

클로버씨스트선충이 무시들음병 발병에 미치는 효과

고형래, 박은형, 강은혜, 최효원, 이영기, 김점순¹, 홍성기*

국립농업과학원 작물보호과, ¹국립농업과학원 유해생물팀

Effects of *Heterodera trifolii* on Fusarium wilt disease in radish plants

Hyoung-Rai Ko, Eun-Hyeong Park, Eun-Hye Kang, Hyo-Won Choi, Youngkee Lee, Jeomsoon Kim¹ and Sung Kee Hong*

Crop Protection Division, National Institute of Agricultural Sciences, Wanju 55365, Republic of Korea

¹Microbial Safety Team, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Republic of Korea

*Corresponding author

Sung Kee Hong
Tel. 063-238-3275
E-mail. sukihong@korea.kr

Received: 17 December 2020

Revised: 6 January 2021

Revision accepted: 11 January 2021

Abstract: Radish is one of the major vegetable crops and has been damaged economically by the causal agent of Fusarium wilt disease, *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani* (FO) in the highlands of Gangwon province, Korea. Recently, clover cyst nematode, *Heterodera trifolii* (HT), occurred in highland of Jeongseon area and poses a threat to radish plants. The nematodes, besides causing direct damage to radish plants, possess the capability to synergize with other plant pathogens, leading to the development of a disease complex. The aim of this study was to investigate the interaction between FO and HT in radish plants. The length of plants co-infected with both FO and HT was shorter than that of plants infected with FO alone, but there was no statistically significant difference. However, the disease severity was much higher in the plants co-infected with both FO and HT (1.60 ± 0.97) compared to FO alone (0.20 ± 0.42) ($df=3$, $F=10.17$, $p<0.001$). Disease incidence was also about two-fold higher in plants co-infected with both FO and HT (80%) compared to FO alone (44%). These results suggested that the clover cyst nematode should be considered in the management of Fusarium wilt disease in the highlands of Gangwon province.

Keywords: clover cyst nematode, Fusarium wilt disease, interaction

서 론

우리나라에서 무(*Raphanus sativus*)는 배추, 마늘 등과 더불어 중요한 5대 채소작물 중 하나이며, 재배면적은 23,406 ha, 총생산액은 5,625억 원에 달한다(MAFRA 2019). 특히, 강원지역의 무 재배면적은 3,598 ha로 국내 총 재배면적의

15% 정도이며, 국내에서 유통되는 여름무의 대부분이 강원도 고랭지에서 재배되고 있다(MAFRA 2019). 강원지역에서 무는 수십 년간 연작을 하고 있어 시들음병(wilt disease), 뿌리혹병(clubroot), 무름병(bacterial soft rot) 등 토양병에 의한 품질 저하, 수량 감소 등으로 인한 경제적 피해를 받고 있다(Moon *et al.* 2001; Jo *et al.* 2011; Lee *et al.* 2018). 이

중 시들음병은 무 연작지에서 발생하는 대표적인 토양병 중 하나로 국내에서는 *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*에 의해 발생하는 것으로 알려져 있다(Lee et al. 2010). 시들음병에 감염된 무의 잎은 아래쪽 잎부터 노랗게 변하고 뿌리를 절단하였을 때 도관부가 암갈색으로 변하는 증상이 나타난다(Toit and Pelter 2003; Lee et al. 2017).

최근에는 강원도 삼척, 태백, 정선의 고랭지배추, 무 등 채소작물 재배지에 사탕무씨스트선충(*Heterodera schachtii*)과 클로버씨스트선충(*Heterodera trifolii*)이 발생하여 생육 저조, 결구 불량 등으로 인한 경제적 피해를 주고 있다(Mwamula et al. 2018). 이러한 식물기생선충은 뿌리에 침입할 때 상처를 유발하여 토양전염성 병원균들의 침입하기 쉽게 돕는 것으로도 잘 알려져 있다(Jorgenson 1970; Evans and Haydock 2012; Meena et al. 2016). 강원도 고랭지 무의 주산지 중 한 곳인 정선의 고랭지배추 재배지에는 클로버씨스트선충이 우점하고 있으며(Kwon et al. 2018), 클로버씨스트선충이 감염된 포장에서 무를 재배하는 경우 시들음병균과 함께 복합감염 피해를 일으킬 우려가 있다. 그러나 국내에서는 아직까지 시들음병균과 클로버씨스트선충의 복합감염에 따른 무의 피해 정도에 대한 연구가 수행된 바 없다.

따라서, 본 연구는 강원도 고랭지배추 재배지에서 문제되고 있는 클로버씨스트선충이 무시들음병의 발병에 미치는 영향을 구명함으로써 무시들음병의 피해 예방을 위한 관리전략 수립에 활용하고자 수행하였다.

재료 및 방법

1. 시험작물

시판 무 품종인 관동여름무 종자를 원예용 상토 300 mL이 들어있는 직경 9 cm의 플라스틱 포트에 파종하고, 식물생장상(VS-1203PF-HL; Vision scientific, Suwon, Korea)에 넣어 25°C 정온, 광주기 16:8(낮:밤)의 조건에서 2주 동안 배양하였다. 무 생장을 위해 매일 1~2회 필요에 따라 수돗물을 관주하였다.

2. 선충 접종원

무를 기주로 하는 사탕무씨스트선충과 클로버씨스트선충 가운데 현재 강원지역 우점종인 클로버씨스트선충

(*Heterodera trifolii*)을 이용하였다(Kwon et al. 2018). 클로버씨스트선충 표준종의 감염 토양 300 cm³를 약 4 L의 수돗물이 들어있는 플라스틱 물통에 넣어 토양 현탁액을 조제한 다음 이를 20 mesh와 60 mesh 체에 순서대로 걸렀다(Barker 1985). 60 mesh 체 위에 남은 찌꺼기를 격자가 있는 squared petridish로 옮겨 실체현미경(MZ12; Leica, Wetzlar, Germany) 아래서 갈색의 씨스트(cyst)만 micro-sieve에 골라 담았다. 씨스트를 5 mL tube에 옮긴 다음 homogenizer를 이용하여 씨스트 껍질을 티프러 알 현탁액을 조제하였다. 알 현탁액을 50 mL conical tube에 옮겨 담고 실체현미경 아래서 알 수를 계수한 다음 알 현탁액 1 mL당 알 3,000개의 밀도가 되도록 수돗물을 첨가하였다.

3. 무시들음병균 접종원

무시들음병균(*Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*)은 국립농업과학원에서 보관 중인 SKH18092 균주를 사용하였다. 무시들음병균이 접종된 PDA 배지를 25°C 배양기에 넣고 2주 동안 배양하였다. PDA 배지 위에 살균증류수를 약 10 mL 붓고 멸균된 스크래퍼를 이용하여 분생포자를 긁어 포자 현탁액을 조제하였다. 포자 현탁액을 hemocytometer에 넣고 실체현미경 아래서 포자 수를 확인하였고, 무시들음병의 발병도(disease severity)가 높았던 1 mL당 포자 수 10³개의 농도로 조정하기 위해 살균증류수를 첨가하였다(Supplementary Table 1).

4. 클로버씨스트선충과 무시들음병균 접종 및 배양

클로버씨스트선충 유무에 따른 무시들음병의 발병 정도를 비교하기 위해 무시들음병균 접종 전 클로버씨스트선충을 먼저 접종하여 선충에 의한 상처를 유도하였다. 무시들음병균 포자 현탁액의 접종은 무 생육에 영향이 없었던 관주 처리 방법을 이용하였다(Supplementary Fig. 1). 2020년 7월 7일, 선충 단독처리구($n=10$), 선충과 시들음병균 복합감염 처리구($n=10$)에 클로버씨스트선충 알을 각각 1 mL(알 3,000개)씩 접종하였다. 선충 접종 10일 후 각 처리별로 무시들음병균 포자 현탁액을 각각 40 mL씩(포자 4×10^4 개) 관주하였다. 선충 및 시들음병균 접종에 따른 무의 생육과 발병도 비교를 위해 무처리구($n=10$)도 함께 배치하였다. 선충과 시들음병균을 접종한 포트는 선충 증식률과 발병도가 가장 높았던 25°C 배양기에 넣어 7주간 배양하였다(Supplementary Table 1).

5. 무 생육 비교 및 발병도 평가

클로버씨스트선충과 무시들음병균 접종에 따른 무의 생육 비교는 초장 (plant length)을 이용하였다. 각 처리구별로 수확한 무 뿌리를 수돗물로 깨끗이 씻어 검은색 천에 처리구별로 높혀 가지런히 배열한 다음 줄자를 이용하여 무 지상부 초장을 측정하였다. 무시들음병의 발병도 (disease severity)는 무의 생육 상태를 육안으로 관찰하며 본 연구에서 임의로 정한 발병도 평가 기준을 근거로 평가하였고 (Fig. 1), 발병률 (disease incidence)은 지제부 줄기와 지하부 뿌리를 둘로 쪼개어 뿌리와 줄기 종단면에 형성된 시들음병 병징 유무를 통해 평가하였다.

6. 데이터 분석

무시들음병균이나 클로버씨스트선충을 접종하기도 전에 생육이 불량하여 죽은 포기는 이상값으로 판단하여 데이터 분석에서 제외하였다. 클로버씨스트선충과 무시들음병균 접종에 따른 무의 초장 비교를 위한 통계 분석은 R 통



Fig. 1. Disease severity guidelines for assessing Fusarium wilt disease in *Raphanus sativus*.

Table 1. Synergism of *Heterodera trifolii* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani* in disease development in *Raphanus sativus* cv. Gwandongyeoreummu

Treatment	Plant height (cm)	Disease severity	Disease incidence (%)
Control	14.67 ± 1.76 a	0.00 ± 0.00 b	0
<i>Heterodera trifolii</i> (HT)	13.30 ± 3.27 a	0.33 ± 1.00 b	0
<i>Fusarium oxysporum</i> (FO)	12.48 ± 3.84 ab	0.20 ± 0.42 b	44
HT + FO	10.38 ± 2.04 b	1.60 ± 0.97 a	80

¹This experiment was conducted in plant growth chamber with 25°C; ²The nematode and fungus were inoculated on 7th Jul. 2020; ³Inoculation densities: HT, 3,000 eggs pot⁻¹; FO, 40,000 conidia pot⁻¹; ⁴Plant height, disease severity and disease incidence were investigated on 3th Sep. 2020; *Statistical analysis: One-way ANOVA ($p < 0.05$), Duncan's multiple range test

계 패키지 (<https://www.r-project.org>)를 이용하여 일원배치 분산분석 (one-way ANOVA)을 수행하였고, 사후검정은 Duncan's multiple range test ($p < 0.05$)를 이용하였다. 모든 데이터는 평균과 표준편차로 나타냈다.

결과 및 고찰

1. 클로버씨스트선충 복합감염에 따른 무시들음병 발병 정도 비교

클로버씨스트선충과 무시들음병균의 단독처리 또는 복합처리에 따른 관동여름무의 생육과 발병 정도를 비교한 결과는 Table 1과 같다. 무시들음병균을 단독으로 처리한 경우 관동여름무의 초장이 무처리보다 짧은 경향을 보였으나 통계적으로 유의미한 차이를 나타내지는 않았다. 클로버씨스트선충을 단독으로 처리한 경우에도 관동여름무의 평균 초장이 무처리보다는 짧았으나 통계적으로 유의미한 차이를 보이지 않았다. 반면, 클로버씨스트선충과 무시들음병균이 순차적으로 복합처리된 관동여름무의 초장은 상대적으로 매우 짧은 경향을 보였으며, 무처리나 클로버씨스트선충 단독처리와 비교 시에도 통계적으로 유의미한 차이를 보였다. 발병도는 무시들음병균이나 클로버씨스트선충을 단독처리한 시험구보다 복합처리한 시험구에서 상대적으로 더 높은 것으로 나타났다 ($df = 3, F = 10.17, p < 0.001$) (Table 1, Fig. 2). 발병률은 무시들음병균과 클로버씨스트선충 복합처리, 무시들음병균 단독처리 시 각각 80%, 44%로 나타났으며, 클로버씨스트선충 복합처리 시 발병률이 약 2배 정도 높은 것으로 나타났다.

식물기생선충과 토양전염성 병원균과의 상호작용에 대한 연구는 오래전부터 수행되어 왔다. 경제적으로 중요한 식물기생선충 중 하나인 고구마뿌리혹선충 (*Meloidogyne*

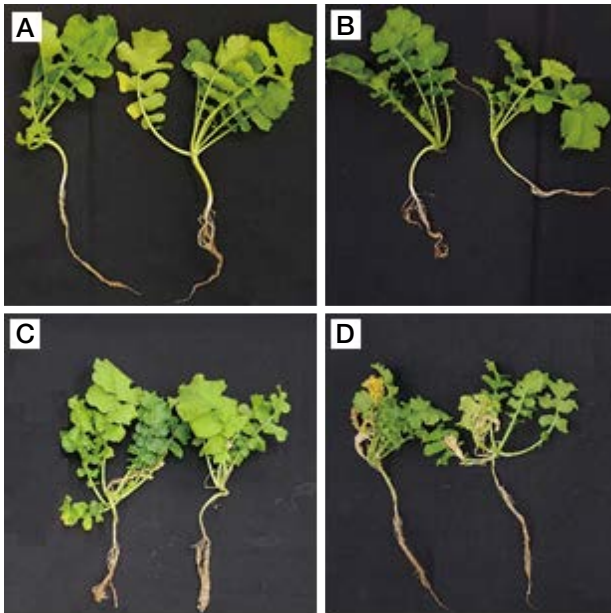


Fig. 2. Comparison of plant growth by fungus and nematode inoculation. A: Non-inoculated control, B: fungus alone (*Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*), C: nematode alone (*Heterodera trifolii*), and D: concomitant inoculation of nematode and fungus (N + F).

incognita)은 토마토에서 *F. oxysporum*과 복합감염 시 총 생체량을 약 54% 감소시키는 것으로 나타났고 (Maqsood et al. 2020), 카네이션, 거베라와 같은 화훼류에서는 *F. oxysporum* 발병률을 증가시켜 수확량과 주당 꽃수를 감소시키는 것으로 나타난 바 있다 (Meena et al. 2015; Meena et al. 2016). 미국 미네소타주에서도 딸기뿌리썩이선충 (*Pratylenchus penetrans*)이 *F. oxysporum*과 복합감염 시 감자의 수확량을 1.2~2.0배 감소시키기도 했다 (Upadhaya et al. 2020). *Heterodera*속 씨스트선충과 *Fusarium*속 병원균과의 상호작용에 대한 연구도 오래전부터 다양한 작물을 대상으로 수행되어 왔다. Sikora (1977)는 토끼풀의 일종인 *Trifolium subterraneum*을 대상으로 클로버씨스트선충 피해를 연구하던 중 병든 식물체에서 *F. oxysporum*과 *F. avenaceum*이 함께 분리됨에 따라 선충과 병원균 간의 상호작용에 대한 가능성을 언급한 바 있다. Nordmeyer and Sikora (1983)는 *T. subterraneum*에서 *F. oxysporum*, *F. avenaceum*에 의한 시들음병균은 클로버씨스트선충과 근연종인 *H. daveri*와 서로 상호작용하며, 선충과 병원균 복합감염 시에만 포장에서 나타나는 병징이 관찰된다고 하였다. 사탕무에서는 *F. oxysporum*이 단독감염되었을 때보다 사탕무씨스트선충과 복합감염되었을 때 사탕무의 생

체중과 건조중이 더 크게 감소하였다는 연구 결과가 있다 (Jorgenson 1970). 콩에서는 콩씨스트선충 (*H. glycines*)이 *F. virguliforme*에 의한 sudden death syndrome 피해를 가중시키는 것으로 보고하기도 했다 (Xing and Westphal 2013). 그러나, 국내 고랭지무에 시들음병을 일으키고 있는 *F. oxysporum* f. sp. *raphani*와 클로버씨스트선충과의 상호작용에 대한 연구 결과는 세계적으로도 아직까지 보고된 바 없다. 본 연구에서 무시들음병균이 클로버씨스트선충과 복합 감염되었을 때 무의 시들음병 발병도와 발병률이 더 높은 것으로 나타났다. 이는 클로버씨스트선충에 의해 생긴 무뿌리의 상처가 무시들음병균의 침입이 용이하도록 통로를 제공하여 나타난 결과로 생각된다. 향후에는 무시들음병균 침입과 클로버씨스트선충 상처와의 연관성에 관한 조직병리학적 관점의 추가적인 연구가 수행되어야 할 것으로 판단된다. 또한, 고랭지배추 재배지에 다수 발생하고 있는 사탕무씨스트선충과 무시들음병 발병과의 상호작용에 대한 연구가 추가로 수행된다면 고랭지무 재배지의 시들음병 방제를 위한 효율적인 방제전략 수립이 가능할 것으로 보인다.

적 요

무는 중요한 채소작물 중 하나이며 강원도 고랭지에서 시들음병 *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*에 의해 지속적으로 경제적인 피해를 받아왔다. 최근에는 정선군의 고랭지에서 배추와 작물을 기주로 하는 클로버씨스트선충 (*Heterodera trifolii*)이 발생하여 무 생산에도 위협을 가하고 있다. 이 선충은 무에 직접적인 피해뿐만 아니라 다른 병원균과 복합감염에 의한 2차 피해를 일으킬 수 있는 것으로 잘 알려져 있다. 따라서, 본 연구에서는 무시들음병균의 발병에 있어 클로버씨스트선충이 미치는 영향을 알아보고자 하였다. 무시들음병균과 클로버씨스트선충을 복합 감염시킨 처리구의 식물 초장은 무시들음병균을 단독 감염시킨 처리구의 식물 초장보다 더 낮은 경향을 보였으나 통계적인 유의성은 없었다. 반면, 무시들음병균과 클로버씨스트선충을 복합 감염시킨 처리구의 발병도 (1.60 ± 0.97)는 무시들음병균을 단독 감염시킨 처리구 (0.20 ± 0.42)보다 더 높은 것으로 나타났다. 발병률도 무시들음병균과 클로버씨스트선충 복합 처리구 (80%)가 무시들음병균 단독 처리구 (44%)보다 2배 정도 높은 것으로 나타났다. 본 연구 결과

에 따라 강원도 고랭지에서 무시들음병의 방제전략 수립 시에는 클로버씨스트선충의 방제도 함께 고려해야 할 것으로 생각된다.

사 사

This research was supported by a grant (Project No. 0134 0301) from Rural Development Administration, Republic of Korea.

REFERENCES

- Barker KR, CC Carter and JN Sasser. 1985. An Advanced Treatise on *Meloidogyne*, Volume II: Methodology. North Carolina State University. Raleigh, NC.
- Evans K and PPJ Haydock. 1993. Interactions of nematodes with root-rot fungi. pp. 104–133. In: Nematode Interactions (Khan MW, eds.). Springer. Netherlands.
- Jorgenson EC. 1970. Antagonistic interaction of *Heterodera schachtii* and *Fusarium oxysporum* (Woll.) on sugarbeets. *J. Nematol.* 2:393–398.
- Jo SJ, JS Jang, YH Choi, JC Kim and HJ Choi. 2011. Development of convenient screening method for resistant radish to *Plasmodiophora brassicae*. *Res. Plant Dis.* 17:161–168.
- Kwon SB, DK Park, HS Won, YG Moon, JH Lee, YB Kim, BG Choi, HT Seo, HR Ko, JK Lee and DW Lee. 2018. Spread of cyst nematodes in highland Chinese cabbage field in Gangwon-do. *Korean J. Appl. Entomol.* 57:339–345.
- Lee ON, JY Park, NH Her and HY Park. 2017. Effect of environmental conditions on pathogenicity of *Fusarium wilt* of radish. *Hortic. Sci. Technol.* 35:113.
- Lee SM, JH Lee, KS Jang, YH Choi, H Kim and GJ Choi. 2010. Resistance of commercial radish cultivars to isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*. *Hortic. Sci. Technol.* 38:97–106.
- Lee SM, YH Choi, KS Jang, H Kim, SW Lee and GJ Choi. 2018. Development of an efficient bioassay method for testing resistance to bacterial soft rot of radish. *Res. Plant Dis.* 24:193–201.
- MAFRA. 2019. Agriculture, Food and Rural Affairs Statistics Yearbook. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs. Sejong, Korea.
- Maqsood A, H Wu, M Kamran, H Altaf, A Mustafa, S Ahmar, NTT Hong, K Tariq, O He and JT Chen. 2020. Variations in growth, physiology, and antioxidative defense responses of two tomato (*Solanum lycopersicum* L.) cultivars after co-infection of *Fusarium oxysporum* and *Meloidogyne incognita*. *Agronomy* 10:159.
- Meena KS, SA Ramyabharathi, T Raguchander and El Jonathan. 2015. *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* interaction in Gerbera. *Afr. J. Microbiol. Res.* 9:1281–1285.
- Meena KS, SA Ramyabharathi, T Raguchander and El Jonathan. 2016. Interaction of *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* in carnation and physiological changes induced in plants due to the interaction. *SAARC J. Agric.* 14:59–69.
- Moon YG, WG Kim, WD Choi and JM Sung. 2001. Occurrence of *Fusarium wilt* on cruciferous vegetable crops and pathogenic differentiation of the causal fungus. *Plant Dis.* 7:93–101.
- Mwamula AO, HR Ko, Y Kim, YH Kim, JK Lee and DW Lee. 2018. Morphological and molecular characterization of *Heterodera schachtii* and the newly recorded cyst nematode, *H. trifolii* associated with Chinese cabbage in Korea. *Plant Pathol. J.* 34:297–307.
- Nordmeyer D and RA Sikora. 1983. Studies on the interaction between *Heterodera daverti*, *Fusarium avenaceum* and *F. oxysporum* on *Trifolium subterraneum*. *Revue Nematol.* 6:193–198.
- Sikora RA. 1977. *Heterodera trifolii* associated with *Fusarium root rot* of *Trifolium subterraneum* in northern Tunisia. *Nematol. Mediterr.* 5:319–321.
- Toit LJ and GQ Pelter. 2003. Wilt of radish caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani* in Washington State. *Plant Health Progress* 4:36.
- Upadhaya A, G Yan, G Secor and P Robinson. 2020. Effects of co-inoculation with *Pratylenchus penetrans* and *Fusarium oxysporum* on growth and yield of potato cultivar Red Norland. *Am. J. Potato Res.* 97:246–255.
- Xing L and A Westphal. 2016. Synergism in the interaction of *Fusarium virguliforme* with *Heterodera glycines* in sudden death syndrome of soybean. *J. Plant Dis. Prot.* 120:209–217.