육묘하면서 30일 후에 발병을 조사하였고 유묘에 발병이 전혀없는 것 만을 비병원성균으로 선발하였다. 선발된 비병원성 균주들은 상기의 토양배지에 배양하여 부농원예용 상토와 1:1 비율로 섞어서 원형 지피포트(직경 8 cm)에 담고 오이종자를 파종하여 30일간 육묘하는 방법으로 비병원성 균주들을 오이식물체에 전적종하였다. 1992년 농업기술연구소 병리과 비닐하우스에 오이덩굴쪼김병균의 인공 이병포장을 조성하였는데 가로 2 m×세로 20 m의 시험구를 30 cm 깊이로 파고 밭토양을 채운후 3.3 m²당 토양배지에서 배양한 오이덩굴쪼김병균(1.7×10⁷ cfu/g 토양) 2.5 kg을 토양표면에 골고루 뿌리고 10 cm 깊이의 토양과 골고루 섞어서 이병토양으로 조성하였다. 이때의 토양의 병원균 밀도는 3.3×10⁴ cfu/g 토양으로서 이병포장에서는 오이를 수차례 파종하여 심하게 발병하고 있음을 확인하였다. 비병원성 균주의 전적종에 의한 오이덩굴쪼김병균 발병 억제효과를 조사하기 위하여 '92년과 '93년 2회에 걸쳐 시험을 수행하였는데 비병원성 *F. ox-*

*ysporum*을 전적종하여 육묘한 묘를 이병토양에 25 cm 간격으로 1개 균주당 12주씩 완전 임의배치로 정식하였으며, 90일 후에 발병을 조사하였다.

비병원성 *F. oxysporum* 균주들의 타작물에 대한 병원성 검정. 방제효과가 인정된 비병원성 *F. oxysporum* 9개 균주를 *Fusarium*병을 일으키는 주요작물, 즉 오이, 참외, 수박, 토마토, 참깨에 대하여 비병원성균 선발항에서 기술한 방법으로 병원성 유무를 검정하였다.

결 과

비병원성 *F. oxysporum*의 분리빈도. 식물체와 근권토양에서 분리한 *F. oxysporum* 262개 균주를 공시하여 오이유묘에 병원성을 검정한 결과 식물체에서 분리한 174균주 중 77균주가 비병원성이었으며, 근권토양에서 분리한 88균주 중에서는 77균주가 병원성이 없었다. 따라서 식물체와 근권토양에서 분리한 262균주 중 오이에 비병원성인 균주는 58.7%였다. 특히 식물체중에서는 참외와 참깨에서 비병원성균의 분리비율이 각각 90%, 100%로 가장 높았으며, 토양 중에서는 산토양에서 비병원성 균주가 가장 많이 분리되었다(Table 1).

비병원성 균주들의 교차보호 효과. '92년 154개 비병원성 균주를 공시하여 온실에서 오이덩굴쪼김병에 대한 교차보호 효과를 조사한 결과 21개 균주가

Table 1. Isolation frequency of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* from various crop plants and cultivated or noncultivated soils

Isolation source	No. of isolates	No. of nonpathogenic isolates (%)
Cucumber	117	46(39.3)
Tomato	20	11(55.0)
Water melon	21	5(23.8)
Chinese melon	10	9(90.0)
Sesame	6	6(100)
Vegetable ^a -cultivated soil	15	13(86.7)
Flower ^b -cultivated soil	12	9(75.0)
Mountain ^c soil	61	55(90.2)
Total	262	154(58.8)

^aLettuce, Welsh onion, or eggplant was cultivated previously.

^bLily, carnation, or tulip was cultivated previously.

^cMt. Chilbo and Mt. Eoggi, at Suwon in Kyonggi province and Mt. Chiak at Wonju in Kangweon province.

Table 2. Number of nonpathogenic isolates of *Fusarium oxysporum* showing suppression of Fusarium wilt of cucumber by challenge inoculation in the greenhouse pot experiments in 1992

Origin of isolates ^a	No. isolates inoculated	No. isolates with wilt protection
Cucumber	46	17
Tomato	11	0
Water melon	5	0
Chinese melon	9	0
Sesame	6	1
Vegetable-cultivated soil	13	2
Flower-cultivated soil	9	1
Mountain soil	55	0
Total	154	21

^aThe same as described in Table 1.

덩굴조짐병 발생을 완전히 억제하여 교차보호 효과가 인정되었다(Table 2). 병발생 억제효과를 보인 균주들은 오이식물체에서 분리한 균주들이 많았으며, 산토양에서 분리된 비병원성 *F. oxysporum* 균주들은 모두 발병 억제효과가 인정되지 않았다.

'92년의 시험에서 병발생 억제효과가 인정된 21개 균주를 공시하여 '93년 교차보호효과를 재검정하였다(Table 3). 그 결과 21개 비병원성 균주 중에서 9개 균주가 덩굴조짐병의 발생을 완전히 억제하였으며, 이들 중 오이식물체에서 분리한 비병원성 균주가 7개 균주, 참깨식물체 분리균 1개 균주, 카네이션 근권 토양 분리균 1개 균주로 나타났다. 이외의 12개 균주들은 정도의 차이는 있지만 덩굴조짐병의 발생을 현저히 억제하였다.

비병원성 균주들의 타작물에 대한 병원성. 교차보호효과가 인정된 9개 비병원성 균주를 수박, 참외, 토마토, 참깨에 접종하여 병원성을 검정한 결과 8개 균주는 공시한 작물에 병원성이 없었으며 참깨에서 분리한 Se-1 균주만이 참깨에 약간의 병발생을 나타내었다(Table 4).

고 찰

본 시험에서 오이 등의 건전식물체와 그들의 근권토양에서 오이에 비병원성인 *F. oxysporum*이 많이 분리되었는데 오이와 수박 건전식물체에서는 비병원성 *F. oxysporum*이 비교적 낮게 분리되었으나 참외, 참깨의 건전식물체 및 근권토양에서는 비병원성 *F. oxysporum*이 높은 비율로 분리되었다. 비병원성 *F.*

Table 3. Wilt protection effects of the 21 nonpathogenic isolates of *Fusarium oxysporum* when tested by challenge-inoculation on cucumber with Fusarium wilt pathogen in the greenhouse pot experiment

Nonpathogenic isolates ^a inoculated	No. plants inoculated ^b with pathogen	No. plants wilted
Cu- 1	12	0
2	12	0
3	12	3
4	12	5
5	12	2
6	12	0
7	12	0
8	12	4
9	12	0
10	12	2
11	12	0
12	12	1
13	12	3
14	12	2
15	12	3
16	12	5
17	12	0
Ve- 1	12	4
2	12	3
Fl- 1	12	0
Se- 1	12	0
Control plot		
None	12	12
None	12	10
None	12	11

^aPreinoculation of nonpathogenic isolates of *F. oxysporum* was accomplished by planting the cucumber seeds in the pot containing the soil-corn meal mixed media that were inoculated with nonpathogenic isolate.

^bChallenge-inoculation of pathogenic isolates of *F. oxysporum* was achieved by transplanting the cucumber seedlings in the pathogen-infected seedbed plots in the greenhouse.

*oxysporum*은 건전식물체나 발토양 중에서 많이 분리되고 있다(12, 21, 23). 小川 등(13)은 고구마 건전식물체에서 분리된 비병원성 *F. oxysporum* 균주의 약 30%가 고구마 덩굴조짐병에 높은 발병 억제효과를 나타내어 교차방어 효과를 가진 비병원성 *F. oxysporum*은 자연계에 널리 존재한다고 하였다.

본 연구에서는 오이에 비병원성균으로 확인된 154 균주중에서 9개 균주가 오이덩굴조짐병을 억제하는 것으로 나타났다. 발병 억제효과가 인정된 비병원성 균주들은 오이건전 식물체에서 가장 많이 분리되었

Table 4. Pathogenicity to various crops of the selected nonpathogenic isolates of *F. oxysporum* showing wilt protection on cucumber

Nonpathogenic isolates	No. plants inoculated	No. plants wilted ^a				
		Water melon	Chinese melon	Tomato	Sesane	Cucumber
Cu- 1	20	0	0	0	0	0
2	20	0	0	0	0	0
6	20	0	0	0	0	0
7	20	0	0	0	0	0
9	20	0	0	0	0	0
11	20	0	0	0	0	0
17	20	0	0	0	0	0
Fl- 1	20	0	0	0	0	0
Se- 1	20	0	0	0	3	0
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cucumerinum</i>	20	2	0	0	0	18

^aSeeds of each crops were planted in the pots containing the soil-corn meal mixed media that were inoculated with nonpathogenic isolates of *F. oxysporum*.

으며, 산토양에서 분리한 많은 수의 비병원성균주들은 발병억제효과가 전혀 없었다. 최근에 비병원성 *F. oxysporum*을 사전접종하여 포장에서 딸기시들음병과 고구마덩굴썩짐병 발생을 억제하였다는 보고(21, 14)가 있으며, 또한 *Fusarium*병에 억제효과가 가장높은 균주는 *Fusarium*의 여러 species 중에서도 병원균과 같은 species였다(14).

비병원성균을 이용한 *Fusarium*병 방제는 비병원성균주의 사전접종 방법에 따라 차이가 있는데 (21), 小川 등(15)은 고구마덩굴썩짐병에 대하여 비병원성균을 사전에 침근접종 하였을때 가장 효과적이었으나 생육후기에는 발병 억제효과가 떨어지므로 비병원성균을 재접종할 필요가 있다고 하였다. 또한 手冢 등(21)은 딸기시들음병에 대하여 비병원성균을 가식시에 침근접종하고 또한 본포에 토양을 혼화하는 두가지 방법을 병행하면 단독의 경우보다 발병 억제효과가 높다고 하였다. 본 연구에서는 비병원성 *F. oxysporum*을 접종한 pot에 육묘하여 비병원성균을 접종하고 이병포장에 정식하므로써 발병이 억제되었는데 이는 육묘시에 비병원성균이 미리 오이 육묘에 침입할 수 있는 기회를 오래동안 갖게하므로써 저항성이 유도된 것이라 생각된다. 또한 오이가 비병원성균을 접종한 토양에서 육묘되었으므로 근권토양에 비병원성균이 많이 분포하여 오이근권을 보호하므로써 병원균의 침입이 억제된 것이라 생각할 수 있으나 이 억제기작에 대해서는 좀 더 연구가 필요하다.

오이덩굴썩짐병에 대하여 억제효과를 보이는 9개 비병원성 균주들은 수박, 참외, 토마토, 참깨에 대하여

병원성을 거의 나타내지 않아 본시험에 사용한 균주들을 포장에서 사용하여도 실용상의 문제는 거의 없을 것으로 생각된다. 그러나, *Fusarium*균은 비교적 변이가 일어나기 쉽기 때문에(15) 교차보호에 이용되는 균주는 비병원성 균주중에서도 그 성질이 안정적인 균주가 바람직하다. 본 시험에서는 1차 시험('92년)에서 덩굴썩짐병 발생을 완전히 억제한 21개 균주가 2차 시험('93년)에서는 9개 균주로 감소하였다. 따라서 이들 9개 균주 중에서도 교차보호 효과가 우수하면서 그 성질이 안정적으로 유지되는 균주를 선발할 필요가 있는데 이에 대한 시험은 억제기작의 구명과 함께 계속 진행 중에 있다.

요 약

건전한 식물체의 조직 및 근권토양에서 분리한 262개 *Fusarium oxysporum*균주 중에서 154균주가 오이에 병원성이 없었다. 이들 비병원성 균주들은 오이와 수박의 건전조직에서는 비교적 적게 분리되었으나 참외, 참깨 건전조직과 근권토양에서는 많이 분리되었다. 154개 비병원성 균주를 각각 토양배지에 배양하여 포트에 담고 오이종자를 파종, 육묘하여 오이덩굴썩짐병 이병포장에 정식하였을때 21개 균주가 덩굴썩짐병의 발생을 완전히 억제하였다. '92년 시험에서 발병 억제효과가 인정된 21개 비병원성 균주를 공시하여 '93년에 교차 보호효과를 재검정한 결과 9개 균주가 덩굴썩짐병 발생을 완전히 억제하였다. 이들 9개 균주중 7개 균주는 오이 건전조직에서 분리한 균주들이었다. 방제효과가 인정된 9개 비병

원성 균주들 중 함께 분리된 1개 균주를 제외하고는 수박, 참외, 토마토, 참깨에 병원성이 없었다.

참고문헌

- Baker, R., Hanchey, P. and Dottarar, S. D. 1978. Protection of carnation against Fusarium stem rot by fungi. *Phytopathology* 68: 1495-1501.
- Baker, K. F. and Cook, R. J. 1982. *Biological Control of Plant Pathogens*. APS press. 433 pp.
- Davis, D. 1967. Cross-protection in Fusarium wilt diseases. *Phytopathology* 57: 311-314.
- Davis, D. 1968. Partial control of Fusarium wilt in tomato by formae of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* 58: 121-122.
- Hammerschmidt, R., Acres, S. and Juc, J. 1976. Protection of cucumber against *Colletotrichum lagenarium* and *Cladosporium cucumerinum*. *Phytopathology* 66: 790-793.
- Ishiba, C., Tani, T. and Murata, M. 1981. Protection of cucumber against anthracnose by a hypovirulent strain of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 47: 352-359.
- Komada, H. 1975. Development of a selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil. *Rev. Plant Prot. Res.* 8: 114-124.
- Kuc, J. and Richmond, S. 1977. Aspects of the protection of cucumber against *Colletotrichum lagenarium* by *Colletotrichum lagenarium*. *Phytopathology* 67: 533-536.
- Matta, A. 1971. Microbial penetration and immunization of uncogonial host plants. *Ann. Rev. Phytopath.* 9: 387-410.
- McClure, T. T. 1951. Fusarium foot rot of sweetpotato sprouts. *Phytopathology* 41: 72-77.
- McKinney, H. H. 1929. Mosaic disease in the Canary Island. East Africa and Gibraltar. *J. Agric. Res.* 39: 557-578.
- Muleer, K. O., Meyer, G. and Llinkowski, M. 1939. Physiologigenetische untersuchungenuber die resiszenz der kartaffel genenuber, *Phytophthora infestance*. *Naturwissenschaften* 27: 765-768.
- Ogawa, K. 1984. Biological control of Fusarium wilt of sweet potato by non-pathogenic *Fusarium oxysporum*. *Plant Prot.* 38: 535-538.
- Ogawa, K. and Komada, H. 1984. Biological control of Fusarium wilt of sweet potato by non-pathogenic *Fusarium oxysporum*. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 50: 1-9.
- Ogawa, K. 1989. Studies on biocontrol of Fusarium wilt of sweet patato with cross-protection. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 55: 385-387.
- Ogawa, K. 1989. Studies on biocontrol of Fusarium wilt of sweet potato with cross-protection. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 55: 385-387.
- Park, C. S., Paulitz, T. C. and Baker, R. 1988. Biocontrol of Fusarium wilt of cucumber resulting from interactions between *Pseudomonas putida* and non-pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* 78: 190-194.
- Paulitz, T. C., Park, C. S. and Baker, R. 1987. Biological control of Fusarium wilt of cucumber with nonpathogenic isolates of *Fusarium oxysporum*. *Can. J. Microbiol.* 33: 349-353.
- Schnathorst, W. C. and Mathre, D. E. 1966. Cross-protection in cotton with strains of *Verticillium albo-atrum*. *Phytopathology* 56: 1204-1209.
- Sahashi, N. and Shishiyama, J. 1987. Defense reaction of barley cultivars to non-pathogenic fungi. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 53: 242-249.
- Tezuka, N. and Makino, T. 1991. Biological control of Fusarium wilt of strawberry by non-pathogenic *Fusarium oxysporum* isolated from strawberry. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 57: 506-51122.
- Wymore, L. A. and Baker, R. 1982. Factors affecting cross protection in control of Fusarium wilt of tomato. *Plant Dis.* 66: 908-910.
- Yamaguchi, K., Sano, T., Arita, M. and Takahashi, M. 1992. Biocontrol of Fusarium wilt of tomato and *Verticillium* wilt of eggplant by non-pathogenic *Fusarium oxysporum* MT0062. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 58: 188-194.
- Yamaguchi, K., Kida, M., Arita, M. and Takahashi, M. 1992. Induction of systemic resistance by *Fusarium oxysporum* MT0062 in solanaceous crops. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 58: 16-22.
- Yarwood, C. E. 1956. Cross protection with two rust fungi. *Phytopathology* 46: 540-544.
- Yang, S. S. and Kim, C. H. 1993. Studies on cross protection of Fusarium wilt of cucumber. I. distribution and pathogenicity of *Fusarium oxysporum* in soil. *Korean J. Plant Pathol.* 9(1): 19-25.
- Yang, S. S. and Kim, C. H. 1993. Studies on cross protection of Fusarium wilt of cucumber. II. Relationships between inculum density, temperature, and wilt development. *Korean J. Plant Pathol.* 9(2): 92-97.