

## 콩나물 부패를 일으키는 *Fusarium* spp.의 동정과 병태조직학적 관찰

오병준<sup>†</sup> · 박원목\*

고려대학교 자연자원대학 농생물학과

### Histopathological Observation and Identification of *Fusarium* spp. Causing Soybean Sprout Rot

Boung Jun Oh<sup>†</sup> and Won Mok Park\*

Department of Agricultural Biology, College of Natural Resources, Korea University,  
Seoul 136-701, Korea

**ABSTRACT :** Poor growth and rot of soybean sprout are important limitation in the production of soybean sprout. *Fusarium moniliforme*, *F. oxysporum*, and *F. solani* were identified as pathogenic fungi causing soybean sprout rot. After 3~5 days following seed germination, these fungi produced light-brown spots on the bottom-area of soybean sprout. Dark-brown symptoms occurred within 6~7 days after seed germination. The histopathology of transverse hand-section and microtome-section of soybean sprout rot at 4 days after *F. oxysporum* inoculation showed that the fungal hyphae colonized cortex, intercellular spaces, phloem, pith, and xylem vessels of sprout tissues.

**Key words :** soybean sprout rot, *Fusarium moniliforme*, *F. oxysporum*, *F. solani*, histopathological observation.

콩나물 재배에 있어서 문제가 되는 것은 콩나물의 생육 부진과 부패이며 특히 대규모 재배에서는 부패가 더욱 커다란 문제가 되고 있다. 이로 인하여 버리는 콩의 양은 매우 많아 콩나물 재배업자에게 막대한 손실을 주고 있다. 또한 일부 재배업자들이 부패를 방지하기 위하여 콩의 수침시에 농약을 사용하여 사회적 물의를 일으켰으며(5, 6) 콩나물의 식품으로서의 안정성에 대한 불신감이 높아지고 소비에까지 영향을 주고 있다.

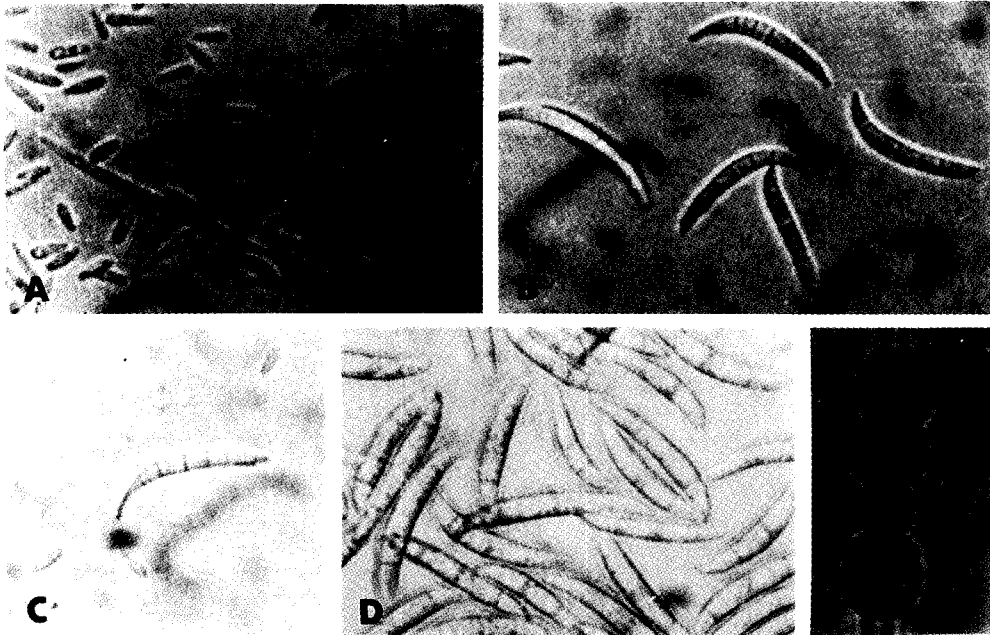
콩나물에 부패를 야기하는 병원 진균에 대해서는 1987년 국내에서 *Fusarium*속 균이 검출되었고(7), 1986년 일본에서는 Aoki 등(1)에 의하여 *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseoli*, *Colletotrichum* sp. 등이 검출되었다. 따라서 본 연구는 콩나물 부패병의 원인을 구명하기 위하여 서울 시내 콩나물 재배음에서 채집한 이병 콩나물로부터 병원 진

균을 분리·동정하고 이에 대한 병원성 검정 결과를 보고하고자 한다. 또한 병태조직학적 관찰로서 병원균의 감염 과정, 조직 내에서의 병원균의 행동 양상 및 이병 조직을 건진 조직과 비교하여 외부 병징과 기주 조직의 차이를 구명하고자 실시하였다.

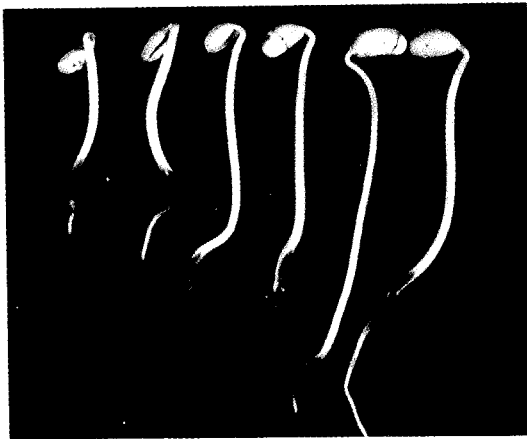
병원 진균의 분리 및 동정. 서울 시내의 콩나물 재배음에서 채집한 부패된 콩나물의 병반부를 1 cm 크기로 절단하여 0.25% NaOCl로 3분간 표면 살균한 후 살균수로 세척하여 감자한천배지(PDA)에서 배양, 다수의 *Fusarium*속 진균을 분리하였다. 분리한 *Fusarium*속 균들의 균총의 색, 후막 포자의 형성 유무, 대형 포자와 소형포자의 유무 및 포자 형태 등을 Nelson 등(8)의 방법에 의해 분류, 기록된 *Fusarium*속 균들의 특성과 비교하여 *F. moniliforme*, *F. oxysporum*, *F. solani*로 동정하였다. 한 균주는 PDA 배지의 균총의 색이 흰색과 보라색을 띠고, 소형포자가 많고 대형포자는 적으며 대형포자는 길쭉한 낫모양을 보여 *F. moniliforme*의 특성과 일치하였다(Fig. 1A). *F. oxysporum*으로 분리 동정된 병원진균은 PDA 배지의 균총이 연분홍색을 띠었고 대형포자의 형태가 낫모양이

<sup>†</sup>원주소 : 광주광역시 광산구 쌍암동 572번지, 금호생명환경과학연구소.

\*Corresponding author.



**Fig. 1.** *Fusarium* spp. isolated from soybean sprout rot. A: *F. moniliforme*-macroconidia and microconidia ( $\times 250$ ). B, C: *F. oxysporum*-macroconidia and microconidia ( $\times 250$ ). D, E: *F. solani*-macroconidia ( $\times 400$ ) and chlamydospores ( $\times 400$ ).



**Fig. 2.** Symptoms of soybean sprout rot at 7 days after *Fusarium oxysporum* inoculation.

며, 후막포자를 형성하는 것이 특징이었다(Fig. 1B, 1C). *F. solani*로 분리 동정된 병원진균은 대형포자가 굵직하고 후막포자의 생성이 많았다(Fig. 1D, 1E).

**병원성 검정.** 본 실험에서는 콩(*Glycine max* (L.) Merr.) 종자로 농촌 진흥청 작물 시험장에서 분양받은 방사품종을 사용하였다. 부패된 콩나물에서 분리한 균들의 병원성을 검정하기 위하여 분리한 진균들을

PDA 평판배지에서 10일간 배양한 후 분생포자를 채취하였다. 포자현탁액은 살균수를 사용하여  $1 \times 10^5$ /ml 농도로 조정 한 후 접종원으로 사용하였다. 외전상 건전한 종자를 0.25% NaOCl로 3분간 표면 살균하고 살균수로 세척하여 포자현탁액에 100개씩 넣어 하루 동안 침지 접종시켰다. 이를 25°C 항온기 안의  $6 \times 10.2$  (지름 $\times$ 높이) cm 포트에 옮겨 매일 5회 관수하여 키우면서 3~7일에 걸쳐 콩나물 부패 유무를 조사하였다. 대조구는 접종원으로 살균수를 처리하여 접종구와 동일한 조건에서 비교하였다.

이병 조직에서 분리한 위의 *Fusarium*속 균들의 병원성을 조사한 결과 모두 콩나물에 강한 병원성을 나타내었으며 감염시킨 병환부로부터 각각의 병원균을 재분리할 수 있었다. 이들 병원균에 의하여 야기된 외부 병징과 병 진전 상태는 병원균간에 뚜렷한 차이를 볼 수 없었다. 이들은 콩나물 종자가 발아하여 3~5일이 지나면서부터 영향을 주기 시작하여 생장을 억제함은 물론 콩나물의 말단부에 연한 갈색의 병반을 만들었다. 발아 후 6~7일경에는 병징이 더욱 진전하여 진한 갈색의 뚜렷한 외부 병징을 나타냄으로써 이 병원균들의 콩나물에 대한 병원성이 인정되었다(Fig. 2).

#### 병태조직학적 관찰

**Hand-section.** 건전한 콩나물의 조직(대조구)과

병원균으로의 분리 빈도가 가장 높은 *F. oxysporum*의 접종에 의해 감염된 콩나물의 조직을 가로 0.5 mm 두께로 자른 후 조직 안의 기포를 감압에 의하여 제거하면서 0.01 M phosphate buffer(pH 6.8)에 녹인 3% glutaraldehyde 고정액으로 고정시켰다. 고정시킨 조직의 표면을 흐르는 물에 3~5분간 씻고 benzonate buffer에

녹인 0.05% toluidine blue O-용액에 염색시켜 광학 현미경으로 검경하였다(2, 10).

건전 조직의 목부(木部)는 청색, 수(髓)와 사부(篩部) 및 피층(皮層)은 보라색으로 구분되었으며 세포벽의 파괴나 세포의 변형은 보이지 않았다(Fig. 3A). 접종 후 4일이 지나 연한 갈색의 외부병징을 나타내는

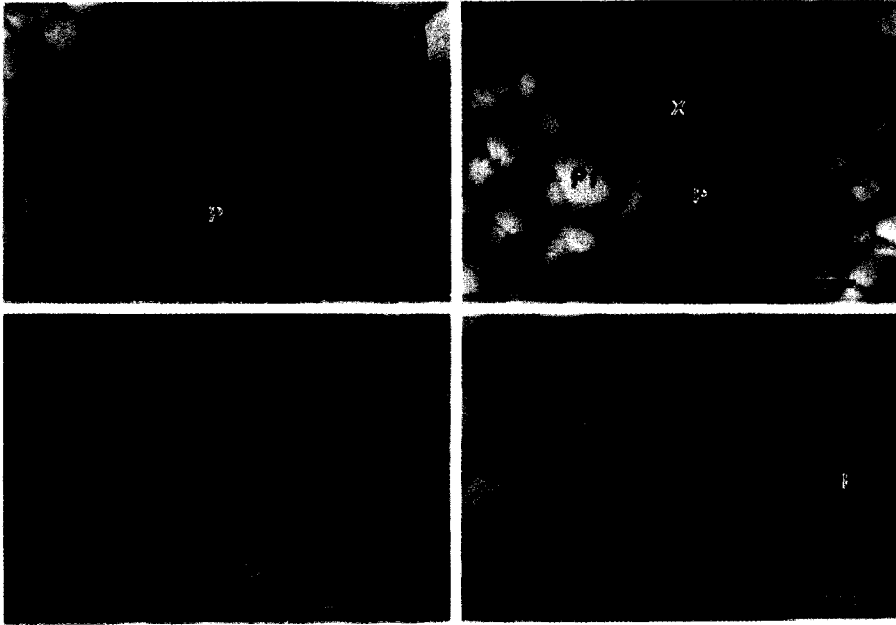


Fig. 3. Transverse hand-sections of healthy and *Fusarium oxysporum*-infected soybean sprout at 4 days after inoculation. A. Pith, vascular bundle and cortex in healthy tissue. B. Infected vascular bundle of soybean sprout. The xylem vessels and the phloem were filled with hyphae and stained dark blue. The boundary area between cortex and vascular bundles was stained green. C. Hyphae in the cortical parenchyma cells (arrow). D. Hyphae in the cortical parenchyma cells and below the epidermis (arrow). C : cortex, E : epidermis, P : pith, X : xylem. Bar=50  $\mu$ m.



Fig. 4. Transverse microtome-sections of healthy and *Fusarium oxysporum*-infected soybean sprout at 4 days after inoculation. A, C. Pith, vascular bundle and cortex in healthy tissue. B. Partially purple-stained cortical parenchyma and epidermis in slightly infected tissues (arrow). The boundary area between cortex and vascular bundles was partially stained purple. D. Hyphae were stained purple (arrow). Some xylem vessels were filled with hyphae (arrow). E. Fungal hyphae were located in intercellular spaces and in the cortical parenchyma cells (arrow). C : cortex, E : epidermis, P : pith, X : xylem. Bar=50  $\mu$ m.

이병 조직에서는 목부, 사부 및 피층과 관다발의 경계 부근에는 군사가 밀집되어 목부, 사부는 진한 청색, 피층과 관다발의 경계 부근은 연한 초록색으로 염색이 되어 건전조직과 차이를 볼 수 있었다(Fig. 3B). 감염 초기 외부병징을 보이는 이병 조직의 관다발에 가까운 피층에서 뚜렷하게 군사가 보였으며(Fig. 3C), 감염 되었으나 아직 외부병징을 나타내지 않는 조직에서도 표피층 부근에 군사가 보였다(Fig. 3D).

**Microtome-section.** 건전한 콩나물의 조직(대조구)과 *F. oxysporum*의 접종에 의해 감염된 콩나물의 조직을 가로 5 mm 두께로 자른 후 조직 안의 기포를 감압에 의하여 제거하면서 0.01 M phosphate buffer (pH 6.8)에 녹인 3% glutaraldehyde 고정액으로 고정시켰다. 고정시킨 조직을 0.01 M phosphate buffer(pH 6.8)로 4°C에서 24시간 동안 씻어주었다. 이를 50% ethyl alcohol 용액에 넣어 100%까지 단계적으로 10% 씩 농도를 높여 탈수하고 xylene, xylene과 paraffin 혼합 처리 과정을 거쳐 조직 안에 paraffin을 침투시킨 후 embedding시켜 굳혔다. 이것을 5 μm 두께로 잘라 albumin 부착제로 slide glass에 부착하여 24시간 후에 xylene으로 paraffin을 제거한 다음 ethyl alcohol을 사용하여 단계적으로 탈수한 후 1% safranin과 95% ethyl alcohol에 녹인 0.5% fast green으로 이중 염색을 하였다. 염색된 sections 위에 canadian balsam과 xylene을 섞어서 떨어뜨린 후 22×40 mm cover glass를 덮고 봉입하여 광학 현미경으로 검경하였다(2, 10).

건전 조직의 목부는 청색, 수와 사부 및 피층은 초록색으로 구분이 되었으며 세포벽의 파피나 세포의 변형은 보이지 않았다(Fig. 4A, 4C). 접종 후 4일이 지난 후 초기 병징을 나타내는 이병 조직에서 군사는 관다발, 피층과 세포간극의 전조직에서 보라색으로 염색이 되어 관찰되었으며 감염조직의 피층은 연한 보라색으로 염색이 되어 건전조직의 피층과 차이를 볼 수 있었다(Fig. 4B, 4D, 4E).

콩나물은 종자에서 발아하여 수확되기까지의 기간이 7~10일 정도로 다른 채소류에 비해 상당히 짧다. 본 연구결과, 부패병에 감염된 콩나물에서 분리 동정된 병원진균들(*F. moniliforme*, *F. oxysporum*, *F. solani*)은 콩나물 재배음에서 수확되기 전인 6~7일경에 크게 발병하여 콩나물의 배추 중간 이하 부분에 피해를 줌으로써 상품으로서의 가치를 떨어뜨렸다.

외견상 건전한 콩 종자에서 *F. equiseti*, *F. moniliforme*, *F. oxysporum*, *F. semitectum* 및 *F. solani*가 검출된다는 연구 보고(11)와 대두를 가해하는 병원균에 *Fusarium*속 균이 있다는 연구 보고(12, 13)로 보아 본

연구에서 분리된 콩나물 부패균들은 종자에 잠복하고 있다가 유리한 환경이 조성될 때 급격히 발병하는 것으로 추정된다. 발병에 유리한 환경 요인은 콩 종자의 발아시 호흡열에 의한 재배음의 온도 상승과 발아시 내는 단백질과 탄수화물이 다량 함유된 종자 분비물을 들 수 있다. 그러므로 하루에 적어도 10회 이상 신선하고 깨끗한 물을 관수하는 것은 콩나물 생장에 필요한 수분을 공급함과 아울러 재배음의 온도 상승을 막고 종자 분비물을 씻어내어 부패를 억제하는 효과가 있다. 더불어 환기 관리를 잘 한다면 콩나물 재배시 문제가 되고 있는 부패를 최소화할 수 있겠다.

*F. oxysporum* 접종 후 4일 정도 경과되어 초기병징으로 콩나물 중간 이하에 연한 갈색 병징이 나타난 조직에서 군사가 부분적으로 전조직에 걸쳐 있음이 병태조직학적으로 관찰되었다(Fig. 3, 4). 감염은 되었으나 아직 외부병징을 나타내지 않은 조직의 hand-section 관찰에서는 표피층 가까운 곳에 군사가 보였으며(Fig. 3D), 여기서 병이 더 진전되는 경우 표피층에도 군사가 관찰되며 외부병징을 나타낼 것으로 생각되었다. 이와 같은 *F. oxysporum* 접종에 의한 광학 현미경의 관찰 결과는 토마토를 가해하는 *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*의 감염 초기 과정과 일치하였으며(3), *F. solani*에 감염된 카네이션(4)과 *F. solani*에 감염된 레몬 세근(9)의 관찰과도 일치하였다. 따라서 콩나물 부패균들은 종자에 잠복하고 있으면서 병발생에 유리한 환경조건이 조성될 때 관다발과 세포 간극 등을 통해서 생장하다 점차로 수, 피층과 표피 등을 침해하여 연한갈색의 외부병징을 나타내다가 병이 진전함에 따라 외부적으로 크고 진한 갈색의 병반을 나타내는 것으로 추정되었다.

사회적으로 문제시 되어온 콩나물의 농약 오염은 콩나물을 재배할 때 부패하는 것을 방지하고 생장을 촉진시키기 위해 농약을 사용하는데서 연유하고 있다. 따라서 콩나물에 대한 농약 잔류 문제를 해결하기 위해서는 콩나물 부패에 관련된 다른 종류의 진균과 세균의 분리·동정과 이에 대한 적절한 재배환경의 조절로 방제에 관한 체계적인 연구가 요구된다.

## 요 약

콩나물의 생육부진과 부패는 콩나물 재배에 중요한 제한요인이다. 콩나물 부패 병원 진균으로 *Fusarium moniliforme*, *F. oxysporum*과 *F. solani*를 분리 동정하였다. 이들은 종자 발아 후 3~5일이 지난 후 콩나물의 중간 이하에 연한 갈색의 외부 병징을 만들며 발아 후

6~7일 경에 병징이 더욱 진전하여 진한 갈색의 외부 병징을 나타냄으로써 콩나물에 대한 병원성이 인정되었다. Hand-section과 microtome-section에 의한 병태 조직학적 관찰에서 *F. oxysporum* 접종 후 4일이 경과하여 초기병징을 보인 조직에서 균사가 피층, 세포간극, 목부, 사부, 수에 분포하고 있음이 관찰되었다.

### 참고문헌

1. 青木陸夫, 沼田邦雄, 宮尾茂雄. 1986. 製造技術に關する研究. 東京都 農業試驗場 研究報告 19 : 103-119.
2. Berlyn, G. D. and Miksche, J. P. 1976. *Botanical Microtechnique and Cytochemistry*. The Iowa State University Press, Ames, Iowa. 326pp.
3. Charest, P. M., Ouellette, G. B. and Pauze, F. J. 1984. Cytological observations of early infection process by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in tomato plants. *Can. J. Bot.* 62 : 1232-1244.
4. Harling, R. and Taylor, G. S. 1984. A light microscope study of resistant and susceptible carnations infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. *Can. J. Bot.* 63 : 638-646.
5. 김박영, 원풍경, 이달수, 김오한, 송 철. 1980. 콩나물중의 수는 함량에 대한 조사연구. 국립보건의연구원 보 17 : 523-527.
6. 권옥현, 전형일. 1982. 콩나물중의 총수는 함량에 한 조사. 서울특별시 종합기술연구소보 18 : 9-32.
7. 명인식. 1987. 콩나물 부패의 원인과 방제. 고려대학교 석사학위논문.
8. Nelson, P. E., Tousson, T. A. and Marasa, W. F. O. 1983. *Fusarium Species, An Illustrated Manual for Identification*. The Pennsylvania State University Press, University Park and London. 193pp.
9. Nemecek, S., Achor, D. S. and Albrigo, L. G. 1986. Microscopy of *Fusarium solani*-infected rough lemon citrus fibrous roots. *Can. J. Bot.* 64 : 2840-2847.
10. O'Brien, T. P. and McCully, M. E. 1981. *The Study of Plant Structure. Principles and Selected Methods*. Temarcarphyty, Melbourne.
11. Proceedings of Seed Pathology Workshop. 1981. Institute of Agricultural Science and Development, College of Agriculture, Seoul National University.
12. Sinclair, J. B. 1982. *Compendium of Soybean Disease*. APS Press, St. Paul, Minnesota. 104pp.
13. Wyllie, T. D. and Scott, D. H. 1988. *Soybean Diseases of the North Central Region*. APS Press, St. Paul, Minnesota. 148pp.