

(뒷면)

(앞면)

2
1
3
0
0
2

0
4

4

C
G
Z
0
0

발간등록번호

11-1543000-001630-01

5cm



병리검정 서비스

(In vivo screening service for
resistant vegetable cultivar)

한국화학연구원



농림축산식품부 · 해양수산부 ·
농촌진흥청 · 산림청

4cm



병리검정 서비스

농림축산식품부

해양수산부

농촌진흥청

산림청

↑
3cm
↓

주 의
(편집순서 8)

(15 포인트 고딕체열)

↑
6cm
↓

제 출 문

농림축산식품부장관 . 해양수산부장관 . 농촌진흥청장 . 산림청장 귀하

이 보고서를 “병리검정 서비스” 프로젝트의 보고서로 제출합니다.

2017년 3월 31일

프로젝트 연구기관명 : 한국화학연구원

프로젝트 책임자 : 최 경자

세부프로젝트 연구기관명 : 한국화학연구원

세부프로젝트 책임자 : 최 경자

요 약 문

I. 제 목

병리검정 서비스

II. 연구개발의 목적 및 필요성

새로운 계통의 내병성을 검정하는 병리검정은 내병성 작물 육종을 위한 과정 중 가장 우선적으로 필요한 단계이다. 병리검정은 그 방법이 신속, 간편하고 효율적이어야 하며 실험 결과가 정확해야 하는데, 이를 위하여 병리검정 체계의 확립과 아울러 그 기술을 지속적으로 보완 발전시켜 보다 효율적으로 내병성 품종 개발에 기여하고자 한다.

III. 연구개발 내용 및 범위

채소 작물의 내병성 육종을 위한 체계적이고 효율적인 병리 검정 체계를 확립하여 육종가에게 무, 배추, 고추, 수박, 파프리카의 병리검정을 지원하였다.

1. 효율적인 *in vivo* 병리검정 체계 확립

: 수박 덩굴마름병, 고추 뿌리혹선충병, 배추 무름병, 고추 풋마름병, 수박 덩굴쪼김병에, 고추 뿌리혹선충병에 대한 *in vivo* 병리검정 기술

2. 병리검정 서비스

: 육종가가 의뢰한 무, 배추, 고추, 수박 시료의 병리검정을 수행하고 결과 제공

IV. 연구개발결과

1. 효율적인 *in vivo* 병리검정 체계 확립

: 6종 주요 병해에 대한 *in vivo* 병리검정 기술 확립

기주	식물병	병원균
수박	덩굴쪼김병	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i>
수박	덩굴마름병	<i>Didymella bryoniae</i>
고추	풋마름병	<i>Ralstonia solanacearum</i>
고추	세균점무늬병	<i>Xanthomonas euvesicatoria</i>
고추	뿌리혹선충병	<i>Meloidogyne incognita</i>
배추	무름병	<i>Pectobacterium carotovorum</i>

2. 병리검정 서비스

구 분	의뢰 건수 (개)	병리검정 목표 (점)	병리검정 실적 (점)
1차년도	8	5,000	5,709
2차년도	17	10,000	10,340
3차년도	23	10,000	10,330
4차년도	22	15,000	21,276
합계	70	40,000	47,655

V. 연구성과 및 성과활용 계획

1단계에서 확립한 병리검정 기술은 GSP 골든 시드 프로젝트 2단계에서 육종가들에게 지속적으로 내병성 품종개발을 위한 병리검정 서비스에 활용할 예정이며, 본 연구팀에서 제공한 병리검정 결과는 내병성 품종 개발을 촉진하여 우리나라 종자기업의 국가 경쟁력 강화 및 수출 확대에 이용될 예정이다.

SUMMARY

I. Title

In vivo screening service for resistant vegetable cultivar

II. Objectives and Importance of the Research

In the process of developing new disease-resistant vegetable crops, it is essential to screen plants based on resistance to their disease. The methods of the screening have to be precise, simple, rapid, and economical.

The objects of this research, therefore, were to establish an efficient screening system and to service screening for the development of disease-resistant cultivar.

III. Contents and Scope of the Research

1. The establishment of efficient *in vivo* assays for disease resistant plants
2. Screening service

IV. Results

1. The establishment of efficient *in vivo* assays for disease resistant plants

We have established efficient screening systems for disease-resistant plants of vegetable crops to six plant diseases.

Table 1. Development of efficient *in vivo* assays for resistant plants to six diseases

Crop	Plant disease	Pathogenic fungi
Chili pepper	Bacterial leaf spot	<i>Xanthomonas euvesicatoria</i>
Chili pepper	Bacterial wilt	<i>Ralstonia solanacearum</i>
Chili pepper	Root-knot nematode	<i>Meloidogyne incognita</i>
Chinese cabbage	Soft rot	<i>Pectobacterium carotovorum</i>
Watermelon	Fusarium wilt	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i>
Watermelon	Gummy stem blight	<i>Didymella brioniae</i>

2. Screening service

Table 2. Screening service for development of resistant plants to plant pathogen

Research period	No of request	No of sample	
		Objective	Tested
The first year	8	5,000	5,709
The second year	17	10,000	10,340
The third year	23	10,000	10,330
The fourth year	22	15,000	21,276
Total	70	40,000	47,655

CONTENTS

Chapter I.	Brief Summary of the Project -----	9
Section	1. Object of the Research -----	9
Section	2. Importance of Research -----	9
Section	3. Scope of Research -----	11
Chapter II.	International and Domestic Status of This Technology Development -----	12
Section	1. International status of this technology development	12
Section	2. Domestic status of this technology development --	13
Chapter III.	Scope and Results of Research -----	15
Section	1. Demand survey -----	15
Section	2. Establishment of <i>in vivo</i> assays for resistant plants to plant diseases -----	20
Section	3. Upgrade of <i>in vivo</i> assays for resistant plants to viral diseases -----	83
Section	4. Screening service -----	120
Chapter IV.	Accomplishment and Contribution -----	124
Section	1. Accomplishment -----	124
Section	2. Contribution -----	130
Chapter V.	Application of the Results -----	131

Chapter VI.	Foreign Science Technology Information Collected During Research -----	138
Chapter VII.	References -----	140

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요 -----	9
1 절	연구개발의 목적 -----	9
2 절	연구개발의 필요성 -----	9
3 절	연구개발의 범위 -----	11
제 2 장	국내외 기술개발 현황 -----	12
1 절	국외 기술개발 현황 -----	12
2 절	국내 기술개발 현황 -----	13
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과 -----	15
제 1 절	수요조사 -----	15
제 2 절	병리검정 체계 확립 -----	20
제 3 절	병리검정 기술의 업그레이드 -----	83
제 4 절	병리검정 지원 -----	120
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도 -----	124
제 1 절	목표달성도 -----	124
제 2 절	관련분야에의 기여도 -----	130
제 5 장	연구개발 성과 및 성과활용 계획 -----	131
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 -----	138

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1절 연구개발의 목적

채소 작물(고추, 무, 배추, 수박, 파프리카)의 내병성 육종을 위한 병리검정 체계를 확립하고 종자회사에 병리검정 서비스를 지원하는 것을 목표로 한다.

제 2절 연구개발의 필요성

- 2012년 세계 농작물 종자시장 규모는 449억 달러이며 2002년에 비하여 82.1% 증가하는 등 고성장 중이다. 농작물 종자 시장은 곡물 종자가 64.4%, 채소 종자가 32.7% 그리고 화훼 종자가 2.9%를 차지하고 있다(ISF, International Seed Federation 인용).
- 주요 선진국은 일찍부터 종자산업의 중요성을 인식하여 유전자원 확보와 첨단생명공학을 이용한 신품종 개발에 역점을 두고 있고, 종자산업 선·후발국 간에 유전자원의 확보 및 이용을 위한 경쟁이 심화되고 신품종보호권이 국가 간 쟁점으로 대두되고 있다.
- 2012년 세계 종자 시장 중 상위 5개국인 미국, 중국, 프랑스, 브라질, 캐나다이며, 상위 5개국의 종자 시장 규모는 2002년에는 59.1%인 148억 달러였으나 2012년에는 65.7%인 295억 달러로 확대되고 있다.
- 세계 종자산업은 종자기업들 간의 M&A를 통해 규모화하고 있으며, 10대 다국적 기업의 시장 점유율은 1995년 26.8%에서 2009년 74.0%로 급증하여 집중화가 심화되고 있는 상황이다. 이들은 자본력을 바탕으로 막대한 예산을 R&D에 투자하고 있는데, 1위 기업인 몬산토는 2011년 14억 달러 이상을 연구 개발에 투자하고 있는데 이는 우리나라 전체 종자시장 규모의 1.7배에 달하는 연구비이다. 2000년대 이후 분자유전학 등의 발달에 따라 이들은 전통육종과 분자유종을 접목하여 품종 개발 경쟁력을 강화하고 있다. 특히 GM 작물개발, 내재해성 유전자 확보, 고부가가치 기능성 품종 개발에 중점 투자하고 있다.
- 세계 종자 수출은 굴지의 글로벌 종자기업을 보유하고 있는 프랑스, 미국, 독일과 함께 전통적으로 육종 기술이 뛰어난 네덜란드가 중심이 되어 이루어지고 있으며, 이들 4개국은 세계 종자 수출의 1-4위를 점유하고 있으며, 점유율도 50% 이상을 차지하고 있다.
- 세계 채소종자 수출액은 2012년 기준 344.7억 달러로 네덜란드, 미국, 프랑스 순으로 많으며 이들은 각각 12.55억 달러(36.4%), 5.29억 달러(15.3%), 3.49억 달러(10.1%)를 차지하고 있다. 일본은 예전에는 아시아 중에서 채소종자 수출이 가장 많은 나라였으나, 2012년에는 중국이 1억 5800만 달러로 4위 수출국으로 부상한 반면에 일본은 9100만 달러로 8위에 그쳤다.
- 종자산업은 기술·자본 집약적인 고부가가치 산업으로, 경지면적이 좁은 반면에 우수한 인적 자원과 기술력을 지니는 우리나라에 적합한 산업으로 인식되어 종자산업에 대한 관심이 크게 증가하고 있다. 이에 농림축산식품부는 2009년에 종자산업을 ‘미래 신성장동력’으로 키우기 위한 ‘2020 종자산업 육성 대책’을 수립한 바 있다.
- 우리나라는 그동안 국가에서는 주곡 작물의 육종을 그리고 채소 작물은 ‘완전민간주도형’으로 육종을 담당해 왔다. 그런데 1997년 외환위기 당시에 64%의 시장 점유율을 차지하던

국내 4대 종자기업인 흥농종묘, 서울종묘, 중앙종묘, 청원종묘가 신젠타, 세미니스, 사카타 등의 다국적기업에 인수되어 우리나라 종자기업의 육종 기반이 취약해 졌다. 이후 우수한 육종기술을 보유한 많은 육종가들이 줄지어 창업함으로써 중·소규모 종자회사 및 개인육종가의 수가 크게 증가하여 종자기업 중 **10인 이하의 소규모업체가 97%**인 실정이다.

- 우리나라는 2002년에 UPOV에 가입함에 따라 2001년 5억5천만 원, 2005년에는 183억 6천만 원 그리고 2011년에는 226억 원의 로열티를 지급하였다. 그런데 2012년도부터는 모든 작물이 신품종 보호 대상 작물로 확대되어 앞으로 **로열티 지급 규모가 크게 증가**하리라 예상되고 있다. 따라서 수입을 대체할 수 있는 우수한 품종의 종자 개발이 시급히 요구되고 있다.
- 우리나라 종자시장 규모는 세계 시장의 1% 내외에 불과하고, 2014년 현재 우리나라의 채소종자 시장 규모는 2,117억 원이다. 2015년 우리나라 채소종자 수출은 140.4만 달러이며 수입은 277.6만 달러로 수입이 더 많은 상태이다. 국내 농업은 시장개방 영향과 농가 고령화 등으로 종자시장 확대에는 한계가 있으므로 종자수출 확대를 추진하는 것이 필요하다.
- 국내 채소종자업체는 227업체(2014년 11월 기준)이지만, 상위 10개 업체가 83%를 점유하고 있어 업체 규모가 상당히 영세한 구조이다. 그리고 외국계 종자기업의 점유율은 외환위기 이전에는 14% 수준이었으나, 현재는 50% 수준으로 확대되었다.
- **오늘날 채소 품종 육성의 핵심 기술은 내병성**이다. 식물 병을 방제하지 않고 작물을 재배하면 작물에 따라 10~70%의 수확량 감소가 있는데, 원예 작물의 경우에는 타 작물에 비하여 특히 피해가 크다. 또한 병이 발생한 작물에는 병원균이 생산한 aflatoxin, trichothecene 등의 독소(mycotoxin)가 존재하는데, 이를 섭취한 인·축에 간암, 내장 출혈, 생식기 이상 등을 일으킨 역사적 사건들이 보고된 바 있다. 따라서 식물 병은 반드시 방제해야 하는데, 삶의 질이 높아짐에 따라 환경에 대한 관심이 증가하고 있고 안전한 먹거리에 대한 소비자 요구도 증가하고 있다. 따라서 합성작물보호제를 사용하지 않고 재배할 수 있도록 **내병성 품종에 대한 요구가 커지고 있다.**
- 우리나라는 무, 고추, 배추에 관해서는 세계적인 경쟁력을 지니고 있으나, 다국적 기업이 우리나라 종묘회사를 인수한 후에 획득한 자원 및 기술을 이용하여 시장을 확장하고 있어 위협을 받고 있다. 따라서 이들 채소 품종들의 경쟁력을 유지하기 위해서는 재배 지역에 적합한 **내병성 품종의 개발**이 절실히 요구되고 있다.
- 내병성 육종을 위해서는 내병성 유전자원 확보가 무엇보다 중요하지만 **내병성 채소 품종을 개발하는데 있어 가장 많은 시간과 경비가 소요되는 단계는 교배한 다양한 개체 중에서 우수한 저항성 개체를 선발하는 병리검정 과정**이다. 이 병리검정은 전문 시설, 기술 및 인력이 요구되는 전문분야인데, 90년대 외환위기 이후에 우리나라 종자 산업체 대부분이 자본금 규모가 영세한 중소기업 혹은 개인육종가로 육종에 관해서는 우수한 기술을 보유하고 있으나 **병리검정을 자체적으로 추진하기에는 한계가 있는 실정**이다.
- 내병성 품종은 수년에서 수십 년의 오랜 기간 동안 육종을 통하여 개발되는 것이므로 초기 병리검정에 오류가 발생하면 육종가는 막대한 피해를 입게 된다. 이를 위해서는 신속하면서도 정확한 병리검정 결과가 육종가에게 제공되어야 하는데, 이를 위해서는 **효율적이고 정확도가 우수한 대량 검정 용 병리검정 체계 확립**이 필요하다.

- 내병성을 신속하고 정확하게 평가하기 위한 대량 병리검정 기술 개발을 위해서는 효율적인 접종 기술뿐만 아니라 주요 병원균을 다양하게 수집하여 특성을 평가하고 이를 시스템에 반영하여 병리검정의 정확도를 증진하는 것이 필요하다. 그리고 수집한 병원균을 장기 보존할 수 있는 방법의 개발과 주요 병원균들의 분자생물학적 혹은 혈정학적 진단법을 개발이 필요하다.
- 병리검정 서비스 과제의 성공 여부는 **효율적인 병리검정 시스템 구축뿐만 아니라 신뢰**가 관건이다. 우리 팀은 1988년부터 신농약 살균제 개발을 위한 스크리닝 체계를 확립하고 이를 이용하여 1년에 4,000개의 화합물, 천연물 및 미생물에 대한 *in vivo* 살균 활성을 조사하여 여러 개의 살균제 후보물을 도출하고 사업화하여 왔다. 그리고 이 경험을 바탕으로 2009년부터 농림축산식품부가 지원하는 ‘**채소병리검정지원사업단(주관: 한국화학연구원)**’ 과제와 2013년부터 GSP채소종자사업단 1단계 ‘**병리검정 서비스**’ 과제를 수행하여 효율적인 병리검정 체계를 확립하고 육종가를 지원하여 왔다. 본 연구팀은 육종가로부터 효율적인 병리검정 시스템을 구축하여 **질 좋은 병리검정 결과를 제공하였다고 평가받고 있다.**

제 3절 연구개발 범위

- 본 기술개발은 GSP 채소종자사업단의 수출용 내병성 품종을 개발하기 위한 병리검정 서비스 과제로 사업단의 주요 대상 작물인 배추, 무, 수박, 고추 및 파프리카에 발생하는 주요 식물병에 대한 병리검정 기술을 확립하여 GSP 채소종자사업단 과제에 참여하는 종자회사의 내병성 품종 개발을 위한 병리검정 서비스를 수행하고자 하였다.
- **미확립된 식물병**에 대한 병리검정 기술은 **순차적으로 병리검정 기술을 확립**하여 GSP 채소종자사업단의 병리검정 서비스를 수행하였다.
- 내병성 육종을 위해서는 대량의 시료에 대하여 병 저항성을 정확하게 검정할 수 있는 효율적인 *in vivo* 병리검정 체계를 구축하는 것이 필요하다. 주요 병해에 대한 대량 검정 체계를 구축하기 위해서는 기본적으로 접종원 종류 결정, 접종원 대량생산 방법, 접종 방법, 접종하는 식물의 생육 시기 및 발병 환경 그리고 병조사 방법 및 저항성 기준 등을 확립하였다.
- 본 연구팀에는 현재 **고추, 배추, 무, 수박, 파프리카**에 발생하는 **주요 식물병 중 곰팡이 및 유사균류 병해 10종, 세균병 5종 및 선충병 2종**에 대하여 *in vivo* 병리검정 기술이 확립되어 있다. 이들 병리검정 기술을 이용하여 GSP 채소종자사업단에 참여하는 육종가들이 내병성 품종을 개발할 수 있도록 병리검정을 지원하였다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1절. 국외 현황

세계 종자시장 규모는 약 780억 달러(2011년 기준)로 2001년 이후 연평균 10% 이상의 고성정 중이다. 이 중 농작물 종자시장은 53%인 450억 달러인데, 이중 곡물 종자가 79%, 채소 및 화훼 종자가 17% 그리고 사료 및 목초 종자가 14%를 차지하고 있다. 주요 선진국은 일찍부터 종자산업의 중요성을 인식하고 유전자원 확보와 첨단 생명공학을 이용한 신품종 개발에 역점을 두어 왔다. 따라서 종자산업 선·후발국 간에 유전자원의 확보 및 이용을 위한 경쟁이 심화되고 신품종보호권 등은 국가 간 쟁점으로 대두되고 있다. 세계 11대 종자 회사의 국적과 매출액은 Table 1과 같다.

Table 1. 세계 11대 종자 회사의 국적과 모기업의 주력 사업 및 매출액 (한국채소종자산업발달사, 박호근 등, 2008년)

순위	회사명	국적	주 사업	매출액(억 달러)
1	Monsanto+Seminis	미국	제약, 종자	28.03
2	Pioneer(Dupont)	미국	제약, 농약	26.00
3	Syngenta	스위스	제약, 농약	12.39
4	Groupe Limagrain	프랑스	종자	10.44
5	KWS AG	독일	종자	6.22
6	Land O'Lakes	미국	종자	5.38
7	Sakata	일본	종자	4.16
8	Bayer Crop Science	독일	제약, 종자	3.87
9	Takii	일본	종자	3.66
10	DLF-Trifolium	네덜란드	종자	3.20
11	Delta & Pine Land	미국	종자(면화)	3.15

60년대와 70년대의 녹색혁명은 전통육종의 성과였으나, 최근 식물 유전학은 혁명적인 발달을 이룩하였고 전통육종 기술에만 의존한 품종 개량은 이제 한계에 다다랐다. 애기장대와 벼의 게놈을 완전 해독하였고, 현재 옥수수, 토마토, 두과 작물의 염기서열 해독은 진행 중에 있으며, 담배, 토마토, 감자 등 다양한 작물의 형질전환이 성공적으로 이루어지고 있다. 기능 유전체학이 발달하게 되어 다양한 유전정보가 제공되고 있고, 전통육종에 분자마커를 활용한 선발 기술과 유전자 조작기술 등의 첨단 기술을 활용한 분자육종의 접목이 이루어지고 있어 이를 통한 작물의 품종개발이 시작되고 있다.

채소 신품종 육종에 있어 가장 큰 핵심요소는 내병성 육종으로, 선진국에서는 *in vivo* 병리검정 스크리닝과 마커 검정을 지원해 주는 전문회사 또는 연구기관이 있다. 내병성 육종을 위한 병리검정은 기존에는 *in vivo* 병리검정이 주된 방법이였으나, 분자마커를 이용한 선발 기술을 이용하면 품종개발 연한을 단축하고 우량개체 선발의 효율이 극대화되므로 이 분자마커를 활용한 선발기술의 중요성이 크게 부각되고 있다.

최근에는 유전공학의 발달로 내병성 관련 분자마커가 많이 개발되고 있다. 다국적 종자 회사들을 중심으로 자체 마커 개발 기술과 High-throughput(HT)-MAS(marker assisted

selection) system 확립에 많은 투자가 이루어지고 있다. 네덜란드의 경우에는 민간 육종회사들이 육종 효율을 극대화하기 위하여 Keygene이라는 분자마커 개발 전문회사를 설립하고 성공적으로 운영하고 있다. 현재 프랑스와 일본의 육종회사도 공동 투자하여 분자마커를 개발하고 활용하고 있다.

제 2절. 국내 현황

2011년 우리나라의 채소종자 시장 규모는 2,337억 원이고, 이중 내수는 약 85%인 1,977억 원이고 수출은 360억 원에 불과하다. 종자 산업은 농업 분야에서 기술집약적인 고부가 가치 산업이므로, 국토가 좁고 자원이 빈약하지만 우수한 인력을 보유하고 있는 우리나라에 적합한 산업분야이다. 앞으로 채소 종자 산업은 Well-Being 소비 경향과 생명공학기술의 발달에 따라 발전 가능성이 매우 크다.

우리나라 채소 종자의 경우 국내육성 품종 점유율이 거의 90%로 매우 높는데, 물론 이는 5대 식량 작물과 약용 작물, 전매 작물에 비하면 다소 낮으나, 사료작물, 과수류, 화훼류, 버섯류 및 해조류에 비하면 월등히 높다. 또한 우리나라 채소 품종들은 1973년 대 이래 1대 잡종으로 전환되어 현재는 채소작물의 종자 갱신율이 거의 100%이다.

우리나라의 경우, 채소 종자 산업만이 유일하게 ‘완전 민간 주도형’으로 발전해 왔다. 한국종자협회에는 54개의 회사가 등록되어 있으나, 개인사업자를 포함하여 국내에서는 약 200여 개의 종자회사가 있는 것으로 추정되고 있다. 민간 주도형 채소육종은 1960년대 초반부터 시작되었으며 그 이후 품종 육성은 이들 회사의 주 업무가 되었다. 무, 배추, 고추 등 일부 채소종자의 경우에는 육종기술면에서 선진국 수준에 도달해 있고, 우리나라는 전 세계 채소 재배 면적의 68%를 차지하고 있는 아시아권 채소시장의 중심적 위치에 있기 때문에 지속적인 연구를 진행할 경우 종자강국으로 부상할 가능성이 있다. 그러나 국제 시장에서의 경쟁이 날로 치열해 지고 있기 때문에 지속적으로 경쟁력을 높여가지 않으면 언제 다른 나라에 추월당할지 모르는 위치에 있다.

우리나라의 경우, 무(일본), 배추(중국) 및 고추(인도, 인도네시아) 등은 종자를 수출하고 있지만, 토마토, 양파 및 시금치는 일본에서 수입하고 있는 실정이다. 우리 채소종자 산업의 2007년도 종자 수출액은 2,000만 달러를 넘었고, 수입은 약 500만 달러 수준으로 수출 초과가 1,500만 달러에 이르고 있다. 우리 정부에서는 2015년의 종자 수출을 1억 달러로 목표를 정하고, 이 가운데 80%인 8,000만 달러를 채소종자 수출로 달성하기 위한 장기 계획을 수립하고 있다. 하지만 세계 종자 시장에서 수출을 확대하기 위해서는 세계적으로 많이 선호하는 작물인 토마토, 브로콜리, 양파 등의 종자 시장에서 경쟁력을 갖추거나, 우수한 내병성 품종의 종자를 개발하는 것이 필요하다.

우리나라는 1997년 <종자산업법>이 제정되기 전까지는 우리나라에 종자 육성자 권리를 보장해 주는 법적 제도적 장치가 없었다. 이는 품종 개발을 저해하고 종자 시장 확대를 저해하는 요소가 되었다. 그러나 1997년 이후에는 <종자산업법> 덕분에 개발된 종자가 품종 보호를 받고 있으며, 현재는 국립종자원에 등록된 품종보호권 등록 품종수는 2,126개에 달한다. 여기에는 국내 판매를 목적으로 하는 화훼류 등 많은 외국 품종도 포함되어 있다.

육종 단계별로 볼 때 유전자원의 확보가 무엇보다도 중요하지만, 내병성 채소 품종을 개

말하는데 있어 가장 많은 시간과 경비가 소요되는 단계는 다양한 개체 중에서 우수한 저항성 개체를 선발하는 스크리닝 과정이다. 그런데 우리나라 종자회사 중 신젠타종묘, 몬산토코리아, 동부팜한농, 농우바이오, 농협NH종묘센터, 바이엘크롭사이언스 등 비교적 규모가 큰 종자회사의 경우 자체적으로 다양한 식물병 스크리닝 시스템을 보유하고 있을 정도로 인력이 충분히 있는 것으로 판단된다. 하지만 대부분의 중소기업체들과 대학 및 연구소의 경우 자체적으로 표준 식물병원균 및 발병 기술을 보유하기는 어려운 실정이므로 내병성 신품종이 개발되고 있으나 병리검정이 전문적으로 이루어지지 못하고 있다.

이러한 종자회사의 요구를 수용하기 위하여 2006년 (구)원예연구소 원예생명공학과에 원예육종지원센터가 설립되었으나 예산 및 인력 부족 등의 이유로 인하여 현재 실질적인 서비스가 이루어지지 않고 있다.

일부 국내 다국적 종자회사의 경우, 미국, 유럽에서 개발된 몇 가지 병저항성 분자마커를 이용하여 내병성 육종라인을 선발하고 있으나 일반 종자회사에는 공개하지 않고 있다. 그 밖에 큰 종자 회사의 경우에도 내병성 관련 분자마커 검정은 다른 전문회사에 의뢰하여 하는 경우가 대부분 이다.

국립농업과학원 농업유전자원센터에서는 종자은행에 수집 보존된 유전자원의 재배 특성 및 병해충 저항성 검정을 통하여 신품종 육종에 유용한 유전자원을 선발하는 연구를 수행하였다. 그리고 충남대 배추분자마커연구사업단(사업단장 임 용표 교수)에서는 과거에 전통육종 방식에 유전정보를 이용한 분자마커 개발을 통한 분자육종 기술 체계를 접목시킴으로써 맞춤형 우수 배추 품종을 개발하고자 하는 연구를 진행하였다. 한편, FnP 고추분자마커사업단(사업단장 김 신제 박사)에서는 고추를 대상으로 배추분자마커사업단과 유사한 연구를 수행하였다. FnP는 또한 고추에서 오이 모자이크 바이러스와 담배 모자이크 바이러스 저항성 식물체 선별 마커 개발에 성공하여 일부회사에 서비스를 하고 있다. 박과 채소의 경우에는 앞서 언급한 회사에서 조차 분자마커를 활용하고 있지 못한 실정으로 이를 활용하기 위한 연구와 기반이 구축되어야 한다.

서울대학교는 그동안 침단학문 분야와 실용 육종학 분야를 연결하기 위한 많은 연구를 수행하여 왔는데, 대표적인 성과로는 분자마커를 이용한 고추의 유전자 연관군 지도 작성, 병저항성 등 다양한 분자마커 개발, 거대염색체 유전자 은행(BAC library) 구축 등이 있다. 2004년부터는 가지과작물 유전체 국제협력사업에 참여하여 고추와 토마토의 제 2번 염색체에 대한 염기서열 분석을 진행하고 있다. 즉, 분자마커 개발 및 이용을 위한 유전체기술 인프라에 있어서는 국제적으로도 앞서 있다.

한국화학연구원에서는 지난 30여 년간 합성농약, 천연물농약 및 미생물농약 개발을 위하여 20개 이상의 식물병에 대하여 *in vivo* 스크리닝 시스템을 확립하였으며, 이중 벼 도열병, 벼 잎집무늬마름병, 토마토 역병, 토마토 잿빛곰팡이병, 고추 탄저병, 밀 붉은녹병, 보리 흰가루병, 및 배추 뿌리혹병 등 8가지 식물병에 대해서는 365일 지속적으로 검정할 수 있는 시설, 장비, 기술 및 인력을 갖추고 있다. 이러한 기반 시설을 및 기술을 바탕으로 국내에서 개발된 신농약의 대부분에 기여하여 왔으며, 최근에는 천연물농약 및 미생물농약을 개발하는 등 많은 업적을 도출한 바 있다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1절. 병리검정 서비스 수요조사

1. 병리검정 서비스 관련 설문조사 실시

- 체계적이고 효율적인 병리검정 서비스를 위하여 GSP 채소종자사업단에 참여하는 과제를 대상으로 2014년 1월에 in vivo 병리검정 지원을 필요로 하는 병리검정 종류, 병리검정 요청시기, 작물별 예상 수량 등에 대한 설문조사를 실시하였다.
- 채소종자사업단 과제는 70개이며 이 중 59개가 설문에 참여했으며, 중간점검회의 참석자의 경우에는 현장 설문조사를 하였으며 일부 과제는 우편으로 설문조사를 하였다. 다음은 설문에 응한 59개 과제의 설문조사 결과를 분석한 것이다.
- 설문조사 결과, 59개 과제 중 품종 육성 과제는 45개이고 기타 과제이지만 병리검정이 필요한 과제는 4개이었다. 병리검정이 필요한 49개 중 병리검정 시설 및 기술을 보유하고 있는 과제는 20개이고, 보유하고 있지 않은 과제는 22개 그리고 일부만 보유하고 있는 과제는 7개 이었다.
- 작물별 in vivo 병리검정 지원을 필요로 하는 기관수는 고추 및 파프리카는 6개, 배추는 10개, 수박은 3개, 무는 8개로 배추와 무에 참여하는 과제들이 in vivo 병리검정 지원 요청이 많았다.
- 병리검정 지원을 필요로 하는 식물병 종류 및 과제 수는 다음과 같다.

Table 1. 병리검정 지원이 필요한 고추(*Capsicum annuum*)의 식물병 및 과제 수

식물병 (한글)	식물병 (영어)	이명	병원균 학명	과제 수
역병	Phytophthora blight	-	<i>Phytophthora capsici</i>	4
팟마름병	Bacterial wilt	칭고병	<i>Ralstonia solanacearum</i>	3
흰가루병	Powdery mildew	-	<i>Leveillula taurica</i>	2
바이러스병	Virus diseases	-	-	4
탄저병	Anthraxnose	-	<i>Colletotrichum</i> spp. (<i>C. gloeosporioides</i> , <i>C. acutatum</i> , <i>C. capsici</i>)	1
세균성점무 늑병	Bacterial spot	-	<i>Xanthomonas vesicatoria</i>	1

Table 2. 병리검정 지원이 필요한 배추(*Brassica rapa* subsp. *pekinensis*)의 식물병 및 과제 수

식물병 (한글)	식물병 (영어)	이명	병원균 학명	과제 수
뿌리혹병	Clubroot	무사마귀병	<i>Plasmodiophora brassicae</i>	8
노균병	Downy mildew	-	<i>Hyaloperonospora brassicae</i> (syn. <i>Peronospora brassicae</i>)	4
바이러스병	Virus disease	-	<i>Turnip mosaic virus</i>	7
무름병	Soft rot	연부병	<i>Pectobacterium carotovorum</i>	1

Table 3. 병리검정 지원이 필요한 수박(*Citrullus lanatus*)의 식물병 및 과제 수

식물병 (한글)	식물병 (영어)	이명	병원균 학명	과제 수
덩굴썩김병	Fusarium wilt	만할병	<i>Fusarium oxysporum f. sp.</i> <i>niveum</i>	3
덩굴마름병	Gummy stem blight	만고병	<i>Didymella bryoniae</i> (syn. <i>Mycosphaerella melonis</i>)	1
탄저병	Anthraxnose	-	<i>Colletotrichum orbiculare</i>	1
흰가루병	Powdery mildew	-	<i>Podosphaera xanthii</i>	1
역병	Phytophthora crown and root rot	-	<i>Phytophthora capsici</i>	1

Table 4. 병리검정 지원이 필요한 무(*Raphanus sativus*)의 식물병 및 과제 수

식물병 (한글)	식물병 (영어)	이명	병원균 학명	과제 수
시들음병	Fusarium wilt	위황병	<i>Fusarium oxysporum f. sp.</i> <i>raphani</i>	6
검은무늬병	Alternaria spot, Black spot	흑반병	<i>Alternaria spp.</i> (<i>A. brassicae</i> , <i>A. brassicicola</i> , <i>A. japonica</i>)	2
뿌리혹병	Clubroot	무사마귀병	<i>Plasmodiophora brassicae</i>	2
노균병	Downy mildew	-	<i>Hyaloperonospora parasitica</i> (syn. <i>Peronospora parasitica</i>)	2
세균점무늬 병	Bacterial leaf spot	세균흑반병	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>maculicola</i>	1
무름병	Soft rot	연부병	<i>Pectobacterium carotovorum</i>	1
바이러스병	Virus disease		<i>Turnip mosaic virus</i>	1

o In vivo 병리검정이 필요한 시기 및 과제 수는 다음과 같다. 상당수 과제에서 의뢰할 시기를 미정으로 답하여 다소 부정확하지만 응답한 과제의 결과를 정리하면 다음과 같았다.

Table 5. 병리검정 필요한 **배추** 식물병의 시기 및 과제 수

식물병 종류	1차 년도	2차 년도	3차 년도	4차 년도	5차 년도	6차 년도	7차 년도	8차 년도	9차 년도
뿌리혹병	5	8	8	8	7	7	7	7	7
TuMV	2	4	5	5	5	5	4	4	4
노균병	2	3	3	3	3	3	3	3	3
무름병	0	0	1	1	0	0	0	0	0

Table 6. 병리검정 필요한 **무** 식물병의 시기 및 과제 수

식물병 종류	1차 년도	2차 년도	3차 년도	4차 년도	5차 년도	6차 년도	7차 년도	8차 년도	9차 년도
시들음병	2	6	5	5	5	5	5	5	3
노균병	1	1	1	1	2	2	2	2	2
흑반병	0	2	1	1	1	1	1	1	1
세균검은무늬병	1	1	1	1	1	1	1	1	1
무름병	0	1	0	0	0	0	0	0	0
바이러스병	0	0	1	0	0	0	0	0	0

Table 7. 병리검정 필요한 **고추 및 파프리카** 식물병의 시기 및 과제 수

식물병 종류	1차 년도	2차 년도	3차 년도	4차 년도	5차 년도	6차 년도	7차 년도	8차 년도	9차 년도
역병	3	5	4	2	1	1	1	1	1
꽃마름병	0	2	2	2	2	1	1	1	1
세균성점무늬병	1	1	1	1	1	1	1	1	1
탄저병	1	1	1	1	1	1	1	1	1
흰가루병	1	1	1	1	0	0	0	0	0

Table 8. 병리검정 필요한 **수박** 식물병의 시기 및 과제 수

식물병 종류	1차 년도	2차 년도	3차 년도	4차 년도	5차 년도	6차 년도	7차 년도	8차 년도	9차 년도
덩굴쫄김병	2	2	2	2	1	1	1	1	1
탄저병	1	1	1	1	0	0	0	0	0
역병	1	1	1	1	0	0	0	0	0
흰가루병	1	1	1	1	0	0	0	0	0

o In vivo 병리검정이 필요한 수량은 다음과 같다. 상당수 과제에서 의뢰할 수량을 미정으로
 답하여 다소 부정확하지만 응답한 과제의 결과를 정리하면 다음과 같았다.

Table 9. 병리검정 필요한 **배추**의 식물병 종류 및 수량

식물병 종류	1차년도 (계통)	2차년도 (계통)	3차년도 (계통)	4차년도 (계통)
뿌리혹병	620	740	750	720
TuMV	30	280	430	530
노균병	30	30	30	30
무름병	-	-	-	-

Table 10. 병리검정 필요한 **무**의 식물병 종류 및 수량

식물병 종류	1차년도 (계통)	2차년도 (계통)	3차년도 (계통)	4차년도 (계통)
시들음병	0	150	100	100
노균병	-	-	-	-
흑반병	0	150	100	100
세균검은무늬병	-	-	-	-
무름병	0	100	0	0
바이러스병	0	0	20	0

Table 11. 병리검정 필요한 **고추 및 파프리카**의 식물병 종류 및 시기

식물병 종류	1차년도 (계통)	2차년도 (계통)	3차년도 (계통)	4차년도 (계통)
역병	800	1300	1000	500
꽃마름병	0	1000	500	500
세균성검무늬병	100	200	200	200
탄저병	500	500	500	500
흰가루병	300	300	300	

Table 12. 병리검정 필요한 **수박**의 식물병 종류 및 시기

식물병 종류	1차년도 (계통)	2차년도 (계통)	3차년도 (계통)	4차년도 (계통)
덩굴쪼김병	25	25	25	25
탄저병	10	10	10	10
역병	10	10	10	10
흰가루병	10	10	10	10

제 2절. 병리검정 체계 확립

1. 수박 덩굴쪄김병 저항성 병리검정 체계 확립

가. 서론

수박(*Citrullus lanatus*)은 고추, 딸기와 함께 우리나라의 3대 채소 중 하나로 중요한 농가 수입원이며 재배면적은 약 16,396 ha이다. 현재 흰가루병, 탄저병, 덩굴마름병, 역병, 균핵병 등의 수박 병이 알려져 있으며, *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*에 의한 덩굴쪄김병(*Fusarium wilt*)은 전 세계적으로 수박 재배지에 큰 피해를 주는 식물병의 하나이다. 이 병원균은 토양에서 서식하며 분생포자와 후막포자를 형성하고, 기주가 존재하면 포자 발아하여 나온 균사가 뿌리 내 물관으로 침입하여 그 속에서 이동 및 증식하여 기주에 시들음 증상을 일으킨다. 덩굴쪄김병에 감염된 식물체의 줄기를 횡으로 잘라서 보면 유관속 조직이 갈변된 링모습을 볼 수 있으며 병이 더 진전되면 전체가 말라 죽는다(Agrios, 2005).

이러한 수박 덩굴쪄김병을 방제하기 위하여 연작을 피하고 윤작을 하거나 저항성 대목을 이용한 접목 재배 등의 경종적 방제와 토양 훈증제 등을 이용하는 화학적 방제법이 적용되고 있으나 경제적인 비용과 노동력이 많이 요구된다. 저항성 수박 품종의 재배는 이 병을 방제하는 효율적인 방법이지만, 아직까지 국내에 시판되고 있는 품종이 없는 실정이므로 많은 연구자들에게 내병성 품종 개발의 중요성을 더욱 부여하고 있다.

F. oxysporum f. sp. *niveum*(Fon)은 박과 작물 내 기주 식물의 병원성 차이에 따른 기주 특이성뿐 아니라(Lee, 1969), 수박 품종 반응에 따른 레이스의 분화도 보고되어 있다(Crall, 1963). 1972년, 이탈리아에서 Cirulli는 수박 품종(Sugar baby, Charleston gray, Calhoun gray)에 병원성 차이를 나타내는 Fon을 확인하여 레이스 0(Sugar baby, 감수성; 그 외, 저항성)과 레이스 1(Calhoun gray, 저항성; 그 외, 감수성)로 구분하였고 1973년, 이스라엘에서는 레이스 1에 저항성이 있는 품종을 붕괴하는 레이스가 출현하였고 이를 레이스 2로 분류하였다(Cirulli, 1972; Netzer와 Dishon, 1973; Netzer, 1976). Martyn(1987)도 1981년, 미국 텍사스에서도 저항성 수박 품종에 심각한 시들음 증상을 유발하는 레이스 2가 출현하였음을 보고하였다. 최근에 Zhou(2010)는 레이스 2에 저항성을 보이는 PI-296342-FR 품종을 무너뜨리는 레이스 3을 보고하였는데, 이는 기존의 레이스보다 훨씬 강한 병원성을 가지는 것이었다(Table 1). 이러한 새로운 레이스의 출현과 수박 덩굴쪄김병 저항성 유전자원의 탐색을 위하여 효율적인 저항성 검정법이 필요하다.

따라서 본 연구는 효율적인 수박 덩굴쪄김병 저항성 검정 방법을 확립하기 위해서 현재 시판되고 있는 19종 수박 및 11종 대목 품종의 저항성 정도를 실험하고, 이들 중 수박 3종과 대목 2종을 선발하여 기주 식물의 생육 시기, 접종원 농도, 재배 온도, 포자현탁액에 침지하는 시간 등 다양한 발병 조건에 따른 수박 품종들의 덩굴쪄김병 발생을 조사하고자 한다.

Table 1. Disease reaction of watermelon genotypes used to differentiate races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*

Genotype	Race ^a			
	0	1	2	3
Sugar baby	S	S	S	S
Charleston gray	R	S	S	S
Calhoun gray	R	R	S	S
PI-296341-FR	R	R	R	S

^aAssignments of disease reaction ratings are based on incidence of *Fusarium* wilt on the differential genotypes, where R=resistant(<33% wilt) and S=susceptible(≥33% wilt).

나. 재료 및 방법

(1) 덩굴쪄김병 병원균의 동정

경남 함안군 수박 포장에서 덩굴쪄김병 증상을 나타내는 수박에서 분리한 *F. oxysporum* 균주와 한국농업미생물자원센터(Korean Agricultural Culture Collection, KACC)에서 분양받은 *F. oxysporum* f. sp. *niveum* KACC40902 균주를 동정하기 위하여 potato dextrose agar(PDA; Becton, Dickinson and Co.) 배지에 접종한 후 25°C에서 7일간 배양하여 사용하였고, 배양한 균사체에 InstaGene matrix (Bio-Rad)를 사용하여 DNA를 얻었다. DNA의 ITS(Internal Transcribe Spaces)영역과 TEF(translation elongation factor 1α)영역의 증폭 및 염기서열 결정을 위하여 ITS 영역은 universal primer set ITS1/ITS4 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3', 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')를 이용하였고, TEF 영역은 EF1T/EF2T (5'-ATGGGTAAGGAGGACAAGAC-3', 5'-GGAAGTACCAGTGATCATGTT-3')를 사용하여 Polymerase chain reaction(PCR)을 수행하였다. PCR 반응액은 DNA 1ul, 10mM dNTP mix 1 ul, 10pmol primer set 각각 1 ul, 10×Buffer 3 ul, 2.5 unit/ul EF-Taq DNA polymerase(Solgent) 0.2 ul를 넣은 후 멸균수로 반응액의 부피를 최종 30 ul가 되게 하였다. ITS 영역 유전자 증폭은 95°C 5분간 initial denaturation 반응 후 denaturation, annealing, extention은 각각 95°C 45초, 55°C 1분, 70°C 1분으로 35회 반복한 후 final extension 70°C 10분 반응하였고, TEF 영역 유전자 증폭을 위해 95°C 2분간 initial denaturation 반응 후 denaturation, annealing, extention은 95°C 30초, 54°C 30초, 72°C 1분으로 35회 반복한 후 final extension 72°C 10분간 반응하였다. 그리고 PCR 산물은 Big Dye[®] terminator v3.1 cycle sequencing kits(Applied Biosystems)로 반응 후 각각의 primer로 DNA Engine Tetrad 2 peltier thermal cycler(Bio-Rad)을 이용하여 PCR 반응을 수행하고 ABI Prism 3730xl Analyzer 96 capillary type (Applied Biosystems)로 염기서열 분석 결과를 얻었다. 그리고 이 염기서열을 BLAST search에 의해 GenBank에 등록된 ITS 영역 또는 TEF 영역의 염기서열과 비교하였고, 동정하고자 하는 균주와 GenBank로부터 얻은 염기서열은 CLUSTAL X(Thompson 등, 1997)와 PHYDIT program version 3.0(Chun, 1995)을 이용하여 분석하였다. Neighbor-joining tree는 PHYLIP 3.57c package(Felsenstein, 1985)의

Kimura's 2-parameter distance model(Kimura, 1980)를 이용하여 작성하였다.

(2) 병원균의 대량 생산배지 선발

F. oxysporum f. sp. *niveum*(Fon) HA 균주와 *F. oxysporum* f. sp. *niveum*(Fon) KACC40902의 포자 생산을 위한 최적의 배지를 선발하기 위하여 Fon HA 균주와 Fon KACC40902 균주를 PDA 배지에 옮긴 후 25°C에서 7일간 배양하여 사용하였다. Czapek-Dox broth(CDB; Becton, Dickinson and Co.), potato dextrose broth(PDB; Becton, Dickinson and Co.), malt extract broth(MEB; Becton, Dickinson and Co.), V8 broth(V8 200 ml/l, CaCO₃ 3.0 g/l), clarified V8 broth(V8 200 ml/l, CaCO₃ 3.0 g/l; 4,000 rpm, 15 min, 원심분리), Komada와 Ezuka(1974)가 제안한 합성배지(K₂HPO₄, 0.1%; MgSO₄·7H₂O, 0.05%; KCl, 0.05%; yeast extract, 0.1%; L-asparagine, 0.2%; glucose, 3%; Fe-EDTA, 0.001%; in 1,000 ml of tap water), Freeman과 Rodriguez(1993)가 제안한 합성배지(glucose, 20.0 g; yeast extract, 5.0 g; bacto-peptone, 5.0 g/l)에 직경 8 mm의 균사 조각을 떼어내어 100 ml당 6개씩 이식하고 25°C에서 7일간, 150rpm으로 진탕배양하였다. 배양한 Fon 두 균주는 각각 4겹의 거즈로 걸러 균사를 제거하고 원심분리(8,000 rpm, 10 min) 후 상등액을 제거한 뒤 침전물에 멸균수를 넣어 포자현탁액을 준비하였고, 광학현미경 하에서 hemocytometer를 이용하여 포자의 농도를 측정하였다. 모든 실험은 3반복으로 2회 실시하였다.

(3) 식물 재배

수박 덩굴쪄김병 저항성 검정법을 확립하기 위하여 시판 중인 수박 3품종 '지존꿀'(동부팜한농), '설강102'(아시아종묘), '서태자'(아시아종묘)와 대목 2품종 '불로장생'(신젠타종묘), '신FR불사조'(사카타코리아)를 실험에 사용하였다. 8×16 연결포트(21 ml/pot, 범농사)에 원예용상토 5호(부농사)를 넣고 파종한 후 생육 시기에 따른 실험을 제외한 모든 실험은 온실(25±5°C)에서 7-10일 동안 재배하여 1엽이 살짝 나온 유묘를 사용하였다.

시판 품종의 덩굴쪄김병 저항성 검정 실험은 수박 19품종, 대목 11품종을 구입하여 실험에 사용하였고, 병원균의 박과 작물에 대한 병원성을 검정하기 위해 오이 2품종 '아시아청장오이'(아시아종묘), '백미백다다기오이'(동부팜한농), 멜론 2품종 '베타리치'(동부팜한농), '아시아황금'(아시아종묘), 참외 2품종 '금제'(아시아종묘), '조은대'(신젠타종묘) 그리고 수박 2품종 '서태자'(아시아종묘), '꼬꼬마수박'(아시아종묘)을 사용하였으며 위와 동일한 방법으로 재배하였다.

수박의 생육 정도에 따른 덩굴쪄김병 발생 실험의 경우에는 직경 5 cm 플라스틱 포트(90 ml/pot)에 원예용상토 5호를 넣고 종자를 1립씩 파종하여 온실에서 7, 10, 13, 16일 동안 재배한 후 실험에 사용하였다.

(4) 접종원 준비

수박 덩굴쪄김병을 일으키는 *F. oxysporum* f. sp. *niveum*(Fon) HA 균주는 PDA 배지에 옮긴 후 25°C에서 7일간 배양하여 사용하였다. Fon HA가 배양된 배지에서 균사 조각(8×8 mm)을 매스로 잘라내어 V8 broth 600 ml에 36개씩 이식하고 25°C에서 7일간, 150rpm으로 진탕배양 하였다. 배양한 Fon HA 균주는 4겹의 거즈로 걸러 균사를 제거하고 원심분리(8,000 rpm, 10 min) 후 상등액을 제거한 뒤 침전물에 멸균수를 넣어 포자현탁액을 준비하였고, 광학현미경 하에서 hemocytometer를 이용하여 포자의 농도를 3.0×10⁶ conidia/ml로 조정하였다. 접

종원 농도 실험의 경우 각각 1.0×10^4 , 3.0×10^4 , 1.0×10^5 , 3.0×10^5 , 1.0×10^6 conidia/ml로 조정하여 접종원을 준비하였다.

(5) 덩굴쪄김병균 접종

온실에서 재배한 유묘를 포트에서 뽑아서 뿌리 주변의 흙을 물로 씻어서 깨끗하게 제거한 후 포자현탁액에 30분 동안 침지하여 접종하였다. 5×8 연결포트에 원예용상토 5호를 넣고 물을 충분히 뿌려 흙을 촉촉하게 만든 다음 접종한 유묘를 이식하였다. 또한 침지시간에 따른 수박 덩굴쪄김병 발생의 경우에는 포자현탁액에 각각 0분, 30분, 1시간, 3시간, 5시간 동안 침지하여 접종하였다.

(6) 발병 및 병조사

온도에 따른 실험을 제외한 모든 실험은 25°C의 dew chamber에서 1일 동안 습실 처리하였고 동일한 조건의 항온항습실로 옮겨서 12시간의 광주기로 3주 동안 재배하며 병 발생을 관찰하였다. 재배 온도에 따른 덩굴쪄김병 발생 실험의 경우에는 각각 20, 25, 30°C의 dew chamber에서 1일 동안 습실 처리하였고 동일한 조건의 항온항습실로 옮겨서 12시간의 광주기로 3주 동안 재배하였다.

병조사는 식물체의 뿌리를 뽑아서 줄기 아래 부분을 세로로 비스듬하게 잘라낸 다음 도관 내 발병정도를 확인하였다. 발병정도는 0 = 건전, 1 = 지상부 생육은 억제되지 않으나 지하부는 갈변된 것, 2 = 지하부는 갈변되고 지상부 생육이 억제된 것, 3 = 지하부는 갈변되고 지하부와 지상부의 생육이 상당히 억제된 것, 4 = 고사 등 5단계로 하였으며, 평균 발병도가 1.0 이하인 경우에는 저항성, 1.1 이상에서 2.0 이하는 중도저항성, 2.0 초과는 감수성으로 판정하였다.

모든 실험은 10반복으로 2회 수행하였고, 실험 결과는 SAS(SAS Institute, Inc., 1989, Cary, NC)프로그램을 이용하여 ANOVA 분석을 하였으며 처리 평균간 비교를 위하여 Duncan's multiple range test($P = 0.05$)를 실시하였다.

다. 결과 및 고찰

(1) 덩굴쪄김병 병원균의 동정

수박에서 분리한 덩굴쪄김병 균주와 *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* KACC40902를 PDA 배지에서 배양한 결과 두 균 모두 배지 뒷면에 보랏빛 색소를 형성하는 특징을 관찰할 수 있었다. 수박에서 분리한 균주의 rDNA-ITS 영역 염기서열을 비교 분석한 결과 *F. oxysporum*(DQ459007)과 유사도 100%를 나타내었고(Table 2), TEF 영역의 경우에는 *F. oxysporum*(AF160312)과 99.2%의 유사도를 나타내어(Table 3), 수박에서 분리한 균주가 *F. oxysporum*인 것을 확인하였고 이를 균 분리지역(경남 함안군)의 명칭을 따서 HA로 명명하였다. *F. oxysporum* f. sp. *niveum* KACC40902의 rDNA-ITS 영역 염기서열을 비교 분석한 결과 *F. oxysporum*(DQ459007)과 유사도 100%를 나타내었고(Table 4), TEF 영역의 경우에는 *F. oxysporum*(AF160312)과 99.2%의 유사도를 보였다(Table 5). 그리고 HA 균주의 rDNA-ITS 영역의 비교 균주들은 Zhang 등(2013)의 논문을 참고하여 선별하였고 각 염기서열을 사용하여 phylogenetic tree를 그렸으며 *Rhizoctonia solani* Rh1202302(JQ068148) 균주를 outgroup으로 선택하였다(Fig. 1). 균주의 TEF 영역의 비교 균주들은 Homa 등(2013)과 Van

Poucke 등(2012)의 논문을 참고하였고 선별한 비교 균주들의 염기서열을 사용하여 phylogenetic tree를 그렸으며 *F. sacchari* NRRL13999(AF160278) 균주를 outgroup으로 사용하였다(Fig. 2).

Table 2. Molecular identification of *Fusarium oxysporum* HA isolated from watermelon using rDNA-ITS region sequencing

Type strain	Accession No.	Similarity(%)	nt difference /compared
<i>Fusarium oxysporum</i>	DQ459007	100	0/480
<i>Fusarium oxysporum</i>	FJ233193	100	0/480
<i>Fusarium oxysporum</i>	EU285554	99.8	1/480
<i>Fusarium oxysporum</i>	GU109337	99.8	1/480
<i>Fusarium oxysporum</i>	HQ248198	99.8	1/480
<i>Fusarium equiseti</i>	JQ690085	96.0	19/477

Table 3. Molecular identification of *Fusarium oxysporum* HA isolated from watermelon using translation elongation factor 1a genes sequencing

Type strain	Accession No.	Similarity(%)	nt difference /compared
<i>Fusarium. oxysporum</i>	AF160312	99.2	5/637
<i>Fusarium oxysporum</i>	AY527534	98.6	9/634
<i>Fusarium denticulatum</i>	AF160269	95.5	28/625
<i>Fusarium dlaminii</i>	AF160277	95.6	28/632
<i>Fusarium concentricum</i>	AF160282	95.0	45/630

Table 4. Molecular identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* KACC40902 using rDNA-ITS region sequencing

Type strain	Accession No.	Similarity(%)	nt difference /compared
<i>Fusarium oxysporum</i>	DQ459007	100	0/477
<i>F. oxysporum</i>	FJ233193	100	0/477
<i>F. oxysporum</i>	EU285554	99.8	1/477
<i>F. oxysporum</i>	GU109337	99.8	1/477
<i>F. oxysporum</i>	HQ248198	99.8	1/477
<i>F. equiseti</i>	JQ690085	96.0	19/474

Table 5. Molecular identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* KACC40902 using translation elongation factor 1a genes sequencing

Type strain	Accession No.	Similarity(%)	nt difference /compared
<i>Fusarium. oxysporum</i>	AF160312	99.2	5/637
<i>F. oxysporum</i>	AY527534	98.6	9/634
<i>F. denticulatum</i>	AF160269	95.5	28/625
<i>F. dlaminii</i>	AF160277	95.6	28/632
<i>F. concentricum</i>	AF160282	95.0	45/630

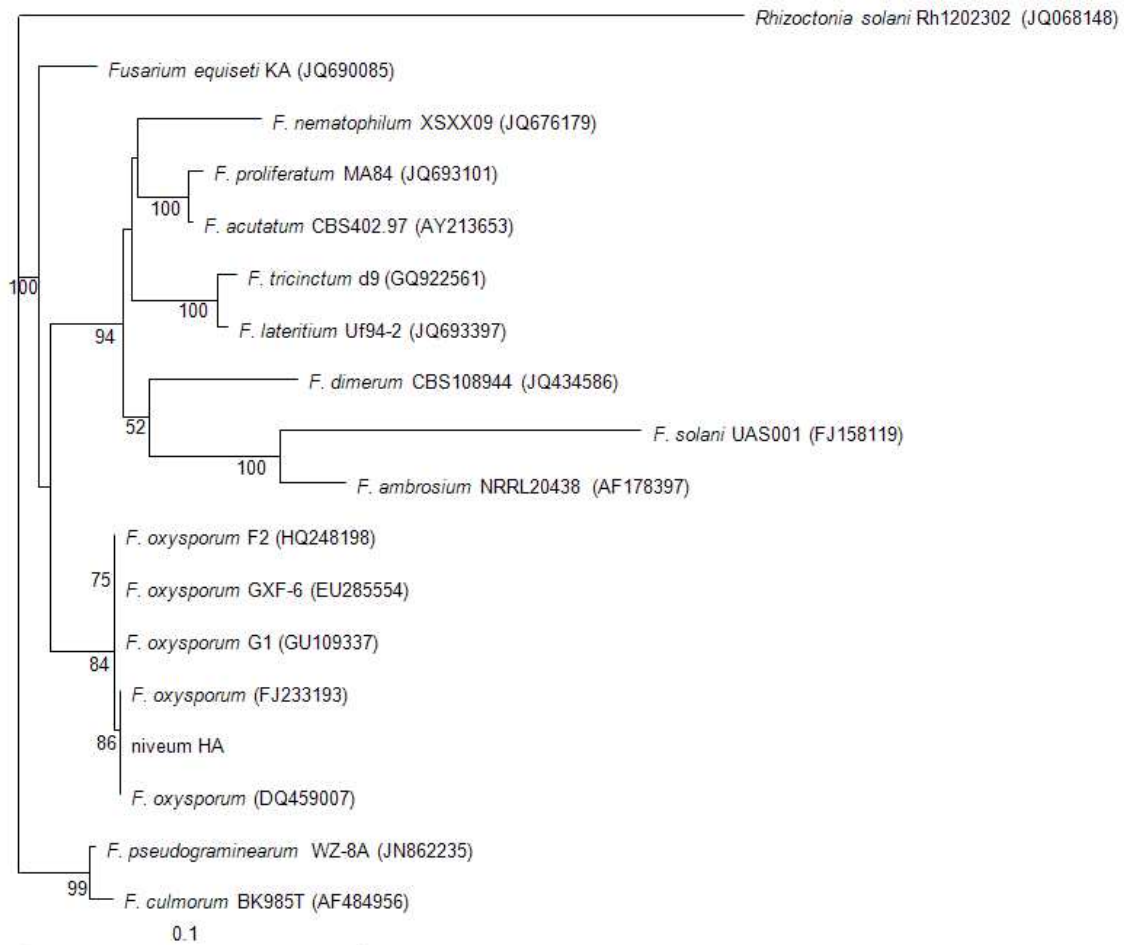


Fig. 1. Phylogenetic tree based on sequences of rDNA-ITS regions of *Fusarium oxysporum* isolates and related species. The values above each branch indicate the percentage levels of bootstrap support (> 50%) for the branch point based on 1000 resamplings. The bar represents 0.1 substitutions per nucleotide position. () is GenBank accession number.

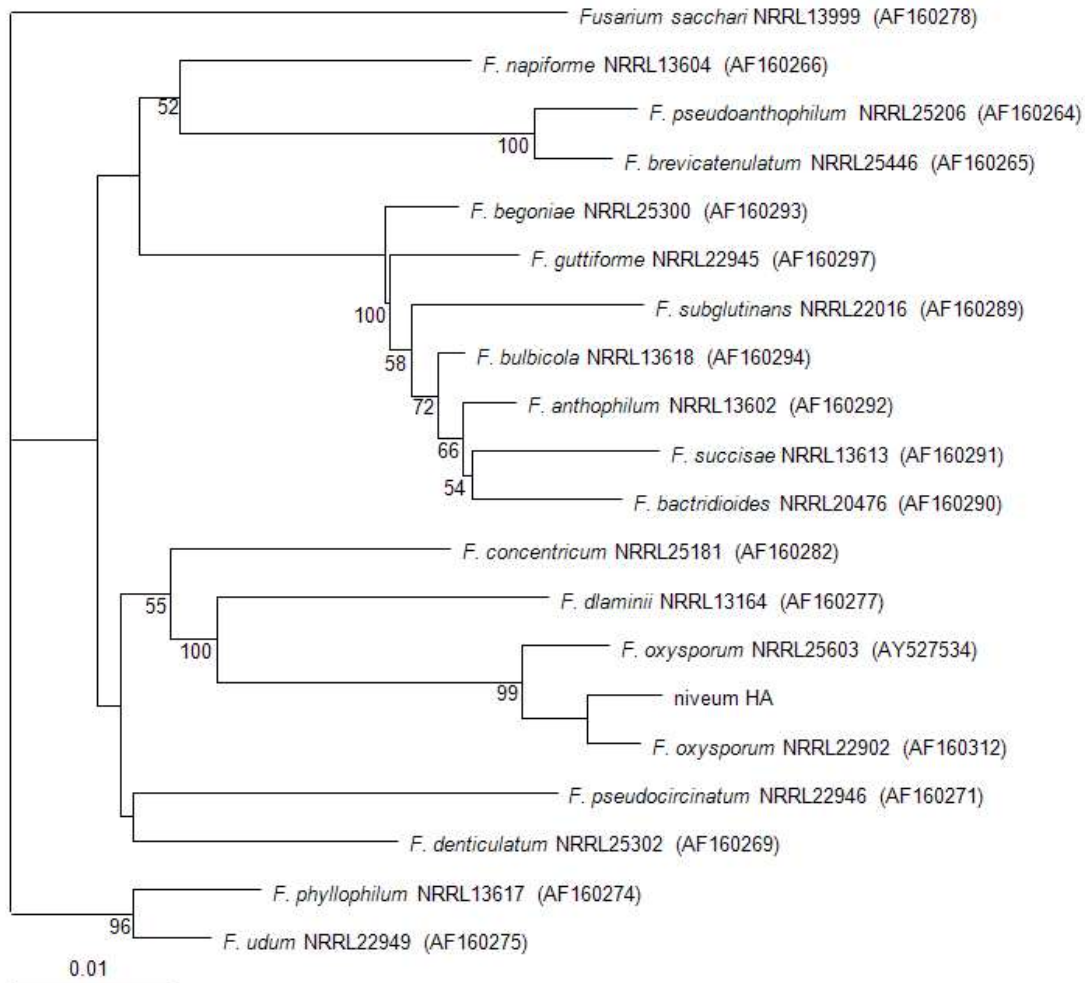


Fig. 2. Phylogenetic tree based on sequences of translation elongation factor 1a genes of *Fusarium oxysporum* isolates and related species. The values above each branch indicate the percentage levels of bootstrap support (> 50%) for the branch point based on 1000 resamplings. The bar represents 0.01 substitutions per nucleotide position. () is GenBank accession number.

(2) 병원균의 포자 대량 생산배지

F. oxysporum f. sp. *niveum*(Fon) HA균주와 *F. oxysporum* f. sp. *niveum*(Fon) KACC40902를 7종의 액체배지에 진탕배양한 결과, Fon HA 균주는 V8 broth와 clarified V8 broth에서 각각 1.1×10^7 과 1.3×10^7 conidia/ml로 다른 5종의 배지보다 유의성 있게 많은 양의 포자가 형성되는 것을 확인하였다(Table 6). Fon KACC40902 균주의 경우에는 실험에 사용한 7종의 배지에서 Fon HA 균주보다 포자 생산량이 적었고, V8 broth에서 1.3×10^7 conidia/ml로 다른 배지보다 포자 생산량이 우수하였다. Fon HA와 Fon KACC40904 균주를 V8 broth에 배양하면 소량의 배양액으로도 다량의 포자 수거가 가능함으로 포자 생산에 유리한 V8 broth를 Fon HA의 최적 배지로 선발하여 실험에 사용하였다.

Table 6. Effect of different media on sporulation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*

Medium	conidia/ml	
	HA	KACC 40902
V8 broth	1.1×10 ⁷ a ^y	1.3×10 ⁷ a
Clarified V8 broth	1.3×10 ⁷ a	9.1×10 ⁶ b
Czapek-Dox broth	3.7×10 ⁴ b	1.1×10 ⁴ c
Potato dextrose broth	1.0×10 ⁶ b	1.0×10 ⁵ c
Malt extract broth	1.8×10 ⁶ b	1.1×10 ⁵ c
Liquid mineral salts medium	1.7×10 ⁴ b	3.1×10 ⁴ c
Glucose yeast extract peptone broth	4.9×10 ⁴ b	2.6×10 ⁴ c

^yEach Values in the labeled with the same letter are not significantly different in Duncan's multiple range test at $P=0.05$.

(3) 덩굴쪄김병 병원균의 기주 범위

Fusarium oxysporum f. sp. *niveum* HA의 박과 작물 4종에 대한 병원성을 검정한 결과 오이, 멜론, 참외에서는 덩굴쪄김병이 발병되지 않았으나, 수박 품종에서만 병이 발생하여 기주 특이적인 특성을 나타내는 것을 확인하였다(Table 7).

(4) 수박 및 대목 품종의 덩굴쪄김병 저항성

시중에 판매하는 19종의 수박 품종과 대목 11종의 *F. oxysporum* f. sp. *niveum*(Fon) HA에 의한 덩굴쪄김병에 대한 저항성 정도를 조사하였다. 포트에서 수박 유묘를 뽑아서 줄기를 세로로 절단해보면 발병주의 경우 도관부에서 뿌리까지 갈변된 모습을 관찰할 수 있었다. Table 8에서 보는 바와 같이 실험에 사용한 수박 품종 모두 높은 병 발생을 보였다. 반면에 모든 대목 품종은 병이 발생하지 않았다(Table 9).

덩굴쪄김병 저항성 검정 방법을 확립하기 위하여 Fon HA에 감수성인 수박 3품종 '서태자', '지존꿀', '실강102'와 저항성인 대목 2품종 '불로장생'과 '신FR불사조'를 선발하여 발병 조건을 실험하였다.

Table 7. Pathogenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* to the seedlings of differential hosts^a

Crop	Cultivar	Disease index	Response
Watermelon	Seotaja	4.0±0.0 ^b	S ^c
	Kokoma	4.0±0.0	S
Cucumber	Asiacheongjang	0.0±0.0	R
	Baekmibaekdadagi	0.0±0.0	R
Melon	Betarich	0.0±0.0	R
	Asiahwanggeum	0.0±0.0	R
Oriental melon	Geumje	0.0±0.0	R
	Joeundae	0.0±0.0	R

^a7-day-old seedlings of each cultivar were inoculated with *F. oxysporum* f. sp. *niveum* HA by dipping the roots of seedlings in spore suspension of 1.0×10^7 conidia/ml. The inoculated plants were incubated in a dew chamber at 25°C for 1 day and transferred to 25°C room. After 3 weeks, disease severity of the seedlings was investigated.

^bEach value represents the mean(±standard deviation) of two runs with five replicates each.

^cResistance response, R=resistant(disease index ≤1.0); MR=moderately resistant($1.0 < \text{disease index} \leq 2.0$); S=susceptible(disease index >2.0).

Table 8. Resistance degree of the 19 commercial watermelon cultivars to Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*^a

Cultivar	Scientific name	Disease index	Response
Seotaja	<i>Citrullus lanatus</i>	3.7±0.7 ^b	S ^c
Seolgang102	<i>Citrullus lanatus</i>	4.0±0.0	S
Supergold	<i>Citrullus lanatus</i>	3.7±0.5	S
Kokoma	<i>Citrullus lanatus</i>	3.8±0.6	S
Nakdonggul	<i>Citrullus lanatus</i>	3.9±0.3	S
Wellbing	<i>Citrullus lanatus</i>	3.8±0.4	S
Jijonggul(KP2)	<i>Citrullus lanatus</i>	3.5±0.8	S
Jangchunggul	<i>Citrullus lanatus</i>	3.4±1.0	S
Kamchunggul	<i>Citrullus lanatus</i>	4.0±0.0	S
Nunettineggul	<i>Citrullus lanatus</i>	4.0±0.0	S
Heukho	<i>Citrullus lanatus</i>	4.0±0.0	S
Chilbokggul	<i>Citrullus lanatus</i>	3.6±0.7	S
Super grand prix	<i>Citrullus lanatus</i>	3.4±1.1	S
Hwanggeumggul	<i>Citrullus lanatus</i>	2.3±1.2	S
Soknoranggul	<i>Citrullus lanatus</i>	1.4±0.7	MR
Noranbok	<i>Citrullus lanatus</i>	3.7±0.9	S
Noranbusibok	<i>Citrullus lanatus</i>	3.3±1.1	S
Busibok	<i>Citrullus lanatus</i>	3.7±0.7	S
Bestggul	<i>Citrullus lanatus</i>	3.1±1.1	S

^a7-day-old seedlings of each cultivar were inoculated with *F. oxysporum* f. sp. *niveum* HA by dipping the roots of seedlings in spore suspension of 1.0×10^6 conidia/ml for 30 min. The inoculated plants were incubated in a dew chamber at 25°C for 1 day and then transferred to 25°C room. After 3 weeks, disease severity of the seedlings was investigated.

^bEach value represents the mean(±standard deviation) of two runs with ten replicates each.

^cResistance response, R=resistant(disease index ≤1.0); MR=moderately resistant($1.0 < \text{disease index} \leq 2.0$); S=susceptible(disease index >2.0).

^dNot tested.

Table 9. Resistance degree of the 11 commercial watermelon-rootstock cultivars to Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*^a

Cultivar	Scientific name	Disease index	Response
FR-hongsam	<i>Lagenaria leucantha</i>	0.0±0.0 ^b	R ^c
FR-bodyguard	<i>Lagenaria siceraria</i>	0.1±0.3	R
FR-seotaja	<i>Lagenaria siceraria</i>	0.2±0.6	R
Naebyeongtoza	-	0.7±0.7	R
Daeryeok 3 ho	<i>Lagenaria siceraria</i>	0.2±0.6	R
ShinFR-bulsajo	-	0.0±0.0	R
Bulrojangsaeng	<i>Lagenaria siceraria</i>	0.0±0.0	R
FR-hero	<i>Lagenaria siceraria</i>	0.1±0.3	R
Bulpaetoza	<i>Lagenaria siceraria</i>	0.3±0.5	R
FR-root power	<i>Lagenaria siceraria</i>	0.0±0.0	R
Shintoza	<i>Cucurbita mixta</i>	0.1±0.3	R

^a7-day-old seedlings of each cultivar were inoculated with *F. oxysporum* f. sp. *niveum* HA by dipping the roots of seedlings in spore suspension of 1.0×10^7 conidia/ml for 30 min. The inoculated plants were incubated in a dew chamber at 25°C for 1 day and then transferred to 25°C room. After 3 weeks, disease severity of the seedlings was investigated.

^bEach value represents the mean(±standard deviation) of two runs with ten replicates each.

^cResistance response, R=resistant(disease index ≤ 1.0); MR=moderately resistant($1.0 < \text{disease index} \leq 2.0$); S=susceptible(disease index > 2.0).

(5) 발병 조건에 따른 덩굴쪄김병 발생

접종원 농도에 따른 덩굴쪄김병 발생을 살펴보면, 유묘의 뿌리를 *F. oxysporum* f. sp. *niveum*(FON) HA의 다섯 농도(1.0×10^4 , 3.0×10^4 , 1.0×10^5 , 3.0×10^5 , 1.0×10^6 conidia/ml) 포자현탁액에 침지하면 접종원의 농도에 관계없이 모든 수박 품종은 감수성을 보였고, 대목 품종은 모두 저항성을 나타내었다(Table 10). 각 농도 별 수박 품종과 대목 품종 간에는 유의성 있는 결과를 보였으나, 수박 품종 간에는 유의적 차이 없이 유사한 반응을 나타내었다.

재배 온도에 따른 수박 품종들의 덩굴쪄김병 발병 정도를 조사하기 위하여 20, 25 및 30°C 환경에서의 병 발생을 실험한 결과, 온도에 관계없이 수박 3품종은 감수성, 대목 2품종은 저항성을 나타내었다. 온도 별 수박 품종과 대목 품종 간에는 유의성 있는 결과를 보였고, 20°C에서도 수박 품종 간에는 유의성 있는 차이를 보였으나 그 외 온도에서는 수박 품종 간에는 유의적 차이 없이 유사한 결과를 나타내었다. 접종 후 재배 기간 동안 30°C에서는 뿌리의 활착이 제대로 이루어지지 않는 것인지 20-25°C에 비해 유묘가 잘 쓰러지는 모습을 보였다. 그

래서 검정 실험 시 재배 온도는 25°C가 적당할 것으로 생각되었다(Table 11).

침지 시간에 따른 병 발생 결과를 살펴보면 유묘의 뿌리를 Fon HA 포자현탁액에 0분내 지 5시간 동안 침지하여 덩굴쪄김병 발생 정도를 조사한 결과, 침지하는 시간에 관계없이 수박 3품종은 높은 병 발생을 보였으며 대목 2품종은 병이 발생하지 않았고, 침지 시간에 대한 수박 품종과 대목 품종 간에는 유의성 있는 결과를 보였으나, 수박 품종 간에는 유의적 차이 없이 유사한 반응을 나타내었다(Table 12).

수박의 생육 시기에 따른 병 발생을 조사하기 위해 과종 후 7, 10, 13, 16일 동안 재배하여 실험한 결과 생육 정도에 관계없이 수박 3품종은 높은 병 발생을 나타내었고, 대목 2품종은 병이 발생하지 않았다(Table 13). 생육 시기 별 수박 품종과 대목 품종 간에는 유의성 있는 결과를 보였고 수박 품종 간에는 유의적 차이 없이 유사한 반응을 나타내었으나, 2엽기인 16일차 유묘를 사용할 경우 침지 접종 시 다루기가 어렵고 접종 후에도 물 관리 등의 어려운 점이 많아서 대량 검정실험에는 좋지 않을 것으로 판단되었다. 따라서 1엽이 살짝 나온 10일 유묘를 검정 실험에 사용하는 것이 좋을 것으로 생각되었다.

Table 10. Fusarium wilt occurrence of three watermelon and two watermelon-rootstock cultivars according to inoculum concentration^y

Cultivar	Inoculum concentration(conidia/ml)				
	1.0×10 ⁴	3.0×10 ⁴	1.0×10 ⁵	3.0×10 ⁵	1.0×10 ⁶
Seotaja	3.3±0.9a ^z	4.0±0.0a	4.0±0.0a	4.0±0.0a	3.8±0.6a
Seolgang102	3.5±0.7a	3.7±0.7a	3.8±0.6a	3.7±0.7a	4.0±0.0a
Jijonggul(KP2)	3.9±0.3a	3.9±0.3a	3.9±0.3a	3.7±0.7a	4.0±0.0a
Bulrojangsaeng	0.0±0.0b	0.0±0.0b	0.0±0.0b	0.0±0.0b	0.0±0.0b
ShinFR-bulsajo	0.0±0.0b	0.1±0.3b	0.0±0.0b	0.0±0.0b	0.0±0.0b

^y10-day-old seedlings of each cultivar were inoculated with *F. oxysporum* f. sp. *niveum* HA by dipping the roots of seedlings in spore suspension for 30 min. The inoculated plants were incubated in a dew chamber at 25°C for 1 day and transferred to 25°C room. After 3 weeks, disease severity of the seedlings was investigated.

^zEach value represents the mean(±standard deviation) disease index of two runs with ten replicates each. Values in the labeled with the same letter are not significantly different in Duncan's multiple range test at *P*=0.05.

Table 11. Fusarium wilt occurrence of three watermelon and two watermelon-rootstock cultivars according to growth temperature^y

Cultivar	Growth temperature(°C)		
	20	25	30
Seotaja	3.8±0.4ab ^z	4.0±0.0a	3.8±0.6a
Seolgang102	3.5±0.5b	4.0±0.0a	4.0±0.0a
Jijonggul(KP2)	4.0±0.0a	4.0±0.0a	4.0±0.0a
Bulrojangsaeng	0.0±0.0c	0.0±0.0b	0.1±0.3b
ShinFR-bulsajo	0.0±0.0c	0.0±0.0b	0.1±0.3b

^y7-day-old seedlings of each cultivar were inoculated with *F. oxysporum* f. sp. *niveum* HA by dipping the roots of seedlings in spore suspension of 3.0×10^6 conidia/ml for 30 min. The inoculated plants were cultivated at 20°C, 25°C and 30°C, respectively. After 3 weeks, disease severity of the seedlings was investigated.

^zEach value represents the mean(±standard deviation) disease index of two runs with ten replicates each. Values in the labeled with the same letter are not significantly different in Duncan's multiple range test at $P=0.05$.

Table 12. Fusarium wilt occurrence of three watermelon and two watermelon-rootstock cultivars according to root dipping period^y

Cultivar	Incubation period(hr)				
	0	0.5	1	3	5
Seotaja	3.7±0.7a ^z	3.7±0.7a	4.0±0.0a	4.0±0.0a	4.0±0.0a
Seolgang102	3.5±0.7a	4.0±0.0a	4.0±0.0a	3.9±0.3a	4.0±0.0a
Jijonggul(KP2)	3.8±0.4a	4.0±0.0a	4.0±0.0a	3.9±0.3a	4.0±0.0a
Bulrojangsaeng	0.0±0.0b	0.0±0.0b	0.1±0.3b	0.0±0.0b	0.1±0.3b
ShinFR-bulsajo	0.0±0.0b	0.1±0.1b	0.0±0.0b	0.0±0.0b	0.0±0.0b

^y7-day-old seedlings of each cultivar were inoculated with *F. oxysporum* f. sp. *niveum* HA by dipping the roots of seedlings in spore suspension of 3.0×10^6 conidia/ml. The inoculated plants were incubated in a dew chamber at 25°C for 1 day and transferred to 25°C room. After 3 weeks, disease severity of the seedlings was investigated.

^zEach value represents the mean(±standard deviation) disease index of two runs with ten replicates each. Values in the labeled with the same letter are not significantly different in Duncan's multiple range test at $P=0.05$.

Table 13. Fusarium wilt occurrence of three watermelon and two watermelon-rootstock cultivars according to growth stage^y

Cultivar	Plant growth stage			
	7 days	10 days	13 days	16 days
Seotaja	3.8±0.4a ^z	3.3±0.8a	3.6±0.7a	3.3±0.9a
Seolgang102	3.9±0.3a	3.6±0.7a	3.4±1.0a	3.8±0.6a
Jijonggul(KP2)	4.0±0.0a	4.0±0.0a	3.4±0.8a	4.0±0.0a
Bulrojangsaeng	0.0±0.0b	0.0±0.0b	0.1±0.3b	0.0±0.0b
ShinFR-bulsajo	0.0±0.0b	0.0±0.0b	0.0±0.0b	0.0±0.0b

^yEach seedlings of five cultivar were inoculated with *F. oxysporum* f. sp. *niveum* HA by dipping the roots of seedlings in spore suspension of 3.0×10^6 conidia/ml for 30 min. The inoculated plants were incubated in a dew chamber at 25°C for 1 day and transferred to 25°C room. After 3 weeks, disease severity of the seedlings was investigated.

^zEach value represents the mean(±standard deviation) disease index of two runs with ten replicates each. Values in the labeled with the same letter are not significantly different in Duncan's multiple range test at $P=0.05$.

2. 수박 덩굴마름병 저항성 병리검정 체계 확립

가. 서론

*Didymella bryoniae*에 의한 덩굴마름병은 수박을 포함한 여러 박과 작물에 큰 피해를 일으키는 병으로 과습하고 따뜻한 기후 조건에서 많이 발생하며, 재배지뿐만 아니라 수확 후에도 발생하여 심각한 손실을 일으킨다(Sherf와 MacNab, 1986). 박과 작물에 덩굴마름병이 줄기에 발생하면 초기 회갈색의 불규칙한 병반이 형성되고 심하면 식물체 전체가 고사된다. 잎에서는 황갈색의 작은 반점을 초기에 생성하다가 점차 진전되면 큰 원형의 부정형 병반으로 확대되며, 그 후 병반에 흑색 소립의 병자각을 형성하고, 열매와 열매자루에서는 배꼽 부분이 갈색으로 변색되어 결국 열매 전체가 마르고 썩어버린다(Skarshaug, 1981). 특히, 수박의 경우 발생하면 떡잎, 배축, 잎, 과실 등에서 수관이 마르고, 줄기에 궤양이 생기며 잎이 일찍 떨어지는 증상이 나타나는데(Maynard와 Hopkins, 1999), 착과 이후에 이 병이 급격히 발생하기 때문에 과실이 성숙되기 이전에 잎과 덩굴이 말라 죽는 경우가 많다(Kwon 등, 1997).

덩굴마름병을 방제하기 위하여 화학적 방제 방법이 효과적으로 사용되어 왔지만 반복된 농약의 사용으로 인해 환경에 부정적인 영향을 주고 있으며, 약제 저항성을 보이는 병원균 출현도 보고되고 있다(Keinath와 Zitter, 1998; Wolukau 등, 2007). 따라서 합성 작물보호제 만으로는 실질적인 방제가 어려운 상황에서 저항성 품종의 재배는 가장 전략적, 환경 친화적이며 일반적으로 인정되는 경제적인 방제 방법이다(Vokalounakis, 1993; 1995; Wehner과 St. Amand, 1993).

덩굴마름병 저항성 육종 소재 발굴에 관한 연구는 지속적으로 이루어져왔다. USDA Germplasm Collection에서 보유하고 있는 수박 유전자원 439개 중 PI 189225가 가장 높은 저항성을 보였으며(Sowell과 Pointer, 1962), PI 271778도 추가적으로 저항성 소재로 보고되었다(Sowell, 1975). 그리고 감수성인 Charleston Gray와의 교잡에서 PI 189225의 저항성은 단일 열성 유전자에 의한 것으로 나타났다(Norton, 1979). 이후에 Boyhan 등(1994)은 138개의 수박 수집종의 덩굴마름병 저항성 스크리닝을 수행하여 PI 500335, PI 505590, PI 512373, PI 164247, PI 500334 등의 저항성 소재를 선발하였다. 덩굴마름병 저항성 유전자원인 PI 189225와 PI 271778를 이용하여 저항성 품종 'AU-Producer', 'AU-Golden Producer', 'AU-Jubilant', 'AU-Sweet Scarlet' 을 개발하였으나(Norton, 1979, Norton 등, 1986; 1993; 1995), 이들의 덩굴마름병 저항성이 부모 세대 보다 낮아서 덩굴마름병 저항성 육종의 어려움만 확인하였다. 따라서 질적으로 우수한 새로운 덩굴마름병 저항성 육종 소재 발굴과 이를 이용한 저항성 품종 개발 연구가 수행되어야 한다. 이를 위해서는 대량 시료의 덩굴마름병 저항성을 효과적으로 검정하는 것이 필요하다. 하지만 효율적인 수박 덩굴마름병 저항성 검정 체계 확립에 대한 보고는 거의 없다.

저항성 육종 소재 발굴과 덩굴마름병 저항성 계통 육성을 위해서는 한 번에 저항성을 검정하는 식물의 수가 많기 때문에 검정에 사용할 포자를 쉽고 용이하게 대량 생산할 수 있어야 한다. 하지만 덩굴마름병균은 인공배지 상에서 특별한 처리 없이는 거의 포자를 형성하지 않거나, 계통에 따라 전혀 형성하지 않는 경우도 있어 실험에 어려움이 있다고 보고되어 있다(Chiu와 Walker, 1949a; Wiant, 1945). Kwon 등(1997)은 덩굴마름병균의 병포자를 대량생산하는 방법을 보고하였으나, 방법이 복잡하여 좀 더 이용하기 쉬운 방법으로서의 개선이 필요하다.

본 연구에서는 효율적인 수박 덩굴마름병 저항성 검정 방법을 확립하고자, *D. bryoniae* GS3B균주를 사용하여 배양 조건에 따른 포자 생산량과 형성된 포자의 수박에 대한 병원력 차이를 조사하였다. 그리고 시판 중인 수박 22품종의 덩굴마름병균에 대한 저항성 정도를 확인하여 저항성 정도가 다른 수박 4개 품종을 선발하고, 습실처리 시간, 접종 농도, 접종 후 재배 온도 등의 몇 가지 발병 조건에 따른 이들 품종의 덩굴마름병 발생을 조사하였다.

나. 재료 및 방법

(1) 병원균 분리 및 동정

함안지역에서 전형적인 덩굴마름병 병징을 보이는 수박으로부터 분리한 GSB3균주를 (주)농우바이오로부터 분양받아 실험에 사용하였다. 병든 줄기 조직을 잘라 1% sodium hypochlorite로 30초 동안 표면살균 후에 멸균수로 씻고 표면을 말려준 후에 streptomycin sulfate(Sigma) 200 µg/ml이 포함된 potato dextrose agar(PDA, Becton, Dickinson and Co.)에 올려 놓고 25°C에서 배양하여 균주를 분리하였다. 이들 중 포자 형성이 가장 좋은 균주(GSB3)의 포자를 백금이로 긁어내어 1.5% water agar(Junsei Chemical Co.) 배지에 획선도말한 후에 광학현미경 하에서 배지 위에 있는 단일 포자를 떼어내어 PDA 배지에 올려 놓고 25°C에서 배양하였다.

염기서열분석을 통해 병원균 동정을 수행하고자 GSB3균주를 potato dextrose agar(PDA; Becton, Dickinson and Co.) 배지에 접종하고 25°C에서 7일 동안 배양한 후에 균사체를 수확하였다. 수확된 균사체를 InstaGene Matrix #732-6020 solution 20 µl에 현탁하여 12,000 rpm으로 5분간 원심분리한 후에 상등액 1 µl를 PCR에 사용하였다. 염기서열 분석을 위하여

ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')와 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 프라이머(White 등, 1990)를 사용하여 PCR을 수행하였다. InstaGene Matrix 산물 1 μ l, 10 mM dNTP 1 μ l, 10 \times PCR buffer 3 μ l, 10 pmol의 프라이머 각각 1 μ l, 2.5 unit/ μ l의 EF-Taq DNA polymerase(Solgent, Korea) 0.2 μ l을 넣고 멸균수를 첨가하여 최종 30 μ l의 반응액을 만들었다. ITS 영역 유전자 증폭은 95°C에서 2분간 initial denaturation을 실시한 후에 denaturation 95°C/30초, annealing 54°C/30초, extension 72°C/1분으로 35 cycle을 수행하고 final extension 72°C에서 10분간 실시하였다. 그리고 PCR 산물은 Big Dye® terminator v3.1 cycle sequencing kits(Applied Biosystems, USA)로 반응 후 각각의 프라이머로 DNA Engine Tetrad 2 peltier thermal cycler(Bio-Rad, USA)을 이용하여 PCR반응을 수행하고 ABI Prism 3730xl Analyzer 96 capillary type(Applied Biosystems, USA)로 염기서열 분석결과를 얻었다. 분석된 염기서열은 BLAST search에 의해 GenBank(www.ncbi.nlm.nih.gov)에 등록된 ITS영역의 염기서열과 비교하였다. GSB3 균주와 GenBank로부터 얻은 염기서열은 CLUSTAL X(Thompson 등, 1994)와 PHYDIT program(Chun, 1995)을 이용하여 분석하였다. Neighbor-joining tree는 PHYLIP 3.57c package(Felsenstein, 1985)의 Kimura's 2-parameter distance model(Kimura, 1980)을 이용하여 작성하였다.

(2) 배지 종류와 광처리에 따른 포자 생산량

덩굴마름병균 포자를 대량 생산하기 위한 최적의 배지와 포자 유도 방법 결정하기 위하여 PDA, V8-juice agar(V8A; V8 Juice 200 ml, CaCO₃ 3 g, agar 9 g, distilled water 1l), oatmeal agar(OMA; Becton, Dickinson and Co.)를 멸균하여 직경 8.5 cm의 Petri dish에 부어 배지를 준비하였다. *D. bryoniae* GSB3 균주의 균사조각을 각 배지의 중앙에 1조각씩 접종하여 25°C에서 7일 동안 암상태에서 배양하였다. 포자를 유도하기 위하여 이를 25°C, 항온항습실(상대습도 80%, 광:암=12h:12h)로 이동하고 1일 혹은 2일간 더 배양하거나, 1일 혹은 2일 동안 하루에 12시간씩 광처리(53 - 58 μ mol·m⁻²·s⁻¹)한 후에 25°C 배양기로 이동하여 암상태로 2일간 더 배양하여 포자를 형성시켰다. 그리고 여기에 멸균수를 넣고 붓으로 긁어 포자를 수확하고 이를 3겹의 가제에 걸러 균사를 제거하고 광학현미경 하에서 hemocytometer를 사용하여 포자 농도를 조사하였다. 이로부터 plate 당 형성된 포자의 수를 계산하였다. 포자 형성 실험은 3반복으로 2회 실시하였다.

(3) 식물 재배

여러 조건에서 생산한 *D. bryoniae* 포자의 수박 유묘에 대한 병원력 차이 실험은 '꼬꼬마'(아시아종묘)와 '서태자'(아시아종묘) 품종을 플라스틱 포트(직경 5 cm, 토양 90 ml)에 원예용상토 5호(부농사)를 넣고 각 품종의 종자를 1립씩 파종한 후에 온실(25±5°C)에서 재배한 5가지 생육 시기의 수박 유묘(떡잎 그리고 본엽 1엽, 2엽, 3엽 및 4엽이 잎이 충분히 전개된 유묘)를 실험에 사용하였다. 떡잎 시기는 플라스틱 포트(직경 5 cm, 토양 90 ml)에서 재배한 유묘를 사용하였으며, 본엽 1엽 또는 2엽이 충분히 전개된 수박 유묘를 위해서는 플라스틱 포트(직경 6.5 cm, 토양 200 ml)로 한 번 이식하여 재배하였다. 그리고 3엽 또는 4엽이 충분히 전개된 수박 유묘는 한 번 더 새로운 포트(직경 9 cm, 토양 400 ml)로 이식하여 재배한 유묘를 실험에 사용하였다.

수박 품종들의 덩굴마름병균에 대한 저항성 정도 실험을 위해서 시판 중인 수박 품종 22

개(원더풀꽃, 지존꽃(KP2), 장춘꽃, 슈퍼그랑프리, 노란부시복, 칠복꽃, 웰빙, 설강102, 부라보꽃, 낙동꽃, 황금꽃, 슈퍼골드, 흑호, 꼬꼬마, 베스트꽃, 누네티네꽃, 신설강102, 속노란꽃, 노란복, 서태자, 서태자꽃, 감천꽃)을 시중에서 구입하여 실험에 사용하였다. 플라스틱 포트(직경 5 cm, 토양 90 ml)에 원예용상토 5호(부농사)를 넣고 각 품종의 종자를 1립씩 파종하여 온실(25±5°C)에서 재배한 후 새 플라스틱 포트(직경 6.5 cm, 토양 200 ml)로 이식하여 2엽이 완전히 전개된 수박 유묘를 실험에 사용하였다.

발병 조건에 따른 수박 4개 품종들의 덩굴마름병 발생 정도 조사는 중도저항성 2개 품종 ‘원더풀꽃’(농우바이오)과 ‘지존꽃’(동부팜한농) 그리고 감수성 2개 품종 ‘꼬꼬마’(아시아종묘)와 ‘서태자’(아시아종묘)를 앞에서와 동일한 방법으로 실험하였다.

(4) 접종원 준비

포자 형성 방법에 따른 *D. bryoniae* 포자의 병원력 차이 실험은 PDA 배지에 GSB3 균주의 균사조각을 배지 중앙에 접종하고 25°C 암상태에서 7일 동안 배양한 후에 25°C, 상대습도 80%의 향온향습실로 이동하여 하루에 12시간씩 2일간 광처리한 배지와 동일한 방법으로 광처리한 후에 암상태에서 2일 동안 배양(후숙처리)한 배지에서 형성된 포자를 앞에서와 같은 방법으로 수확하고 최종 포자 농도를 5.0×10^5 spores/ml로 조정하였다.

접종원 농도에 따른 덩굴마름병 발생 실험을 제외한 나머지 모든 실험을 위해서는 *D. bryoniae* GSB3 균주의 균사조각을 직경 8.5 cm의 PDA 배지에 plate당 3조각씩 접종하고 25°C 암상태에서 7일 동안 배양하였다. 그리고 이를 25°C, 상대습도 80%의 향온향습실로 이동하고 하루에 12시간씩 2일 동안 광($53 - 58 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)을 처리하면서 배양하고 형성된 포자를 앞에서와 동일한 방법으로 수확하였다. 이를 3점의 가제로 걸러 균사를 제거하고 광학현미경 하에서 포자 농도를 조사하고 멸균수로 희석하여 5.0×10^5 spores/ml 농도의 포자현탁액을 준비하였다. 그리고 접종원 농도에 따른 수박 품종들의 덩굴마름병 발생 실험을 위해서는 포자 농도가 각각 2.0×10^4 , 1.0×10^5 , 5.0×10^5 , 2.5×10^6 spores/ml이 되도록 준비한 접종원을 실험에 사용하였다.

(5) 접종 및 병조사

수박 유묘에 준비한 *D. bryoniae* GSB3 균주의 포자현탁액을 흘러내리기 직전까지 분무하여 접종하고 25°C 습실상에서 2일 동안 배양하였다. 습실처리한 유묘는 향온향습실(25°C, 상대습도 80%)로 이동하여 하루에 12시간씩 광을 처리하며 재배하였다.

습실상 처리기간에 따른 수박 덩굴마름병 발생 실험은 앞에서와 같은 방법으로 접종하고 25°C 습실상에서 1일 또는 2일 동안 습실처리한 수박 유묘를 향온향습실(25°C, 상대습도 80%)로 이동하여 하루에 12시간씩 광을 처리하며 재배하였다.

그리고 접종 후 재배 온도에 따른 덩굴마름병 발생 실험은 접종한 수박 유묘를 각각 20, 25, 30°C 습실상에서 2일 동안 배양한 후에 향온향습실(25°C, 상대습도 80%)로 이동하고 앞에서와 동일한 방법으로 재배하여 덩굴마름병 발생을 유도하였다.

병조사는 접종하고 3-4일 동안 재배하여 덩굴마름병이 충분히 발생한 후에 접종한 잎을 대상으로 달관조사하여 병반면적율(%)를 조사하였으며, 모든 실험은 5반복으로 2회 수행하였다. 그리고 SAS(SAS Institute, Inc., 1989, Cary, NC) 프로그램을 이용하여 ANOVA 분석을 하였으며, 처리 평균간 비교를 위하여 Duncan's multiple range test($P = 0.05$)를 실시하였다.

다. 결과 및 고찰

(1) 균주 동정 및 최적 포자 생산 조건

덩굴마름병이 발생한 수박으로부터 분리된 GSB3균주를 동정하고자 rDNA-ITS 영역의 ITS1/4 염기서열을 GenBank의 표준 균주들과 비교 분석한 결과, *D. bryoniae* 균주들과 99.75-100% 동일한 염기서열을 가졌으며 하나의 그룹을 형성하였다(Fig. 3). 따라서 전 세계적으로 수박, 멜론 등 박과 작물에서 나타나는 전형적인 덩굴마름병 병징을 보이는 병반으로부터 분리된 GSB3 균주는 *D. bryoniae*로 동정되었다.

D. bryoniae GSB3 균주의 포자 형성 최적 조건을 결정하고자 3종 배지를 사용하여 광 처리 기간 그리고 광 처리 후 암처리 유무에 따른 포자 생산량을 조사한 결과, PDA 배지, OMA 배지 그리고 V8 배지 순으로 포자가 많이 형성되었다(Table 14). PDA 배지에서 7일간 배양하고 이를 하루에 12시간씩 하는 광처리를 1일 동안 하고 암상태에서 2일 배양하였을 때 가장 많은 수의 포자가 형성되었으며, 2일 동안 광처리 하거나 2일 광처리 후 암상태에서 2일 배양한 처리구는 포자 생산량이 다소 낮았다(Table 14). 그러나 1일 광처리만 하였을 때에는 포자가 가장 적게 형성되었다.

덩굴마름병 저항성 검정을 위해서는 포자를 효율적으로 대량 생산하는 것이 중요하다. 그런데 덩굴마름병균 *D. bryoniae*는 암상태 하에서 인공배양하였을 때에는 포자가 거의 형성되지 않는다고 보고되었다(Chiu와 Walker, 1949a; Wiant, 1945). Kwon 등(1997)은 덩굴마름병균 포자 대량 생산 방법으로 먼저 암상태 하에서 26°C에서 2일간 배양하고 동일 온도에서 하루 12시간씩 2-3일 UV를 조사를 하면서 배양하고 그 후 UV 조사를 중지하고 암상태 하에서 다시 2일간 두어 병자각을 형성을 유도하고 이후 4-5일간 암상태 하에서 포자를 성숙시킨 후에 포자를 실험에 사용하는 방법을 제안하였다. 하지만 본 연구에서는 *D. bryoniae*를 PDA배지에 접종하고 7일 동안 배양한 후에 하루에 12시간씩 2일 동안 광을 처리하는 것만으로도 효과적으로 덩굴마름병균 포자를 짧은 시간에 많이 얻을 수 있었다.

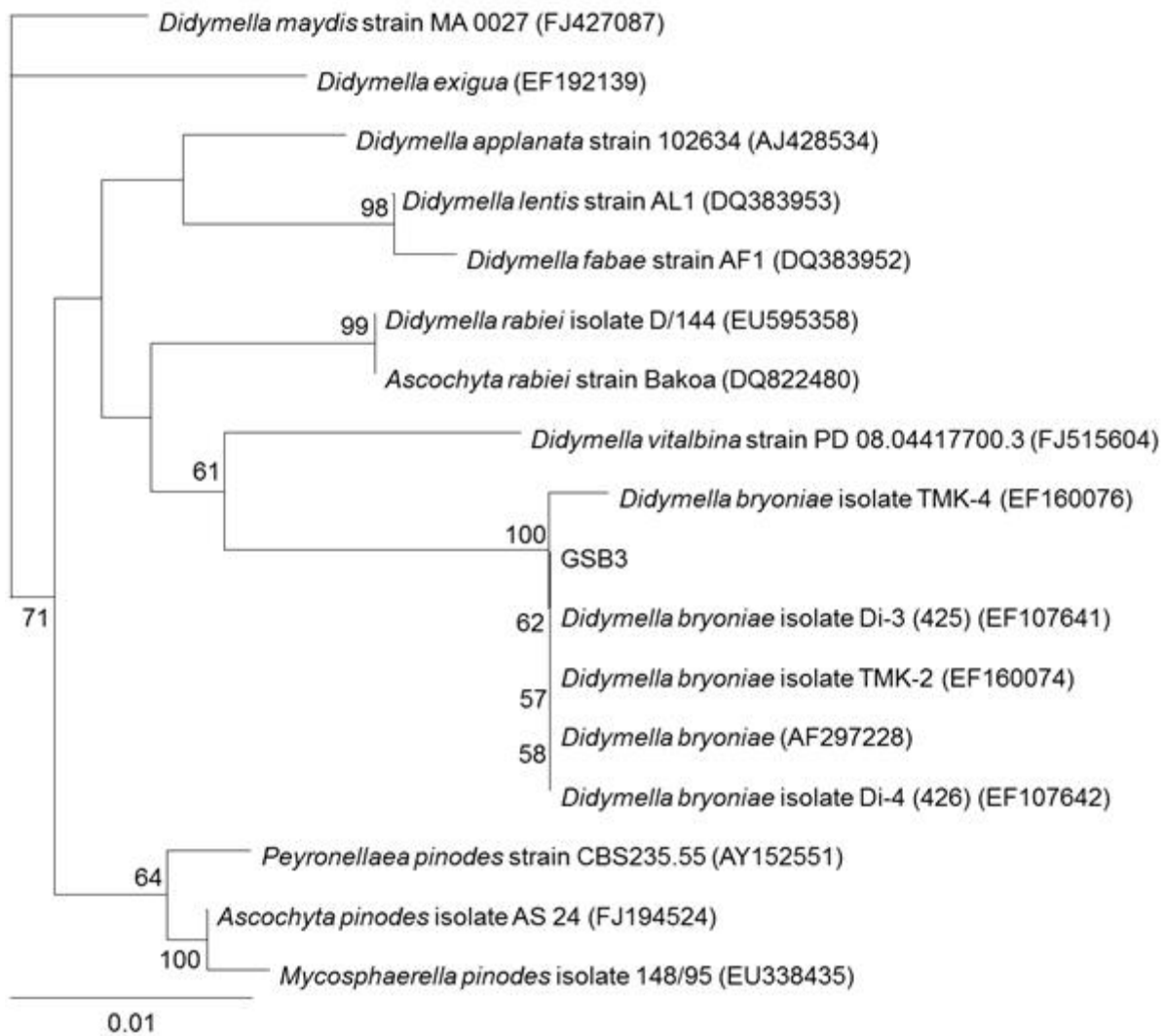


Fig. 3. Neighbor-joining tree based on ITS sequences showing relationships among *Didymella bryoniae* GSB3 and closely related species. The values above each branch indicate the percentage levels of bootstrap support (> 50%) for the branch point based on 1000 resamplings. The bar represents 0.01 substitutions per nucleotide position. GenBank accession number are parentheses

Table 14. Spore production of *Didymella bryoniae* in three media under some irradiation conditions

Irradiation condition ^a	Total incubation period	No. of spores ($\times 10^7$ spores/plate)		
		PDA ^b	V8A	OMA
A: One-day (12-hr light/day)	8	48 b ^c z ^d	8 ay	36 bzy
A and then two-day darkness	10	182 az	6 ay	88 abzy
B: Two-day (12-hr light/day)	9	152 az	5 ay	104 abz
B and then two-day darkness	11	153 az	27 ay	185 az

^a*D. bryoniae* inoculated on three media was incubated at 25°C in darkness for 7 days and then further incubated under several irradiation conditions. Experiment was carried out two runs with three replicates each.

^bPDA: Potato dextrose agar, V8A: V-8 juice agar, OMA: Oatmeal agar .

^cValues in the labeled with the same letter in each column are not significantly different in Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

^dValues in the labeled with the same letter in each line are not significantly different in Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

(2) 생산 방법에 따른 포자의 병원력 차이

포자 생산 방법에 따른 덩굴마름병균 포자의 수박에 대한 병원력(virulence) 차이를 조사하고자 7일간 암상태에서 배양한 것을 2일간 광처리하여 형성된 포자와 광처리 후에 추가로 암상태에서 2일간 배양하여 형성된 포자를 수박 유묘에 접종하여 덩굴마름병 발생을 비교한 결과, 광처리만 하였을 때에는 평균 98%의 병반면적율을 그리고 광처리 후 암처리 하였을 때에는 평균 94%의 병반면적율을 보여 덩굴마름병균 포자의 병원력은 추가적인 암처리 유무에 관계없음을 알 수 있었다(Table 15).

Kwon 등(1997)은 덩굴마름병균 포자 대량 생산 방법으로 먼저 병자각을 형성을 유도하고 이후에 4-5일간 암상태 하에서 포자를 성숙시킨 후에 포자를 실험에 사용하는 방법을 제안하였다. 하지만, 본 실험에서는 PDA 배지에 덩굴마름병균을 접종하고 병원균이 충분히 자란 후에 이를 하루 12시간씩 2일 동안 광처리하는 것만으로 즉, 별도의 후숙처리 없이도 강한 병원력을 나타내는 다량의 포자를 얻을 수 있었다(Table 15). 따라서 이 방법을 사용하면 기존의 덩굴마름병균 포자 형성 방법에 비하여 간단하게 다량의 포자를 얻을 수 있을 것으로 생각되었다.

한편, 암처리를 하지 않은 조건에서 형성된 포자들은 떡잎, 본엽1엽, 2엽, 3엽, 4엽이 전개된 수박 유묘에서 각각 100, 99, 100, 98, 97%의 평균 병반면적율을 보였으며, 암처리를 한 포자의 경우에는 각각 100, 100, 94, 96, 83%의 평균 병반면적율을 나타내었다(Table 15). 접종하는 수박 유묘의 생육 시기에 따른 덩굴마름병 발생은 생장 단계가 높아질수록 덩굴마름병의 발생이 약간 감소하나 큰 차이가 없었다. 떡잎 단계에서도 병이 순조롭게 진행되었으나 덩굴마름병 저항성 검정에서 떡잎의 접종한 결과는 믿을 수 없다는 보고가 있으므로(Chiu와 Walker, 1949b; van Deer Meer 등, 1978; Wyszogrodzka 등, 1986), 2엽이 충분히 전개된 수박 유묘 시

기에 덩굴마름병균을 접종하는 것으로 결정하였다.

Table 15. Disease development of watermelon plants inoculated with spores of *Didymella bryoniae* produced under two irradiation conditions^a

Irradiation condition	Cultivar	Plant growth stage (No. of fully expanded leaves)				
		0	1	2	3	4
A: Two-day (12-hr light/day)	Kokoma	100 ^b ± 0.0 a ^c z ^d	100 ± 0.0 az	100 ± 0.0 az	100 ± 0.0 az	93 ± 5.8 bz
	Seotaja	100 ± 0.0 az	97 ± 13 abz	100 ± 0.0 az	97 ± 5.8 az	100 ± 0.0 az
	Mean	100	99	100	98	97
A and then two-day darkness	Kokoma	100 ± 0.0 az	100 ± 0.0 az	100 ± 0.0 az	98 ± 3.5 az	85 ± 18 bcz
	Seotaja	100 ± 0.0 az	100 ± 0.0 az	87 ± 15 bz	95 ± 5.0 az	82 ± 24 bcz
	Mean	100	100	94	96	83

^aSeeds of watermelon cultivar were sown and grown in a greenhouse at 25 ± 5°C to be growth stage of cotyledone and 1-, 2-, 3- and 4-fully expanded leaves. Seedlings were inoculated with *D. bryoniae* by spraying spore suspension of the fungus at a concentration of 5.0 × 10⁵ spores/ml. The infected plants were incubated in humidity chamber at 25°C for 48 hours and then transferred to a growth chamber at 25°C and 80% RH with 12-hour light a day. Four days after inoculation, disease severity of the plant was measured using percentage of infected leaf area.

^bEach value represents the mean disease severity ± standard deviation of two runs with five replicates each.

^cValues in the labeled with the same letter in each column are not significantly different in Duncan's multiple range test at *P* = 0.05.

^dValues in the labeled with the same letter in each line are not significantly different in Duncan's multiple range test at *P* = 0.05.

(3) 수박 22개 품종의 저항성

시판 중인 수박 22품종의 *D. bryoniae*에 의해 발생하는 덩굴마름병에 대한 저항성 검정을 수행한 결과, 실험한 모든 품종은 39%이상의 높은 병반면적율을 보였다(Table 16). 따라서 실험한 품종 중 덩굴마름병에 대하여 높은 저항성을 보이는 품종은 없는 것으로 생각되었다. 하지만 '원더풀꿀'과 '지존꿀'은 다른 품종들에 비하여 상대적으로 낮은 병반면적율을 보였다.

수박 덩굴마름병에 대한 효율적인 저항성 검정 체계 확립을 위한 발병조건에 따른 수박 품종들의 덩굴마름병 발생을 실험하기 위하여, 실험한 품종 중 가장 높은 저항성을 보인 두 품종(원더풀꿀, 지존꿀)을 중도저항성 품종으로 그리고 덩굴마름병이 심하게 발생한 두 품종(꼬꼬마, 서태자)을 감수성 품종으로 선발하였다.

Table 16. Resistance degree of 22 commercial watermelon cultivars to *Didymella bryoniae*^a

Cultivar	Infected leaf area (%)	Cultivar	Infected leaf area (%)
Wonderfulggul	39 ± 25 d ^b	Supergold	93 ± 9.7 abc
Jijonggul	70 ± 34 cd	Heukho	94 ± 4.2 abc
Jangchunggul	72 ± 5.7 bc	Kokoma	95 ± 6.1 abc
Supergrandprix	80 ± 16 abc	Bestggul	95 ± 8.7 abc
Noranbusibok	82 ± 16 abc	Nunettineggul	96 ± 4.2 abc
Chilbokggul	83 ± 15 abc	SinSeolgang102	96 ± 4.2 abc
Wellbing	84 ± 19 abc	Soknoranggul	97 ± 2.7 abc
Seolgang102	84 ± 25 abc	Noranbok	98 ± 2.7 ab
Bravoggul	88 ± 27 abc	Seotaja	98 ± 4.5 ab
Nakdonggul	89 ± 6.5 abc	Seotajaggul	98 ± 4.5 ab
Hwanggeumggul	91 ± 11 abc	Kamchunggul	99 ± 2.2 a

^aSeedlings with 2-fully expanded leaves were inoculated with *D. bryoniae* by spraying spore suspension of the fungus at a concentration of 5.0×10^5 spores/ml. The infected plants were incubated in humidity chamber at 25°C for 48 hours and then transferred to a growth chamber at 25°C and 80% RH with 12-hour light a day. Three days after inoculation, disease severity of the plant was measured using percentage of infected leaf area. Experiment was carried out two runs with five replicates each.

^bValues in the labeled with the same letter are not significantly different in Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

(4) 습실처리 기간에 따른 덩굴마름병 발생

접종 후 습실처리 기간에 따른 선발한 수박 4개 품종의 덩굴마름병의 발생을 실험한 결과, 48 시간 동안 습실처리한 경우에는 중도저항성 품종인 '원더풀꿀'과 '지존꿀'에서 각각 19%와 8%의 병반면적율을 그리고 감수성 품종인 '꼬꼬마'와 '서태자'는 각각 77%와 84%의 병반면적율을 나타내었다(Table 17). 그러나 24시간 동안 습실처리를 하였을 때에는 실험한 모든 품종은 11%이하의 낮은 병반면적율을 보였다(Table 17).

덩굴마름병의 발생에 습도는 매우 중요한 요소로서 비가 온 후에 야간에 이슬이 낀 기간이 포자 확산의 절정이며, 잎에 최소 1시간의 자유수분(free moisture)이 있어야 감염이 일어나며 지속적으로 잎이 젖어있어야 병반이 진전된다고 하였다(Sitterly and Keinath, 1996). 본 연구에서도 접종 후 24시간 동안의 습실처리 만으로는 병이 충분히 진전될 수 없었고, 48시간 동안 습실처리 하고 항온항습실(25°C, 상대습도 80%)로 이동하여 하루에 12시간씩 광을 처리하며 덩굴마름병 발생을 유도하는 것이 수박 덩굴마름병 발생에 효과적이며 품종 간의 저항성 반응 차이도 잘 나타내어 저항성 검정에 효과적으로 생각되었다.

Table 4. Development of gummy stem blight on four watermelon cultivars according to incubation period in dew chamber after inoculation^a

Cultivar	Trait	Incubation period in dew chamber	
		24 hr	48 hr
Wonderfulggul	MR	8 ^b ± 2.7 a ^c z ^d	19 ± 11 cz
Jijonggul	MR	6 ± 2.2 az	8 ± 2.7 cz
Kokoma	S	5 ± 0.0 ay	77 ± 34 abz
Seotaja	S	11 ± 6.5 ay	84 ± 26 az

^aSeedlings with 2-fully expanded leaves were inoculated with *D. bryoniae* by spraying spore suspension of the fungus at a concentration of 5.0×10^5 spores/ml. The inoculated plants were incubated in humidity chamber at 25°C for 24 or 48 hours and then transferred to a growth chamber at 25°C and 80% RH with 12-hour light a day. Three days after inoculation, disease severity of the plant was measured using percentage of infected leaf area.

^bEach value represents the mean disease severity ± standard deviation of two runs with five replicates each.

^cValues in the labeled with the same letter in each column are not significantly different in Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

^dValues in the labeled with the same letter in each line are not significantly different in Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

(5) 접종 농도에 따른 덩굴마름병 발생

저항성 검정을 위한 적정 포자 농도를 결정하고자 수박 4품종의 유묘에 4가지 농도의 포자현탁액(2.0×10^4 , 1.0×10^5 , 5.0×10^5 , 2.5×10^6 spores/ml)을 분무 접종하고 덩굴마름병 발생을 조사한 결과, 실험한 모든 품종에서 포자 농도가 증가함에 따라 병반면적율이 증가하였다 (Table 18). 5.0×10^5 spores/ml 농도의 포자현탁액을 접종하였을 때에는 '윈더풀꽃', '지존꽃', '꼬꼬마', '서태자' 품종에서 각각 26, 28, 58, 59%의 병반면적율을 보여 품종간의 저항성 차이를 잘 나타내었다 (Table 18). 하지만 가장 높은 2.5×10^6 spores/ml 농도의 포자현탁액을 접종하였을 때에는 '윈더풀'과 '지존'에서도 각각 68, 48%의 높은 병반면적율을 보였으며, 1.0×10^5 spores/ml 이하의 농도로 접종하였을 때는 감수성 품종에서도 43%이하의 낮은 병반면적율을 보였다.

박과 작물의 덩굴마름병 저항성을 평가하기 위해서 많은 연구자들은 10^5 에서 10^7 spores/ml 범위의 포자 농도를 사용하여 실험하였다 (Boyhan 등, 1994; St. Amand와 Wehner, 1995a; 1995b; van Deer Meer 등, 1978; van Steekelenburg, 1981; Wehner와 St. Amand, 1993; Zhang 등, 1995; 1997). 하지만 수박의 경우에는 본 연구의 결과에 따라 5.0×10^5

spores/ml 농도의 포자현탁액을 사용하여 수박 덩굴마름병 저항성 검정을 수행하는 것이 바람직하다고 생각되었다.

Table 18. Development of gummy stem blight on four watermelon cultivars according to inoculum concentration^a

Cultivar	Trait	Inoculum concentration (spores/ml)			
		2.0×10^4	1.0×10^5	5.0×10^5	2.5×10^6
Wonderfulggul	MR	$9^b \pm 4.2$ a ^c y ^d	24 ± 15 azy	26 ± 12 bzy	68 ± 24 abz
Jijonggul	MR	16 ± 16 az	38 ± 32 az	28 ± 11 bz	48 ± 19 bz
Kokoma	S	11 ± 6.3 ay	43 ± 35 azy	58 ± 30 az	81 ± 18 az
Seotaja	S	17 ± 10 ay	21 ± 11 ay	59 ± 20 az	86 ± 16 az

^aSeedlings with 2-fully expanded leaves were inoculated with *D. bryoniae* by spraying spore suspension of the fungus at a concentration of 2.0×10^4 , 1.0×10^5 , 5.0×10^5 , and 2.5×10^6 spores/ml. The inoculated plants were incubated in humidity chamber at 25°C for 48 hours and then transferred to a growth chamber at 25°C and 80% RH with 12-hour light a day. Three 3 days after inoculation, disease severity of the plant was measured using percentage of infected leaf area.

^bEach value represents the mean disease severity \pm standard deviation of two runs with five replicates each.

^cValues in the labeled with the same letter in each column are not significantly different in Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

^dValues in the labeled with the same letter in each line are not significantly different in Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

(6) 접종 후 초기 재배온도에 따른 덩굴마름병 발생

수박 유묘에 포자현탁액을 분무 접종한 후 각각 20, 25, 30°C의 습실상에 2일 동안 재배하여 네 품종들의 덩굴마름병 발생 정도를 조사한 결과, 실험한 모든 품종에서 접종 후 재배 온도가 높아질수록 덩굴마름병 발생이 증가하였다(Table 19). 25°C에서 습실 처리하였을 때에 '원더풀'과 '지존'은 각각 25%와 24%의 병반면적율을 보였으며, '꼬꼬마'와 '서태자'는 각각 60%와 58%의 병반면적율을 보여 품종들의 저항성과 감수성을 잘 나타내었다. 하지만 20°C에서는 감수성 품종(꼬꼬마, 서태자)에서도 15%이하의 낮은 병반면적율 보여 덩굴마름병 발생에 적합하지 않았으며, 30°C에서는 중도저항성 대조품종인 '원더풀'과 '지존'도 34%와 59%의 높은 덩굴마름병 발생을 나타내므로 품종간 저항성 차이가 잘 나타나지 않았다(Table 6).

Sitterly와 Keinath(1996)이 덩굴마름병 감염에 멜론은 20°C, 그리고 수박과 오이는 24-25°C가 최적 온도라고 보고하였다. 본 연구에서는 접종하고 25°C에서 2일 동안 습실처리 한 후

에 25°C, 상대습도 80% 환경 하에서 하루에 12시간씩 광을 조사하였을 때 감수성 품종에서 덩굴마름병 발생도 높았고 품종 간의 저항성 차이도 효과적으로 나타내었다.

이상의 결과로부터 *D. bryoniae*에 의한 덩굴마름병에 대한 수박 품종들의 저항성을 검정하기 위한 방법으로 수박 종자를 과중하고 온실에서 본엽2엽이 충분히 펼쳐질 때까지 재배한다. 그리고 재배한 수박 유묘에 5.0×10^5 spores/ml 농도의 *D. bryoniae*포자현탁액을 흘려내리기 직전까지 충분히 분무하여 접종하고, 25°C 암상태로 48시간 동안 습실처리한 유묘는 항온항습실(25°C, 상대습도 80%)로 이동하여 하루 12시간씩 광을 조사하면서 재배하고, 접종 3-4일 후에 감수성 대조구에 덩굴마름병이 충분하게 발생하였을 때 접종한 잎의 병반면적율(%)을 조사하는 것을 제안하고자 한다.

Table 19. Development of gummy stem blight on four watermelon cultivars according to incubation temperature in dew chamber inoculation^a

Cultivar	Trait	Incubation temperature in dew chamber		
		20°C	25°C	30°C
Wonderfulggul	MR	3 ^b ± 2.9 a ^c z ^d	25 ± 16 bz	34 ± 32 bz
Jjonggul	MR	11 ± 10 ay	24 ± 18 by	59 ± 12 abz
Kokoma	S	9 ± 6.5 ax	60 ± 13 ay	89 ± 15 az
Seotaja	S	15 ± 20 ay	58 ± 14 az	59 ± 8.2 abz

^aSeedlings with 2-fully expanded leaves were inoculated with *D. bryoniae* by spraying spore suspension of the fungus at a concentration of 5.0×10^5 spores/ml. The inoculated plants were incubated in humidity chamber at 20, 25, and 30°C for 48 hours and then transferred to a growth chamber at 25°C and 80% RH with 12-hour light a day. Three days after inoculation, disease severity of the plant was measured using percentage of infected leaf area.

^bEach value represents the mean disease severity ± standard deviation of two runs with five replicates each.

^cValues in the labeled with the same letter in each column are not significantly different in Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

^dValues in the labeled with the same letter in each line are not significantly different in Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

3. 고추 뿌리혹선충병 병리검정 체계 확립

가. 서론

고추(*Capsicum* spp.)는 가지과(*Solanaceae*)에 속하는 식물로 남미가 원산지로서 우리나라에 도입된 후 최근 국내 연간 생산량이 약 30만 톤에 이르는 조미 채소 중에서도 가장 많이 재배되는 대표적인 고소득 작물이다(Kim et al., 2008; Pae et al., 2005; Yoon et al., 2004). 세계적으로 고추는 32종이 알려져 있으며, 그 중 재배종으로 5종(*C. annuum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. baccatum*, and *C. pubescens*)이 재배되고 있고, 식용으로 가장 널리 재배하고 있는 고추로 *C. annuum*이 재배되고 있다(Yoon et al., 2004). 조미 채소로서 고추의 수요는 계속 증가하고 있으며 생식, 색소, 의약품 등의 원료로서도 그 수요가 요구되어 지고 있다(Bosland, 1996). 고소득 작물로 인식되는 고추의 연작재배와 재배지역이 점차 확대되고 있는 추세로 이에 따른 토양 내 병원균의 밀도가 증가하여 고추 재배기간 동안에 다양한 병원균에 노출이 되어 많은 피해를 입고 있는 실정이다(Hwang, 2002). 고추에 발생하는 주요 병해로는 역병(*Phytophthora capsici*), 풋마름병(*Ralstonia solanacearum*)등의 세균병 6종, 흰가루병(*Laveillula taurica*), 탄저병(*Colletotrichum* spp.) 등의 균류병 28종, *Cucumber mosaic virus*(CMV), *Pepper mild virus*(PepMoV) 등의 바이러스병 11종, 뿌리혹선충병(*Meloidogyne* sp.)등의 선충병 3종이 보고 되었다(KSP, 2009).

*Meloidogyne incognita*에 의해 발생하는 고추 뿌리혹선충병은 토양병해의 하나로 제한된 재배 면적의 연장재배 및 연작재배를 하는 시설 재배지에서 피해가 지속적으로 발생하고 있다. 뿌리혹선충병 피해를 감소시키기 위한 방제 방법으로는 윤작, 객토, 태양열 소독, 담전윤환, 토양훈증, 살선충제 처리, 저항성품종의 재배 등의 방법이 알려져 있다(Chen et al., 1996; Han and Kim, 1997; Heald and Robinson, 1987; Kim and Han, 1998; Park et al., 1995). 선충의 방제제로 효과가 우수한 살선충제(유기합성농약)가 많이 개발되어 사용되어 왔는데, 최근 이러한 화학적 방제제들의 높은 독성과 긴 잔류 기간으로 인체 및 자연 환경에 미치는 악 영향으로 방제효과가 지속적이고 환경에 안정적인 친환경적 측면에서의 선충방제법 개발이 요구되고 있다. 저항성 품종이나 저항성 대목을 이용한 접목 재배는 효과가 매우 높으며, 비용이 적게 들고, 장기적인 환경친화적인 방제방법으로 인식 되고 있다(Kinloch and Hinson, 1972; Rhoades, 1976).

저항성 품종의 육성을 위한 고추 유전자원의 뿌리혹선충에 대한 저항성 연구로는, *Meloidogyne arenaria*와 *M. incognita*에 저항성 반응을 나타내는 Red Chile, Santanka, Nemaheart 등의 품종이 보고되었으며(Hare, 1956; Hare, 1957; Langford et al., 1968; Di Vito and Saccardo, 1979), 대목 고추(*Capsicum annuum*, *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. chacoense*, *C. frutescens*)의 *Meloidogyne javanica*와 *M. incognita*에 대한 저항성 검정에서 각각 강한 저항성과 감수성을 보였고, 그 중에 *C. annuum* AR-96023과 *C. frutescens* accession는 *M. incognita*에 대해 중도저항성을 나타내었다(Oka et al., 2004). 그리고 *M. incognita*에 대한 대목 고추(*C. annuum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. pubescens*)의 저항성 검정을 통해 *C. frutescens* 3종과 *C. annuum* 7종이 저항성 품종으로 보고되었다(Gisbert et al., 2013).

국내에서의 뿌리혹선충에 대한 저항성 검정 연구로, *Meloidogyne hapla*에 대해 중간저항성으로 선별된 ‘임실’, ‘밀양극조생’ 및 Riogrande 품종이 보고되었고(Cho and Han, 1986), 국내 유전자원 15품종, 국외 도입종 2품종/재래종 부강고추 등 4품종의 *M. hapla*에 대한 저항성 검정에서 각각 저항성과 중도저항성을 나타내었다(Han and Kim, 1997). 그리고 국내의 시판중인

92개 고추품종들의 *Meloidogyne arenaria*와 *M. incognita*에 대한 저항성 검정 실험으로 모든 품종은 *M. arenaria*에 대해 저항성을 나타내었으며, *M. incognita*에는 감수성으로 조사되었다 (Kim et al., 2012).

저항성 품종을 육성하는데 있어서 유전자원의 저항성 품종 선발을 위한 연구가 중요하다. 따라서 본 연구에서는 고추 품종의 새로운 저항성 육종 소재 개발과 저항성 연구의 기초 자료를 제공하는데 있어서 시판 품종 102개를 구입하여 *M. incognita* 뿌리혹선충에 대한 저항성 정도를 조사하였고, 고추 뿌리혹선충병의 효율적인 저항성 검정 방법을 확립을 위해 접종원 농도, 고추 생육 시기 및 이식시기 등의 발병조건에 따라 고추 6개 품종(‘강력조생건’, ‘신세계’, ‘PR 희망찬’ ‘짱’, ‘무한질주’ 및 ‘PR 불로초’)들의 뿌리혹선충병 발생을 조사하였다.

나. 재료 및 방법

(1) 식물체 준비 및 생육

고추의 *M. incognita* 뿌리혹선충병에 대한 저항성 품종을 선별하기 위하여 시판중인 고추 품종 102개를 구입하여 실험에 사용하였다(Table 1). 다양한 조건(접종원 농도, 고추 이식 시기 및 생육 시기)에서의 뿌리혹선충에 대한 저항성 검정 실험에는 6품종인 ‘무한질주’(신젠타종묘), ‘짱’(몬산토코리아), ‘강력조생건’(농우바이오), ‘신세계’(사카타코리아), ‘PR-불로초’(코레곤종묘), ‘PR-희망찬’(코레곤종묘)을 이용하였다.

고추 종자를 5×8 육묘용 연결포트(70 ml/pot, 범농사)에 원예용상토 쑥쑥이(농우바이오)를 채워 넣고 파종하여 유리온실(25 ± 5°C)에서 21일 동안 재배하였다. 21일 재배한 이후 육묘용 고추를 원예용 상토(쑥쑥이, 농우바이오)와 멸균 모래가 혼합(1:1 v/v)된 플라스틱 포트(직경 9.0 cm, 높이 8.0 cm)에 이식하여 7일이 지난 이후에 접종원을 접종하였고 유리온실(25 ± 5°C)에서 45일간 재배하였다. 유리온실(25 ± 5°C)에서 생육시기와 이식시기 조건에 따른 실험을 위해 고추의 이식 및 접종시기를 동일하게 하고 파종 이후 2주, 3주, 4주, 5주 동안 재배한 것과 9일전, 3일전, 접종 직전에 이식한 식물체를 사용하였다.

(2) 뿌리혹선충 증식

고추 품종의 저항성을 검정하기 위해 사용된 뿌리혹선충 (*Meloidogyne incognita*)은 유리온실에서 서광 품종의 토마토 유묘를 이용해서 증식하였다. 원예용 상토(쑥쑥이, 범농)와 멸균된 모래의 비율(v/v)이 1:1인 혼합 상토가 들어있는 플라스틱 포트(직경 10.0 cm, 높이 9.0 cm)에 파종한지 21일된 토마토(‘서광’, 몬산토코리아) 유묘를 이식하여 7일이 지난 이후에 접종하였고 45 - 60일 동안 뿌리혹이 형성 되도록 관리하였다. 증식 실험에 이용된 접종원은 뿌리혹선충 알을 포기당 10,000개를 이용하였다.

(3) 접종원 준비

뿌리혹선충에 대한 뿌리 혹 지수(Gall index)가 높은 증식용 토마토의 뿌리를 수거하여 뿌리혹선충 알을 분리하기 위해 개량된 sodium hypochlorite 방법(Barker 등, 1985)을 사용하였다. 알 분리 방법으로 깨끗이 씻은 뿌리를 1 cm 이하 간격으로 잘라서 250 ml 의 0.5% sodium hypochlorite 용액이 들어있는 분쇄기에 넣고 90초간 고속 회전시켰다. 그리고 혼합 용액을 0.065 mm 체에 걸러 뿌리 찌꺼기와 같은 잔여물을 걸러내고 그것을 통과한 알들은 0.025 mm 체에 수집하여 잔존하는 sodium hypochlorite 성분이 없어지게 수돗물로 충분히 씻어 준

다. 이렇게 수집된 뿌리혹선충 알의 농도는 실제현미경을 통해 측정하였고 접종원 농도에 따른 조건 실험을 제외한 모든 실험에서 접종 농도가 포기당 알 5000개가 되도록 멸균수로 희석하여 접종원으로 사용하였다.

(4) 접종 및 저항성 검정

고추 품종별 유묘가 이식 되어 있는 원예용상토와 멸균모래가 혼합된(1:1 v/v)포트(직경 9.0 cm, 높이 8.0 cm)에 포기당 뿌리혹선충 알 5000개의 농도로 3 cm 깊이에 접종하였고 접종원 농도에 따른 실험조건에서는 뿌리혹선충 알의 접종농도(500개, 1000개, 5000개, 10000개, 30000개)에 따라 조정하여 실험하였다. 접종한 유묘는 유리온실($25 \pm 5^\circ\text{C}$)에서 관행으로 수분 관리를 하면서 재배하였다. 접종 45일 후에 오이 품종들의 뿌리를 수거해 흙을 제거하고 물로 씻은 후에 뿌리에 발생한 난낭수(egg mass)를 조사하였다. 난낭수 조사는 접종원 접종 이후 뿌리혹선충의 감염에 의해 난낭이 형성된 고추 뿌리를 erioglucine disodium 용액(15 mg/l)에 30분간 침지하여 염색한 후 조사하였다(Umesh et al, 1994).

저항성 판정은 뿌리혹선충의 감염으로 고추 뿌리에 형성된 난낭 수가 가장 많은 품종과 비교하여 난낭 수가 10% 이하이면 저항성(R), 11~25% 사이면 중간 저항성(M), 26% 이상이면 감수성(S)으로 조사하였다(Bridge과 Page, 1980; Fassuliotis, 1985; Taylor과 Sasser, 1978).

다. 결과 및 고찰

(1) 뿌리혹선충(*Meloidogyne incognita*)에 대한 102개 고추 품종의 저항성 검정

병 저항성 특성으로 역병 및 바이러스와 관련되어 시판 중인 고추 품종 102개를 구입하여 *M. incognita* 뿌리혹선충에 대한 이들 품종간의 저항성 정도를 난낭수 조사를 통해 확인하였다. 고추 종자 파종 후 21일 재배한 고추 유묘에 뿌리혹선충 증식용 토마토 뿌리로부터 분리한 *M. incognita* 알 주당 5,000개씩 접종하고 온실($25 \pm 5^\circ\text{C}$)에서 재배하여 고추품종간의 뿌리혹선충병 발생을 확인한 결과, 저항성(R)을 보이는 품종은 ‘PR 신나라’, ‘일등공신’, ‘강력조생견’ 및 ‘신세계’ 등 44개(43.1%)이었고, 중도저항성(M)을 보이는 품종은 ‘부강’, ‘PR 만세’, ‘오복’ 및 ‘선구자’ 등 17개(16.7%)이었으며, 감수성(S)을 보이는 품종으로는 ‘PR 희망찬’, ‘조생신탭’, ‘짱’ 및 ‘뉴웨이브피망’ 등 41개(40.2%)였다. 저항성 검정을 위한 저항성, 중도저항성 및 감수성 품종에 형성된 주당 난낭 수는 각각 0-14개, 15-35개, 36-138개였다(Table 21). 특히 저항성 품종 중에 주 당 0개의 난낭 형성을 보이는 ‘PR-열정’, ‘왕건’, ‘안전벨트’ 및 ‘강력대양’ 등 44개의 고추 품종을 선별하여 뿌리혹선충 병저항성 육종 연구를 위한 유전자원으로 이용될 수 있을 것으로 생각되었다.

고추(*Capsicum* sp.)에서 뿌리혹선충 저항성과 관련되는 여러 우성 유전자들이 알려졌으며 그러한 저항성 유전자들은 유전자 상호작용의 속성 속에 독립적인 유전자로 기능 할 것으로 생각 되었다(Hare 1956; Djian-Caporalino et al., 1999, 2001). 뿌리혹선충 저항성과 관련되는 6개(*Me1*, *Me3*, *Me4*, *Me7*, *Mech1* 및 *Mech2*)의 유전자가 발견되었고 서로 다른 고추 품종에서 *Me* 유전자로 명명되었다. 그 중 *Me1*, *Me3* 및 *Me7* 유전자는 여러 선충들에서 다양한 저항성 반응을 나타냄(Djian-Caporalino et al., 1999)에 따라 선충 종의 넓은 범위에 대해 효과적인 저항성 반응을 보이는 것으로 밝혀졌다(Pegard et al., 2005). 그리고 선충 저항성과 관련된 분자 마커를 개발하기 위해 MAS (Marker-Assisted Selection) 분석에서 이러한 저항성 유

전자를 사용하였다(Djian-Caporalino et al., 2001, 2007). 증폭 절편 다형 현상(Amplified Fragment Length Polymorphism: AFLP) 기법을 통해서 6개의 저항성 유전자들은 고추 게놈 염색체 P9의 28cM 구간 내에 군집되는 것으로 밝혀졌다(Lefebvre et al., 2002; Djian-Caporalino et al., 2007). 또한, Hare (1957)에 의해 *Me* 저항성 유전자와는 다른 저항성 *N* 유전자가 보고 되었고, 대립형질 실험을 통해 *N* 과 *Me3* 유전자는 서로 구별할 수 있는 뿌리혹선충 저항성 유전자임을 알 수 있었다(Thies and Ariss, 2009). 한편, 고추 유전체 내의 뿌리혹선충 저항성 유전자 군집에 대한 여러 연구가 이루어지고 있지만, 아직 정확한 저항성 유전자의 분석과 역할에 대해서는 보고되어 있지 않다.

Table 21. Root-rot nematode severity of one-hundred two commercial pepper cultivars to *Meloidogyne incognita*.

Pepper cultivar	No. of egg mass ^v	Resistance reaction ^x
Anjeonbelteu	0	R
Bakjangdaeso	0	R
Berodda	0	R
Buchon	30.8 ± 12.8	M
Bugang	29.8 ± 10.4	M
Bulmat	65.8 ± 29.7	S
Bulsechul	24.4 ± 19.1	M
Chamjoeun	0	R
Chammani	0	R
Cheonnyeonmannyeon	0	R
Chukje	0	R
Dabotap	0	R
Daechon	54.8 ± 17.4	S
Daejangbu	0	R
Dangchan	0	R
Dokbulwang	117.8 ± 31.1	S
Dokyachungchung	64.6 ± 15.5	S
Euddeum	41.6 ± 7.4	S
Ganggeon	52.6 ± 13.7	S
Gangryeokjosenggeon	0	R
Gangryeoktaeyang	0	R
Geumbit	0	R
Geumhyang	0	R
Geummedal	55.2 ± 29.4	S
Giribaksu	41.6 ± 17.8	S
Gukbo	0	R
Gungyeilhak	53.4 ± 9.8	S
Haengun	0	R
Hanbando	0	R
Hangaram	51.0 ± 8.7	S
Hanpanseung	0	R
Hanson	0	R
Hat	25.0 ± 5.3	M
Heemangbong	65.4 ± 5.9	S

Hongboseok	74.4 ± 20.9	S
Hongiljeom	85.4 ± 4.4	S
Hongjanggunbigarim	0	R
Hongjinju	0	R
Hongmiin	37.8 ± 13.2	S
Hongsimi	57.8 ± 5.4	S
Ildeunggongsin	0	R
Ilinja	0	R
Ilsongjung	0	R
Imgeumnim	14.8 ± 8.4	M
Jinmi	0	R
Jjang	117.8 ± 16.1	S
Johyang	16.0 ± 4.2	M
Josaengsintap	134.8 ± 12.9	S
Katagurumai	0	R
Maekomdalkom	0	R
Manidda	29.2 ± 6.0	M
Mansahyeongtong	0	R
Manseokgun	0	R
Matggalchan	0	R
Miting	38.0 ± 7.2	S
Morningput	0	R
Muhanjilju	45.6 ± 18.6	S
New wave grren pepper	116.8 ± 10.2	S
Obok	17.0 ± 4.1	M
Onggolchan	50.0 ± 27.8	S
Papired grren pepper	68.4 ± 14.0	S
Papiyellow	31.4 ± 23.0	M
PR Bulmyul	20.6 ± 7.7	M
PR Bulrocho	40.6 ± 14.3	S
PR Bultina	80.0 ± 28.3	S
PR Daechon	72.6 ± 25.4	S
PR Daedeulbo	0	R
PR Eokmangum	71.0 ± 2.8	S
PR Eoulim	0	R
PR Galmuri	55.6 ± 13.4	S
PR Geosang	36.2 ± 9.9	S
PR Geummaek	116.8 ± 33.1	S
PR Gukgadaepyo	120.4 ± 14.9	S
PR Hongduke	102.5 ± 20.2	S
PR Huimangchan	138.0 ± 8.9	S
PR Hwanhoseong	69.0 ± 16.3	S
PR Jangwongeubje	45.6 ± 44.7	S
PR Jijon	119.4 ± 19.6	S
PR Maekom	28.5 ± 14.0	M
PR Manitta	0	R
PR Manjangilchi	123.4 ± 22.9	S
PR Manse	21.2 ± 6.0	M
PR Power	0	R
PR Sadaechunwang	34.0 ± 6.4	M

PR Sanghanga	51.5 ± 23.4	S
PR Sangseang	35.8 ± 18.7	S
PR Shinnara	0	R
PM Singang	0	R
PR Ssun	0	R
PR Yeojeong	0	R
PR Yeokbalsan	118.0 ± 16.1	S
Shinjogwang	25.2 ± 10.5	M
Shinsegae	0	R
Shintolil	0	R
Subiyeok	31.8 ± 8.4	M
Sunguja	16.4 ± 7.5	M
Supermanidda	0	R
Taesan	106.0 ± 25.6	S
Tantandaemok	38.2 ± 27.1	S
Wanggeon	0	R
Yeokganghongjanggun	39.0 ± 10.5	S
Yeongyangmat	0	R

^zOne week after transplanting, the potted 28-day-old seedlings were inoculated with *M. incognita*. The inoculated plants were incubated in a greenhouse (25 ± 5°C). Forty five days after inoculation, disease severity of the seedlings was rated on the number of egg masses.

^yThe number of egg masses/plant. Each value represents the mean ± standard deviation of two runs with three replicates each.

^xResistance reaction of cucumber cultivar was determined by the number of egg masses per plant. R, resistant, 0-14; MR, moderately resistant, 15-35; S, susceptible, more than 36.

(2) 접종원 농도에 따른 뿌리혹선충병 발생

접종원의 3ml 토양 관주법을 이용한 고추의 뿌리혹선충병에 대한 저항성 검정에서 뿌리혹선충 알 현탁액의 농도에 따른 6품종 고추들의 뿌리혹선충병 저항성 차이를 난낭 수로 확인하였다. 온실에서 과종 후 21일 동안 재배하고 큰 포트에 이식 후 7일간 더 재배한 6개 품종(‘강력조생건’, ‘신세계’, ‘PR 희망찬’, ‘짱’, ‘무한질주’ 및 ‘PR 불로초’)의 고추 유묘에 *M. incognita*의 알을 주 당 500개, 1,000개, 5,000개, 10,000개 및 30,000개씩 접종하였다. 뿌리혹선충 감염에 따른 1세대의 기간이 약 30-60일 정도이기 때문에, 접종일로부터 45일 이후에 6개 고추 품종들에 형성된 주 당 난낭(egg mass)의 수를 조사한 결과, 실험한 6개 품종들의 뿌리혹 형성은 접종원의 농도가 증가함에 따라 뿌리혹선충 감염으로 증가하였다(Table 22). ‘강력조생건’ 및 ‘신세계’ 2품종에서 500-1,000개와 5,000-30,000개를 접종한 접종구에서의 난낭 수는 각각 1-2개와 8-15개였고, ‘무한질주’ 및 ‘PR 불로초’ 2품종에서는 0-17개와 35-43개로 나타났다. ‘PR 희망찬’ 및 ‘짱’ 2품종에 대해서는 각각 23-65개와 174-295개의 난낭 수를 보였다. 따라서 접종원의 준비를 고려할 때 효율적인 고추의 뿌리혹선충병 저항성 검정에 적합한 접종원의 농도는 주 당 5,000개의 *M. incognita* 알을 접종하는 것이라고 생각하였다. 접종원 5,000개 알의 농도를 기준으로 가장 많은 난낭 수(주 당 187개)를 가지는 ‘PR 희망찬’ 품종에 따라 6개 품종의 저항성 정도를 알아본 결과, ‘강력조생건’ 및 ‘신세계’와 ‘무한질주’ 및 ‘PR 불로초’ 품종

은 각각 저항성과 중도저항성을 보였고, ‘PR 희망찬’ 및 ‘짱’ 품종은 감수성으로 확인 할 수 있었다.

Table 22. Root-knot nematode severity of six pepper cultivars according to inoculum concentration of *Meloidogyne incognita*^z.

Pepper cultivar	Inoculum concentration (the number of eggs)				
	500	1,000	5,000	10,000	30,000
Gangryeokjosaenggeon	0.7 ± 1.2 ^y	1.5 ± 1.7	8.7 ± 9.9	10.8 ± 15.3	15.2 ± 17.5
Shinsegae	3.3 ± 3.9	1.3 ± 1.6	7.3 ± 9.1	12.8 ± 14.2	12.3 ± 13.9
PR Huimangchan	23.0 ± 5.3	43.0 ± 24.1	187 ± 44.0	171.7 ± 33.5	204.3 ± 54.3
Jjang	47.3 ± 4.5	64.7 ± 4.9	173.7 ± 25.8	195.3 ± 25.7	295.0 ± 6.3
Muhanjilju	0	16.7 ± 5.7	35.0 ± 7.0	40.3 ± 1.5	43.0 ± 6.3
PR-bulrocho	0	15.7 ± 5.7	36.3 ± 13.3	43.0 ± 7.5	40.3 ± 12.6

^zOne week after transplanting, the potted 28-day-old seedlings were inoculated with *M. incognita*. The inoculated plants were incubated in a greenhouse (25 ± 5°C). Forty five days after inoculation, disease severity of the seedlings was rated on the number of egg masses.

^yThe number of egg masses/plant. Each value represents the mean ± standard deviation of two runs with three replicates each.

(3) 고추의 생육 시기 및 이식 시기에 따른 뿌리혹선충병 발생

고추 6개 품종을 파종한 후 온실에서 2주, 3주, 4주 및 5주 동안 재배하고 접종 1주일전에 이식하고 재배한 후 *M. incognita* 알을 주 당 5,000개 접종하여 고추의 생육시기에 따른 뿌리혹선충병 발생을 조사하였다. 6개 품종의 파종 후 2주, 3주, 4주 및 5주된 고추의 유묘에 형성된 난낭 수는 각각 6-9개(‘강력조생건’ 및 ‘신세계’), 23-32개(‘무한질주’ 및 ‘PR 불로초’) 및 119-130개(‘PR 희망찬’ 및 ‘짱’)로 고추의 생육시기 증가와 상관없이 비슷한 뿌리혹선충병 발생을 보였다(Table 23). 따라서 고추의 생육 시기에 따른 *M. incognita*의 뿌리혹선충병 발생은 실험한 생육 시기에 의해서 크게 영향 받지 않는다고 생각되었다.

한편, 고추 유묘의 이식과 접종 전까지 재배하는 시간에 따른 고추 뿌리의 발근 및 활착이 뿌리혹선충병 감염으로 발생하는 난낭 형성에 어떤 영향을 미칠 것인지 알기 위해 접종원인 *M. incognita* 알을 접종하기 0일, 3일 및 9일 전에 고추 유묘를 이식하였다. 그 결과, 6개 품종의 접종하기 0일, 3일 및 9일 전 이식에서 형성된 난낭 수는 각각 8-16개(‘강력조생건’, ‘신세계’), 115-139개(‘PR 희망찬’, ‘짱’) 및 27-33개(‘무한질주’, ‘PR 불로초’) 로 이식한 후의 재배기간에 따른 뿌리혹선충병의 발생은 크게 차이가 없었다(Table 24). 특히 ‘PR 희망찬’ 및 ‘짱’ 품종에서는 3일 전 이식시기에 있어서 고추 뿌리에 형성된 난낭 수가 약간 증가 하였지만 통계적으로 유의성 있는 차이는 없었다.

Table 23. Root-knot nematode severity of four pepper cultivars according to growth stage of plant^z.

Pepper cultivar	Growth stage of plants (days after sowing)			
	14	21	28	35
Gangryeokjosaenggeon	8.8 ± 10.4 ^x	25 ± 5.6	27 ± 7.0	26 ± 11.5
Shinsegae	5.5 ± 6.6	9.8 ± 12.0	8.5 ± 10.1	6.7 ± 7.9
PR Huimangchan	127.7 ± 8.3	130.3 ± 4.2	122.7 ± 12.1	127.0 ± 9.8
Jjang	129.3 ± 9.9	119.3 ± 5.9	130.7 ± 8.1	124.3 ± 8.6
Muhanjilju	25.3 ± 4.5	25.0 ± 5.6	27.0 ± 7.0	26.3 ± 11.5
PR-bulrocho	27.7 ± 4.9	23.0 ± 3.6	32.3 ± 8.7	26.3 ± 6.7

^zOne week after transplanting, the potted seedlings were inoculated with *Meloidogyne incognita*. The inoculated plants were incubated in a greenhouse (25 ± 5°C). Forty five days after inoculation, disease severity of the seedlings was rated on the number of egg masses.

^y14 days (the number of leaves/plant, two), 21 days (the number of leaves/plant, four), 28 days (the number of leaves/plant, six), 35 days (the number of leaves/plant, eight)

^xThe number of egg masses/plant. Each value represents the mean ± standard deviation of two runs with three replicates each.

Table 24. Root-knot nematode severity of six pepper cultivars according to days after transplant of seedlings to inoculation of *Meloidogyne incognita*^z.

Pepper cultivar	Inoculation days after transplanting		
	0	3	9
Gangryeokjosaenggeon	8.3 ± 9.2 ^y	16.3 ± 18.3	9.2 ± 10.8
Shinsegae	9.0 ± 11.4	14.8 ± 17.2	12.8 ± 15.0
PR Huimangchan	115.3 ± 6.8	137.3 ± 3.21	116.7 ± 32.0
Jjang	123.7 ± 5.5	136.7 ± 9.6	139.3 ± 15.0
Muhanjilju	31.0 ± 9.8	29.3 ± 9.1	27.3 ± 3.5
PR-bulrocho	32.0 ± 8.7	33.3 ± 7.1	28.0 ± 12.1

^zOne, three, and nine days after transplanting, the potted 28-day-old seedlings were inoculated with *M. incognita*, respectively. The inoculated plants were incubated in a greenhouse (25 ± 5°C). Forty five days after inoculation, disease severity of the seedlings was rated on the number of egg masses.

^yThe number of egg masses/plant. Each value represents the mean ± standard deviation of two runs with three replicates each.

이상의 결과들로부터 접종원인 뿌리혹선충 알의 농도와 고추의 생육 시기 및 이식 시기에 따른 고추 뿌리혹선충병 발생에 있어서 큰 차이를 확인 할 수 없었으나, 효율적인 고추의 뿌리혹선충병 저항성 검정을 위해서는 온실(25 ± 5°C)에서 원예용 상토에 파종 후 약 21일 동안 재배하고 모래와 원예용 상토가 동량으로 섞여 있는 혼합토양에 이식한 다음 7일간 재배 후 주 당 5,000개의 *M. incognita* 알을 접종하여 45일 후에 고추 뿌리에 형성된 난낭의 수를 조사하는 것이 효과적일 것으로 생각되었다.

4. 고추 풋마름병 병리검정 체계 확립

가. 서론

*Ralsotonia solanacearum*은 열대, 아열대, 온대 기후지역에 분포하고 있는 토양전염성 세균으로 가지과 작물(고추, 토마토 등)을 비롯한 여러 작물의 식물에 풋마름병을 일으키는 넓은 기주 범위를 가지고 있는 병원균이다(Hayward, 1991). 식물의 기주 범위에 따라 *R. solanacearum*는 크게 5개의 race로 나누어지고, 이들 중 경제적으로 큰 피해를 발생시키는 race로 감자, 토마토, 고추 등 대부분의 가지과 작물에서 병을 일으키는 race 1과 감자를 주로 감염하고 토마토에 약한 병원성을 나타내는 race 3이 알려져 있다(Huang et al., 2009; Schonfeld et al., 2003). 또한 당류 탄소원의 분해 능력에 따라 다양한 biovar로 분류된다(Buddenhagen et al., 1962; Hayward, 1991).

병원균 *R. solanacearum*은 토양에서 긴 생존 기간을 가지며(Hayward, 1991; Ito et al., 1998), 식물의 뿌리나 줄기에 생긴 상처를 통하여 식물체 내부로 침입하고(Vasse et al., 1995; Wallis et al., 1978) 물관으로 이동하여 식물 물관을 폐색하여 시들음을 발생시켜 식물을 고사시키는 것으로 알려져 있다(Denny and Hayward, 2001). 풋마름병의 방제 방법은 chloropicrine, methyl bromide 또는 dazomet 혹은 증기 등에 의한 토양 소독과 비기주 작물과 윤작하는 경종적 방법이나 저항성 품종과 대목 재배를 통한 방제 등이 사용되고 있다(Balatero et al., 2005).

가지과 작물인 고추(*Capsicum* spp.)는 국내 조미 채소 중에서도 가장 많이 재배되는 고소득 작물이며, 연작재배와 재배지역의 확대에 의해 토양 내 병원균의 밀도가 증가하여 다양한 병원균에 노출되어 많은 피해를 입고 있다. 고추에 발생하는 주요 병해로는 선충병, 바이러스병, 탄저병 등의 균류병, 역병 및 풋마름병 등의 세균병 등이 있다(KSPP, 2009). *R. solanacearum* 병원균에 의해 발생하는 고추 풋마름병은 초기 감염증상이 고추 역병과 유사하며 고추 풋마름병에 대해 뚜렷한 방제 방법이 없어 피해 면적이 계속 늘어나고 있는 추세에 있다.

국내의 다양한 작물에서 분리한 478개 *R. solanacearum* 균주들로부터 탄소원의 분해 능력에 따라 biovar 1, 2, 3, 4로 분류하였고, 그 중에 고추 풋마름병과 연관되는 균주들은 biovar 3과 4로 race 1에 속한다고 보고되었다(Jeong et al., 2007). *R. solanacearum*에 대한 고추 풋마름병 저항성 품종으로 Matos et al.(1990)에 의해 보고된 MC4와 MC5 품종과 Malaysian accession LS2341 품종(Mimura et al., 2000)이 알려져 있다. MC4 품종은 biovar 1, 3 형질을 가지는 다양한 *R. solanacearum* 병원균에 대해 풋마름병 저항성을 가지며, 일본의 Mie-Midori 저항성 품종(Matsunaga and Monma, 1999)과 함께 품종 육종 소재로 많이 이용되고 있다

(Lopes et al., 2005; Quezado-Soares and Lopes, 1995).

국내에서의 고추 풋마름병 저항성에 관한 연구는 부족한 실정으로 풋마름병 저항성 품종 육성을 위한 효율적인 대량 검정 방법을 확립하고자 고추로부터 분리한 *R. solanacearum* SL1931 병원균을 이용하여 실험하였다.

나. 재료 및 방법

(1) 접종원 준비 및 병원균 접종

R. solanacearum SL1931(race 1, biovar 3) 균주를 CPG broth(casamino acids 1 g, peptone 10 g, glucose 5 g/ DW 1 l)에 접종하여 30°C에서 160 rpm으로 24시간 전배양 하였다. 전배양된 병원균을 500 ml의 CPG broth에 1%(v/v) 접종하여 30°C에서 160 rpm으로 24시간 진탕배양 하였다. 진탕 배양된 세균 배양액을 상온에서 8,000 rpm, 10분간 원심분리한 후, 상층액을 제거하고 수집된 세균 pellet은 멸균수로 희석하여 현탁하였다. 세균 현탁액은 접종원의 농도 조건 실험을 제외한 모든 실험에서 흡광도(OD, optical density)값 OD₆₀₀=0.3의 농도로 멸균수를 이용하여 현탁 하였으며, 접종원 농도에 따른 고추 품종들의 풋마름병 발생 실험을 위해서는 접종원 농도를 OD₆₀₀=0.3, 0.6, 0.9, 1.2가 되도록 세균 현탁액을 준비하였다.

접종 방법(관주법, 뿌리 침지법)을 제외한 모든 실험에서 멸균된 scalpel을 사용하여 식물체의 배측으로부터 2-3 cm 떨어진 둘레로 3회 삽입하여 식물체의 뿌리에 상처를 가한 부분에 세균 현탁액 20 ml를 관주하였다. 접종 방법에 따른 실험에서 침지법은 수세한 고추 유묘의 뿌리를 세균 현탁액에 30분간 침지하여 이식하였고, 관주법에서는 세균 현탁액 20 ml를 식물체가 있는 포트에 관주하였다. 세균 현탁액 접종 후 30°C의 항온실에서 12시간 광조사하며 재배하였고 병원균 접종 이후 5일째, 10일째, 15일째에 고추의 풋마름병 발생을 조사하였다.

(2) 식물체 준비

고추 풋마름병 저항성 계통인 'MC4'와 종자 회사에서 시판중인 저항성 품종 '무한질주'(신젠타종묘), '미팅'(사카타코리아), 그리고 감수성 계통으로 '수비초'와 고추 풋마름병에 대한 저항성이 공시되지 않은 일반 품종 '신세계'(사카타코리아)와 '부강'(몬산토코리아사) 등 6품종을 선발하였다.

각각 품종의 종자를 5×8 육묘용 연결포트(범농사)에 원예용상토 5호(부농사)를 넣고 파종하였다. 생육 시기에 따른 조건 실험 외에 온실(25 ± 5°C)에서 3주일(4엽기) 동안 재배한 후 원예용 상토가 담긴 플라스틱 포트(직경 9 cm, 토양 400 ml)로 고추 유묘를 이식하고 1주일간 더 재배하였다. 유리온실(25 ± 5°C)에서 생육시기 조건에 따른 실험을 위해 고추의 이식 및 접종시기를 동일하게 하고 파종 이후 14일(2엽기), 21일(4엽기), 28일(6엽기), 35일(8엽기) 동안 재배하고 1주일간 더 재배한 식물체를 사용하였다.

(3) 발병도 조사

병조사는 이병엽율에 따라 발병 정도를 0=풋마름병 증상 없음, 1=전체 잎의 1-25% 시들음 증상, 2=전체 잎의 26-50% 시들음 증상, 3=전체 잎의 51-75% 시들음 증상, 4=전체 잎의 76-100% 시들음 증상 등 5단계로 구별 하였다(Roberts et al., 1988).

평균 발병도가 1.0 이하인 경우 저항성, 1.0-2.0은 중도 저항성, 2.0 이상은 감수성으로 판정하였고, 모든 실험은 품종 당 6반복으로 실시하였다.

다. 결과 및 고찰

(1) 접종방법에 따른 고추 풋마름병의 발생

고추 6개 품종을 OD 값 0.3 수준의 접종원 농도로 3가지 방법으로 접종하여 15일 후 풋마름병 발생을 조사한 결과, 세균 현탁액에 식물체 뿌리를 침지하는 방법에서는 1.5의 평균 발병도로 중도저항성을 나타내는 ‘MC4’ 및 ‘미팅’ 품종과 3.2 이상의 발병도를 보이는 나머지 품종들을 확인 하였다(Table 25).

뿌리를 절단하고 그 상처 부위에 접종원을 관주하여 접종하는 방법에 의해서 저항성 품종인 ‘MC4’는 평균 발병도 1.0을 보였고, 나머지 품종들에서는 평균 발병도 3.2 이상의 충분한 풋마름병 발병도를 나타냈다. 뿌리 근처 흙에 접종원을 관주하는 방법의 경우 신뢰할 수 있을 정도의 풋마름병 발생을 6품종에서는 관찰 할 수 없었다. 따라서 감수성 품종의 병 발병이 충분하고 ‘MC4’ 품종과의 저항성 수준의 차이를 분별 할 수 있으며 효율적인 풋마름병 저항성 검정을 위해서는 뿌리 절단 후 관주법이 가장 효과적이라 생각 되었다.

Table 25. Development of bacterial wilt of six pepper cultivars according to inoculation method^a.

Pepper cultivar	Inoculation method								
	Dipping			Drenching			Drenching with wounding		
	5 ^b	10	15	5	10	15	5	10	15
Muhanjilju	2.2 ^c	3.0	3.2	0	0.5	1	1.3	2.8	4.0
Meeting	0.8	1.0	1.5	0	0	0	0.5	2.2	3.2
Bugang	2.7	3.5	3.7	0	0	0	1.8	3.5	4.0
Sinsegae	2.3	3.2	3.5	0	0	0	3.0	4.0	4.0
MC4	0	1.3	1.5	0	0	0.7	0	0.3	1.0
Subicho	3.0	3.2	3.5	0	0.5	0.7	1.7	4.0	4.0

^aOne week after transplanting, the potted plants were inoculated with *R. solanacearum* (OD₆₀₀=0.3, inoculum volume: 20 ml/pot) by using method of dipping, drenching and drenching with wounding. The inoculated plants were incubated in a growth chamber (30° C). Five, ten and fifteen days after inoculation, disease index of the plants was rated

^bDays after inoculation

^cDisease index was investigated from 5 to 15 days after inoculation using the following scale: 0=no symptom, 1=1-25% leaves wilted, 2=26-50% leaves wilted, 3=51-75% leaves wilted, 4=76-100% leaves wilted

(2) 고추의 풋마름병 발병에 *R. solanacearum* SL1931 접종원 농도의 영향

R. solanacearum SL1931의 몇 가지 농도(OD₆₀₀=0.3, 0.6, 0.9, 1.2)의 세균 현탁액을 이용하여 고추 6품종(‘무한질주’, ‘미팅’, ‘부강’, ‘신세계’, ‘MC4’, ‘수비초’)에 뿌리 절단 및 관주에 의한 접종방법으로 실험한 결과, OD 값 0.6의 접종원 농도의 접종 후 15일째 병 발병도 조사에서 저항성 품종(‘MC4’)는 발병도 0.5이하의 저항성을 보였으며 감수성 품종(‘수비초’), 저항성으로 공시된 품종(‘무한질주’ 및 ‘미팅’), 시판 품종(‘부강’, ‘신세계’)들은 3.7 이상의 발병도로 감수성을 나타냈다(Table 26).

그 외의 접종원 농도의 접종 후 15일째 병 발병도 조사에서는 ‘MC4’가 평균 발병도 1.2-2.2를 보였고, 나머지 품종들에서는 3.3-4.0의 평균 발병도를 나타냈다. 고추 품종의 풋마름병 저항성 정도를 조사하는데 있어 ‘MC4’의 저항성 수준을 고려하고 효율적인 병 발생 실험을 위해 OD₆₀₀ 값 0.3의 농도로 접종하는 것이 효과적이라 생각되었다.

Table 26. Development of bacterial wilt of six pepper cultivars according to inoculum concentration of *Ralsotonia solanacearum*^a.

Pepper cultivar	Inoculum concentration (OD ₆₀₀) ^b											
	0.3			0.6			0.9			1.2		
	5 ^c	10	15	5	10	15	5	10	15	5	10	15
Muhanjilju	0.7 ^d	2.0	3.3	1.7	3.3	4.0	1.7	4.0	4.0	2.2	3.2	3.3
Meeting	1.7	3.8	4.0	0.8	3.2	3.8	0.8	3.2	3.3	2.5	2.8	3.5
Bugang	2.2	3.8	4.0	3.3	4.0	4.0	3.3	3.8	4.0	2.5	3.3	3.8
Sinsegae	1.5	3.7	3.8	3.2	3.8	4.0	2.5	3.7	3.8	3.3	4.0	4.0
MC4	0	0.5	1.0	0	0.2	0.5	0	1.7	2.2	0	0.8	1.2
Subicho	2.2	4.0	4.0	2.5	3.7	3.7	2.0	3.7	4.0	2.7	3.7	3.7

^aOne week after transplanting, the potted plants were inoculated with *R. solanacearum* (inoculum volume: 20 ml/pot) by inoculation method of drenching with wounding. The inoculated plants were incubated in a growth chamber (30°C). Five, ten and fifteen days after inoculation, disease index of the plants was rated.

^bInoculum concentration (OD, optical density).

^cDays after inoculation.

^dDisease index was investigated from 5 to 15 days after inoculation using the following scale: 0=no symptom, 1=1-25% leaves wilted, 2=26-50% leaves wilted, 3=51-75% leaves wilted, 4=76-100% leaves wilted. Each value represents the mean with six replicated each.

(3) 고추 유묘의 생육 시기에 따른 풋마름병 발병

파종 후 다양한 생육시기(21일, 28일, 35일, 42일)에 따라 고추 6품종에 뿌리 절단 및 관주에 의한 접종방법으로 풋마름병 발생을 조사한 결과, 접종 후 15일째 병 발병 조사에서 저항성 품종('MC4')은 21일, 28일, 35일, 42일 생육시기에서 각각의 평균 발병도가 0.8, 1.0, 2.7, 3.5로 생육시기가 길어짐에 따라 풋마름병 발생이 점차 증가 하였고, 특히 파종 후 28일 이상의 생육 시기 조건에서 'MC4'의 저항성이 감소되는 것을 알 수 있었다(Table 27).

그 외의 감수성 품종('수비초'), 저항성으로 공시된 품종('무한질주' 및 '미팅'), 시판 품종('부강', '신세계')들은 2.7 이상의 평균 발병도로 고추 유묘의 생육시기와 관계없이 감수성을 보였다. 따라서 감수성 개체 품종을 가능한 빨리 확인하고 저항성인 개체 품종의 선발을 위한 효율적인 고추 풋마름병 저항성 검정을 위해서는 생육시기 28일 정도의 고추 유묘를 사용하는 것이 효과적이라 생각하였다. 다른 가지과 작물인 토마토와 감자의 경우 어린 유묘에 풋마름병 병원균을 접종하는 것 보다 20-25일 유묘의 식물체에 접종하는 것이 상대적인 저항성 수준을 평가하는데 적당하다고 보고하였다(Gonzalez et al., 1973; Winstead and Kelman, 1952)

Table 27. Development of bacterial wilt of six pepper cultivars according to growth stage of plant^a.

Pepper cultivar	Growth stage of plants (days after sowing)											
	21 ^b			28			35			42		
	5 ^c	10	15	5	10	15	5	10	15	5	10	15
Muhanjilju	0.8 ^d	2.7	3.0	2.2	3.2	3.5	3.8	4.0	4.0	2.8	4.0	4.0
Meeting	2.3	3.0	4.0	1.7	3.2	3.3	2.7	3.7	4.0	3.0	4.0	4.0
Bugang	2.8	3.5	4.0	2.8	3.8	4.0	3.3	3.7	4.0	3.7	4.0	3.7
Sinsegae	2.7	3.8	4.0	2.2	3.8	4.0	4.0	4.0	4.0	3.0	3.5	4.0
MC4	0	0.3	0.8	0	0.3	1.0	0.5	1.8	2.7	0.7	2.8	3.5
Subicho	1.2	2.7	3.5	2.2	4.0	4.0	2.0	3.8	4.0	3.5	3.5	3.8

^aOne week after transplanting, the potted plants were inoculated with *R. solanacearum* (OD₆₀₀=0.3, inoculum volume: 20 ml/pot) by inoculation method of drenching with wounding. The inoculated plants were incubated in a growth chamber (30°C). Five, ten and fifteen days after inoculation, disease index of the plants was rated.

^b21 days (fully expended two-leaf stage), 28 days (fully expended four-leaf stage), 35 days (fully expended six-leaf stage), 42 days (fully expended eight-leaf stage).

^cDays after inoculation.

^dDisease index was investigated from 5 to 15 days after inoculation using the following scale: 0=no symptom, 1=1-25% leaves wilted, 2=26-50% leaves wilted, 3=51-75% leaves wilted, 4=76-100% leaves wilted. Each value represents the mean of average with six replicated each.

5. 고추 세균점무늬병 병리검정 체계 확립

가. 서론

국내 고추 재배지는 전체 채소류 재배면적 중 약 17%를 차지하고 있으며, 영양학적으로나 조미료로서 그 가치는 매우 높아 수요가 꾸준히 증가하고 있는 추세이다. 그러나 고추 재배 농가에서는 매년 재배기간 중 발생하는 여러 가지 병해충의 피해로 인해 수량 감소와 품질 저하의 문제에 직면하게 된다. 과거 고추 재배지에서 크게 문제가 되던 탄저병, 역병뿐만 아니라 최근에는 지구 온난화로 인해 기온이 상승하고 7-8월 집중 호우로 인한 다습한 환경이 지속되면서 고추 세균점무늬병의 발생이 증가하고 있다.

고추 세균점무늬병은 잎, 잎자루, 줄기, 열매 등 식물체 각 부위에서 발생하지만 주로 잎에 발생하며, 잎에 생긴 병반은 초기에는 황녹색의 작은 점무늬를 나타내며 병반 주위에 노란색 띠를 형성하고, 잎의 가장 자리는 수침상으로 나타난다. 병이 진전되면 병반이 점차 확대되고 융합되어 잎 전체가 황화되며, 조기낙엽을 초래하게 된다. 따라서 고추에 세균점무늬병이 발생하게 되면 고추 생육에 큰 영향을 미치게 되고, 생산량에도 큰 손실을 야기하게 된다. 이러한 고추 세균점무늬병 방제를 위해 종자 소독, 윤작 등으로 예방적인 방법을 우선으로 취하고, 살세균제 처리와 같은 화학적 방제를 통해 발병을 감소시키려 노력했으나 다른 세균병들과 마찬가지로 약제 방제 효과는 높지 않아 경제적 비용과 친환경적인 측면을 고려하여 저항성 품종을 재배하여 병을 방제하는 것이 가장 효율적이라고 생각한다. 이렇게 저항성 품종 개발이 요구되고 있는 실정이지만 새로운 저항성 육종 소재를 발굴하기 위해서는 효율적인 저항성 검정 방법이 반드시 필요하다.

따라서 본 연구는 고추에 세균점무늬병을 야기하는 *Xanthomonas euvesicatoria*에 대한 저항성 품종을 개발하기 위해 효율적인 고추 세균점무늬병의 병리검정방법을 확립하고자 하였다.

나. 병리검정법 개발

(1) 균주 선별

(가) 실험 방법

· 식물체 준비

- 접종 30일경 전에 5×8 플러그 포트에 원예용상토 2호(부농사)를 담은 뒤 ‘부강’, ‘역강홍장군’, ‘천년약속’ 품종을 각 각 2립씩 파종한 뒤 가온베드에서 재배하였다.
- 파종한지 6-7일 경과 후, 식물체가 발아하면 온실 상에서 재배하고 포트 당 1개의 식물체가 되도록 솟아주었다.
- 약 30일이 경과되어 본엽이 4엽까지 완전 전개한 고추 유묘를 실험에 사용하였다.

· 병원균 준비

- *X. euvesicatoria* 9균주를 KACC와 충북대학교 식물진균병학실험실로부터 분양받아 실험에 사용하였다. 분양받은 균주는 Table 28과 같다. 분양받은 병원균은 NA배지에 streaking하여 1일간 30℃에서 전배양한 병원균을 새로운 NA배지에 36시간 30℃에서 배양하였다. 병원균이 배양된 배지에 멸균수를 넣고 spreader로 병원균을 풀어주어 병원균 현탁액을 만들었다.

Table 28. 실험에 사용한 균주

Isolate	Race	Characteristics	Source
KACC11153	1	none	unknown
KACC11154	3	none	unknown
KACC11157	unknown	Pathogenic to pepper	unknown
KACC11158	unknown	Pathogenic to pepper/Bacteriocin indicator strain	<i>Capsicum annuum</i>
KACC11160	unknown	WNP1	unknown
KACC11163	unknown	Cu	unknown
KACC11164	3	none	unknown
KACC11165	1	none	unknown
XCV1523	unknown	unknown	unknown

· **접종원 및 접종방법**

- 멸균수에 현탁한 병원균 현탁액을 O.D.₆₀₀ = 0.2(1×10⁸ CFU/ml) 로 조정하고, Tween 20을 최종농도 250ppm이 되도록 혼합한 뒤 고추 유묘 1주당 1 ml이 되도록 앞 앞, 뒷면이 충분히 세균현탁액이 묻을 수 있도록 스프레이로 접종하였다.

· **접종 후 환경**

- 30℃ dew chamber에 48시간 습실처리 후 항온항습실(25℃, RH 80%)로 이동하여 하루에 12 시간씩 광을 처리하고 저면관수하여 병을 관찰하고 접종 6일 후부터 병조사를 실시하였다.

· **병조사**

- 접종 6일, 7일, 8일 후 본엽 1엽부터 4엽까지 병반면적율(%)을 조사한 뒤 병진전곡선하면적 (Area under the disease progress curve; AUDPC)를 구하였다.

(나) 결과 및 고찰

- 접종 3일 후까지는 균주별 실험에 사용한 3품종 모두 병징을 확인할 수 없었지만 접종 4일 후부터 잎에 수침상의 작은 반점이 형성되었다.
- 접종 7일 후부터는 병반이 서로 엉기면서 조직이 탈락되는 현상을 관찰할 수 있었으며, 더 이상의 병진전은 나타나지 않았다.
- 실험에 사용한 병원균 중 KACC11157과 KACC11160 균주는 병 발생정도를 관찰한 결과, 실험에 사용한 3품종 모두 에서 병이 발생하지 않았다.
- KACC11154와 KACC11164균은 실험에 사용한 3품종 ‘부강’, ‘역강홍장군’, ‘천년약속’의 발병 정도의 차이를 뚜렷하게 보여주었다(Fig. 4).
- 따라서 고추 세균점무늬병 병리검정방법을 확립하기 위한 실험에 사용할 균주로 KACC11154, KACC11164를 선발하고자 하였다.

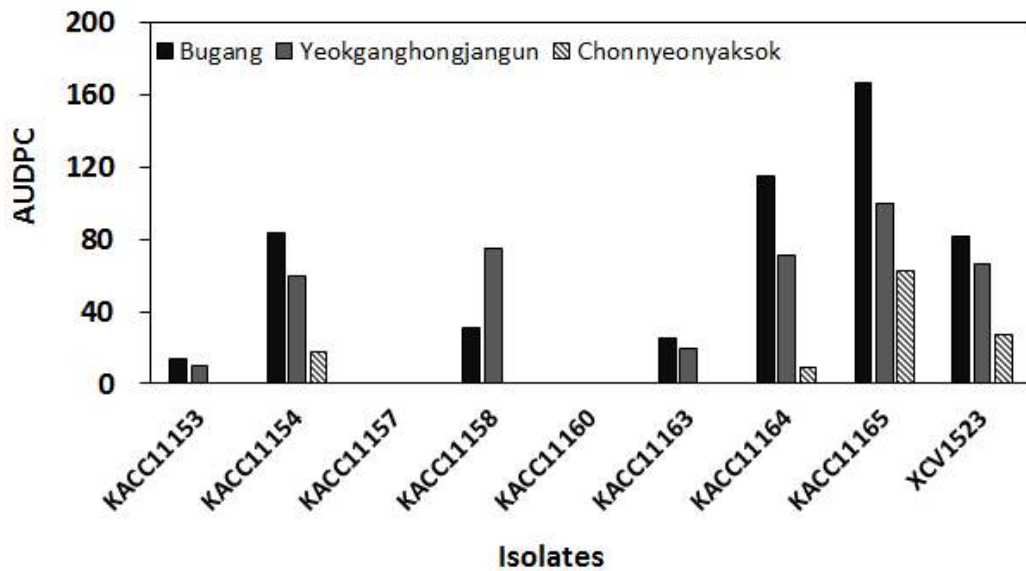


Fig. 4. 균주별 접종 8일 후 발병도

(2) 병리검정 조건 확립

(가) 온도별 조건에 따른 고추 세균점무늬병 발생

① 실험 방법

· 식물체 준비

- 접종 30일경 전에 5×8 플러그 포트에 원예용상토 2호(부농사)를 담은 뒤 ‘부강’, ‘역강홍장군’, ‘천년약속’ 품종을 각 각 2립씩 파종한 뒤 가온베드에서 재배하였다.
- 파종한지 6-7일 경과 후, 식물체가 발아하면 온실 상에서 재배하고 포트 당 1개의 식물체 되도록 솟아주었다.
- 약 30일이 경과되어 본엽이 4엽까지 완전 전개한 고추 유묘를 실험에 사용하였다.

· 접종원 준비

- NA배지에 streaking하여 1일간 30℃에서 전배양한 *X. euvesicatoria* ‘KACC11164’와 ‘KACC11154’를 새로운 NA배지에 36시간 30℃에서 배양하였다. 병원균이 배양된 배지에 멸균수를 넣고 spreader로 병원균을 풀어주어 병원균 현탁액을 만들었다.
- 멸균수에 현탁한 병원균 현탁액을 O.D.₆₀₀ = 0.2(1×10⁸ CFU/ml) 로 조정 후 Tween 20을 최종농도 250ppm이 되도록 첨가하여 혼합해주었다.

· 병원균 접종 및 접종 후 관리

- 식물체 1 주당 1mL이 되도록 잎 앞, 뒷면이 충분히 세균현탁액이 물을 수 있도록 분무 접종 하였다.
- 접종한 고추 유묘는 30℃ dew chamber에서 48시간 습실처리 후 항온항습실(25℃, RH 80%)로 이동한 뒤 하루에 12시간씩 광을 조사하고, 저면관수하여 매일 발병 정도를 관찰하였다.

② 결과 및 고찰

- KACC11164, KACC11154 두 균주 모두 항온 20℃(RH50%) 조건에서 실험에 사용한 ‘부강’,

‘역강홍장군’, ‘천년약속’ 모두 병이 발생하지 않았으며, 향온 30℃(RH54%) 조건에 서는 3품종 모두 발병을 하였으나 품종간 발병정도의 차이가 크지 않아 저항성 품종의 특성을 확연하게 구분 지을 수 없었다(Fig. 5, Table 29).

- 향온 25℃(RH69%) 조건에서는 3 품종간의 발병정도의 차이는 있었지만 발병정도가 약하거나 저항성 품종만 큰 차이를 보여줄 뿐 나머지 2 품종의 발병정도는 차이가 없었지만, 30℃ dew chamber에 2일 식물체를 두었다가 25℃ 향온조건(RH80%)에서는 KACC11164, KACC11154 두 균주로 실험을 수행하였을 때, 3 품종에서 발병정도 차이가 뚜렷하게 나타나고 추 세균점무늬병 접종 후 초기 환경조건은 고온에 다습한 환경을 유지하고, 그 이후로 습도를 80% 이상 유지하는 것이 무엇보다도 중요하다고 생각되었다.

Table 29. 온도별 조건에 따른 고추 세균점무늬병 발생

Isolate	Incubation temperature	Cultivar	Day after inoculation (DAI)			AUDPC	
			6	7	8		
KACC11164	All 20℃	Bugang	0.0	0.0	0.0	0.0	
		Yeokganghongjangun	0.0	0.0	0.0	0.0	
		Chonnyeonyaksok	0.0	0.0	0.0	0.0	
	All 25℃	Bugang	25.0	45.0	45.0	80.0	
		Yeokganghongjangun	42.5	42.5	42.5	85.0	
		Chonnyeonyaksok	5.0	5.0	5.0	10.0	
	All 30℃	Bugang	30.0	32.5	40.0	67.5	
		Yeokganghongjangun	25.0	30.0	37.5	61.3	
		Chonnyeonyaksok	20.0	30.0	37.5	58.8	
	DEW 30℃, All 25℃	Bugang	52.5	65.0	87.5	135.0	
		Yeokganghongjangun	30.0	30.0	35.0	62.5	
		Chonnyeonyaksok	0.0	0.0	2.5	1.3	
	KACC11154	All 20℃	Bugang	0.0	0.0	0.0	0.0
			Yeokganghongjangun	0.0	0.0	0.0	0.0
			Chonnyeonyaksok	0.0	0.0	0.0	0.0
All 25℃		Bugang	25.0	27.5	32.5	56.3	
		Yeokganghongjangun	22.5	25.0	32.5	52.5	
		Chonnyeonyaksok	10.0	10.0	12.5	21.3	
All 30℃		Bugang	27.5	35.0	50.0	73.8	
		Yeokganghongjangun	15.0	35.0	45.0	65.0	
		Chonnyeonyaksok	10.0	15.0	30.0	35.0	
DEW 30℃, All 25℃		Bugang	47.5	50.0	75.0	111.3	
		Yeokganghongjangun	37.5	37.5	40.0	76.3	
		Chonnyeonyaksok	2.5	2.5	5.0	6.3	

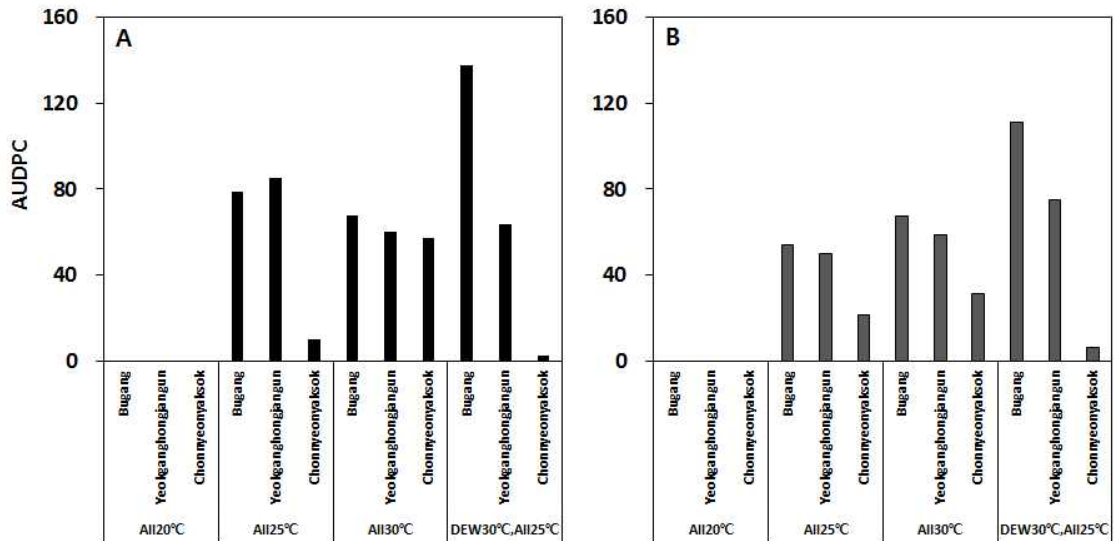


Fig. 5. 균주 별 온도에 따른 접종 8일 후 AUDPC. A; KACC11164, B; KACC11154

(나) 접종원 농도에 따른 고추 세균점무늬병 발생

① 실험 방법

· 식물체 준비

- 접종 30일경 전에 5×8 플러그 포트에 원예용상토 2호(부농사)를 담은 뒤 ‘부강’, ‘역강홍장군’, ‘천년약속’ 품종을 각각 2립씩 파종한 뒤 가온베드에서 재배하였다.
- 파종한지 6-7일 경과 후, 식물체가 발아하면 온실 상에서 재배하고 포트 당 1개의 식물체가 되도록 솟아주었다.
- 약 30일이 경과되어 본엽이 4엽까지 완전 전개한 고추 유묘를 실험에 사용하였다.

· 접종원 준비

- NA배지에 streaking하여 1일간 30°C에서 전배양한 *X. euvesicatoria* ‘KACC11164’와 ‘KACC11154’를 새로운 NA배지에 36시간 30°C에서 배양하였다. 병원균이 배양된 배지에 멸균수를 넣고 spreader로 병원균을 풀어주어 병원균 현탁액을 만들었다.
- 멸균수에 현탁한 병원균 현탁액을 O.D.₆₀₀ = 0.2(1×10⁸ CFU/ml)로 조정 후 1/10씩 희석하여 1×10⁵ CFU/ml 까지 총 4 농도로 조정 후 Tween 20을 최종농도 250ppm이 되도록 첨가하여 혼합하여주었다.

· 병원균 접종 및 접종 후 관리

- 식물체 1 주당 1 ml이 되도록 잎 앞, 뒷면이 충분히 세균현탁액이 묻을 수 있도록 분무접종하였다.
- 접종한 고추 유묘는 30°C dew chamber에서 48시간 습실처리 후 항온항습실(25°C, RH 80%)로 이동한 뒤 하루에 12시간씩 광을 조사하고, 저면관수하여 매일 발병 정도를 관찰하였다.

② 결과 및 고찰

- ‘KACC11164’와 ‘KACC11154’ 균주를 1×10⁵, 1×10⁶, 1×10⁷, 1×10⁸ CFU/ml로 접종하고 8일 후 결과를 보면 농도별로 품종간의 차이는 있지만 1×10⁸ CFU/ml로 접종하였을 때 실험에 사용

한 3품종간의 차이가 가장 뚜렷하였으며, 'KACC11154' 균주보다 'KACC11164' 균주를 접종하였을 때 품종간 차이가 더 명확하게 나타났다(Table 30, Fig. 6).

- 따라서 고추 세균점무늬병 접종농도는 1×10^8 CFU/ml로 접종하는 것이 품종별 저항성 검정하기에 적합하다고 생각되었다.

Table 30. 각 농도별 병원균에 따른 발병도 및 발병진전곡선면적

Isolate	Con. (CFU/ml)	Cultivar	Days after inoculation (DAI)			AUDPC
			6	7	8	
KACC11164	1×10^8	Bugang	50.0	57.5	90.0	127.5
		Yeokganghongjangun	20.0	25.0	55.0	62.5
		Chonnyeonyaksok	5.0	5.0	7.5	11.3
	1×10^7	Bugang	20.0	30.0	62.5	71.3
		Yeokganghongjangun	12.5	20.0	50.0	51.3
		Chonnyeonyaksok	5.0	7.5	15.0	17.5
	1×10^6	Bugang	10.0	25.0	20.0	40.0
		Yeokganghongjangun	7.5	17.5	20.0	31.3
		Chonnyeonyaksok	5.0	10.0	12.5	18.8
	1×10^5	Bugang	0.0	17.5	12.5	23.8
		Yeokganghongjangun	0.0	5.0	10.0	10.0
		Chonnyeonyaksok	0.0	0.0	7.5	3.8
KACC11154	1×10^8	Bugang	22.5	40.0	65.0	83.8
		Yeokganghongjangun	15.0	20.0	55.0	55.0
		Chonnyeonyaksok	10.0	12.5	7.5	21.3
	1×10^7	Bugang	12.5	22.5	57.5	57.5
		Yeokganghongjangun	7.5	17.5	50.0	46.3
		Chonnyeonyaksok	2.5	15.0	40.0	36.3
	1×10^6	Bugang	0.0	15.0	20.0	25.0
		Yeokganghongjangun	0.0	12.5	15.0	20.0
		Chonnyeonyaksok	0.0	2.5	7.5	6.3
	1×10^5	Bugang	2.5	5.0	10.0	11.3
		Yeokganghongjangun	0.0	2.5	7.5	6.3
		Chonnyeonyaksok	0.0	0.0	5.0	2.5

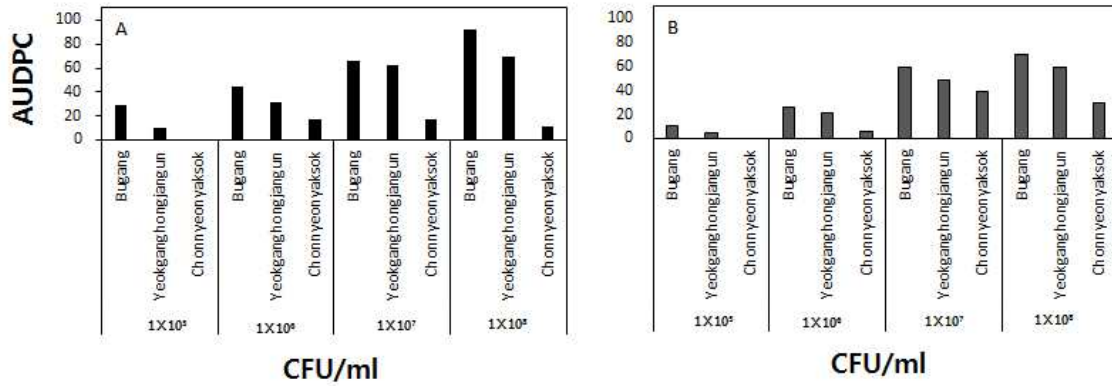


Fig. 6. 접종 8일 후 병진전곡선면적(AUDPC) A; KACC11164, B; KACC11154

(다) 생육시기에 따른 고추 세균점무늬병 발생

① 실험 방법

· 식물체 준비

- 접종 50, 30, 25일 전에 5×8 플러그 포트에 원예용상토 2호(부농사)를 담은 뒤 ‘부강’, ‘역강홍장군’, ‘천년약속’ 품종을 각각 2립씩 파종한 뒤 가운데베드에서 재배하였다.
- 파종한지 6-7일 경과 후, 식물체가 발아하면 온실 상에서 재배하고 포트 당 1개의 식물체가 되도록 솎아주었다.
- 고추 유묘 본엽이 3엽, 4엽, 5엽이 완전전개한 유묘를 실험에 사용하였다.

· 접종원 준비

- NA배지에 streaking하여 1일간 30℃에서 전배양한 *X. euvesicatoria* ‘KACC11164’와 ‘KACC11154’를 새로운 NA배지에 36시간 30℃에서 배양한다. 병원균이 배양된 배지에 멸균수를 넣고 spreader로 병원균을 풀어주어 병원균 현탁액을 만들었다.
- 멸균수에 현탁한 병원균 현탁액을 O.D.₆₀₀ = 0.2(1×10⁸ CFU/ml) 로 조정 후 Tween 20을 최종농도 250ppm이 되도록 첨가하여 혼합하여주었다.

· 병원균 접종 및 접종 후 관리

- 식물체 1 주당 1ml이 되도록 잎 앞, 뒷면이 충분히 세균현탁액이 물을 수 있도록 분무접종하였다.
- 접종한 고추 유묘는 30℃ dew chamber에서 48시간 습실처리 후 항온항습실(25℃, RH 80%)로 이동한 뒤 하루에 12시간씩 광을 조사하고, 저면관수하여 매일 발병 정도를 관찰하였다.

② 결과 및 고찰

- KACC11164 균주를 접종한 3엽기의 식물체에서는 ‘부강’과 ‘역강홍장군’의 발병도 차이가 없었으며, KACC11154 균주를 접종하였을 때에는 실험에 사용한 3품종의 발병도 차이가 나타나지 않아 3엽기가 완전 전개한 식물체를 저항성 검정에 사용하는 것은 적당하지 않다고 생각되었다(Table 31, Fig. 7).
- 5엽기가 완전 전개한 식물체 역시 저항성품종인 ‘천년약속’의 발병은 미비했지만 ‘KACC11154’를 접종한 경우 ‘부강’과 ‘역강홍장군’의 발병도 차이가 나타나지 않아 5엽기 식물체의 경우 균주에 따른 품종의 발병정도 차이를 보이므로 이 또한 적당한 식물체의 크기

가 아니라고 판단되었다.

- 그러나 4엽기가 완전 전개된 식물체의 경우 실험에 사용한 3품종 간의 발병 정도의 차이가 확연하게 나타났고 따라서 4엽기 식물체를 사용하는 것이 좋다고 생각된다.

Table 31. 각 농도별 병원균에 따른 발병도 및 발병진전곡선면적

Isolate	Cultivar	Leaf stage	Days after inoculation (DAI)			AUDPC
			6	7	8	
KACC11164	Bugang	3	35.0	47.5	67.5	98.8
		4	55.0	65.0	87.5	136.3
		5	37.5	40.0	45.0	81.3
	Yeokganghongjangun	3	37.5	50.0	65.0	101.3
		4	30.0	30.0	37.5	63.8
		5	25.0	27.5	30.0	55.0
	Chonnyeonyaksok	3	12.5	12.5	37.5	37.5
		4	0.0	0.0	5.0	2.5
		5	0.0	0.0	2.5	1.3
KACC11154	Bugang	3	32.5	35.0	67.5	85.0
		4	47.5	50.0	75.0	111.3
		5	30.0	37.5	37.5	71.3
	Yeokganghongjangun	3	27.5	30.0	55.0	71.3
		4	27.5	37.5	37.5	70.0
		5	25.0	30.0	27.5	56.3
	Chonnyeonyaksok	3	30.0	35.0	45.0	72.5
		4	2.5	2.5	5.0	6.3
		5	0.0	0.0	2.5	1.3

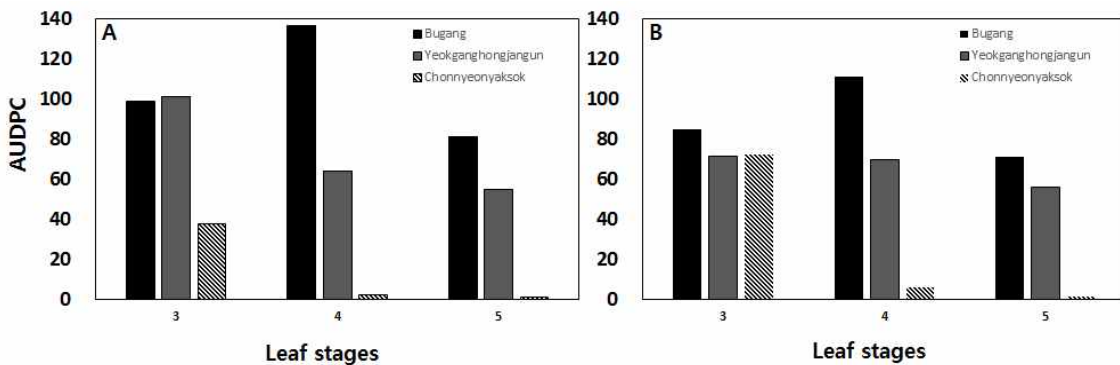


Fig. 7. 접종 8일 후 병진전곡선면적(AUDPC) A; KACC11164, B; KACC11154

(라) 품종 선발

① 실험 방법

· 식물체 준비

- 접종 30일경 전에 5×8 플러그 포트에 원예용상토 2호(부농사)를 담은 뒤 시판되고 있는 고추 144품종을 각 각 2립씩 파종한 뒤 가온베드에서 재배하였다.
- 파종한지 6-7일 경과 후, 식물체가 발아하면 온실 상에서 재배하고 포트 당 1개의 식물체가 되도록 솟아주었다.
- 약 30일이 경과되어 본엽이 4엽까지 완전 전개한 고추 유묘를 실험에 사용한다.

· 접종원 준비

- NA배지에 streaking하여 1일간 30℃에서 전배양한 *X. euvesicatoria* KACC11164를 새로운 NA배지에 36시간 30℃에서 배양한다. 병원균이 배양된 배지에 멸균수를 넣고 spreader로 병원균을 풀어주어 병원균 현탁액을 만들었다.
- 멸균수에 현탁한 병원균 현탁액을 O.D.₆₀₀= 0.2(1×10⁸ CFU/ml) 로 조정 후 Tween 20을 최종농도가 250ppm이 되도록 첨가한 뒤 혼합하여주었다.

· 병원균 접종 및 접종 후 관리

- 식물체 1주당 1ml이 되도록 잎 앞, 뒷면이 충분히 세균현탁액이 물을 수 있도록 분무 접종 하였다.
- 접종한 고추 유묘는 30℃ dew chamber에서 48시간 습실처리 후 향온항습실(25℃, RH 80%)로 이동한 뒤 하루에 12시간씩 광을 조사하고, 저면관수하여 매일 발병 정도를 관찰하였다.

② 결과 및 고찰

- 1차, 2차 실험 결과를 토대로 고추 세균성점무늬병 저항성 검정에는 감수성 품종으로 ‘타네강’(아시아종묘), 중도저항성으로 ‘역강홍장군’(코레곤종묘). 저항성 품종으로 ‘천년약속’(농우바이오)를 사용하는 것을 제안하고자 한다(Table 32).
- 또한 저항성 판정은 0-1.0미만은 저항성, 1.0이상 2.0미만은 중도저항성, 2.0이상은 감수성으로 판정하고자 한다.

Table 32. 품종별 AUDPC 및 접종 8일후 평균 발병도

품종	1차 AUDPC	1차 rAUDPC	2차 AUDPC	2차 rAUDPC	평균 발병도
PR만세	66.3	53.5	40.0	38.1	0.2
PR썬	0.0	0.0	18.8	17.9	0.2
PR상생	76.3	61.6	40.0	38.1	0.3
PR어울림	50.0	40.4	50.0	47.6	0.3
천년약속	11.3	9.1	13.8	13.1	0.4
국보	33.8	27.3	30.0	28.6	0.7
PR지존	60.0	48.5	35.0	33.3	0.7
베테랑	31.3	25.3	33.8	32.1	0.7
천리향	37.5	30.3	30.0	28.6	0.7
신흥	28.8	23.2	37.5	35.7	0.7
조생신탭	43.8	35.4	25.0	23.8	0.8
PR금송이	47.5	38.4	40.0	38.1	0.8
PR역발산	70.0	56.6	55.0	52.4	0.8
강력태양	52.5	42.4	15.0	14.3	0.8

PR홍두깨	48.8	39.4	30.0	28.6	0.9
PR대촌	47.5	38.4	51.3	48.8	0.9
PR매콤	62.5	50.5	55.0	52.4	0.9
PR장원급제	23.8	19.2	40.0	38.1	0.9
불맛	47.5	38.4	35.0	33.3	0.9
카타구루마	47.5	38.4	40.0	38.1	0.9
PM신강	48.8	39.4	42.5	40.5	1.0
당조마일드	48.8	39.4	45.0	42.9	1.0
미팅	46.3	37.4	42.5	40.5	1.0
아우성	51.3	41.4	40.0	38.1	1.0
천하통일	47.5	38.4	40.0	38.1	1.0
AR지존	50.0	40.4	50.0	47.6	1.0
OK청양	42.5	34.3	50.0	47.6	1.0
PM파리푹고추	50.0	40.4	50.0	47.6	1.0
PR억만금	45.0	36.4	30.0	28.6	1.0
박장대소	50.0	40.4	50.0	47.6	1.0
병강세	52.5	42.4	45.0	42.9	1.0
신통일	60.0	48.5	45.0	42.9	1.0
일당백골드	52.5	42.4	45.0	42.9	1.0
탄탄대목	52.5	42.4	35.0	33.3	1.0
NW비가림	53.8	43.4	43.8	41.7	1.1
PR갈무리	85.0	68.7	45.0	42.9	1.1
PR마니따	0.0	0.0	15.0	14.3	1.1
PR블티나	0.0	0.0	18.8	17.9	1.1
금빛	63.8	51.5	40.0	38.1	1.1
기세등등	51.3	41.4	55.0	52.4	1.1
마니따	53.8	43.4	40.0	38.1	1.1
세계일	61.3	49.5	62.5	59.5	1.1
일인자	51.3	41.4	55.0	52.4	1.1
전국일주	51.3	41.4	55.0	52.4	1.1
PR청양	56.3	45.5	53.8	51.2	1.1
99.9	58.8	47.5	48.8	46.4	1.1
PR금고추	52.5	42.4	60.0	57.1	1.1
PR금나라	93.8	75.8	75.0	71.4	1.1
PR금메달	43.8	35.4	32.5	31.0	1.1
PR블로초	60.0	48.5	40.0	38.1	1.1
PR블멸	51.3	41.4	50.0	47.6	1.1
PR상한가	61.3	49.5	30.0	28.6	1.1
금강석	50.0	40.4	57.5	54.8	1.1
다보탑	57.5	46.5	50.0	47.6	1.1
본가네	55.0	44.4	55.0	52.4	1.1
슈퍼마니따	53.8	43.4	72.5	69.0	1.1
신조광	58.8	47.5	60.0	57.1	1.1
영양맛	53.8	43.4	51.3	48.8	1.1
오복	53.8	43.4	51.3	48.8	1.1
PR국가대표	61.3	49.5	50.0	47.6	1.2
PR사대천왕	55.0	44.4	45.0	42.9	1.2
강력조생건	61.3	49.5	50.0	47.6	1.2
금고을	55.0	44.4	53.8	51.2	1.2
만사형통	58.8	47.5	55.0	52.4	1.2
만석꾼	57.5	46.5	51.3	48.8	1.2
무한질주	61.3	49.5	55.0	52.4	1.2
으뜸	61.3	49.5	55.0	52.4	1.2
진미	61.3	49.5	50.0	47.6	1.2

한반도	57.5	46.5	45.0	42.9	1.2
대촌	65.0	52.5	50.0	47.6	1.2
모닝폿	58.8	47.5	58.8	56.0	1.2
불세출	57.5	46.5	60.0	57.1	1.2
짱	60.0	48.5	60.0	57.1	1.2
태산	62.5	50.5	50.0	47.6	1.2
PR만장일치	58.8	47.5	25.0	23.8	1.2
PR볼근	52.5	42.4	50.0	47.6	1.2
PR스마트	76.3	61.6	55.0	52.4	1.2
PR환호성	60.0	48.5	55.0	52.4	1.2
참조은	61.3	49.5	55.0	52.4	1.2
천년만년	62.5	50.5	55.0	52.4	1.2
햇	52.5	42.4	62.5	59.5	1.2
홍심이	56.3	45.5	51.3	48.8	1.2
PR파워	56.3	45.5	67.5	64.3	1.2
빛고을	55.0	44.4	47.5	45.2	1.2
PR 평정	56.3	45.5	45.0	42.9	1.3
금마루	63.8	51.5	55.0	52.4	1.3
독불왕	63.8	51.5	60.0	57.1	1.3
배로따	63.8	51.5	60.0	57.1	1.3
수비역	53.8	43.4	50.0	47.6	1.3
신세계	53.8	43.4	43.8	41.7	1.3
안전벨트	71.3	57.6	50.0	47.6	1.3
에코스타	85.0	68.7	36.3	34.5	1.3
역강홍장군	66.3	53.5	55.0	52.4	1.3
일편단심	63.8	51.5	60.0	57.1	1.3
천하제일	58.8	47.5	52.5	50.0	1.3
PR열정	48.8	39.4	33.8	32.1	1.3
군계일학	70.0	56.6	55.0	52.4	1.3
대들보	66.3	53.5	53.8	51.2	1.3
두루두루	72.5	58.6	50.0	47.6	1.3
임금님	65.0	52.5	65.0	61.9	1.3
PR거상	58.8	47.5	42.5	40.5	1.4
당찬	67.5	54.5	67.5	64.3	1.4
선구자	57.5	46.5	48.8	46.4	1.4
참마니	72.5	58.6	55.0	52.4	1.4
PR희망찬	67.5	54.5	66.3	63.1	1.5
강건	78.8	63.6	60.0	57.1	1.5
금향	77.5	62.6	58.8	56.0	1.5
기대만발	67.5	54.5	71.3	67.9	1.5
기립박수	80.0	64.6	45.0	42.9	1.5
대장부	72.5	58.6	68.8	65.5	1.5
축제	93.8	75.8	50.0	47.6	1.5
PR씩쓸이	0.0	0.0	15.0	14.3	1.5
기운찬	76.3	61.6	65.0	61.9	1.5
매콤달콤	68.8	55.6	83.8	79.8	1.5
빅스타	77.5	62.6	62.5	59.5	1.5
예쁜독야청청	88.8	71.7	46.3	44.0	1.5
독야청청	83.8	67.7	68.8	65.5	1.6
옹골찬	91.3	73.7	55.0	52.4	1.6
왕건	86.3	69.7	57.5	54.8	1.6
홍장군비가림	70.0	56.6	66.3	63.1	1.6
거창한	100.0	80.8	46.3	44.0	1.6
맛깔찬	90.0	72.7	56.3	53.6	1.6

일등공신	82.5	66.7	75.0	71.4	1.6
일송정	91.3	73.7	57.5	54.8	1.6
희망봉	73.8	59.6	60.0	57.1	1.6
AR레전드	108.8	87.9	46.3	44.0	1.7
PR금맥	50.0	40.4	57.5	54.8	1.7
행운	83.8	67.7	70.0	66.7	1.7
홍진주	82.5	66.7	62.5	59.5	1.7
부춘	75.0	60.6	45.0	42.9	1.7
홍일점	98.8	79.8	66.3	63.1	1.8
파피레드피망	100.0	80.8	80.0	76.2	1.8
금수강산	98.8	79.8	65.0	61.9	1.8
홍미인	87.5	70.7	56.3	53.6	1.8
남자의자격	95.0	76.8	95.0	90.5	1.9
불도장	103.8	83.8	85.0	81.0	2.0
한가람	103.8	83.8	85.0	81.0	2.0
다홍치마	105.0	84.8	90.0	85.7	2.0
나잘난	116.3	93.9	75.0	71.4	2.1
홍보석	116.3	93.9	70.0	66.7	2.1
조향	107.5	86.9	90.0	85.7	2.1
타네강	112.5	90.9	85.0	81.0	2.2
한손	133.8	108.1	65.0	61.9	2.2
부강	113.8	91.9	90.0	85.7	2.3
한판승	110.0	88.9	85.0	81.0	2.3
뉴웨이브피망	121.3	98.0	110.0	104.8	2.4
파피엘로우	123.8	100.0	105.0	100.0	2.5

(3) 확립된 병리검정법

고추 세균점무늬병에 대한 효율적인 병리검정법을 다음과 같이 확립하였다.

· 식물체 준비

- 실험 28일전에 5×8 플러그 유묘판(40-1)에 원예용 상토 2호(부농사)를 넣고 고추 종자를 2립씩 파종한다.
- 모든 실험에는 대조 품종도 함께 파종한다.
저항성 대조 : 천년약속(농우바이오)
중도저항성 대조 : 역강홍장군(홍농종묘)
감수성 대조 : 타네강(아시아종묘)
- 파종한 고추는 온실로 옮기고 처음에는 충분한 물을 공급하고 이후에는 과습하지 않도록 주의하면서 통상적인 방법으로 재배한다.
- 파종 7-9일 후에 포트 당 1개의 식물체가 되도록 고추를 솟아주거나 이식해준다.
- 특별한 경우를 제외하고 모든 실험은 품종 당 10반복으로 실시한다.

· 병원균 준비

- 접종 3일전에 NA(nutrient agar, Difco)배지에 *Xanthomonas euvesicatoria* KACC11164 균주를 streaking하여 1일간 전배양 한다.
- NA배지에 streaking하여 1일간 30℃에서 전배양한 병원균을 새로운 NA배지에 36시간 30℃에서 배양한다. 병원균이 배양된 배지에 멸균수를 넣고 spreader로 병원균을 풀어주어 병원균 현탁액을 만든다.
- 멸균수에 현탁한 세균현탁액을 O.D.₆₀₀= 0.2(1×10⁸ CFU/ml)로 조정하고, Tween 20을 최종농

도 250ppm이 되도록 첨가하여 혼합하여준다.

· 병원균 접종

- 온실에서 재배하여 4엽기까지 완전 전개한 고추 유묘를 실내로 옮긴 후 40구 포트 바닥에 관수상자를 깔아 준다.
- 분무접종방법으로 1주당 1ml이 되도록 잎 앞, 뒷면이 충분히 세균현탁액이 묻을 수 있도록 한다.

· 접종 후 환경

- 30℃ dew chamber에 48시간 습실처리 후 25℃ 항온항습실(RH 80%)에 놓고 하루에 12시간 광을 조사하면서 발병 정도 관찰한다.

· 병조사

- 접종 6일, 7일, 8일 후 본엽 1엽부터 4엽까지 병반면적율(%)을 조사한 뒤에 병진전곡선하면적(Area under the disease progress curve; AUDPC)을 구하였다.

발병지수	발병 정도
0	병징이 보이지 않는 것
1	연필자국 모양의 병반이 형성되거나 매우 제한된 것
2	수침 혹은 유침상의 병반이 형성되거나 병반면적이 25% 이내
3	수침상의 병반이 다수 형성되었으며 병반면적 50% 내외
4	수침상의 병반이 서로 엉기거나 낙엽한 것

6. 배추 무름병 병리검정 체계 확립

가. 서론

배추에 발생하는 병해 중 가장 큰 뿌리혹병을 포함한 22종이 보고되어 있다(KSPP, 2009). 배추 무름병은 아직 병명목록에 보고되어 있지는 않지만, 2014년 8월말 배추 무름병이 발생한 포장에서의 세균 검출 정도는 *Pectobacterium carotovorum* 계통의 세균이 73.1%로 우점종으로 나타났으며(이 등, 2015), 배추 재배지에서는 가장 큰 문제가 되고 있는 병해 중 하나이다. 배추 무름병을 유발하는 병원균인 *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*은 그람음성 세균으로 포자를 형성하지 않는 통성 혐기성균으로, pectin 및 cellulose 분해 효소를 가지고 있어 거의 모든 식물의 조직을 분해시켜 무름병을 야기하며(Chatterjee 등, 1994), 생육 적온은 28-30℃로 고온활동성 세균이다(Péombelon과 Kelman, 1980; Whitehead 등, 2002). 따라서 온도와 습도가 높은 환경에서 발병이 심하며, 배추과 작물을 비롯한 대부분의 작물에 침입하여 병을 야기하고, 이병 잔재물과 토양 속에서 월동을 하다가 다음 해에 1차 전염원이 된다. 무름병은 배추의 생육 전 기간에 발생하지만 특히 수확 후 유통 및 저장 중에도 큰 피해를 초래한다(De Boer와 Kelman, 1978).

이렇게 큰 피해를 야기하는 *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*에 의한 세균성 무름병을 다양한 방법으로 방제하고자 하였다. 우선 병 범위와 진전을 감소시키기 위해 재식 밀도를 감소시키고, 이랑을 높이며, 과중 낱자를 늦추는 등의 재배하는 동안 환경을 관리하거나, 항생 물질을 이용하여 방제하거나, 화학적 방제법을 수행하였으나 이들은 방제효과가 미비하거나 안정적이지 못하고, 살세균제 저항성 균 출현의 문제에 직면하게 된다. 따라서 세균성 무름병

을 가장 효과적으로 방제할 수 있는 방법은 저항성 품종을 이용하는 것이다. 저항성 품종을 육성하기 위해서는 병 저항성 정도를 평가하여 저항성 품종 및 계통을 선발하여야 하는데, 현재까지 배추 무름병에 대한 병 저항성 검정법이 확립되어 있지 않은 실정이다.

따라서 본 연구에서는 효율적인 배추 무름병 저항성 검정법을 확립하기 위하여, 시판중인 66개의 배추 품종들의 저항성 정도를 평가 후, 저항성 정도가 다른 4품종을 선발하여, 접종 후 재배 온도, 접종원의 밀도, 배추의 생육 시기에 따른 배추 무름병 발생을 조사하였다.

나. 재료 및 방법

(1) 식물체 준비

시판되고 있는 배추 66품종 ‘노랑추석’, ‘태봉’, ‘상장군’, ‘노랑김치’, ‘파워춘광’, ‘CR장군’, ‘가을황’, ‘불암3호’, ‘부활’, ‘신농봄’, ‘CR강산’, ‘CR요시마사’, ‘노랑맛하장’, ‘영광’, ‘우리’, ‘김금3호 대백채’, ‘산울림’, ‘하대장군’, ‘노랑김장’, ‘쌈이랑’, ‘CR키요시’, ‘CR명가’, ‘德高CR117’, ‘CR맛’, ‘CR정록’, ‘옥황씨알’, ‘노랑관동’, ‘CR명품’, ‘챔피온’, ‘청야’, ‘CR하루요시’, ‘CR황금’, ‘썸그린’, ‘강력여름’, ‘씨알제왕’, ‘CR황록’, ‘삼엇갈이’, ‘맞춤’, ‘천하장군’, ‘올품’, ‘월동천하’, ‘추월’, ‘CR황태자’, ‘CR안심’, ‘CR고냉지노랑’, ‘진청’, ‘청옥’, ‘CR여름맛’, ‘CR농심’, ‘참이슬엇갈이’, ‘아끼메끼’, ‘황금알’, ‘CR입춘’, ‘CR하계’, ‘금촌얼갈이’, ‘금방울’, ‘대통’, ‘CR맛짱’, ‘항암쌈배추’, ‘뚝심얼갈이’, ‘CR알찬’을 시중에서 구입하여 실험에 사용하였다.

각 품종을 5×8 플러그 포트에 원예용상토 2호(부농사)를 담은 뒤 2립씩 과중한 뒤 온실(25 ± 5°C)에서 재배하였다. 과중 5-6일 후에 포트 당 1개의 식물체가 되도록 배추를 솎아주거나 이식해주었고, 과중 약 24일 후 3-4엽이 완전 전개된 유묘를 실험에 사용하였다. 배추 무름병 저항성 검정법 확립을 위한 발병 조건에 따른 병 발생양상을 확인하기 위하여 저항성 품종으로 ‘태봉’과 ‘씨알제왕’, 감수성 품종으로 ‘노랑김장’을 선발하여 실험에 사용하였다. 그리고 배추 생육시기에 따른 무름병 발생 정도를 확인하기 위해, 과중 후 7, 14, 21, 28, 35일이 경과된 총 5종류의 생육단계가 다른 배추 유묘를 실험에 사용하였다.

(2) 접종원 준비

NA(nutrient agar, Difco) 배지에 streaking하여 1일간 전배양한 *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* KACC 10225 균주에 NB(nutrient broth, Difco)를 5 ml 넣고 세균을 고르게 수확하고 이 세균 현탁액을 2 ml을 취하여 새로운 NB 배지 200 ml에 접종한 뒤 30°C, 200rpm으로 24-36시간 진탕배양 후 상온에서 8,000rpm, 10분간 원심분리하여 세균 pellet을 수확하였다. 수확한 세균 pellet을 멸균수에 현탁한 뒤, UV spectrophotometer로 OD₆₀₀값을 측정하여 OD₆₀₀=0.2(1×10⁸ CFU/ml)로 조정된 세균 현탁액을 만들었다.

이 세균현탁액을 100배 희석하여 1×10⁶ CFU/ml의 세균 현탁액을 되도록 조정된 뒤 접종원으로 사용하였다. 그리고 병원균 밀도에 따른 배추 무름병 발병조건을 확립하기 위하여, OD₆₀₀=0.2(1×10⁸ CFU/ml)로 조정된 세균 현탁액을 1/10씩 희석하여 1×10⁷, 1×10⁶, 1×10⁵, 1×10⁴ CFU/ml가 되도록 조정된 뒤 실험에 사용하였다.

(3) 병원균 접종 및 접종 후 환경

1×10⁶ CFU/ml이 되도록 조정된 세균현탁액과 멸균한 glycerol을 4:1비율로 균질하게 혼합하여 식물체 기부에 5 ml씩 접종하였다. 병원균 밀도에 따른 배추 무름병 발병조건을 확립

하기 위한 실험은 1×10^7 , 1×10^6 , 1×10^5 , 1×10^4 CFU/ml가 되도록 조정된 세균현탁액과 멸균한 glycerol을 각각 4:1비율로 균질하게 혼합하여 식물체 기부에 5 ml씩 접종하였다. 병원균을 접종한 식물체는 25°C dew chamber에 24시간 습실처리 한 후, 25°C(상대습도;80%)향온습실에 두고 하루에 12시간씩 광을 조사하면서 병 진전 정도를 관찰하였다.

온도에 따른 배추 무름병 발생 정도를 비교하기 위하여, 25°C dew chamber에 24시간 습실처리 한 후, 25°C(상대습도 80%) 향온습실에 두고 하루에 12시간씩 광을 조사하면서 병 진전 정도를 관찰하였다. 접종 후 식물체 재배 온도에 따른 배추 무름병 발생 정도를 조사하기 위해 병원균을 접종한 식물체는 25°C dew chamber에 24시간 습실처리 한 후, 20, 25, 30°C의 향온실에 두고 하루에 12시간씩 광을 조사하면서 병 진전 정도를 관찰하였다.

(4) 병조사

병원균을 접종하고 접종 7일 후부터 10일까지 배추 유묘의 지재부의 무름 증상과 잎의 황화가 진행되는 발병정도에 따라 각 개체 별 발병지수를 산정하고, 발병도를 구하였으며, 발병도에 따라 병진전곡선하면적(AUDPC)와 상대병진전곡선하면적(rAUDPC)를 산출하였다. 모든 실험은 10반복씩 2회 수행하였으며, SAS(SAS 9.1, SAS Institute Inc., USA) 프로그램을 이용하여 ANOVA 분석을 하고, 처리 평균간 비교를 위하여 Duncan's multiple range test($P = 0.05$)를 실시하였다.

·발병도(disease severity, %)

$$= \{ \sum(\text{disease index} \times \text{the number of diseased plants}) / (\text{the highest disease index} \times \text{the number of plants rated}) \} \times 100$$

· 병진전곡선하면적(area under the disease progress curve: AUDPC)

$$= \{ (\text{disease severity of 7DAI} + \text{disease severity of 8 DAI}) / 2 \} + \{ (\text{disease severity of 8DAI} + \text{disease severity of 9 DAI}) / 2 \} + \{ (\text{disease severity of 9 DAI} + \text{disease severity of 10DAI}) / 2 \}$$

· 상대병진전곡선하면적(relative area under disease progress curve; rAUDPC)

$$= (\text{each AUDPC} / \text{Maximum AUDPC}) \times 100$$

다. 결과 및 고찰

(1) 병리검정 조건 확립을 위한 배추 품종선발

배추 무름병에 대한 병리검정 조건을 확립하기 위한 저항성 품종과 감수성 품종을 선발하고자 시판되고 있는 배추 66품종에 대하여 10반복씩 2회에 걸쳐 실험을 수행하였다. 병원균 접종 후 7일 후부터 10일 후까지의 잎의 황화나 기부의 무름증상의 면적을 조사하여 발병도를 구한 뒤, 병발생진전곡선하면적(AUDPC)과 상대발병도(RDS)를 구하였다. 그 결과, 상대발병도를 구하였을 때, 병 발생이 가장 큰 'CR알찬(100.0)'을 감수성 품종으로, 병 발생정도가 다른 품종에 비해 현저히 낮은 '노랑추석(10.2)'과 '태봉(14.8)'을 저항성 품종으로, 중도저항성 품종으로 '하대장군(42.6)'을 선발하여 배추 무름병 저항성 병리검정 조건을 확립하기 위한 실험에 사용하였다(Table 33).

정 등(2003)은 배추 무름병에 대한 저항성 품종 검정을 위하여 세균현탁액(1×10^8

CFU/ml)과 mineral oil을 4:1로 혼합한 뒤, 배추 기부에 10 ml씩 접종하여 저항성 품종을 선발하였다. 그리고 이에 앞서 이(2002)는 미네랄오일을 이용한 접종법은 기존의 접종법에서 병행해야 하는 상처와 습실처리없이 자연발병과 유사하게 세균성 무름병을 유도한다고 하였다. 미네랄오일이 조직 내에 혐기조건을 만들어 물리적, 화학적 저항성을 붕괴시키거나 미네랄오일막에 의한 수분증발 억제 효과를 부여하고, 식물 표면의 왁스층 및 큐티클층과 유사한 지질 성분으로 병원균과 함께 ectodesmata를 통해 침입할 수 있을 것이라 추측하였다(Esau, 1977). 따라서 본 실험에서는 1×10^6 CFU/ml로 조정된 세균현탁액과 mineral oil과 유사하나 이보다는 경제적인 glycerol을 4:1로 혼합하여 5 ml씩 배추 기부에 접종하였다.

Table 33. AUDPC and RDS of 60 commercial radish cultivars to *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* KACC 10225^z.

Cultivar	AUDPC ^y	RDS ^x
Norangchuseok	27.5	10.2
Taebong	40.0	14.8
Sangjanggun	62.5	23.1
Noranggimchi	65.0	24.1
Powerchungwang	67.5	25.0
CRJanggun	77.5	28.7
Gaeulhwang	82.5	30.6
Bulam3ho	85.0	31.5
Buhoal	95.0	35.2
Sinnongbom	102.5	38.0
CRGangsan	102.5	38.0
CRYosimasa	105.0	38.9
Norangmathajang	105.0	38.9
Yeonggwang	105.0	38.9
Woori	107.5	39.8
Gimguem3hodaebaekchae	107.5	39.8
Sanullin	115.0	42.6
Hadaejanggun	115.0	42.6
Noranggimjang	122.5	45.4
Ssamirang	122.5	45.4
CRKiyosi	122.5	45.4
CRMyeongga	122.5	45.4
CR1016	125.0	46.3
CRIsacheolli	127.5	47.2
Aremchan	127.5	47.2
Bulamplus	130.0	48.1
CR117	130.0	48.1
CRMAT	135.0	50.0
CRCheongrok	140.0	51.9

Okhwangssial	140.0	51.9
Noranggwandong	142.5	52.8
CRMyeongpum	142.5	52.8
Champion	145.0	53.7
Cheongya	145.0	53.7
CRHaruyosi	145.0	53.7
CRHwangguem	147.5	54.6
Ssungreen	152.5	56.5
Gangryoeekyeoreum	155.0	57.4
CRJewang	155.0	57.4
CRHwangrok	157.5	58.3
Samuggali	160.0	59.3
Matchum	160.0	59.3
CRJinshim	162.5	60.2
Cheonhajangun	162.5	60.2
Alpum	165.0	61.1
Woldongcheonha	165.0	61.1
Chuwol	165.0	61.1
CRHwangtaeja	170.0	63.0
CRAnshim	172.5	63.9
CRGonengjinorang	175.0	64.8
Jincheong	177.5	65.7
Cheongok	180.0	66.7
CRYeoreummat	182.5	67.6
CRNongshim	185.0	68.5
Chameseuluggali	187.5	69.4
Aggimeggi	190.0	70.4
Hwangguemal	195.0	72.2
CRIpchun	202.5	75.0
CRHagae	210.0	77.8
Geumchonulgali	212.5	78.7
Guembangul	222.5	82.4
Daetong	222.5	82.4
CRMatjjang	232.5	86.1
Hangamssambaechu	260.0	96.3
Dduksimuggali	265.0	98.1
CRAlchan	270.0	100.0

^zTwenty four-day-old seedlings of each cultivar were inoculated with KACC 10225 by drenching the proximal in 1×10^6 CFU/ml. The inoculated plants were incubated in a humidity chamber at 25°C for 24 hours and then transferred to a growth room at 25°C (RH 80%) with 12 hours light a day for 4 days.

^yArea under the disease progress curve (AUDPC) = {(disease severity of 7 DAI + disease

severity of 8 DAI)/2 }+{(disease severity of 8 DAI + disease severity of 9 DAI)/2}+{(disease severity of 9 DAI + disease severity of 10 DAI)/2}

*Relative disease severity (RDS) = (each disease severity/maximum disease severity) × 100

(2) 온도별 조건에 따른 배추 무름병 발생

감자 무름병의 경우 병원균의 초기 밀도와는 상관없이 온도에 의해 병 발생에 결정적인 역할을 하고 있다고 알려져 있다(Fox와 Myers, 1971). 따라서 온도 요인에 의한 병 발생 정도를 알아보하고자 무름병균을 접종한 식물체를 24시간 25℃에서 습실처리 한 후, 하루에 12시간씩 광을 조사하면서 20, 25, 30℃ 항온실에 두고 발병정도를 관찰한 결과, 20℃에서는 실험에 사용한 4 품종의 rAUDPC값이 ‘CR알찬’은 43.3, ‘하대장군’은 37.9, ‘노랑추석’은 30.4, ‘태봉’은 15.7로 품종별 차이가 나타났지만 병 발생정도의 차이가 크게 나타나지 않았다. 30℃에서는 실험에 사용한 4품종의 rAUDPC값이 ‘CR알찬’은 89.9, ‘하대장군’은 83.5, ‘노랑추석’은 69.6, ‘태봉’은 58.2로 품종별 차이가 크게 나타나지 않았다. 25℃에서 실험한 결과, ‘태봉’과 함께 저항성 품종으로 선발한 ‘노랑추석’의 경우, 중도저항성으로 선발한 ‘하대장군’과 비슷한 발병도를 나타내었지만, 감수성 품종으로 선발한 ‘CR알찬’과 저항성 품종으로 선발한 ‘태봉’의 rAUDPC값이 51차이를 보이며 품종별 발병정도의 차이를 보여주었다(Fig. 8).

이렇게 온도에 따라 발병정도의 차이를 보이는 것은 이(2002)가 미네랄오일을 이용한 접종법이 기존의 다른 세균병 접종법보다 균일성이 있지만 온도에 따라 발병속도와 균일도의 차이가 있을 것 이라고 추측한 결과와 부합되며, 따라서 배추 무름병 발병에 알맞은 온도조건은 접종한 식물체를 24시간 25℃에서 습실처리 한 후, 하루에 12시간씩 광을 조사하면서 25℃ 항온실에 이동하는 것을 제안하고자 한다.

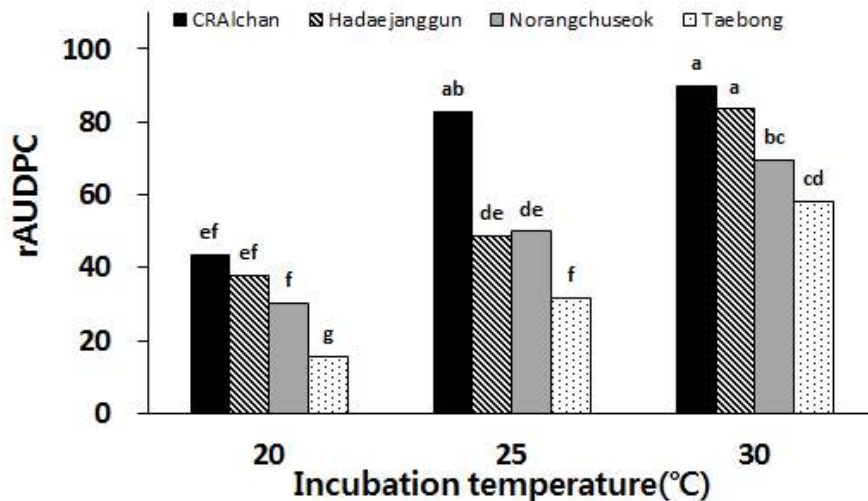


Fig. 8. Development of bacterial soft rot on 4 chinese cabbage cultivars according to incubation temperature. Twenty four-day-old seedlings of each cultivar were inoculated with KACC 10225 by drenching the proximal in 1×10^6 CFU/ml. The inoculated plants were incubated in a humidity chamber at 25℃ for 24 hours and then transferred to a growth room at 20, 25 (RH 80%) and 30℃ with 12 hours light a day for 4 days. Values labeled with the same letter are not significantly different based on Duncan's multiple range test at $p = 0.05$.

(3) 배추 생육시기별 조건에 따른 배추 무름병 발생

과종 후 1, 2, 3, 4, 5주가 경과 된 배추 유묘를 이용하여 생육 시기에 따른 배추 무름병 발생을 조사하였다. 그 결과, 상대병발생진전하곡선면적(rAUDPC)의 값을 살펴보면 1주일간 재배한 식물체의 경우 실험에 사용한 모든 품종에서 병발생 정도가 미비하여 저항성 정도를 판단하기 어려웠으며, 2주일간 재배한 배추 유묘의 경우 감수성 품종인 ‘CR알찬’의 발병이 많이 진전 되지 않아 감수성 품종들을 선발하기에는 어려움이 있다고 생각되었다(Table 34).

감수성 품종인 ‘CR알찬’의 발병이 가장 높은 생육시기를 살펴보았을 때, 3주 재배하였을 때 그 값이 100.0이었으며, 저항성 품종으로 선발한 ‘노랑추석’과 ‘태봉’에서는 3주간 재배하였을 경우 발병이 80.1, 64.1로 다소 높았지만, 식물체 재배기간이 4주 이상 되는 경우 품종간의 병 발생 정도차이는 크게 나타나지 않았기 때문에, 품종간의 병발생 정도의 차이를 보인 3주간 재배한 식물체를 이용하여 무름병 정도를 조사하는 것이 타당하다고 생각되었다.

Table 34. Development of bacterial soft rot on 4 chinese cabbage cultivars according to plant growth stage^z.

Cultivars	Plant cultivation period (weeks)				
	1	2	3	4	5
CRAlchan	35.2 ^y h ^x	76.0 c	100.0 a	55.0 e	65.2 d
Hadaejanggun	17.7 i	43.8 fg	91.2 b	54.7 e	37.7 gh
Norangchuseok	21.1 i	35.9 h	80.1 c	48.2 ef	33.7 h
Taebong	14.6 i	34.0 h	64.1 d	37.7 gh	34.8 h

^z1-, 2-, 3-, 4 and 5-week-old Chinese cabbage seedling of each cultivar were inoculated with KACC 10225 by drenching the proximal in 1×10^6 CFU/ml. The inoculated plants were incubated in a humidity chamber at 25°C for 24 hours and transferred to a growth room at 25°C (RH 80%) with 12 hours light a day for 9 days.

^yArea under the disease progress curve(AUDPC) = {(disease severity of 7 DAI + disease severity of 8 DAI)/2} + {(disease severity of 8 DAI + disease severity of 9 DAI)/2} + {(disease severity of 9 DAI + disease severity of 10 DAI)/2}

^xValues labeled with the same letter are not significantly different based on Duncan’s multiple range test at $p = 0.05$. Values labeled with the same letter are not significantly different based on Duncan’s multiple range test at $p = 0.05$.

(4) 접종원 밀도에 따른 배추 무름병 발생

접종원 밀도에 따른 배추 무름병 발생정도를 알아보하고자 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 CFU/ml 의 병원균 현탁액을 배추 기부에 5 ml씩 접종한 결과, 접종한 병원균의 밀도에 따라 배추 무름병 발생의 차이는 크게 나타나지 않았지만, 1×10^6 CFU/ml , 1×10^7 CFU/ml 두 병원균의 밀도로 접종하였을 때, 실험에 사용한 4품종의 저항성 정도 차이가 뚜렷하게 나타났다(Fig. 9).

정 등(2003)은 배추 무름병에 대한 저항성 품종 검정을 위하여 세균현탁액을 1×10^8 CFU/ml로 조정 한 뒤, mineral oil과 4:1로 혼합하여 배추 기부에 10 ml씩 접종하여 저항성 품종을 선발하였다. 그 결과 Cornell 대학교에서 무름병 저항성 계통으로 분양받은 'C3-26', 'C3-28', 'C3-29'는 공시된 배추 품종과의 저항성 정도를 비교했을 때 저항성인 것으로 나타났다.

위의 결과로부터 정 등(2003)이 배추 무름병균 접종 시 사용한 1×10^8 CFU/ml 보다는 병원균 밀도가 낮은 1×10^6 CFU/ml 로 조정하여 식물체당 5 ml씩 접종하여도 배추 무름병 저항성 검정에는 효율적이라고 생각되었다.

현재까지 국내에는 무름병에 저항성이라고 알려져 있는 품종은 없었기 시판품종을 대상으로 배추 무름병에 대한 저항성 품종과 감수성 품종을 선발하여 사용하였기 때문에 온도별, 농도별, 시기별 실험결과에서 저항성 품종으로 선발한 '노랑추석'과 '태봉'의 발병정도가 높은 경우도 있었으나, 위 결과를 종합해 보았을 때, 배추 무름병의 효과적인 저항성 검정을 위해, 온실($25 \pm 5^\circ\text{C}$)에서 파종 약 24일 후 7엽이 완전 전개된 배추 유묘에 1×10^6 CFU/ml로 조정 한 세균현탁액과 glycerol과 4:1 비율로 혼합하여 식물체 당 5 ml씩 식물체 기부에 접종하고, 병원균을 접종한 식물체를 24시간 25°C 에서 습실처리 한 뒤, 하루에 12시간씩 광을 조사하면서 25°C (상대습도 80%) 항온항습실에 두고 병 진전 정도를 관찰하여 접종 7일 후부터 접종 10일 후까지 발병도를 조사하는 것을 제안하고자 한다.

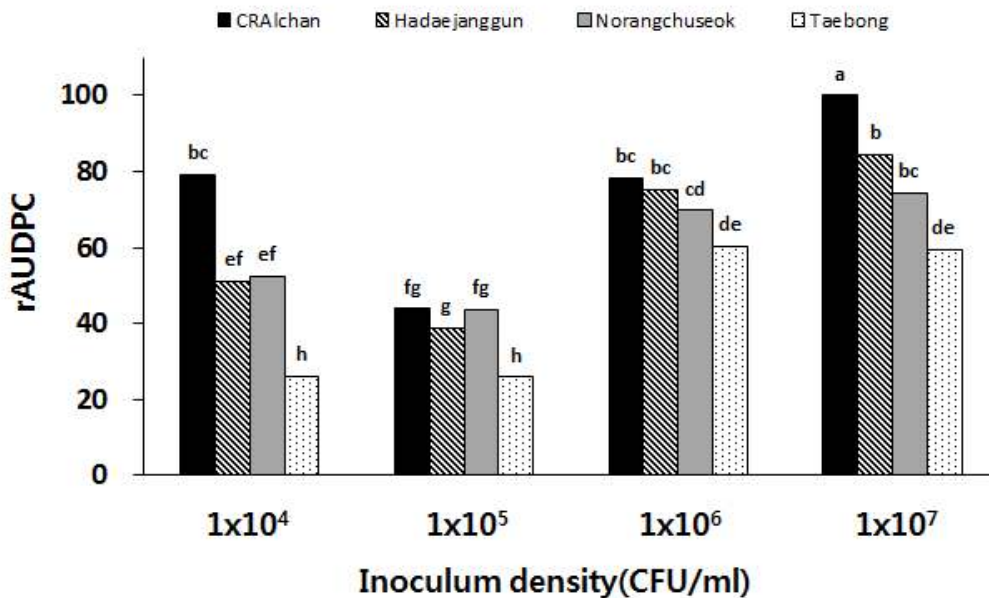


Fig. 9. Development of bacterial soft rot on 4 chinese cabbage cultivars according to inoculum density. Twenty four-day-old seedlings of each cultivar were inoculated with KACC 10225 by drenching the proximal in 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 and 1×10^7 CFU/ml. The inoculated plants were incubated in a humidity chamber at 25°C for 24 hours and transferred to a growth room at 20, 25 (RH 80%) and 30°C with 12 hours light a day for 4 days. Values labeled with the same letter are not significantly different based on Duncan's multiple range test at $p = 0.05$.

7. 배추 바이러스 병리검정 체계 확립(위탁연구 : 충남대)

가. 국내 배추의 전국조사를 통한 다양한 TuMV isolate 확보 및 분석

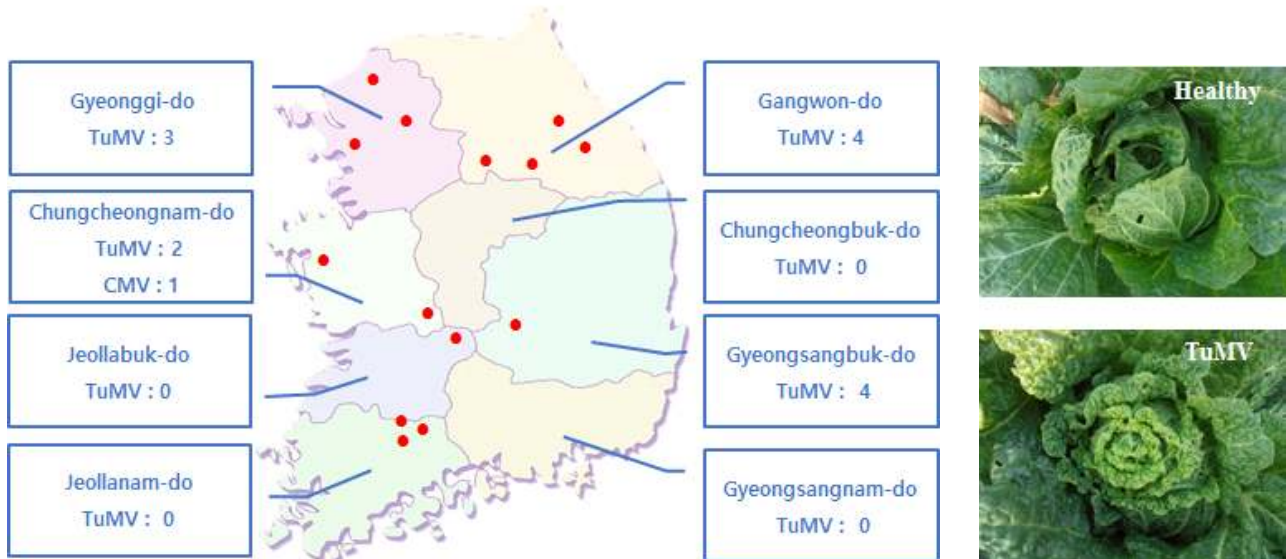


그림.1 전국조사를 통한 다양한 TuMV isolate 확보

(1) 전국조사를 통한 배추 감염 TuMV 확보 및 특성 분석

(가) 배추 감염 TuMV 확보

- 2015년부터 2016년 까지 섬 지역을 제외한 전국의 배추 포장을 대상으로 TuMV에 감염된 것으로 의심이 되는 샘플을 2015년 29점과 2016년 12점의 위축(dwarf)과 모자이크(mosaic) 병징을 나타내고 있는 바이러스 감염 의심 배추를 채집하였음(Fig. 1).
- 채집된 샘플은 *Turnip mosaic virus* 진단용 primer(Table 1)를 이용하여 RT-PCR을 통하여 진단하였고, 진단 결과 총 9개의 샘플에서 TuMV isolate를 확보함.

Table 1 Turnip mosaic virus 진단용 primer sequence

Virus	Primer name	Sequence of primer	Expected size(bp)
TuMV	TuMV_CP_F	5'-AAACTGCAGAAGCAGGTGAAACGCTTGAC-3'	867
	TuMV_CP_R	5'-AAAGGATCCTCATAACCCCTTAACGCCAA-3'	

(나) TuMV isolate 특성 분석

- 배추에서 분리해낸 13개의 TuMV는 2014년에 사전 연구로 분리된 R007(GenBank: KU140420)와 R041 (GenBank: KU140421) 외피단백질과 99%이상의 높은 상동성을 보였음

○ 2015년, 2016년 배추밭에서 발생하는 TuMV는 모두 R007과 R041과 같은 계통임을 판단됨(Fig. 2).

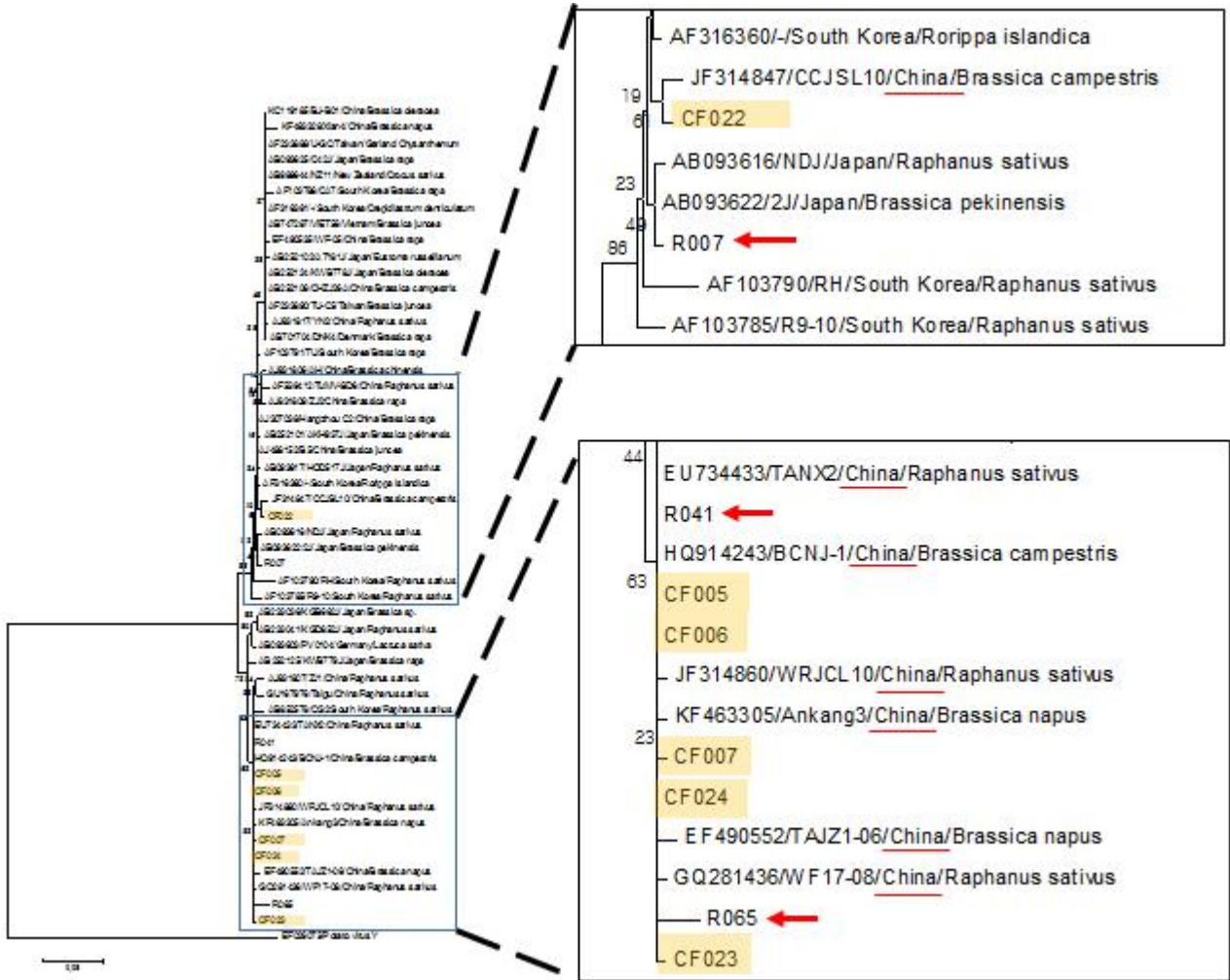


Fig. 2. Turnip mosaic virus Coat protein phylogenetic tree 분석

(나) *Turnip mosaic virus* infectious clone 제작

① Infectious clone 접종 효율

○ 대표적인 배추 감염바이러스인 TuMV의 경우에는 infectious clone의 제작 보고되어 있으나 배추나 무에서의 접종 효율이 매우 낮음. 따라서 접종 효율 증대 방안 모색이 필요

② *In vivo*와 *in vitro* 동시 접종 가능 infectious clone의 제작

○ 35S promoter와 T7 promoter를 동시에 사용할 수 있어 Agroinoculation 및 *in vitro* transcription이 동시에 가능한 벡터인 pJY vector에 TuMV full genome을 *ApaI*과 *XmaI*을 사용하여 cloning 함으로써 접종효율을 높이고자 하였음(Fig. 3).

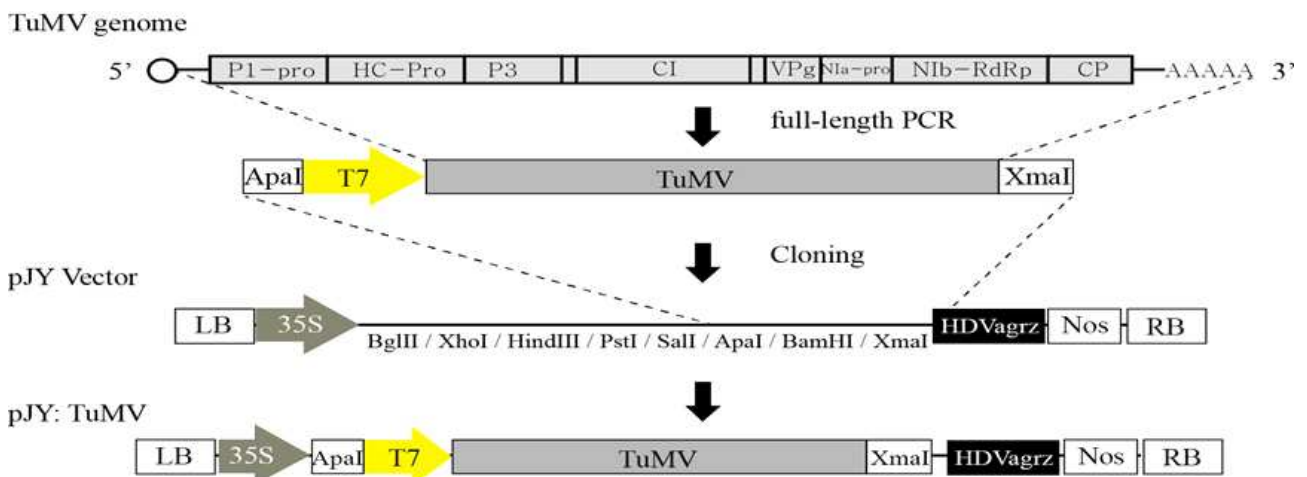


Fig. 3 *Turnip mosaic virus* infectious clone 제작모식도

다. TuMV 접종을 통한 배추(*B. rapa*) 병리 검정

(1) 배추 병리 검정을 위한 TuMV 분리주 선발

(가) TuMV 대표 분리주 선발

○ 2015년과 2016년에 분리된 13샘플의 TuMV 분석결과 2014년 본 연구자들을 통해 분리된 R007과 R041로 판단됨

(나) TuMV infectious clone제작

○ 두 가지 분리주로 기 제작한 Infectious clone을 제작하여 배추(*B. rapa*)에 접종하여 병원성 분석을 실시하였음

(2) TuMV 분리주의 배추 접종 및 병리 검정

(가) TuMV 접종을 통한 배추 병리 검정

- 두 분리주를 모델식물인 *N. benthamiana*에 접종 후 sap inoculation 방법을 통하여 육종으로 만들어진 총 167종류의 배추(*B. rapa*)에 접종을 시행함
- 배추에 접종 후 병리 검정 결과 17종류의 배추에서 TuMV 두 분리주간의 병원성 차이를 확인함(Fig. 4)

(나) 병리 검정을 위한 TuMV 대표 바이러스 선발

- 두 분리주간의 병리 실험에서 병징이 나타나지 않는 육종 배추가 없는 것으로 보아 본 연구에 사용된 두 분리주가 현재까지 배추에 감염되는 TuMV가 전국적으로 분포하고 있는 대표 바이러스라고 확인함

(3) 병리 검정에 따른 기대 효과

(가) 저항성 판별 마커로 이용

- 17종의 배추(*B. rapa*)라인에서 병징의 차이를 나타냄에 따라 R007과 R041의 두 분리주를 이용하여 TuMV 저항성 판별을 위한 마커 개발에 도움이 될 것으로 사료 됨.

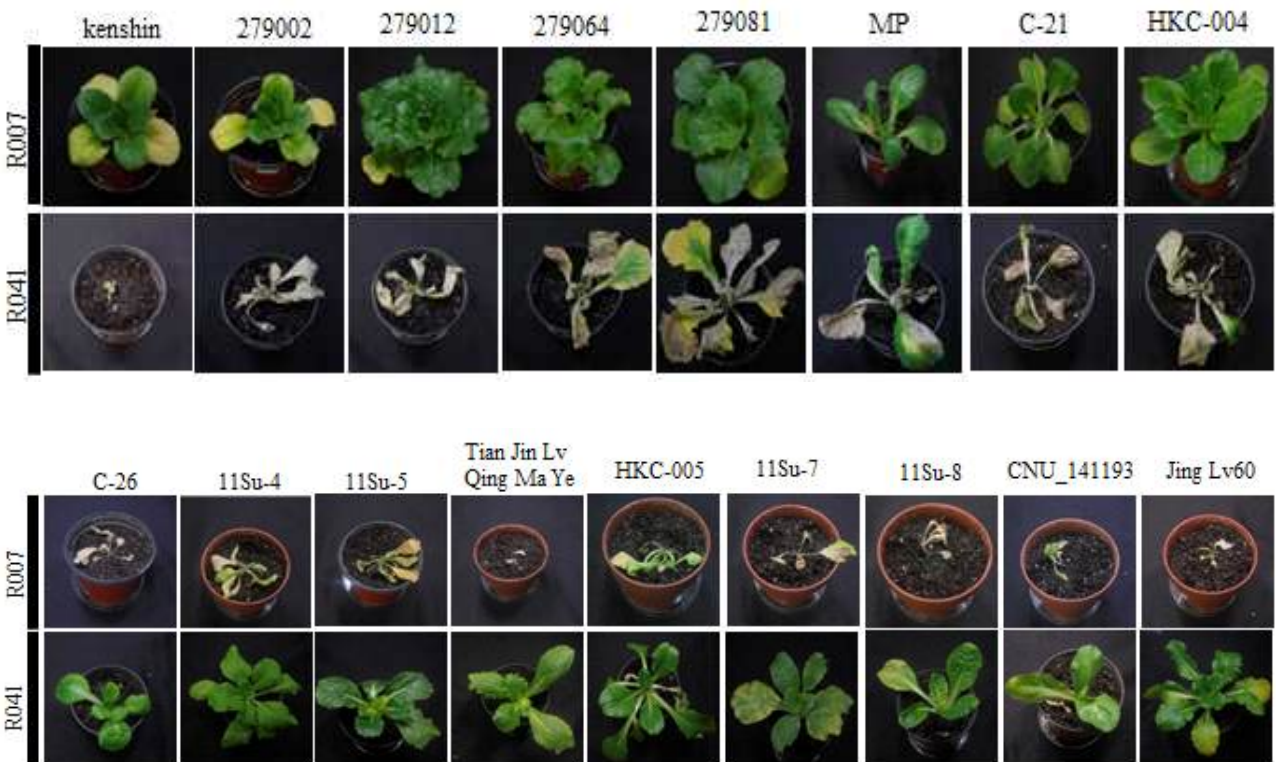


Fig. 4. Turnip mosaic virus 분리주 접종에 따른 배추 병징 차이

제 3절. 병리검정 기술 업그레이드

1. 수박 덩굴쪄김병 병리검정 체계의 업그레이드

가. 다양한 수박 덩굴쪄김병균(*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*) 확보

(1) 덩굴쪄김병 병원균 확보

경상남도 함안군 수박 재배포장에서 분리한 균주 외 농업유전자원정보센터(KACC), 충북 농업기술원 수박연구소, 농우바이오 등으로부터 다양한 수박 덩굴쪄김병균 균주들을 분양받아 실험에 사용하였다(Table 1).

Table 1. 확보된 수박 덩굴쪄김병 균주 리스트

번호	균주명	분양기관
1	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i> NW1	농우바이오
2	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i> NW2	농우바이오
3	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i> CW	충청북도농업기술원 수박연구소
4	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i> KACC 40902	농업유전자원정보센터
5	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i> KACC 40901	농업유전자원정보센터
6	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i> KACC 40905	농업유전자원정보센터
7	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i> HA	경상남도함안군 채집

(2) 수박 덩굴쪄김병균 균주의 레이스 규명

Fusarium oxysporum f. sp. *niveum*(Fon) KACC 40902(레이스 0)을 제외한 Fon 6균주들의 레이스를 규명하기 위하여 판별품종인 ‘Sugar baby’, ‘Charleston gray’, ‘Calhoun gray’, ‘PI-296341-FR’의 종자를 농업유전자원정보센터로부터 분양 받아 실험에 사용하였으며, 수박 덩굴쪄김병 병원균을 수박 유묘에 접종하여 병 발생을 조사하였다.

(가) 재료 및 방법

직경 5cm 플라스틱 포트(90mL/pot)에 원예용상토 5호(부농사)를 넣은 후 수박 덩굴쪄김병 판별품종 4종의 종자를 각각 1립씩 파종하고 온실(25 ± 5℃)에서 14일 동안 재배한 유묘를 실험에 사용하였다.

6종의 Fon 균주들을 각 PDA 배지에 접종하고 25℃에서 1주일 동안 배양한 후, 균총으로부터 균사 조각(8 × 8mm)을 잘라내어 V8-broth 100mL에 6개씩 접종하였다. 접종한 배지는 25℃에서 7일 동안 150rpm으로 진탕배양 하였다. 배양한 균주를 4겹 거즈로 걸러서 균사를 제거하고 원심분리(8,000rpm, 10분)한 후에 상등액을 제거하고 침전물에 멸균수를 넣어서 포자현탁액을 준비하였다. 광학현미경 하에서 hemocytometer를 이용하여 포자(소형분생포자)의 농도를 1.0 × 10⁶ conidia/mL로 조정하였다.

덩굴쪄김병균 접종은 재배한 수박 유묘를 포트에서 뽑아서 뿌리 주변의 흙을 물로 세척

한 후에 준비한 Fon 균주들의 포자현탁액에 30분 동안 침지 접종하였다. 5 × 8 연결포트 (68mL/pot, 범농사)에 원예용상토 5호를 넣고 물을 충분히 뿌려 흙을 촉촉하게 만든 후 접종한 수박 유묘를 옮겨 심었다.

수박의 덩굴쪄짐병 발생을 위해서 접종한 유묘를 25℃ 습실상(상대습도: 95% 이상)에서 1일 동안 배양한 후에 같은 온도의 항온항습실(상대습도: 60-70%)로 옮겨서 하루에 12시간씩 광을 조사하면서 재배하였다.

병원균을 접종하고 3 - 4주 후에 덩굴쪄짐병이 충분히 발생하면 식물체의 뿌리를 뽑아서 줄기 아래 부분을 세로로 비스듬하게 잘라내고 도관의 갈변 정도와 생육 정도를 조사하였다. 발병 정도는 0 = 건전, 1 = 지상부 생육은 억제되지 않으나 지하부는 갈변된 것, 2 = 지하부는 갈변되고 지상부 생육이 억제된 것, 3 = 지하부는 갈변되고 지하부와 지상부의 생육이 상당히 억제된 것, 4 = 고사 등 5단계로 하였다. Zhou 등(2010)의 Fon 레이스 판별방법에 따라 발병률(%)이 33% 미만인 경우에는 저항성(R) 그리고 33% 이상인 경우에는 감수성(S)으로 판정하였다(Table 2).

Table 2. *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*에 대한 레이스 판별품종의 저항성 반응

판별품종	레이스			
	0	1	2	3
Sugar baby	S ^z	S	S	S
Charleston gray	R	S	S	S
Calhoun gray	R	R	S	S
PI-296341-FR	R	R	R	S

^z저항성 조사 기준. 발병률(%)이 33% 미만인 경우에는 저항성(R), 33% 이상인 경우에는 감수성(S)으로 판정함.

(나) 결과 및 고찰

여러 기관으로부터 확보한 Fon 7균주들은 Table 4에서와 같이 3개의 레이스로 구분할 수 있었고, 레이스 0, 1, 2가 각각 2(HA, KACC 40902), 4(NW1, NW2, CW, KACC 40901), 1 균주(KACC 40905)로 확인되었다(Fig. 1).

Fon 균주들의 레이스 검정을 한 결과, 'Sugar baby'에 대한 NW1, NW2, CW 및 KACC 40901 균주들은 각각 98%, 98%, 88% 및 73%의 높은 덩굴쪄짐병 발생을 보였고, 'Charleston gray'에서도 각각 68%, 75%, 78% 및 78%의 병 발생을 나타내었다. 반면에 'Calhoun gray' 및 'PI-296341-FR'에서는 4균주 모두 30% 이내의 병 발생을 보여 이들 균주들은 레이스 1로 동정되었다(Table 3).

KACC 40905 균주는 'PI-296341-FR'을 제외한 세 품종에서 88% 이상의 높은 발병률을 나타내어 레이스 2임을 확인하였고, HA 균주는 'Sugar baby'에서만 90% 이상의 병 발생을 보여서 레이스 0임을 알 수 있었다(Table 4).

HA와 KACC 40902 균주들은 레이스 0이고, 모든 덩굴쪄짐병 저항성 수박 품종에 병을

일으키지 못 하므로 어떤 저항성 유전자가 포함된 수박 품종 및 유전자원을 검정하는데 이용할 수 있을 것으로 생각되었다.

Table 3. 레이스 판별품종에서 *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* 균주들의 덩굴쪄김병 발생

판별품종	HA	NW1	NW2	CW	KACC 40901	KACC 40905
Sugar baby	90 ^z ± 0.7	98 ± 0.3	98 ± 0.3	88 ± 0.9	73 ± 0.7	100 ± 0.0
Charleston gray	25 ± 1.2	68 ± 1.4	75 ± 1.3	78 ± 1.5	78 ± 1.0	88 ± 0.8
Calhoun gray	0 ± 0.0	13 ± 0.7	13 ± 0.5	25 ± 1.3	25 ± 0.5	90 ± 0.8
PI-296341- <i>FR</i>	0 ± 0.0	30 ± 1.5	17 ± 1.3	22 ± 1.2	13 ± 0.7	20 ± 0.4

^z발병률(%).

Table 4. *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* 균주들에 대한 레이스 판별품종들의 저항성 반응

판별품종	HA	NW1	NW2	CW	KACC 40901	KACC 40905
Sugar baby	S ^z	S	S	S	S	S
Charleston gray	R	S	S	S	S	S
Calhoun gray	R	R	R	R	R	S
PI-296341- <i>FR</i>	R	R	R	R	R	R
레이스	0	1	1	1	1	2

^z저항성 조사 기준. 발병률(%)이 33% 미만인 경우에는 저항성(R), 33% 이상인 경우에는 감수성(S)으로 판정함.



Fig. 1. *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*의 레이스 판별품종에 대한 덩굴쪄김병 발생. A, Fon HA(레이스 0); B, Fon CW(레이스 1); C, KACC 40905(레이스 2). 1, 'Sugar baby'; 2, 'Charleston gray'; 3, 'Calhoun gray'; 4, 'PI-296341-*FR*'.

나. 수박 덩굴쪄김병에 대한 효율적인 저항성 검정법 개발-업그레이드

(1) 서 언

수박(*Citrullus lanatus*)은 고추, 딸기와 함께 우리나라의 3대 채소 중 하나이며 중요한 농가 수입원이다. 품종 개발과 재배 기술의 향상으로 수박의 연중 생산이 가능하게 되면서 그에 따른 병해도 많이 발생하게 되었다. 특히 *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*(Fon)에 의한 덩굴쪄김병(*Fusarium wilt*)은 전 세계적으로 수박 재배지에서 발생하여 큰 피해를 입히고 있다. 이 병원균은 토양에서 서식하며 분생포자와 후막포자를 형성하고, 기주가 존재하면 포자에서 발아하여 나온 균사가 뿌리 내 물관으로 침입하여 그 속에서 이동 및 증식하여 기주에 시들음 증상을 일으킨다. 덩굴쪄김병에 걸린 식물체의 줄기를 횡으로 자르면 유관속 조직이 갈변된 링 모습을 볼 수 있으며, 병이 더 진전되면 전체가 말라 죽는다(Agrios, 2005).

이러한 수박 덩굴쪄김병을 방제하기 위하여 연작을 피하고 윤작을 하거나 저항성 대목을 이용한 접목재배, 토양 훈증제 등을 이용하여 토양을 소독하는 화학적 방제 등이 적용되고 있으나, 경제적인 비용과 노동력이 많이 요구된다. 저항성 수박 품종의 재배는 이 병을 방제하는 효율적인 방법인데 미국 등에서는 Fon race 1에 대한 저항성 품종이 개발되어 판매되고 있으나, 우리나라에서는 아직 시판되고 있는 덩굴쪄김병 저항성 품종이 없는 실정이므로 내병성 품종의 개발에 대한 요구가 점차 증가하고 있다.

F. oxysporum f. sp. *niveum*은 박과 작물 내 기주 식물에 대한 병원성 차이 즉 기주 특이성뿐 아니라(Lee, 1969), 수박 품종의 반응에 따른 race의 분화도 보고되었다(Crall, 1963). Cirulli(1972)는 수박 3개 품종('Sugar baby', 'Charleston gray', 'Calhoun gray')에 대한 Fon의 병원성 차이에 따라 race 0과 1로 구분하였다. 'Sugar baby'는 감수성이고 그 외 두 품종은 저항성을 나타내는 Fon 균주는 race 0, 'Sugar baby'와 'Charleston gray'는 감수성 그리고 'Calhoun gray'는 저항성을 보이는 덩굴쪄김병균은 race 1로 명명하였다. 'Charleston gray'의 저항성은 양적 저항성이고(Elmstrom and Hopkins, 1981; Martyn, 1996), race 1에 대한 수박의 저항성 즉 'Calhoun gray'의 저항성은 단인자 우성으로 유전하는 것이 보고되었다(Netzer and Weintall, 1980). 1973년 이스라엘에서는 race 0과 1에 저항성인 수박 품종을 침입하는 새로운 race가 출현하여 이를 race 2로 칭하였다(Netzer and Dishon, 1973; Netzer, 1976). 그리고 미국 텍사스에서도 저항성 수박 품종에 심각한 시들음 증상을 유발하는 race 2가 출현하였다(Martyn, 1987). 이후 race 2에 저항성을 나타내는 'PI-296341-FR'을 발견하였고(Martyn, 1991), 'PI-296341-FR'의 저항성 유전자는 고정되어 있지 않고 소수 유전자와 열성 유전자간 상호작용에 의해 지배된다고 하였다(Zhang and Rhodes, 1993). 최근에 Zhou(2010)는 race 2에 저항성을 보이는 'PI-296342-FR'을 무너뜨리는 race 3을 보고하였는데, 이는 기존의 race보다 훨씬 강한 병원성을 지니는 것이었다. 따라서 덩굴쪄김병 저항성인 수박 품종의 개발과 새로운 race의 출현에 대응하기 위한 수박 덩굴쪄김병 저항성 유전자원의 탐색이 필요한 실정이다. 이를 위해서는 안정적이며 효율적인 수박 덩굴쪄김병 저항성 검정법이 필요하다.

본 연구에서는 덩굴쪄김병에 걸린 수박으로부터 병원균을 분리하고 동정하였으며, 접종원(소형분생포자) 대량 생산을 위한 최적배지를 선발하였다. 그리고 효율적인 수박 덩굴쪄김병 저항성 검정 방법을 확립하기 위해서 시판 중인 21개 수박 품종 및 11개 대목 품종의 저항성 정도를 실험하고, 이들 중 저항성 정도가 다른 수박 2개와 대목 1개 품종을 선발하여 기주 식물의 생육 시기, 접종원 농도, 포자현탁액에 침지하는 시간, 접종 후 재배 온도 등 다양한 발병

조건에 따른 이들 수박 품종들의 덩굴쪄김병 발생을 조사하였다.

(2) 재료 및 방법

(가) 덩굴쪄김병 병원균의 동정

경남 함안군 수박 재배지에서 덩굴쪄김병 증상을 나타내는 수박 식물을 채집하여 *Fusarium oxysporum* 균주를 분리하고 이를 HA로 명명하였다. 분리한 HA 균주를 형태학적으로 동정하기 위하여 potato dextrose agar(PDA; Becton, Dickinson and Co.)와 carnation leaf-piece agar(CLA; 카네이션 잎과 줄기 200g, agar 18g, distilled water 1L) 배지에 접종한 후 25°C에서 7-14일간 배양하면서 PDA 배지에서는 HA 균주의 생장 속도, 균총 형태와 색상 그리고 배지 뒷면의 색 등을 조사하였고, CLA 배지에 형성된 포자들은 광학현미경 하에서 대형분생포자, 소형분생포자, 후막포자의 존재 유무 및 형태 등을 관찰하였다(Nelson et al., 1983).

그리고 HA 균주는 rDNA의 ITS(internal transcribe spaces) 영역과 TEF(translation elongation factor 1 α) 영역을 이용하여 분자생물학적으로 동정하였다. HA 균주를 PDA 배지에 접종한 후 25°C에서 7일간 배양하고 균사체를 수확한 후 Instagene matrix(Bio-Rad)를 사용하여 DNA를 준비하였다. rDNA-ITS 영역과 TEF 영역의 증폭 및 염기서열 결정을 위하여 ITS 영역은 universal primer set ITS1/ITS4(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3', 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')를 이용하였고(White et al., 1990), TEF 영역은 EF1T/EF2T(5'-ATGGGTAAGGAGGACAAGAC-3', 5'-GGAAGTACCAGTGATCATGTT-3')를 사용하여 polymerase chain reaction(PCR)을 수행하였다(O'Donnell et al., 1998). PCR 반응액은 DNA 1 μ L, 10mM dNTP mix 1 μ L, 10pmol primer set 각각 1 μ L, PCR buffer(10 \times) 3 μ L, 2.5unit $\cdot\mu$ L⁻¹ EF-Taq DNA polymerase(Solgent) 0.2 μ L를 넣은 후 멸균수로 반응액의 부피를 최종 30 μ L가 되게 하였다. ITS 영역 유전자 증폭은 95°C 5분간 initial denaturation 반응 후 denaturation, annealing, extention은 각각 95°C 45초, 55°C 1분, 70°C 1분으로 35회 반복한 후 final extention 70°C 10분 반응하였고, TEF 영역 유전자 증폭을 위해 95°C 2분간 initial denaturation 반응 후 denaturation, annealing, extention은 95°C 30초, 54°C 30초, 72°C 1분으로 35회 반복한 후 final extention 72°C 10분간 반응하였다(Wagacha et al., 2010). 분석한 염기서열은 BLAST search에 의해 GenBank에 등록된 ITS 영역 또는 TEF 영역의 염기서열과 비교하였고, HA 균주와 GenBank로부터 얻은 염기서열은 CLUSTAL X(Thompson et al., 1994)와 PHYDIT program(Chun, 1995)을 이용하여 분석하였다. Neighbor-joining tree는 PHYLIP 3.57c package(Felsenstein, 1985)의 Kimura's 2-parameter distance model(Kimura, 1980)을 이용하여 작성하였다.

(나) 접종원 대량 생산 배지 선발

수박 덩굴쪄김병 저항성 검정에 접종원으로 사용할 포자(소형분생포자)를 대량 생산하기 위한 최적 배지를 선발하기 위하여 분리한 HA 균주와 농업유전자원정보센터(KACC)로부터 분양받은 KACC 40902 균주를 사용하여 실험하였다. 두 균주를 각각 PDA 배지에 접종하고 25°C에서 7일간 배양한 후에 균총으로부터 직경 8mm의 균사 조각을 떼어내어 멸균하여 준비한 7종 배지, Czapek-dox broth(CDB; Becton, Dickinson and Co.), glucose-peptone-yeast extract broth(GPYB; Glucose 20g, peptone 5g, yeast extract 5g, distilled water 1L), malt

extract broth(MEB; Becton, Dickinson and Co.), potato dextrose broth(PDB; Becton, Dickinson and Co.), V8-juice broth(V8 broth; V8 Juice 200ml, CaCO₃3g, distilled water 1L), clarified V8 broth(C-V8 broth; V8-juice broth를 4,000rpm에서 15분 동안 원심분리 하여 침전물을 제거한 배지), liquid mineral salts medium(LMS; K₂HPO₄0.1%,MgSO₄·7H₂O0.05%,KCl0.05%,yeastextract0.1%,L-asparagine0.2%,glucose3%,Fe-EDTA0.001%,distilled water 1L)에 배지 100mL당 6개씩 접종하고 25℃에서 7일 동안 150rpm으로 진탕배양 하였다. 각 배지의 HA와 KACC 40902 균주 배양액은 4겹의 거즈로 걸러서 균사체를 제거하고 광학현미경 하에서 hemocytometer를 이용하여 각 배지에 형성된 포자의 수를 조사하였다. 모든 실험은 3반복으로 2회 실시하였다.

(다) 수박 재배

Fon HA 균주의 박과 작물에 대한 병원성을 검정하기 위하여 오이 2개 품종(‘아시아청장 오이’, ‘백미백다다기오이’), 멜론 2개 품종(‘베타리치’, ‘아시아황금’), 참외 2개 품종(‘금제’, ‘조은대’) 그리고 수박 2개 품종(‘서태자’, ‘꼬꼬마수박’)을 시중에서 구입하여 실험에 사용하였다. 8 × 16 연결포트(21mL/pot, 범농사)에 원예용상토 5호(부농사)를 넣은 후 각 품종의 종자를 1립씩 파종하고 온실(25 ± 5℃)에서 10일 동안 재배하여 1엽이 살짝 나온 유묘를 실험에 사용하였다.

HA 균주의 race 검정을 위해서는 수박 덩굴쪄김병 판별품종인 ‘Sugar baby’, ‘Charleston gray’, ‘Calhoun gray’, ‘PI-296341-FR’의 종자를 농업유전자원정보센터로부터 분양 받아 실험에 사용하였으며, 앞에서와 동일한 방법으로 파종하고 온실에서 14일 동안 재배한 유묘를 실험에 사용하였다(Zhou et al., 2010).

시판 중인 수박과 수박용 대목 품종의 덩굴쪄김병에 대한 저항성 검정을 위해서는 수박 21개 품종(‘서태자’, ‘설강102’, ‘슈퍼골드’, ‘꼬꼬마’, ‘낙동꿀’, ‘웰빙’, ‘지존꿀’, ‘장춘꿀’, ‘감천꿀’, ‘누네티네꿀’, ‘흑호’, ‘칠복꿀’, ‘슈퍼그랑프리’, ‘황금꿀’, ‘속노란꿀’, ‘노란복’, ‘노란부시복’, ‘부시복’, ‘베스트꿀’, ‘부라보꿀’, ‘윈더풀꿀’)과 수박용 대목 11개 품종(‘FR홍삼’, ‘FR보디가드’, ‘FR서태자’, ‘내병토좌’, ‘대력3호’, ‘신FR불사조’, ‘불로장생’, ‘FR히어로’, ‘불패토좌’, ‘FR루트파워’, ‘신토좌’)을 시중에서 구입하여 실험에 사용하였다. 각 품종의 종자들은 기주 특이성 실험과 동일한 방법으로 파종하고 온실에서 10일 동안 재배한 유묘를 실험에 사용하였다.

발병 조건에 따른 수박 덩굴쪄김병 발생 차이를 조사하기 위해서는 감수성인 수박 품종 ‘서태자’(아시아종묘)와 중도저항성인 수박 품종 ‘속노란꿀’(제일종묘) 그리고 수박용 대목 품종 ‘불로장생’(신첸타종묘)을 실험에 사용하였다. 8 × 16 연결포트(21mL/pot, 범농사)에 원예용상토 5호(부농사)를 넣은 후 각 품종의 종자를 1립씩 파종하고 온실(25 ± 5℃)에서 10일 동안 재배한 유묘를 실험에 사용하였다. 그리고 수박 유묘의 생육 정도에 따른 덩굴쪄김병 발생 실험의 경우에는 접종 7, 10, 13 및 16일 전에 직경 5cm 플라스틱 포트(90mL/pot)에 원예용상토 5호 토양을 채우고 각 품종의 종자를 1립씩 파종하고 온실에서 각각 7, 10, 13 및 16일 동안 재배한 수박 유묘를 실험에 사용하였다.

(라) 접종원 준비 및 접종

Fon HA 균주를 PDA 배지에 접종하고 25℃에서 1주일 동안 배양한 후에 균총으로부터 균사 조각(8 × 8mm)을 잘라내어 V8-broth 100mL에 6개씩 접종하였다. 접종한 배지는 25℃에

서 7일 동안 150rpm으로 진탕배양 하였다. 배양한 균주를 4겹 거즈로 걸러서 균사를 제거하고 원심분리(8,000rpm, 10분)한 후에 상등액을 제거하고 침전물에 멸균수를 넣어서 포자현탁액을 준비하였다. 광학현미경 하에서 hemocytometer를 이용하여 포자(소형분생포자)의 농도를 조사하였다. 접종원 농도에 따른 수박 덩굴쪄김병 발생을 제외한 모든 실험을 위해서는 멸균수로 희석하여 접종원 농도가 1.0×10^6 conidia·mL⁻¹이 되도록 준비하였다. 그리고 접종원 농도에 따른 수박 덩굴쪄김병 발생 실험을 위해서는 포자 농도를 1.1×10^5 , 3.3×10^5 , 1.0×10^6 , 3.0×10^6 , 9.0×10^6 conidia·mL⁻¹로 조정된 포자현탁액을 준비하였다.

덩굴쪄김병균 접종은 재배한 수박 유묘를 포트에서 뽑아서 뿌리 주변의 흙을 물로 세척한 후에 준비한 Fon HA의 포자현탁액에 30분 동안 침지하여 하였다. 5 × 8 연결포트(80mL/pot)에 원예용상토 5호를 넣고 물을 충분히 뿌려 흙을 촉촉하게 만든 후 접종한 수박 유묘를 옮겨 심었다. Fon 포자현탁액에 뿌리를 침지하는 시간에 따른 수박 덩굴쪄김병 발생의 경우에는 포자현탁액에 유묘의 뿌리를 각각 0, 0.5, 1, 3 및 5시간 동안 침지하여 접종하였다. 0시간 침지하는 수박 뿌리를 포자현탁액에 침지한 즉시 꺼내어 새로운 토양에 이식하였다.

(마) 발병 및 병조사

수박의 덩굴쪄김병 발생을 위해서 접종한 유묘를 25℃ 습실상에서 1일 동안 배양한 후에 같은 온도의 항온항습실로 옮겨서 하루에 12시간씩 광을 조사하면서 재배하였다. 재배 온도에 따른 덩굴쪄김병 발생 실험의 경우에는 각각 20, 25 및 30℃의 습실상에서 1일 동안 배양한 후에 동일한 온도의 항온항습실로 옮겨서 위와 같은 조건으로 재배하였다.

병원균을 접종하고 약 3주 후에 덩굴쪄김병이 충분히 발생하면 식물체의 뿌리를 뽑아서 줄기 아래 부분을 세로로 비스듬하게 잘라내고 도관의 갈변 정도와 생육 정도를 조사하였다. 발병 정도는 0 = 건전, 1 = 지상부 생육은 억제되지 않으나 지하부는 갈변된 것, 2 = 지하부는 갈변되고 지상부 생육이 억제된 것, 3 = 지하부는 갈변되고 지하부와 지상부의 생육이 상당히 억제된 것, 4 = 고사 등 5단계로 하였다. 평균 발병도가 1.0 이하인 경우에는 저항성, 1.1 이상에서 2.5 이하는 중도저항성 그리고 2.6 이상은 감수성으로 판정하였다.

모든 실험은 10반복으로 2회 수행하였고, SAS(SAS Institute, Inc., 1989, Cary, NC) 프로그램을 이용하여 ANOVA 분석을 하였으며 처리 평균간 비교를 위하여 Duncan's multiple range test($P = 0.05$)를 실시하였다.

(3) 결과 및 고찰

(가) 병원균 동정 및 기주 특이성

수박에서 분리한 HA 균주의 형태적인 동정을 위하여 이 균주를 PDA 배지에 배양하여 형태적 특성을 조사한 결과, HA 균주의 성장 속도는 10일 동안 배양하였을 때 사면배지(slant)를 덮을 정도로 빠르고, 균총 색은 흰색이며 배지에 보라색 색소를 형성하였다. 그리고 CLA 배지에 형성된 포자를 광학현미경 하에서 관찰한 결과, HA 균주는 격막이 없는 타원형의 소형분생포자, 3개의 격막과 길고 양끝이 살짝 굽어 있는 형태의 대형분생포자 그리고 후막포자 등을 형성하여 *F. oxysporum*과 일치하였다(Nelson et al., 1983).

HA 균주의 rDNA-ITS 영역과 TEF 영역(Geiser et al., 2004)의 염기서열을 GenBank의 표준 균주들과 비교한 결과, *F. oxysporum*과 각각 100%와 99% 이상의 상동성을 보였다. 또한

HA 균주의 rDNA-ITS 영역(Zhang et al., 2013) 및 TEF 영역(Homa et al., 2013; Van Poucke et al., 2012)의 염기서열을 비교 균주들과 비교하기 위하여 phylogenetic tree를 작성한 결과, HA 균주는 *F. oxysporum*과 하나의 그룹을 형성하였다(Fig. 2). 이상의 형태학적 및 분자생물학적 동정 결과를 바탕으로 HA 균주는 *F. oxysporum*으로 동정되었다.

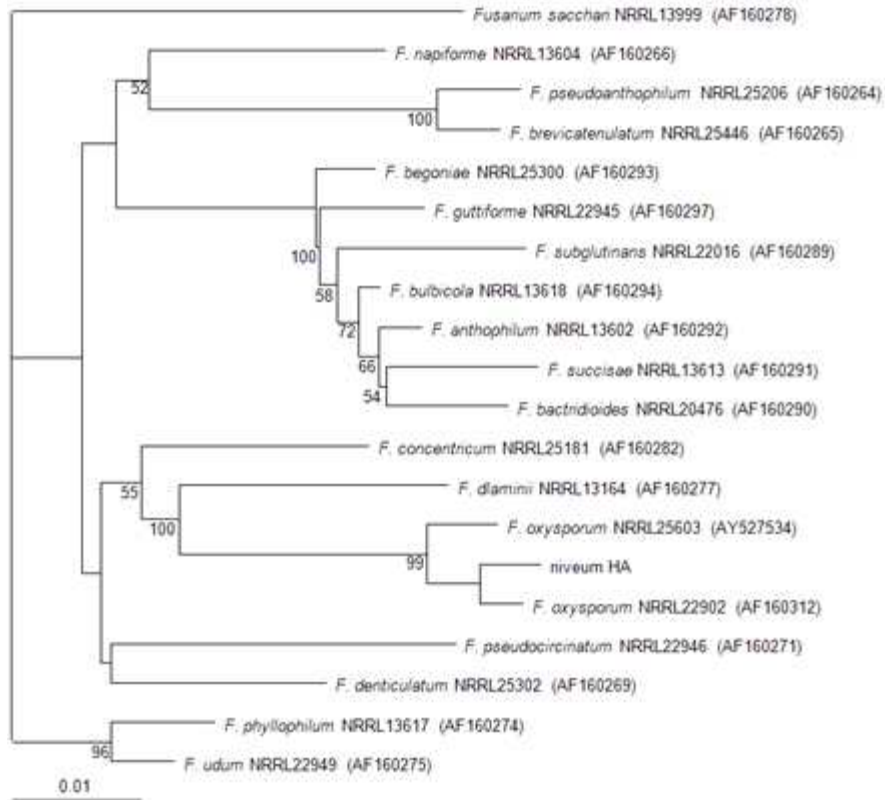


Fig. 2. Phylogenetic tree based on sequences of rDNA-TEF regions of *Fusarium oxysporum* isolate and related species. The values above each branch indicate the percentage levels of bootstrap support (> 50%) for the branch point based on 1000 resamplings. The bar represents 0.1 substitutions per nucleotide position. () is GenBank accession number.

박과 작물에 대한 HA 균주의 기주 특이성을 검정한 결과, 수박(‘서태자’와 ‘꼬꼬마’)에서는 덩굴쪄김병이 심하게 발생하였으나 멜론, 참외 및 오이에서는 덩굴쪄김병이 발생하지 않았다 (Table 5). *F. oxysporum*은 분화형에 따라 서로 다른 기주 식물에 병을 일으키는데, 바나나에 시들음병을 일으키는 *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, 목화를 침입하는 *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* 및 토마토를 침입하는 *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* 등이 알려져 있다(Leslie and Summerell, 2006). 수박 덩굴쪄김병의 경우에도 몇 가지 예외가 있지만, 일반적으로 *F. oxysporum* f. sp. *niveum*은 수박에 기주 특이성이 있는 것으로 보고되었다(Zitter et al., 1996). 따라서 HA 균주는 수박에서 분리되었고 박과 작물 중 수박에 대해서만 높은 병원성을 나타내므로 HA 균주를 *F. oxysporum* f. sp. *niveum*으로 동정하였다.

Table 5. Pathogenicity of HA isolate on four cucurbits^z.

Crop	Cultivar	Disease index ^y	Response ^x
Watermelon	Seotaja	4.0 ± 0.0	S
	Kokoma	4.0 ± 0.0	S
Oriental melon	Joeundae	0.0 ± 0.0	R
	Geumje	0.0 ± 0.0	R
Melon	Betarich	0.0 ± 0.0	R
	Asiahwanggeum	0.0 ± 0.0	R
Cucumber	Baekmibaekdadagi	0.0 ± 0.0	R
	Asiacheongjang	0.0 ± 0.0	R

^z10-day-old seedlings of each cultivar were inoculated with HA isolate by dipping the roots of seedlings in spore suspension of 1.0×10^6 conidia·mL⁻¹ for 0.5 h. The inoculated plants were incubated in a dew chamber at 25°C for 24 h and then transferred to a growth room at 25°C with 12-h light a day. After 3 weeks, disease severity of the seedlings was investigated on a scale of 0-4, where 0 = represents no disease symptom; 1 = slight discoloration of vascular system, slight stunting; 2 = slight discoloration of vascular system, stunting; 3 = discoloration of vascular system, yellowing and severe stunting; 4 = death.

^yEach value represents the mean disease index ± standard deviation of two runs with ten replicates each.

^xResistance response, R = resistant (disease index ≤ 1.0); MR = moderately resistant (1.0 < disease index ≤ 2.5); S = susceptible (disease index > 2.5).

그리고 Zhou et al.(2010)의 방법에 따라 Fon HA 균주의 race를 조사한 결과, ‘Sugar baby’는 감수성, ‘Charleston gray’, ‘Calhoun gray’ 및 ‘PI-296341-*FR*’는 이 균주에 저항성을 보였다(Table 6). 따라서 HA 균주는 race 0이고, 모든 덩굴쪄김병 저항성 수박 품종에 병을 일으키지 못 하므로 어떤 저항성 유전자가 포함된 수박 품종 및 유전자원을 검정하는데 이용할 수 있을 것이다.

미국 등 전 세계적으로 수박 재배지에 덩굴쪄김병을 일으키는 Fon 중 race 1 균주가 가장 널리 분포하는 것으로 알려져 있으며, race 2는 일부 지역에서만 존재한다고 보고되었다(Martyn and Bruton, 1989; Martyn, 1996). 이와 달리 Kwon et al.(1998)은 1994년에 우리나라 수박 주산지에서 덩굴쪄김병균을 분리하고 race 분포를 조사하였는데, 22개 덩굴쪄김병균 중 race 0인 균주가 3개, race 1은 8개 그리고 race 2는 11개로 race 2가 가장 많았으며 이 race 2 균주들은 전국적으로 분포한다고 보고하였다.

Table 6. Disease incidence of four watermelon cultivars used to differentiate race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* HA^z.

Cultivar	Diseased plant (%)	Response ^y
Sugar baby	90 ± 0.7 ^x	S
Charleston gray	25 ± 1.2	R
Calhoun gray	0 ± 0.0	R
PI-296341- <i>FR</i>	0 ± 0.0	R

^zFourteen-day-old seedlings of four watermelon cultivars with different genotypes were inoculated with *F. oxysporum* f. sp. *niveum* HA by dipping the roots of seedlings in spore suspension of 1.0×10^6 conidia·mL⁻¹ for 0.5 h. The inoculated plants were incubated in a dew chamber at 25°C for 24 h and then transferred to a growth room at 25°C with 12-h light a day. Three weeks after inoculation, disease incidence of the seedlings was investigated.

^yResistance response, R = resistant (< 33% wilt); S = susceptible (≥ 33% wilt).

^xEach value represents the mean disease incidence of two runs with ten replicates each.

(나) 접종원 대량 생산을 위한 최적 배지 선발

Fon HA 접종원의 대량 생산을 위한 최적 배지를 선발하기 위하여 7종의 액체배지에 접종하고 진탕배양하여 형성된 포자(소형분생포자)의 수를 조사한 결과, V8-juice broth에서 가장 많은 포자를 형성하였으며 mL 당 2.6×10^7 개를 생산하였다(Table 7). 그 다음으로 clarified V8 broth 배지에서 HA의 포자 형성이 많았는데 2.1×10^7 conidia·mL⁻¹을 생산하였다. 그 다음은 MEB와 PDB 배지로 각각 1.9×10^6 와 1.4×10^6 conidia·mL⁻¹을 생산하였다.

다른 *F. oxysporum* f. sp. *niveum* 균주도 V8-juice broth에서 가장 많은 포자를 생산하는지를 조사하기 위하여 KACC로부터 분양받은 *F. oxysporum* f. sp. *niveum* KACC 40902도 함께 실험하였는데, KACC 40902도 7개 배지 중 V8-juice broth 배지에서 가장 많은 포자를 형

성하여 mL 당 1.3×10^7 개였다(Table 3). 그리고 나머지 6종 배지에서의 포자 형성도 HA 균주와 유사한 경향을 보였다.

많은 논문에서 *F. oxysporum* f. sp. *niveum*의 포자를 생산하기 위하여 PDB나 MEB 배지를 사용하는데, V8-juice broth 배지에서 이들보다 10배 이상 많은 양의 포자가 형성되어 훨씬 효율적임을 알 수 있었다. 따라서 V8-juice broth는 C-V8 broth 배지보다 제조하기 용이하고 HA 균주뿐만 아니라 대조로 사용한 KACC 40902 균주도 V8-juice broth 배지에서 가장 많은 포자를 생산하였으므로, 이 배지를 수박 덩굴쪄김병 저항성 검정을 위한 집중원 대량 생산 배지로 선발하였다.

Table 7. Spore production of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* HA and KACC 40902 in seven incubation media.

Media	The number of spores ($\times 10^4$ conidia·mL ⁻¹)	
	HA	KACC 40902
V8-juice broth	2,600 a ^z	1,300 a
Clarified V8-broth	2,100 a	910 b
Malt extract broth	190 b	11 c
Potato dextrose broth	140 b	10 c
Liquid mineral salts medium	9 b	3 c
Glucose-peptone-yeast extract broth	7 b	3 c
Czapek-dox broth	4 b	1 c

^zValues in the labeled with the same letter within each column are not significantly different in Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

(다) HA 균주에 대한 시판 품종들의 저항성

시판 품종들의 Fon HA 균주에 대한 수박 덩굴쪄김병 저항성 정도를 21개의 수박과 11개의 수박용 대목 품종에 대하여 조사한 결과, '속노란꿀'을 제외한 20개의 수박 품종 모두에서 심하게 덩굴쪄김병이 발생하였다(Table 8). 따라서 현재 시판 중인 수박 품종들은 덩굴쪄김병에 대하여 감수성이 매우 높음을 알 수 있었다. 한편, '속노란꿀'은 종자회사에서 덩굴쪄김병 저항성 품종으로 공시하지 않았으나, Fon HA 균주(race 0)에 대하여 발병도 1.4의 중도저항성 반응을 나타내었다. 이와 달리 실험에 사용한 모든 대목 품종들은 FA 균주에 대하여 높은 저항성을 보였다(Table 9).

아직 우리나라에서는 덩굴쪄김병 저항성 품종을 판매하고 있지 않으나, 미국 등에는 많은 육종 프로그램을 통해 race 1에 대하여 저항성이고 단인자 우성 저항성 유전자를 가지는 수박 품종들이 개발되어 판매되고 있다.

이들 결과로부터 발병 조건에 따른 덩굴쪄김병 저항성 차이를 실험하기 위하여, Fon HA

에 감수성인 수박 품종 ‘서태자’, 중도저항성인 수박 품종 ‘속노란꿀’ 및 저항성인 수박용 대목 품종 ‘불로장생’을 선발하였다(Tables 8,9).

(라) 생육 시기에 따른 덩굴쪄김병 발생

선발한 세 품종의 생육시기에 따른 덩굴쪄김병 발생을 조사하기 위하여 파종 후 7일, 10일, 13일, 16일 동안 재배한 유묘에 Fon HA 균주를 접종하여 조사한 결과, 떡잎이 전개된 7일 유묘에서는 수박 두 품종 모두 감수성을, 그리고 2엽기인 16일 유묘에서는 모두 중도저항성을 나타내었다(Fig. 3). 그러므로 두 생육시기는 수박 덩굴쪄김병 저항성 검정에 적합하지 않은 것으로 생각되었다. 반면에 1엽이 살짝 나온 10일 유묘와 1엽이 전개된 13일 유묘에서는 ‘서태자’와 ‘속노란꿀’이 각각 감수성과 중도저항성을 보이며 두 품종간의 저항성 구분이 가능하였다(Fig. 3). 저항성 대목 품종 ‘불로장생’은 실험한 생육 시기 모두에서 높은 저항성을 나타냈다.

그러므로 수박 덩굴쪄김병 저항성 검정은 파종 후 10 -13일 유묘 모두 가능하지만 유묘의 크기가 클수록 침지접종하고 이식한 후에 뿌리 활착이 어려운 점 등이 있어 수박 덩굴쪄김병의 저항성 검정을 위해서는 파종하고 10일 동안 재배한 유묘를 실험에 사용하는 것이 적당할 것으로 생각되었다.

(마) 재배 온도에 따른 덩굴쪄김병 발생

수박 품종들의 덩굴쪄김병에 대한 저항성이 수박 유묘에 병원균을 접종한 후의 재배 온도에 따라 저항성 차이를 나타내는지 조사하기 위하여 접종한 유묘를 20, 25 및 30℃에서 재배하였다. 25℃에서 ‘서태자’는 발병도 3.3, ‘속노란꿀’은 2.0 및 ‘불로장생’은 0.1의 덩굴쪄김병 발생이 있어 각각 감수성, 중도저항성, 저항성을 보였다(Fig. 4). 반면에 20℃와 30℃에서는 ‘서태자’와 ‘불로장생’은 25℃에서와 마찬가지로 각각 감수성과 저항성 반응을 나타내었으나, 중도저항성 품종인 ‘속노란꿀’은 25℃보다 더 높은 발병도를 보이며 감수성 반응을 나타내었다. 따라서 수박 품종들의 덩굴쪄김병에 대한 저항성 검정은 Fon 접종 후에 25℃에서 식물을 재배하는 것이 바람직하다고 생각되었다.

Table 8. Resistance degree of twenty-one commercial watermelon cultivars to Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* HA^z.

Cultivar	Disease index ^y	Response ^x
Soknoranggul	1.4 ± 0.7	MR
Hwanggeumgul	2.3 ± 1.2	S
Bestggul	3.1 ± 1.1	S
Noranbusibok	3.3 ± 1.1	S
Jangchunggul	3.4 ± 1.0	S
Super grand prix	3.4 ± 1.1	S
Jijonggul	3.5 ± 0.8	S
Chilbokggul	3.6 ± 0.7	S
Supergold	3.7 ± 0.5	S
Busibok	3.7 ± 0.7	S
Seotaja	3.7 ± 0.7	S
Noranbok	3.7 ± 0.9	S
Wellbing	3.8 ± 0.4	S
Kokoma	3.8 ± 0.6	S
Nakdonggul	3.9 ± 0.3	S
Wonderfulggul	3.9 ± 0.3	S
Bravoggul	4.0 ± 0.0	S
Heukho	4.0 ± 0.0	S
Kamchunggul	4.0 ± 0.0	S
Nunettineggul	4.0 ± 0.0	S
Seolgang102	4.0 ± 0.0	S

^zTen-day-old seedlings of each cultivar were inoculated with *F. oxysporum* f. sp. *niveum* HA by dipping the roots of seedlings in spore suspension of 1.0×10^6 conidia·mL⁻¹ for 0.5 h. The inoculated plants were incubated in a dew chamber at 25°C for 24 h and then transferred to a growth room at 25°C with 12-h light a day. After 3 weeks, disease severity of the seedlings was investigated on a scale of 0-4, where 0 = represents no disease symptom; 1 = slight discoloration of vascular system, slight stunting; 2 = slight discoloration of vascular system, stunting; 3 = slight discoloration of vascular system, yellowing and severe stunting; 4 = death.

^yEach value represents the mean disease index ± standard deviation of two runs with ten replicates each.

^xResistance response, R = resistant (disease index ≤ 1.0); MR = moderately resistant (1.0 < disease index ≤ 2.5); S = susceptible (disease index > 2.5).

Table 9. Resistance degree of eleven commercial watermelon-rootstock cultivars to Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* HA^z.

Cultivar	Scientific name	Disease index ^y	Response ^x
Bulpaetoza	<i>Lagenaria siceraria</i>	0.3 ± 0.5	R
Bulrojangsaeng	<i>Lagenaria siceraria</i>	0.0 ± 0.0	R
Daeryeok 3 ho	<i>Lagenaria siceraria</i>	0.2 ± 0.6	R
FR-bodyguard	<i>Lagenaria siceraria</i>	0.1 ± 0.3	R
FR-hero	<i>Lagenaria siceraria</i>	0.1 ± 0.3	R
FR-hongsam	<i>Lagenaria leucantha</i>	0.0 ± 0.0	R
FR-root power	<i>Lagenaria siceraria</i>	0.0 ± 0.0	R
FR-seotaja	<i>Lagenaria siceraria</i>	0.2 ± 0.6	R
Naeyeongtoza	-	0.7 ± 0.7	R
ShinFR-bulsajo	-	0.0 ± 0.0	R
Shintoza	<i>Cucurbita mixta</i>	0.1 ± 0.3	R

^zTen-day-old seedlings of each cultivar were inoculated with *F. oxysporum* f. sp. *niveum* HA by dipping the roots of seedlings in spore suspension of 1.0×10^6 conidia·mL⁻¹ for 0.5 h. The inoculated plants were incubated in a dew chamber at 25°C for 24 h and then transferred to a growth room at 25°C with 12-h light a day. After 3 weeks, disease severity of the seedlings was investigated on a scale of 0-4, where 0 = represents no disease symptom; 1 = slight discoloration of vascular system, slight stunting; 2 = slight discoloration of vascular system, stunting; 3 = slight discoloration of vascular system, yellowing and severe stunting; 4 = death.

^yEach value represents the mean disease index ± standard deviation of two runs with ten replicates each.

^xResistance response, R = resistant (disease index ≤ 1.0); MR = moderately resistant (1.0 < disease index ≤ 2.5); S = susceptible (disease index > 2.5).

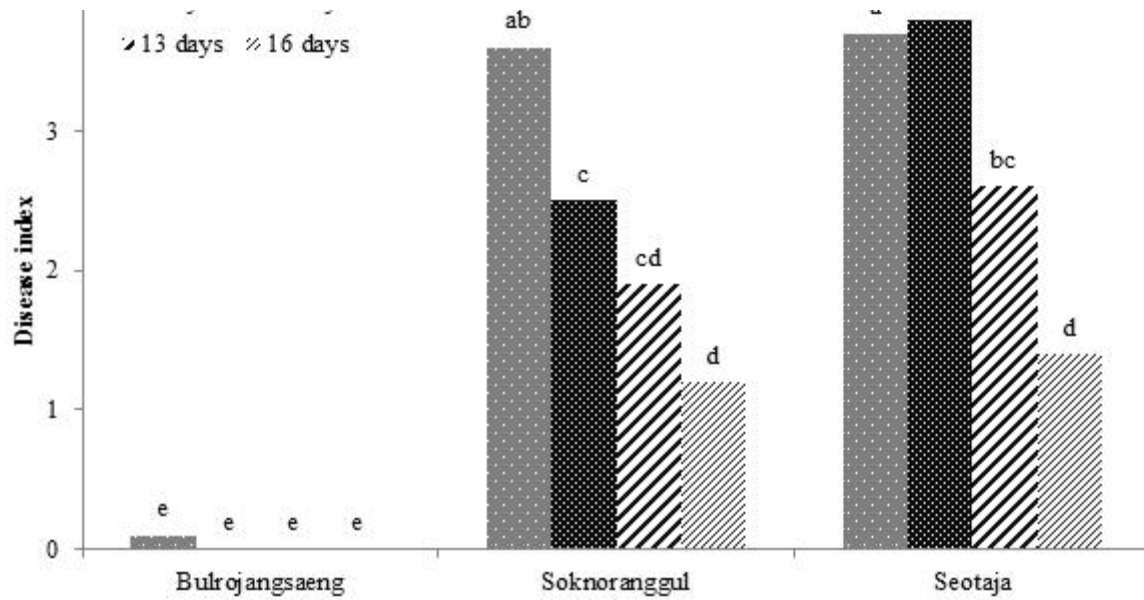


Fig. 3. Development of Fusarium wilt on two watermelon and one watermelon-rootstock cultivars according to plant growth stage. 7-, 10-, 13-, and 16-day-old seedlings of each cultivar were inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* HA by dipping the roots of seedlings in spore suspension of 1.0×10^6 conidia·mL⁻¹ for 0.5h. The inoculated plants were incubated in a dew chamber at 25°C for 24 h and then transferred to a 25°C room with 12-h light a day. After three weeks, disease severity of the seedlings was investigated. And values in the labeled with the same letter are not significantly different in Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

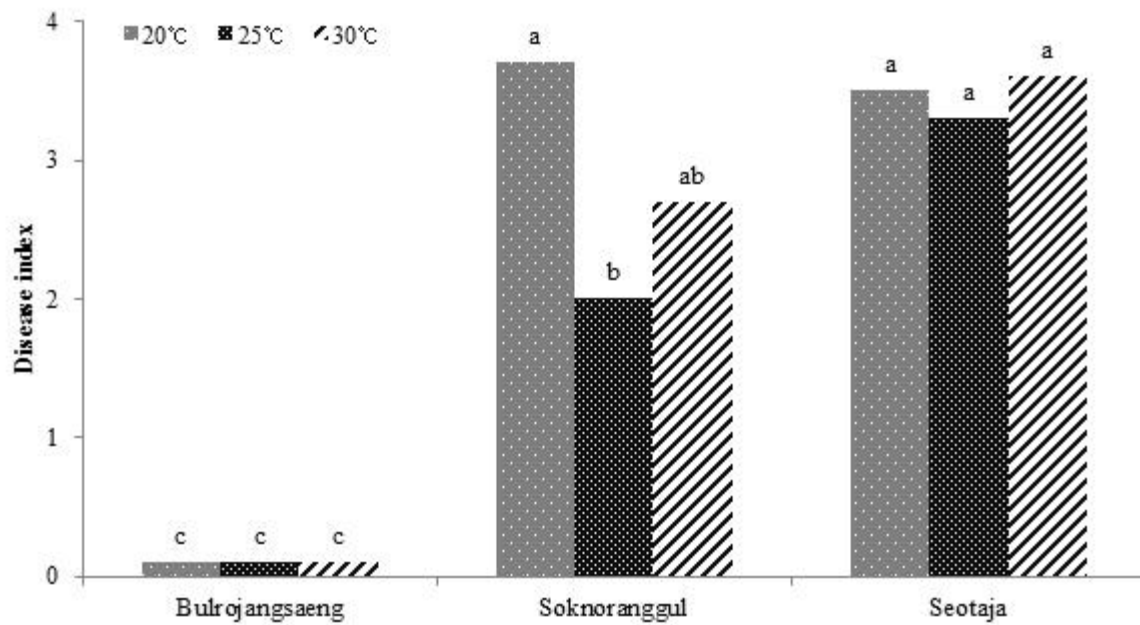


Fig. 4. Development of Fusarium wilt on two watermelon and one watermelon-rootstock cultivars according to incubation temperature. 10-day-old seedlings of each cultivar were inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* HA by dipping the roots of seedlings in spore suspension of 1.0×10^6 conidia·mL⁻¹ for 0.5h. The inoculated plants were incubated in a dew chamber at 20, 25, and 30°C for 24 h and then transferred to a growth chamber of 20, 25, and 30°C with 12-h light a day, respectively. After three weeks, disease severity of the seedlings was investigated. And values in the labeled with the same letter are not significantly different in Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

이와 달리 Scott et al.(2010)은 상추에 *F. oxysporum* f. sp. *lactucae*을 접종하고 재배온도에 따른 시들음병 발생을 보고하였는데, 감수성 품종에서는 온도에 따른 시들음병 발생 차이가 컸으며 저온(23/18°C)보다 중온(28/20°C)에서 고온(33/26°C)으로 갈수록 시들음병이 심하게 발생하였다. 하지만 저항성 품종에서는 재배 온도에 따른 영향이 거의 없었다. 따라서 저온(23/18°C)에서는 품종간에 저항성 구별이 용이하지 않아 상추 저항성 스크리닝 검정에 적합하지 않았다고 하였다. 그러므로 같은 *Fusarium wilt*라 하더라도 작물 종류에 따라 적합한 재배 온도는 다르다는 것을 알 수 있었다.

(바) 접종원 농도에 따른 덩굴쪄김병 발생

Fon HA 균주를 다섯 가지(1.1×10^5 , 3.3×10^5 , 1.0×10^6 , 3.0×10^6 및 9.0×10^6 conidia·mL⁻¹)포자 농도로 접종하고 세 품종들의 덩굴쪄김병 발생을 살펴보았는데, 모든 접종 농도에서 실험한 품종 간에는 통계적으로 유의성 있는 차이를 나타내었다(Fig. 4). 하지만 각 품종 내의 접종원 농도 간에는 통계적으로 유의성 있는 차이가 없었다(Fig. 4). 즉 접종원 농도와 관계없이 ‘서태자’는 발병도 3.5 이상으로 모두 감수성, ‘속노란꿀’은 발병도 1.9-2.2로 중도저항성, 그리고 ‘불로장생’은 0.1 이하 저항성 반응을 보였다.

이와 달리 Martyn and McLaughlin(1983)는 Fon의 접종원 농도(1.0×10^3 , 1.0×10^4 , 1.0×10^5 및 1.0×10^6 conidia·mL⁻¹)가 높아질수록 중간 정도의 저항성을 나타내는 수박 품종들은 덩굴쪄김병 발병률이 높아진다고 하였다. 하지만 우리 연구에서 중도저항성인 ‘속노란꿀’은 실험한 접종 농도(1.1×10^5 - 9.0×10^6 conidia·mL⁻¹)에서 덩굴쪄김병 발생에 차이가 거의 없었는데 이는 실험에 사용한 접종원 농도 차이에 따른 결과로 생각되었으며 접종 농도를 더 낮추어 1.0×10^3 , 1.0×10^4 conidia·mL⁻¹도 함께 접종하였으면 접종 농도 증가에 따른 병 발생 증가가 나타날 수도 있었으리라 생각되었다(Fig. 4).

따라서 수박 덩굴쪄김병 저항성 검정을 위한 Fon 접종원의 농도는 실험한 모든 농도(1.1×10^5 - 9.0×10^6 conidia·mL⁻¹)에서 세 품종의 저항성 차이가 잘 나타나므로 수박 덩굴쪄김병 저항성 검정을 위해서는 실험한 모든 접종 농도가 이용될 수 있으나 접종원 준비를 고려할 때 1.0×10^5 - 1.0×10^6 conidia·mL⁻¹의 포자현탁액에 침지하여 접종하는 것이 효율적으로 생각되었다.

(사) 침지 시간에 따른 덩굴쪄김병 발생

‘서태자’, ‘속노란꿀’ 및 ‘불로장생’ 유묘의 뿌리를 포자현탁액에 각각 0, 0.5, 1, 3 및 5시간 동안 침지하여 접종한 세 품종들의 덩굴쪄김병 발생 정도를 조사한 결과, 침지하는 시간에 관계없이 감수성 품종인 ‘서태자’는 높은 덩굴쪄김병 발생을 보였고 저항성 품종인 ‘불로장생’에는 덩굴쪄김병이 거의 발생하지 않았다. 반면에 중도저항성 품종인 ‘속노란꿀’의 경우에는 침지 시간이 길어질수록 덩굴쪄김병 발병도가 점점 증가하였고, 5시간 침지하였을 때에는 감수성을 나타내었다(Fig. 5). 수박 뿌리를 포자현탁액에 담근 즉시 꺼내는 0시간에서도 각 품종 간 저항성 반응은 분명한 차이를 나타냈지만, 실험적 실수로 접종이 제대로 되지 않을 우려가 있다. 따라서 보다 안정적으로 수박 덩굴쪄김병을 접종하기 위해서는 유묘 뿌리를 포자현탁액에 30분 정도 침지하여 접종하는 것이 적당할 것이라 생각되었다.

이상의 결과로부터 수박 덩굴쪄김병에 대한 효율적인 저항성 검정법으로 수박 종자를 파종하여 온실(25 ± 5°C)에서 10일 동안 재배한 1엽기 수박 유묘의 뿌리로부터 흙을 제거하고,

뿌리를 $1.0 \times 10^5 - 1.0 \times 10^6$ conidia·mL⁻¹ 농도의 *F. oxysporum* f. sp. *niveum*의 포자현탁액에 30분간 침지한 후 원예용 상토에 이식하고 25°C 항온항습실에서 하루에 12시간씩 광을 조사하면서 약 3주 동안 재배하고 병조사 하는 것을 제안하고자 한다.

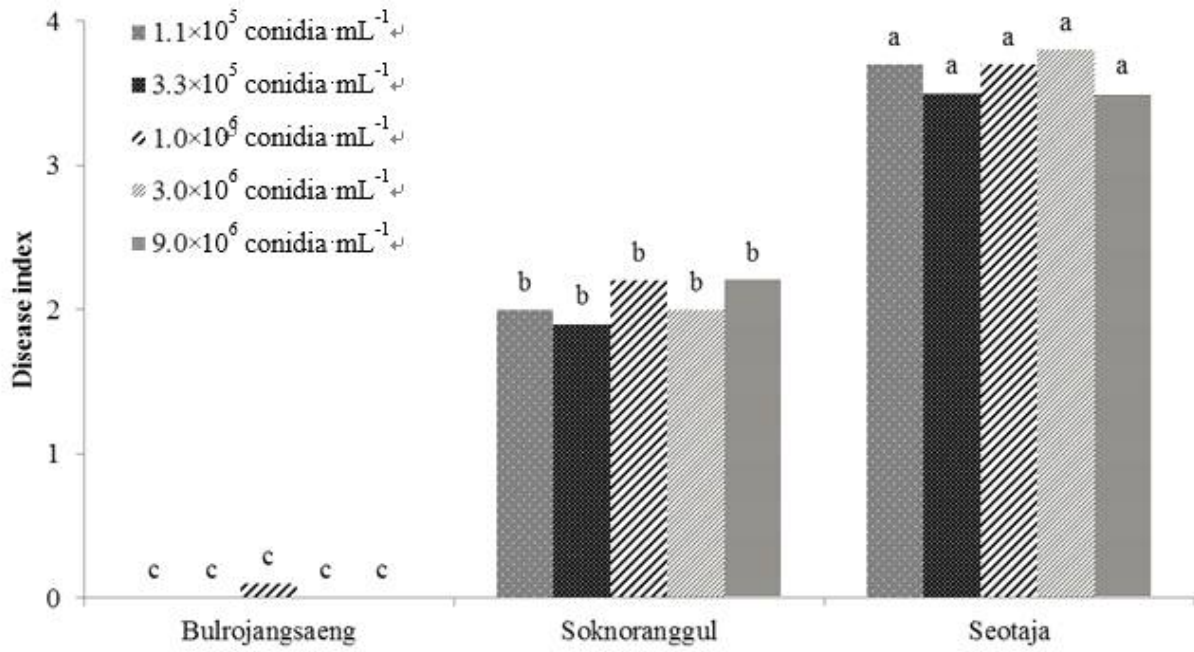


Fig. 5. Fusarium wilt occurrence of two watermelon and one watermelon-rootstock cultivars according to inoculum concentration. 10-day-old seedlings of each cultivar were inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* HA by dipping the roots of seedlings in each spore suspension for 0.5 h. The inoculated plants were incubated in a dew chamber at 25°C for 24 h and then transferred to a growth room at 25°C with 12-h light a day. After three weeks, disease severity of the seedlings was investigated. And values in the labeled with the same letter are not significantly different in Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

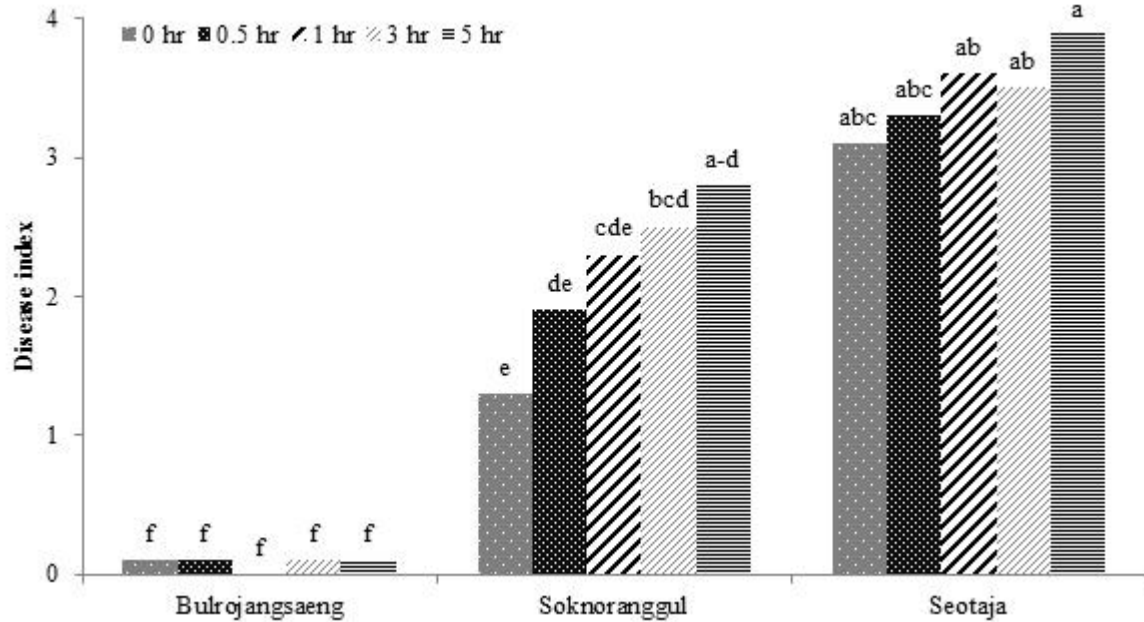


Fig. 6. Fusarium wilt occurrence of two watermelon and one watermelon-rootstock cultivars according to root dipping period. 10-day-old seedlings of each cultivar were inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* HA by dipping the roots of seedlings in spore suspension of 1.0×10^6 conidia·mL⁻¹ for 0, 0.5, 1, 3 and 5 h. The inoculated plants were incubated in a dew chamber at 25°C for 24 h and then transferred to a growth room at 25°C with 12-h light a day. After three weeks, disease severity of the seedlings was investigated. And values in the labeled with the same letter are not significantly different in Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

2. 수박 덩굴쪄김병에 대한 간편 대량 검정법 개발

가. 서 언

수박은 전 세계적으로 재배되고 있는 작물로 우리나라에서는 고추, 딸기와 함께 3대 채소 중 하나로 2015년에는 채소 전체 생산액의 약 11%인 9,901억 원을 차지하는 중요한 작물이다. 수박은 품종 개발과 재배 기술의 향상으로 연중 생산이 가능하면서 그에 따른 병해도 많이 발생하고 있는데, 덩굴쪄김병, 모자이크병, 잎마름병, 탄저병, 덩굴마름병, 열매썩음병 및 역병 등 25종이 보고되었다(KSP, 2009). 특히 *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*에 의한 덩굴쪄김병(Fusarium wilt)은 국내의 수박 재배 포장에서 많이 발생하여 경제적으로 큰 피해를 입히고 있다.

이 병원균은 기주의 뿌리 내 물관으로 침입한 후 그 속에서 이동 및 증식하여 식물체를 시들게 하고, 병에 걸린 도관 부위에서는 줄기가 세로로 쪼개지는 병징을 볼 수 있다(Lee and Lee, 1994; Agrios, 2005). *F. oxysporum* f. sp. *niveum*은 기주 식물에 대한 병원성 차이 즉 기주 특이성이 있으며(Lee, 1969), 수박 품종의 반응에 따른 race의 분화도 알려져 있다(Crall,

1963). 수박 4개 품종('Sugar baby', 'Charleston gray', 'Calhoun gray', 'PI-296341-FR')에 대한 병원성 차이에 따라 race 0, 1, 2 및 3으로 구분한다(Cirulli, 1972; Netzer and Dishon, 1973; Netzer, 1976; Martyn, 1991; Zhou et al., 2010). 수박 덩굴쪄김병을 방제하기 위하여 미국 등에서는 *F. oxysporum* f. sp. *niveum* race 1에 대한 저항성 품종이 개발되어 판매되고 있으나(Martyn, 1996), 우리나라에서는 시판되고 있는 덩굴쪄김병 저항성 품종이 없으며 대신에 저항성 대목을 이용한 접목 재배가 흔히 사용되고 있다. 이 방제법은 노동력이 많이 요구되고 문제점을 가지고 있어 개선될 필요가 있다(Lee and Lee, 1994). 그리고 병원균 분화에 따른 새로운 race의 출현 등 다양한 변이에 대응하기 위하여 다양한 내병성 품종 개발에 대한 요구가 증가하고 있다. 따라서 이를 위한 수박 덩굴쪄김병 저항성 유전자원의 탐색과 내병성 품종 개발을 위한 대량의 수박 시료에 대해 효율적으로 덩굴쪄김병 저항성을 검정할 수 있는 방법이 필요하다.

F. oxysporum f. sp. *niveum*의 병원성 그리고 병원균에 대한 수박 유전자원의 저항성 등 다양한 연구에서 병원균의 접종 방법으로 뿌리 침지법(root-dipping)을 일반적으로 사용하고 있다(Martyn, 1987; Zhou et al., 2010; Jo et al., 2015). 하지만 이 방법은 접종 과정에서 포트에 심겨진 수박 유묘를 뽑아서 병원균 포자현탁액에 침지한 후에 새로운 토양에 이식하는 과정을 거치는데 이때 수박 유묘의 활착에 어려움이 있다. 뿐만 아니라 시간과 노동력이 많이 소요된다는 단점이 있다(Latin and Snell, 1986). 따라서 이 방법으로 저항성 품종 육종과정에서 나오는 수 많은 교배 종들 중에 덩굴쪄김병에 대한 저항성인 개체를 선발하는 것은 용이하지 않다. 그러므로 대량의 수박 시료의 덩굴쪄김병 저항성을 효율적으로 조사하기 위해서는 보다 간편한 검정 방법이 필요하다.

본 연구에서는 수박 덩굴쪄김병에 대한 간편한 대량 검정법을 개발하기 위하여, 일반 수박 2품종, 중도저항성 수박 1품종 및 저항성 대목 1종을 사용하여 수박 덩굴쪄김병 포자를 각각 뿌리 침지, scalpel, tip 및 토양 관주(soil-drenching) 방법으로 접종한 후에 품종들의 덩굴쪄김병 발생 및 저항성 정도를 비교하여 scalpel 접종 방법을 선택하였다. 그리고 scalpel 방법을 사용하여 식물의 생육시기, 접종원 농도, 접종 후 재배 온도 등에 따른 4개 품종들의 덩굴쪄김병균에 대한 저항성 차이를 조사하였다. 그리고 이들 결과를 토대로 scalpel 방법을 이용한 간편한 대량 검정법을 확립하고, 이 방법의 효용성을 확인하기 위하여 시판 수박 21품종과 수박용 대목 2품종에 *F. oxysporum* f. sp. *niveum*을 scalpel 방법과 뿌리 침지법으로 접종하고 실험한 품종들의 덩굴쪄김병 발생 차이를 비교하였다.

나. 재료 및 방법

(1) 수박 재배

시판 중인 수박과 수박용 대목 품종의 덩굴쪄김병에 대한 저항성 검정을 위해서는 수박 21개 품종('서태자', '설강102', '슈퍼골드', '꼬꼬마', '낙동꿀', '웰빙', '지존꿀', '장춘꿀', '감천꿀', '누네띠네꿀', '흑호', '칠복꿀', '슈퍼그랑프리', '황금꿀', '속노란꿀', '노란복', '노란부시복', '부시복', '베스트꿀', '부라보꿀', '윈더풀꿀')과 수박용 대목 2개 품종('신FR불사조', '불로장생')을 시중에서 구입하여 실험에 사용하였다.

그리고 그외 실험을 위해서는 *F. oxysporum* f. sp. *niveum*에 감수성 수박 2품종 '서태자'(아시아종묘)와 '지존꿀'(팜한농), 중도저항성 수박 품종 '속노란꿀'(제일종묘) 그리고 저항성인 수박용 대목 품종인 '불로장생'(신젠타종묘)을 시중에서 구입하여 실험에

사용하였다(Jo et al., 2015).

네 가지 접종법 중 뿌리 침지 방법을 위해서는 8×16 연결포트(21mL/pot, 범농사)에 원예용상토 5호(부농사)를 넣고 각 품종의 종자를 1립씩 파종하여 온실($25 \pm 5^\circ\text{C}$)에서 10일 동안 재배하여 1엽이 조금 자란 유묘를 실험에 사용하였다. 그리고 scalpel, tip 및 토양 관주 방법을 위해서는 5×8 연결포트(68mL/pot, 범농사)에 원예용상토 5호를 넣은 후 종자를 1립씩 파종하고 온실에서 10일 동안 재배한 유묘를 실험에 사용하였다.

그리고 수박 유묘의 생육 정도에 따른 덩굴쪄짐병 발생은 접종 7, 10, 13 및 16일 전에 앞서와 동일한 방법으로 종자를 파종하여 온실에서 재배한 수박 유묘를 실험에 사용하였다(Fig. 1).

(2) 접종원 준비

F. oxysporum f. sp. *niveum* HA 균주(레이스 0)를 potato dextrose agar(PDA; Becton, Dickinson and Co.) 배지에 접종하고 25°C 에서 1주일간 배양한 후에 균총으로부터 균사 조각($8 \times 8\text{mm}$)을 잘라내어 V-8 juice broth 배지 100mL에 6개씩 접종하였다(Jo et al., 2015). 접종한 배지는 25°C 에서 7일 동안 150rpm으로 진탕배양 하였다. 배양한 균주를 4겹 거즈로 걸러서 균사를 제거하고 원심분리(4,300g, 10분, 4°C , Beckman Coulter Inc.)한 후에 상등액을 제거하였다. 그리고 남은 침전물에 멸균수를 넣고 흔들어서 포자현탁액을 준비하고 광학현미경 하에서 hemocytometer를 이용하여 포자(소형분생포자)의 농도를 조사하였다.

접종 방법에 따른 수박 덩굴쪄짐병 발생 실험을 위하여는 1.0×10^6 과 1.0×10^7 conidia·mL⁻¹이 되도록, 그리고 발병 조건에 따른 실험에서는 접종원 농도에 따른 수박 덩굴쪄짐병 발생을 제외한 모든 실험을 위해서는 3.0×10^6 conidia·mL⁻¹이 되도록 멸균수를 사용하여 포자 농도를 조정하였다. 그리고 접종원 농도에 따른 수박 덩굴쪄짐병 발생의 경우에는 포자 농도가 3.7×10^5 , 1.1×10^6 , 3.3×10^6 , 1.0×10^7 conidia·mL⁻¹이 되도록 조정된 포자현탁액을 준비하였다.

(3) 수박 덩굴쪄짐병균 접종

뿌리 침지 접종 방법은 재배한 수박 유묘를 포트에서 뽑아서 뿌리 주변의 흙을 물로 세척한 후에 준비한 HA 균주의 포자현탁액에 30분 동안 침지하였다. 그리고 5×8 연결포트(68mL/pot)에 원예용상토 5호를 넣고 물을 충분히 뿌려 흙을 촉촉하게 만든 후에 접종한 수박 유묘를 옮겨 심었다.

Scalpel 접종 방법은 5×8 연결포트에서 재배한 수박 유묘에 scalpel을 이용하여 지체부 양 옆에서 0.8cm 떨어진 곳에서 90° 각도로 깊이가 3cm 되도록 뿌리를 향하여 찢어서 상처를 낸 후에 이곳에 수박 덩굴쪄짐병균의 포자현탁액을 10mL씩 관주하였다.

Tip 접종 방법은 5×8 연결포트에서 재배한 수박 유묘에 10mL-tip을 이용하여 지체부에서 1cm 떨어진 곳에서 45° 각도로 깊이가 3cm 되도록 뿌리를 향하여 찢어서 상처를 내고 준비한 포자현탁액을 10mL씩 관주 접종하였다. 토양 관주 접종 방법은 수박 유묘가 있는 5×8 연결포트 토양에 병원균의 포자현탁액을 포트 당 10mL씩 관주하여 접종하였다.

(4) 발병 및 병 조사

접종한 유묘는 25°C 습실상에서 24시간 배양한 후 동일한 온도의 생육실로 옮겨 하루에

12시간씩 광($55\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)을 조사하면서 재배하였다. 재배 온도에 따른 덩굴쪄김병 발생 실험의 경우에는 수박 유묘를 25°C 와 30°C 의 습실상에서 1일 동안 배양한 후에 각각 같은 온도의 생육실로 옮겨서 위와 같이 재배하였다.

병조사는 병원균을 접종하고 약 4주 후에 감수성 품종에서 덩굴쪄김병이 충분히 발생하였을 때 수박의 생육 정도와 식물체의 뿌리를 뽑아서 줄기 아래 부분을 세로로 비스듬하게 잘라내고 도관의 갈변 정도를 조사하였다. 발병 정도는 0=건진, 1=지상부 생육은 억제되지 않으나 지하부는 갈변된 것, 2=지하부는 갈변되고 지상부 생육이 억제된 것, 3=지하부는 갈변되고 지하부와 지상부의 생육이 상당히 억제된 것, 4=고사 등 5단계로 하였다(Fig. 2). 평균 발병도가 1.0 이하인 경우에는 저항성, 1.1 이상에서 2.5 이하는 중도저항성 그리고 2.6 이상은 감수성으로 판정하였다.

모든 실험은 10반복으로 2회 수행하였으며, SAS(SAS 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC) 프로그램을 이용하여 ANOVA 분석을 하고 처리 평균간 비교를 위하여 Duncan's multiple range test($P= 0.05$)를 실시하였다.

다. 결과 및 고찰

(1) 접종 방법에 따른 수박의 덩굴쪄김병 발생

뿌리 침지, scalpel, tip 및 토양 관주 등 네 가지 접종 방법으로 수박과 수박용 대목 품종들의 덩굴쪄김병 발생을 두 가지 접종원 농도(1.0×10^6 , 1.0×10^7 conidia·mL⁻¹)로 실험한 결과, 뿌리 침지 방법으로 접종하였을 때에는 '서태자'와 '지존꿀'은 실험한 두 농도 모두에서 3.5 이상의 높은 발병도 즉, 감수성을 보였고, '속노란꿀'은 중도저항성을, '불로장생'은 저항성을 나타내었다(Table 10). 그리고 scalpel 및 tip 방법으로 접종하였을 때에도 뿌리 침지법과 유사하게 '서태자'와 '지존꿀'은 발병도 3.0 이상의 감수성 반응을, '속노란꿀'과 '불로장생'은 각각 중도저항성과 저항성 반응을 보였다.

하지만 뿌리에 상처를 내지 않고 유묘가 있는 토양에 포자현탁액을 관주하여 접종하였을 때에는 '불로장생'뿐만 아니라 '속노란꿀'도 저항성 반응을 나타내었다(Table 10). 그리고 감수성 품종인 '서태자'와 '지존꿀'은 1.0×10^6 conidia·mL⁻¹의 농도에서는 저항성을, 1.0×10^7 conidia·mL⁻¹의 농도로 접종하였을 경우에는 중도저항성을 보였다.

덩굴쪄김병(Fusarium wilt) 병원균인 *F. oxysporum*은 뿌리 끝을 직접 침입하거나 뿌리에 난 상처, 뿌리 분지 부분을 통해 침입할 수 있는데, 토양에 존재하는 선충 같은 미소동물이 뿌리를 가해하거나 침입할 때 생긴 상처는 병원균의 침입을 용이하게 하여 병 발생을 촉진한다(Martin et al., 1956; Sequeira et al., 1958; Mai and Abawi, 1987; Chu et al., 1990; Agrios, 2005). 토마토, 멜론, 목화, 바나나 등의 경우 토양에 뿌리혹선충이 존재할 때 Fusarium wilt 발생이 증가한다고 알려져 있다(Newhall, 1958; Minton and Minton, 1966; Bergeson, 1975; Abawi and Barker, 1984). 본 연구에서도 수박 유묘에 *F. oxysporum* f. sp. *niveum*을 상처 없이 관주하여 접종하였을 때 즉, 병원균이 뿌리를 직접 침입해서 병을 일으키도록 하였을 때에는 '지존꿀'과 '서태자'와 같은 감수성 품종에서 상처를 동반한 다른 세 가지 접종 방법들에 비하여 덩굴쪄김병 발생이 매우 낮았다(Table 10). 따라서 토양 관주 접종 방법은 저항성 검정을 위한 수박 덩굴쪄김병 발생에 적합하지 않은 방법으로 생각되었다.

Table 10. Development of *Fusarium* wilt on four cultivars depending on inoculation method.^z

Inoculation method	Inoculum concentration (conidia·mL ⁻¹)	Cultivar			
		Bulro-jangsaeng	Soknoran-ggul	Seotaja	Jijonggul
Root-dipping ^y	1.0 × 10 ⁶	0.0 ± 0.0 ^{x,w}	2.3 ± 1.3 a	3.5 ± 0.7 a	3.7 ± 0.5 a
	1.0 × 10 ⁷	0.0 ± 0.0 a	2.5 ± 1.3 a	3.8 ± 0.6 a	3.8 ± 0.4 a
Scalpel ^v	1.0 × 10 ⁶	0.0 ± 0.0 a	2.0 ± 1.5 a	3.3 ± 1.2 a	3.4 ± 1.0 a
	1.0 × 10 ⁷	0.0 ± 0.0 a	2.4 ± 1.2 a	3.8 ± 0.4 a	3.9 ± 0.3 a
Tip ^u	1.0 × 10 ⁶	0.0 ± 0.0 a	2.2 ± 1.3 a	3.5 ± 0.7 a	3.4 ± 1.1 a
	1.0 × 10 ⁷	0.0 ± 0.0 a	2.1 ± 1.4 a	3.7 ± 0.9 a	3.4 ± 1.1 a
Soil-drenching ^t	1.0 × 10 ⁶	0.1 ± 0.3 a	0.3 ± 0.5 b	0.8 ± 1.0 b	0.7 ± 1.3 b
	1.0 × 10 ⁷	0.0 ± 0.0 a	1.0 ± 1.2 a	1.4 ± 1.5 b	1.9 ± 1.9 a

^zTen-day-old seedlings of three watermelon (Soknoranggul, Seotaja, Jijonggul) and one watermelon-rootstock (Bulrojangsaeng) cultivars were inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* (Fon) HA. The inoculated plants were incubated in a dew chamber at 25°C for 24 hours and then transferred to a growth room at 25°C with 12-hour light a day. After 4 weeks, disease severity of the seedling was investigated on a scale of 0-4.

^ySeedlings of each cultivar were uprooted and the roots were washed gently in water. The plant roots were inoculated with two different spore concentration (1.0×10⁶ conidia·mL⁻¹ and 1.0×10⁷ conidia·mL⁻¹) of Fon HA by which the roots were dipped in spore suspensions for 30 minutes. The infected plants were transplanted into 40-cell plastic trays.

^xEach value represents the mean of disease index ± standard deviation of two runs with ten replicates each.

^wValues in the labeled with the same letter within columns are not significantly different in Duncan's multiple range test at *P*=0.05.

^vSeedlings were inoculated with Fon HA by cutting the roots with a scalpel, and then 10 mL of spore suspension was applied to soil.

^uSeedlings were inoculated with Fon HA by cutting the roots with a 10-mL tip, and then 10 mL of spore suspension was applied to soil.

^tSeedlings were inoculated with Fon HA by pouring the spore suspension (10 mL) on soil without cutting of the roots.

Scalpel과 tip 접종 방법은 뿌리 침지 접종 방법에서와 같이 선발한 4개 품종들의 덩굴쪄김병에 대한 저항성 반응이 저항성, 중도저항성 혹은 감수성으로 잘 나타났다. 하지만 tip 접종 방법은 실험자에 따라 뿌리에 상처를 주는 정도에 차이가 발생할 가능성도 있어서 수박의 덩굴쪄김병 저항성을 간편하게 대량 검정하기 위한 접종 방법으로 scalpel 방법을 선택하였다.

(2) 생육시기에 따른 덩굴쪄김병 발생

선발한 네 품종의 생육시기에 따른 덩굴쪄김병 발생을 조사하기 위하여 각 품종의 종자를 과중하고 7일, 10일, 13일, 16일 동안 재배한 유묘에 scalpel 방법으로 *F. oxysporum* f. sp. *niveum*을 접종하여 덩굴쪄김병 발생을 조사한 결과, 실험한 네 가지 생육 시기 중 10-16일 유묘는 ‘서태자’와 ‘지존꿀’은 감수성을, ‘속노란꿀’은 중도저항성을 그리고 ‘불로장생’은 저항성을 나타냈을 뿐만 아니라 서로 간에 통계적으로 유의성 있는 발병도 차이를 나타냈다(Table 11). 하지만 떡잎이 전개된 시기인 과중 7일 후 유묘는 4종 품종들의 저항성 반응은 잘 나타났으나, 중도저항성 품종과 감수성 품종들 간에 통계적으로 유의성 있는 발병도 차이를 보이지 않았다(Table 2).

Table 11. Development of Fusarium wilt on four cultivars depending on plant growth stage^z.

Cultivar	Plant growth stage							
	7-day-old		10-day-old		13-day-old		16-day-old	
Bulrojangsaeng	0.0 ± 0.0 ^y b ^x	R ^w	0.0 ± 0.0 c	R	0.0 ± 0.0 c	R	0.0 ± 0.0 c	R
Soknoranggul	2.5 ± 1.2 a	MR	2.2 ± 1.0 b	MR	2.1 ± 1.2 b	MR	2.0 ± 0.7 b	MR
Seotaja	3.3 ± 0.9 a	S	3.9 ± 0.3 a	S	3.5 ± 0.8 a	S	3.3 ± 0.9 a	S
Jijonggul	3.7 ± 0.7 a	S	3.8 ± 0.6 a	S	3.9 ± 0.3 a	S	3.5 ± 0.8 a	S

^zSeven-, ten-, thirteen-, sixteen-day-old seedlings of three watermelon (Soknoranggul, Seotaja, Jijonggul) and one watermelon-rootstock (Bulrojangsaeng) cultivars were inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* HA by cutting the roots with a scalpel, and then 10 mL of spore suspension (3.0×10^6 conidia·mL⁻¹) was applied to soil. The inoculated plants were incubated in a dew chamber at 25°C for 24 hours and then transferred to a growth room at 25°C with 12-hour light a day. After 4 weeks, disease severity of the seedling was investigated on a scale of 0-4.

^yEach value represents the mean of disease index ± standard deviation of two runs with ten replicates each.

^xValues in the labeled with the same letter within columns are not significantly different in Duncan's multiple range test at $P=0.05$.

^wResistance response: R, resistant [disease index (DI)=0-1.0]; MR, moderately resistant (DI=1.1-2.5); S, susceptible (DI=2.6-4.0).

Jo et al.(2015)은 뿌리 침지 접종법으로 저항성, 중도저항성, 감수성 품종을 네 가지 생육시기에서 접종하고 수박 덩굴쪄김병 발생을 조사하였을 때, 파종 후 7일 유묘는 중도저항성과 감수성 품종이 모두 감수성을 그리고 16일 유묘는 두 품종 모두가 중도저항성을 보였다고 하였다. 그리고 10일 유묘와 13일 유묘는 각 품종들의 저항성 특성을 잘 나타냈으나, 10일 유묘 만이 통계적으로 유의성 있는 차이를 보여 수박 덩굴쪄김병 저항성 검정에 적합한 생육 시기라고 하였다. 이와 달리 본 연구의 scalpel 접종 방법은 실험한 4가지 생육 시기 중 7일 재배한 유묘를 제외한 세 가지 생육 시기에서 모두에서 통계적으로도 유의성 있는 발병도 차이를 보이며 각 품종의 저항성 특성을 잘 나타내었다. 그러므로 scalpel 접종 방법은 간편할 뿐만 아니라 실험에 사용하는 유묘의 생육 시기에 크게 영향을 받지 않고 품종들의 저항성 특성을 잘 나타내므로 보다 효과적인 접종 방법으로 생각되었다.

종자를 파종하고 10-16일 동안 재배한 수박 유묘 모두가 덩굴쪄김병 저항성 검정에 사용하는 것이 가능하지만, 16일 재배한 유묘(3엽기)는 식물체의 크기가 커서 접종 후 병조사할 때까지 재배 관리가 힘든 점이 있으므로, 파종하고 10일 동안 재배한 유묘(1엽기)내지 13일 유묘(2엽기)가 scalpel 접종을 이용한 수박 덩굴쪄김병 저항성 검정에 적합할 것으로 생각되었다.

(3) 재배 온도에 따른 덩굴쪄김병 발생

Scalpel 방법을 이용하여 4개 품종들에 *F. oxysporum* f. sp. *niveum*을 접종하고 20℃와 30℃에서 재배하여 덩굴쪄김병 발생을 실험한 결과, 25℃에서는 ‘지존꿀’과 ‘서태자’는 각각 발병도 3.7과 4.0로 감수성을, ‘속노란꿀’은 발병도 2.0으로 중도저항성을 그리고 ‘불로장생’은 발병도 0.1로 기대한 바와 동일한 저항성 반응을 보였다. 그리고 감수성, 중도저항성 및 저항성 품종들간의 발병도 차이는 통계적으로도 유의성이 있었다(Table 12). 반면에 30℃에서는 감수성 2개 품종(‘지존꿀’과 ‘서태자’)과 ‘불로장생’은 25℃에서와 마찬가지로 각각 감수성과 저항성 반응을 나타내었으나, 중도저항성 품종인 ‘속노란꿀’은 25℃보다 더 높은 발병도 즉 감수성 반응을 보였다.

Jo et al.(2015)이 뿌리 침지 접종법으로 수박의 덩굴쪄김병 저항성을 조사하였을 때에도 본 연구에서와 마찬가지로 접종하고 25℃에서 재배하였을 때에는 저항성, 중도저항성, 감수성 품종들의 저항성 특성이 잘 나타났으나, 30℃에서는 중도저항성 품종의 덩굴쪄김병 발생이 증가하면서 감수성 반응을 나타냈다. 멜론 덩굴쪄김병의 경우에는 *F. oxysporum* f. sp. *melonis*를 접종하고 25℃와 30℃에 재배하였을 때, 저항성 품종들은 두 온도 모두에서 저항성을 잘 나타냈다(Lee et al., 2015). 이는 멜론의 덩굴쪄김병에 대한 저항성은 *Fom-1*과 *Fom-2*의 단인자 우성 유전자에 의한 질적 저항성이므로(Risser et al., 1976) 재배 온도(25℃와 30℃)에 따라 저항성이 크게 영향을 받지 않은 때문으로 생각되었다. 한편, 수박 품종 ‘속노란꿀’은 중도저항성을 나타내고 온도에 따라 저항성 정도에 차이를 나타내는 것으로 보아 역병(*Phytophthora capsici*)에 대한 고추의 저항성과 마찬가지로 ‘속노란꿀’의 덩굴쪄김병 저항성은 양적 저항성(quantitative resistance)인 것으로 추정되었다(Jo et al., 2014).

이상의 결과로부터 scalpel 접종 방법을 이용한 수박 품종들의 덩굴쪄김병에 대한 저항성을 검정하기 위해서는 *F. oxysporum* f. sp. *niveum*을 접종하고 25℃에서 식물을 재배하는 것이 바람직하다고 생각되었다.

Table 12. Development of Fusarium wilt on four cultivars depending on incubation temperature^z.

Cultivar	Incubation temperature			
	25°C		30°C	
Bulrojangsaeng	0.1 ± 0.3 ^y c ^x	R ^w	0.0 ± 0.0 b	R
Soknoranggul	2.0 ± 0.9 b	MR	2.7 ± 1.3 a	S
Seotaja	4.0 ± 0.0 a	S	3.6 ± 1.0 a	S
Jijonggul	3.7 ± 0.7 a	S	3.5 ± 1.0 a	S

^zTen-day-old seedlings of three watermelon (Soknoranggul, Seotaja, Jijonggul) and one watermelon-rootstock (Bulrojangsaeng) cultivars were inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* HA by cutting the roots with a scalpel, and then 10 mL of spore suspension (3.0×10^6 conidia·mL⁻¹) was applied to soil. The inoculated plants were incubated in dew chambers at 25°C and 30°C for 24 hours and then transferred to growth rooms at 25°C and 30°C with 12-hour light a day, respectively. After 4 weeks, disease severity of the seedling was investigated on a scale of 0-4.

^yEach value represents the mean of disease index ± standard deviation of two runs with ten replicates each.

^xValues in the labeled with the same letter within columns are not significantly different in Duncan's multiple range test at $p=0.05$.

^wResistance response: R, resistant [disease index (DI)=0-1.0]; MR, moderately resistant (DI=1.1-2.5); S, susceptible (DI=2.6-4.0).

(4) 접종원 농도에 따른 덩굴쪄김병 발생

F. oxysporum f. sp. *niveum* HA 균주를 3.7×10^5 conidia·mL⁻¹부터 1.0×10^7 conidia·mL⁻¹까지의 포자 농도로 접종하고 4품종들의 덩굴쪄김병 발생을 실험한 결과, 실험한 접종원 농도에서는 농도와 관계없이 '서태자'와 '지존꿀'은 모두 감수성 반응이었으며 '속노란꿀'은 중도저항성을 그리고 '불로장생'은 모두 저항성을 보였다. 그리고 접종원의 농도가 높아질수록 감수성 품종과 중도저항성 품종은 덩굴쪄김병 발생이 점차 증가하였으나, 저항성 대목인 '불로장생'은 접종원 농도에 관계없이 덩굴쪄김병이 발생하지 않았다(Table 13).

Martyn과 McLaughlim (1983)은 *F. oxysporum* f. sp. *niveum*의 접종원 농도가 1.0×10^3 부터 1.0×10^6 conidia·mL⁻¹로 증가할수록 중간 정도의 저항성을 나타내는 수박 품종들의 덩굴쪄김병 발병률이 높아진다고 하였는데, 본 연구에서도 Martyn과 McLaughlim (1983)과 마찬가지로 중도저항성 품종인 '속노란꿀'이 3.0×10^5 부터 1.0×10^6 conidia·mL⁻¹로 접종 농도가 증가할수록 발병도가 증가하였다.

실험한 접종원 농도 중 3.7×10^5 conidia·mL⁻¹에서는 나머지 세 농도에 비해 덩굴쪄김병

발생이 다소 적어 ‘지존꿀’, ‘서태자’, ‘속노란꿀’의 발병도가 각각 3.1, 2.8 그리고 1.5 이었으며, ‘서태자’와 ‘속노란꿀’ 간에 통계적으로 유의성 있는 차이도 없었다. 그러나 1.1×10^6 conidia·mL⁻¹부터 1.0×10^7 conidia·mL⁻¹으로 접종하였을 때에는 실험한 품종들 간에 유의성 있는 발병도 차이를 보였다(Table 13). 두 농도 중 1.0×10^7 conidia·mL⁻¹의 경우에는 많은 양의 접종원을 준비해야 하는 단점이 있으므로 scalpel 방법을 이용하여 수박 덩굴쪄김병 저항성을 검정하기 위해서는 1.1×10^6 conidia·mL⁻¹ 내지 3.3×10^6 conidia·mL⁻¹의 포자현탁액을 접종하는 것이 합리적일 것으로 생각되었다.

Table 13. Occurrence of Fusarium wilt in four cultivars depending on inoculum concentration^z.

Cultivar	Inoculum concentration (conidia·mL ⁻¹)							
	3.7×10^5		1.1×10^6		3.3×10^6		1.0×10^7	
Bulrojangsaeng	0.0 ± 0.0 ^y c ^x	R ^w	0.0 ± 0.0 c	R	0.0 ± 0.0 c	R	0.0 ± 0.0 c	R
Soknoranggul	1.5 ± 0.8 b	MR	1.7 ± 0.8 b	MR	1.9 ± 1.0 b	MR	2.2 ± 1.2 b	MR
Seotaja	2.8 ± 1.1 ab	S	3.7 ± 0.5 a	S	3.6 ± 0.7 a	S	3.7 ± 0.7 a	S
Jijonggul	3.1 ± 1.0 a	S	3.7 ± 0.7 a	S	3.7 ± 0.9 a	S	4.0 ± 0.0 a	S

^zTen-day-old seedlings of three watermelon (Soknoranggul, Seotaja, Jijonggul) and one watermelon-rootstock (Bulrojangsaeng) cultivars were inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* HA by cutting the roots with a scalpel, and then 10 mL of each spore suspension was applied to soil. The inoculated plants were incubated in a dew chamber at 25°C for 24 hours and then transferred to a growth room at 25°C with 12-hour light a day. After 4 weeks, disease severity of the seedling was investigated on a scale of 0-4.

^yEach value represents the mean of disease index ± standard deviation of two runs with ten replicates each.

^xValues in the labeled with the same letter within columns are not significantly different in Duncan's multiple range test at $P=0.05$.

^wResistance response: R, resistant [disease index (DI)=0-1.0]; MR, moderately resistant (DI=1.1-2.5); S, susceptible (DI=2.6-4.0).

(5) Scalpel 접종법에 의한 시판 품종들의 저항성

이상의 결과로부터 확립된 scalpel 접종 방법을 이용한 수박 덩굴쪄김병 검정 체계의 효용성을 확인하기 위하여 시판 중인 수박 21개 그리고 수박용 대목 2개 총 23개 품종들에 병원균을 뿌리 침지와 scalpel 방법으로 접종하고 덩굴쪄김병 발생을 비교한 결과, 두 방법 모두에서 ‘속노란꿀’을 제외한 20개 수박 품종 모두에서 덩굴쪄김병이 심하게 발생하였고, 수박용 대목 2개 품종 모두는 높은 저항성을 보였다(Table 14). 그리고 ‘속노란꿀’도 두 방법 모두에서 중도저항성을 나타냈다.

Table 14. Resistance degree of 21 commercial watermelon cultivars and 2 watermelon-rootstock cultivars against Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* (Fon)^z.

Cultivar	Inoculation method			
	Scalpel ^y		Root-dipping ^x	
Bulrojangsaeng (rootstock)	0.0 ± 0.0 ^w	R ^v	0.0 ± 0.0	R
ShinFR ⁻ bulsajo (rootstock)	0.0 ± 0.0	R	0.0 ± 0.0	R
Soknoranggul	2.0 ± 1.2	MR	2.5 ± 1.3	MR
Seolgang102	3.5 ± 1.1	S	3.9 ± 0.3	S
Hwanggeumggul	3.3 ± 1.2	S	3.8 ± 0.4	S
Bestggul	3.6 ± 0.7	S	3.5 ± 0.5	S
Noranbusibok	3.3 ± 1.1	S	3.7 ± 0.7	S
Jangchunggul	4.0 ± 0.0	S	3.8 ± 0.4	S
Super grand prix	3.8 ± 0.6	S	3.5 ± 0.8	S
Jijonggul	4.0 ± 0.0	S	3.5 ± 0.8	S
Chilbokggul	3.8 ± 0.6	S	3.8 ± 0.4	S
Supergold	3.5 ± 0.8	S	3.4 ± 0.8	S
Busibok	4.0 ± 0.0	S	4.0 ± 0.0	S
Seotaja	3.5 ± 1.1	S	3.6 ± 0.5	S
Noranbok	3.6 ± 0.7	S	3.6 ± 0.5	S
Wellbing	3.9 ± 0.3	S	3.5 ± 0.5	S
Kokoma	3.9 ± 0.3	S	3.5 ± 0.5	S
Nakdonggul	3.7 ± 0.9	S	3.9 ± 0.3	S
Wonderfulggul	3.8 ± 0.4	S	3.9 ± 0.3	S
Bravoggul	3.6 ± 0.8	S	4.0 ± 0.0	S
Heukho	3.7 ± 0.9	S	3.8 ± 0.4	S
Kamchunggul	4.0 ± 0.0	S	3.8 ± 0.4	S
Nunettineggul	4.0 ± 0.0	S	3.9 ± 0.3	S

^zTen-day-old seedlings of each cultivar were inoculated with Fon HA. The inoculated plants were incubated in a dew chamber at 25°C for 24 hours and then transferred to a growth room at 25°C with 12-hour light a day. After 4 weeks, disease severity of the seedling was investigated on a scale of 0-4.

^ySeedlings of each cultivar were inoculated with Fon HA by cutting the roots with a scalpel, and then 10 mL of spore suspension (3.0×10^6 conidia·mL⁻¹) was applied to soil.

^xSeedlings of each cultivar were uprooted, and the roots were washed gently in water. The

plants were inoculated by dipping the roots in the spore suspension (3.0×10^6 conidia·mL⁻¹) of Fon HA for 30 minutes and then transplanted into 40-cell plastic trays.

^wEach value represents the mean of disease index \pm standard deviation of two runs with ten replicates each.

^vResistance response: R, resistant [disease index (DI)=0-1.0]; MR, moderately resistant (DI=1.1-2.5); S, susceptible (DI=2.6-4.0).

따라서 간편한 수박 덩굴쪄김병 저항성 검정을 위해 본 연구에서 확립한 scalpel 접종 방법은 실험한 품종들에서 기존에 많은 연구자들이 널리 사용하고 있으며 저항성 결과의 정확도가 높은 뿌리 침지 접종법과 유사한 발병도를 보였으며, 품종들의 저항성, 중도저항성 및 감수성 반응을 뚜렷하게 나타냈다. 따라서 이 방법을 이용하면 대량의 수박시료에 대한 덩굴쪄김병 저항성을 간편하게 검정할 수 있는 방법으로 생각되었다.

이상의 결과로부터 수박 덩굴쪄김병에 대한 간편 대량 저항성 검정법으로 5 × 8 연결포트(68mL/pot)에 수박 종자를 파종하고 온실(25 ± 5°C)에서 재배한 1-2엽기 유묘의 뿌리를 scalpel을 이용하여 지제부로부터 0.8cm 떨어져서 3cm 깊이로 잘라주어 상처를 낸 후에 3.0×10^6 conidia·mL⁻¹ 농도의 *F. oxysporum* f. sp. *niveum* 포자현탁액을 10mL씩 관주하여 접종하고, 25°C에서 하루에 12시간씩 광을 조사하면서 약 4주 동안 재배하는 것을 제안하고자 한다.

3. 배추 뿌리혹병 저항성 검정 업그레이드: 배추 뿌리혹병 race 판별체계 구축

가. 서론

배추(*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*)는 고추 및 무와 함께 우리나라 식생활에 중요한 채소 중 하나이다. 전 세계적으로 많은 배추 병이 알려져 있으며 노균병, 무름병, 바이러스병, 뿌리마름병, 밑동썩음병 및 뿌리혹병 등이 있다. 특히 *Plasmodiophora brassicae* Woron.에 의한 뿌리혹병은 유채, 배추, 순무, 양배추, 무 등의 십자화과 식물에 기생하여 발생하며, 작물의 생산량에 상당한 영향을 미쳐 경제적으로 심각한 손실을 일으키고 있다. 우리나라에서는 1990년대 초반 서울과 수원에서 뿌리혹병 발생이 처음 보고되었고, 1990년대 후반부터 전국적으로 병이 확산되면서 피해 정도가 심해지고 있다.

뿌리혹병균은 휴면포자로 토양에 존재하며, 환경이 적합하면 수 년 동안 생존이 가능하여 한번 뿌리혹병이 발생한 재배포장에서는 병원균이 오랫동안 남아 있으므로 배추과 작물을 재배하기에 적합하지 않다. 이 병원균에 감염된 식물체를 뽑아서 뿌리를 살펴보면 작은 혹이 여러 개 생기거나 큰 혹이 생긴 것을 볼 수 있고, 식물체의 지상부는 한낮의 무더운 시간에는 시들음 증상을 보이다가 밤에는 회복되기를 반복한다.

뿌리혹병을 방제하기 위하여 토양의 pH 조절 및 배추과 작물 이외 작물과의 윤작 등의 경종적 방제, fluazinam, flusulfamide 및 cyazofamid 등의 살균제를 이용한 화학적 방제 및 길항미생물을 이용한 생물학적 방제 연구가 이루어졌다. 최근에는 친환경 농업에서도 사용 가능한 저항성 품종이 뿌리혹병 방제를 위하여 요구되고 있다. 정부에서는 종자산업의 중요성을 인

지하여 Golden Seed Project를 통하여 생명공학기술개발, 우수한 품종 육성 및 종자 생산 등에 많은 지원을 하고 있으며, 배추, 양배추 및 무 등의 뿌리혹병 저항성(CR, clubroot resistance) 품종을 개발하기 위한 연구도 활발히 진행되고 있다.

그러나 뿌리혹병균의 분화가 빈번하고 그 형질이 다른 균주들이 포장에 존재하고 있으므로 뿌리혹병균을 레이스를 정확하게 검정하는 것이 필요한데, 뿌리혹병균은 기주의 종 및 계통에 따라서 다양한 병원성 반응을 보인다고 보고되어 있으며 일반적으로 양배추 2품종과 rutabaga 2품종을 이용하는 Williams법과 ECD(European Clubroot differentials) 품종을 이용하는 방법으로 레이스를 검정한다. 그러나 국내에서는 포장에서 수집한 뿌리혹병균들의 레이스와 CR 배추의 뿌리혹병 저항성 반응을 조사하여 각 균주의 CR 품종의 반응은 거의 동일하며 Williams 레이스와 관계없이 두 종류의 반응(감수성과 저항성)을 나타내었다고 하였다. 동일한 레이스의 뿌리혹병균도 배추 CR 품종에서는 서로 다른 반응을 나타내어서 Williams 판별 기주와 CR 품종의 저항성 유전자는 다를 것이라고 하였다. 또한 일본에서도 배추 CR 2품종('Super CR Hiroki', 'Ryutoku')과 감수성 1품종에 대한 뿌리혹병균의 병원성 차이에 따라서 뿌리혹병균을 네 그룹으로 분류하였고, 이를 바탕으로 레이스를 구분하는 것을 제시하였다.

본 연구에서는 효율적인 배추 뿌리혹병 병리검정 체계 확립을 위하여 국내 여러지역에서 채집한 배추 뿌리혹병균들에 대한 배추의 저항성을 연구하여 race 판별체계를 구축하고자 실험하였다. 12개 뿌리혹병균들에 대한 시판 중인 배추 22종의 저항성을 조사하였고, 종자회사로부터 분양받은 배추 계통 15종의 11개 뿌리혹병균에 대한 저항성 반응 차이를 조사하였다.

나. 재료 및 방법

(1) 뿌리혹병균 균주

P. brassicae 균주를 수집하기 위하여 2009년부터 2014년까지 배추 및 양배추 재배포장 12곳, 대전시(DJ), 충청남도 서산시(SS)와 금산군(KS), 충청북도 괴산시(GS), 경기도 연천군(YC), 전라남도 해남군(HN1, HN2) 그리고 강원도 강릉시(GN, GN2), 황성군(HS), 정선군(JS), 평창군(PC) 등에서 전형적인 뿌리혹병을 나타내는 뿌리를 채집하였고(Table 15), 이들 중 대전, 강릉, 정선, 황성, 연천, 평창 및 서산 지역 균주들은 증식하여 사용하였다.

일반 배추 품종, '노랑김장배추(몬산토코리아)'를 4 × 8 연결포트(150mL/pot, 범농사)에 원예용상토 5호(부농사)를 넣고 포트 당 1립씩 파종하여 온실에서 30일 재배한 후 배추 유묘 100주를 준비하였고, 각 뿌리혹병균 균주의 이병조직 1g으로부터 휴면포자를 수확하여 유묘에 5mL씩 관주하여 접종하였다. 접종한 유묘는 20℃ 항온항습실에서 1주일 동안 배양한 후 큰 포트에 이식하여 온실(25 ± 5℃)에서 60일 동안 재배하였고, 수확한 뿌리는 -80℃ 초저온냉동고에 보관하였다. 확보한 뿌리혹병균 12균주는 배추 시판 품종들의 저항성 반응 실험에, HN1 균주를 제외한 11균주는 배추 계통들의 저항성 반응 실험에 사용하였다.

Table 15. List of 12 field isolates of *Plasmodiophora brassicae* used in this study.

Isolation	Districts of collection	Host
GN	Gangneung-si, Gangwon-do	Chinese cabbage
GN2	Gangneung-si, Gangwon-do	Chinese cabbage
GS	Goesan-gun, Chungcheongbuk-do	cabbage
JS	Jeongseon-gun, Gangwon-do	Chinese cabbage
HS	Hoengseong-gun, Gangwon-do	Chinese cabbage
HN1	Haenam-gun, Jeollnam-do	Chinese cabbage
PC	Pyeongchang-gun, Gangwon-do	Chinese cabbage
YC	Yeoncheon-gun, Gyeonggi-do	Chinese cabbage
DJ	Daejeon-si	Chinese cabbage
KS	Keumsan-gun, Chungcheongnam-do	Chinese cabbage
HN2	Haenam-gun, Jeollanam-do	Chinese cabbage
SS	Seosan-si, Chungcheongnam-do	Chinese cabbage

(2) 식물 재배

국내·외 종자회사들로부터 다양한 뿌리혹병 저항성 배추 품종 21종, ‘썸그린배추’(몬산토코리아), ‘진청배추’(몬산토코리아), ‘금방울배추’(농우바이오), ‘산올림배추’(농우바이오), ‘쌈이랑’(농우바이오), ‘우리배추’(농우바이오), ‘월동천하배추’(농우바이오), ‘노랑맛하장’(사카타코리아), ‘상장군배추’(사카타코리아), ‘영광배추’(사카타코리아), ‘태봉배추’(사카타코리아), ‘하대장군배추’(사카타코리아), ‘CR강산배추’(농협종묘), ‘CR여름맛배추’(농우바이오), ‘CR입춘배추’(농우바이오), ‘CR청록배추’(몬산토코리아), ‘항근중병대백채’(상흥종업), ‘김금3호대백채’(상흥종업), ‘덕고CR1016’(Degao seed), ‘천하장군’(사카타코리아), ‘아키메키’(노린)와 일반 품종 1종, ‘노랑김장배추’(몬산토코리아)를 구입하였다. 그리고 국내 종자회사들로부터 배추 계통 15종(‘WR01’-‘WR11’, ‘SS001’-‘SS004’)을 분양받아서 실험에 사용하였다. 이들 배추 품종들은 5 × 8 연결포트(80mL/pot, 범농사)에 원예용상토를 넣고 포트 당 종자 1립씩을 파종하여 온실(25 ± 5℃)에서 10일간 재배하였다. 배추 계통들도 동일한 방법으로 파종 및 재배하여 실험에 사용하였다.

(3) 배추 뿌리혹병균 접종

뿌리혹병균 접종원을 준비하기 위하여 -80℃ 초저온냉동고에 보관 중인 12균주를 각각 꺼내어 증류수에 수 차례 씻어서 뿌리 표면에 붙은 이물질을 제거하였다. 이를 Waring blender에 넣고 멸균수를 첨가하여 마쇄하고, 4겹의 가제로 여과하여 식물 조직을 제거한 포자 현탁액을 만들었다. 그리고 광학현미경 하(300배)에서 hemocytometer를 이용하여 휴면포자의 농도를 $1.0-8.0 \times 10^7$ spores·mL⁻¹로 조정하였다. 뿌리혹병균 접종은 배추 유묘에 각각의 뿌리혹병균의 포자현탁액을 포트 당 5mL씩 관주하여 접종하였다.

(4) 발병 및 병조사

배추 품종들 및 계통들의 뿌리혹병 발생을 위하여 집중한 유묘를 20℃ 항온항습실(상대 습도: 60 - 70%)로 옮긴 후 3일간 저면 관수하면서 하루에 14시간씩 광(광도: 53 - 58 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)을 조사하여 7일 동안 배양한 후에 온실로 이동하여 재배하였다. 접종 5주 후 배추에 뿌리혹병이 충분하게 발생하면 식물체의 뿌리를 뽑아서 흙을 털어내어 수돗물로 깨끗이 씻은 뒤 발병 정도를 조사하였다. 조사 기준은 0 = 뿌리혹병 발생이 없음, 1 = 측근에 뿌리혹이 착생되어 흙의 크기가 적고 서로 독립하여 존재, 2 = 측근에 뿌리혹이 착생되며, 흙의 크기가 비교적 큼, 3 = 주근에 뿌리혹이 착생되며 서로 접합되고 흙의 크기가 매우 큼, 4 = 주근에 뿌리혹이 착생되며 서로 접합되고 흙의 크기가 매우 큼 등 5단계로 하였다. 평균 발병도가 1.0 이하인 경우에는 저항성, 1.1 이상에서 2.0 이하는 중도저항성 그리고 2.1 이상은 감수성으로 판정하였다.

다. 결과 및 고찰

(1) 배추 CR 품종들의 뿌리혹병 저항성

여러 지역에서 수집한 12개 뿌리혹병균들에 대한 배추 시판 품종 22종의 뿌리혹병 저항성의 정도를 조사한 결과, 모든 균주에 대하여 일반 품종인 ‘노랑김장’에서는 높은 뿌리혹병 발생을 보였고, CR 품종 21종에서는 병 저항성 반응이 크게 3가지로 구분되었다(Table 16).

실험에 사용한 기존의 배추 CR 품종 16종은 실험한 12개 균주에 대하여 동일한 저항성 반응을 보였으며 GN, GN2, GS, HS, JS, DJ 및 KS 균주에 대해서는 모두 저항성 반응을 나타내었으나, PC, YC, HN1, HN2 및 SS 균주에 대해서는 감수성 반응을 보였다. 기존 CR 16개 품종과 다른 저항성 유전자가 도입된 ‘아키메키’(일본)와 ‘천하장군’ 배추는 HN2와 SS 균주를 제외한 10개 균주에 고도의 저항성 반응을 보였다. 또한 기존 CR 품종 16종과 또 다른 저항성 유전자가 도입된 ‘항근종병대백채’(중국), ‘덕고CR1016’(중국) 및 ‘김금3호대백채’(중국) 배추는 DJ, KS, HN2 및 SS 균주에서는 감수성 반응을 보였으나 그 외 8개 균주에서는 저항성 반응을 나타내었다. 따라서 일반 품종 ‘노랑김장’, 기존 CR 품종 ‘CR청록’, ‘항근종병대백채’ 및 ‘천하장군’을 사용하면 이들 12개 뿌리혹병균 균주들은 4개 그룹, 즉 모든 CR 품종이 모두 저항성을 나타내는 wild type 균주(GN, GN2, GS, JS, HS), ‘CR청록’과 ‘천하장군’만 저항성인 mutant type 1 균주(DJ, KS), ‘항근종병대백채’와 ‘천하장군’만 저항성을 나타내는 mutant type 2 균주(PC, YC, HN1) 그리고 3개 저항성 품종이 모두 감수성을 보이는 mutant type 3균주(HN2, SS)로 나눌 수 있으며(Table 17, Fig. 8), 이를 통하여 배추의 뿌리혹병균 레이스를 효율적으로 동정할 수 있으리라 생각된다.

Table 16. The degree of resistance of 22 commercial Chinese cabbage cultivars (F₁) to 12 field isolates of *Plasmodiophora brassicae*.

Cultivar	Trait	GN	GN2	GS	JS	HS	DJ
Noranggimjang	-	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	3.9 ± 0.3	3.7 ± 0.7
CR-Cheongrok	CR	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
CR-ipchun	CR	0.1 ± 0.3	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.4 ± 0.5	0.6 ± 0.5
CR-kangsan	CR	0.3 ± 0.7	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.6	0.4 ± 0.7	0.3 ± 0.5
CR-yeoreummat	CR	0.5 ± 1.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.4	0.1 ± 0.3
Geumbangul	CR	0.2 ± 0.4	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.3 ± 0.7
Hadaejanggun	CR	0.1 ± 0.3	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Jincheong	CR	0.3 ± 0.7	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.3	0.0 ± 0.0	0.3 ± 0.5	0.3 ± 0.5
Norangmathajang	CR	0.4 ± 1.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.4	0.3 ± 0.5	0.0 ± 0.0
Sangjanggun	CR	0.8 ± 1.0	0.1 ± 0.3	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.4	0.0 ± 0.0
Sanullim	CR	0.4 ± 0.7	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.3	0.0 ± 0.0
Ssamirang	CR	0.1 ± 0.3	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.4	0.5 ± 0.7	0.5 ± 0.7
Sungreen	CR	0.4 ± 0.7	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.3 ± 0.7	0.5 ± 0.5	0.3 ± 0.5
Taebong	CR	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.3	0.2 ± 0.4	0.4 ± 0.5
uri	CR	0.1 ± 0.3	0.1 ± 0.3	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.3	0.6 ± 0.5	0.2 ± 0.4
Woldongcheonha	CR	0.2 ± 0.4	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.8 ± 0.8	0.5 ± 0.5
Yeonggwang	CR	0.1 ± 0.3	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.3	0.0 ± 0.0
DegaoCR1016	CR	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	3.9 ± 0.3
Jinjinsanhaodabaicai	CR	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	3.8 ± 0.5
Kanggenzhongbingdabaicai	CR	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.4	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	3.7 ± 0.5
Akimeki	CR	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Cheonhajanggun	CR	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

(Continued)

Cultivar	Trait	KS	PC	YC	HN1	HN2	SS
Noranggimjang	-	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0
CR-Cheongrok	CR	0.0 ± 0.0	3.9 ± 0.3	3.9 ± 0.3	4.0 ± 0.0	3.7 ± 0.5	3.6 ± 0.5

CR-ipchun	CR	0.1 ± 0.3	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0
CR-kangsan	CR	0.0 ± 0.0	3.7 ± 0.5	4.0 ± 0.0	3.9 ± 0.3	3.8 ± 0.4	4.0 ± 0.0
CR-yeoreummat	CR	0.2 ± 0.6	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0
Geumbangul	CR	0.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	3.9 ± 0.3	3.4 ± 0.5	3.7 ± 0.6
Hadaejanggun	CR	0.0 ± 0.0	3.2 ± 0.7	4.0 ± 0.0	3.7 ± 0.7	3.8 ± 0.7	3.8 ± 0.6
Jincheong	CR	0.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	3.9 ± 0.3	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0
Norangmathajang	CR	0.2 ± 0.4	3.4 ± 0.9	3.8 ± 0.4	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0
Sangjanggun	CR	0.0 ± 0.0	3.1 ± 0.7	4.0 ± 0.0	3.9 ± 0.3	3.8 ± 0.4	4.0 ± 0.0
Sanullim	CR	0.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	3.9 ± 0.3	3.7 ± 0.7	4.0 ± 0.0
Ssamirang	CR	0.1 ± 0.3	3.9 ± 0.3	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0
Sungreen	CR	0.1 ± 0.3	3.9 ± 0.3	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	3.8 ± 0.4	4.0 ± 0.0
Taebong	CR	0.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	3.9 ± 0.3	4.0 ± 0.0
uri	CR	0.0 ± 0.0	3.7 ± 0.5	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0
Woldongcheonha	CR	0.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	3.9 ± 0.3
Yeonggwang	CR	0.0 ± 0.0	3.5 ± 0.7	4.0 ± 0.0	3.9 ± 0.3	3.7 ± 0.5	3.8 ± 0.6
DegaoCR1016	CR	4.0 ± 0.0	0.9 ± 0.8	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.3	4.0 ± 0.0	3.6 ± 0.7
Jinjinsanhaodabaicai	CR	3.8 ± 0.4	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.3	0.1 ± 0.3	3.8 ± 0.4	3.7 ± 0.5
Kanggenzhongbingdabaicai	CR	4.0 ± 0.0	0.1 ± 0.3	0.0 ± 0.0	0.3 ± 0.7	3.8 ± 0.5	3.0 ± 0.8
Akimeki	CR	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.3	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0
Cheonhajanggun	CR	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.7	3.6 ± 0.7	2.8 ± 0.8

Table 17. Disease reaction of Chinese cabbage cultivars used to differentiate groups of *Plasmodiophora brassicae*.

Cultivars	Group			
	Wild type	Mutant type 1	Mutant type 2	Mutant type 3
Noranggimjang	S	S	S	S
CR-Cheongrok	R	R	S	S
Kanggenzhongbingdabaicai	R	S	R	S
Cheonhajanggun	R	R	R	S

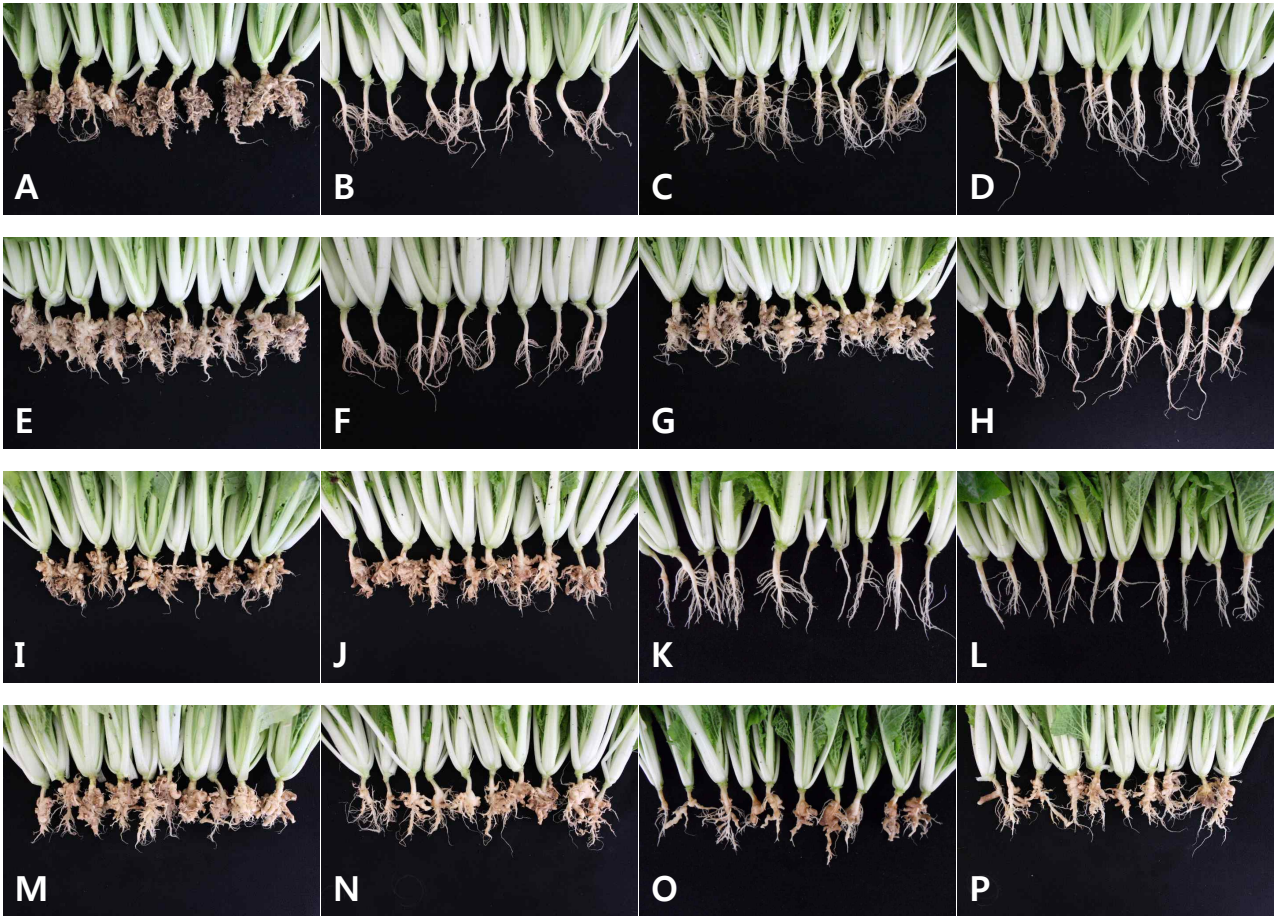


Fig. 8. Clubroot development on cultivars of Chinese cabbage inoculated with GN (A-D), DJ (E-H), YC (I-L) and HN2 (M-P) isolates of *Plasmodiophora brassicae*. A, E, I and M, Noranggimjang; B, F, J and N, CR-Cheongrok; C, G, K and O; Kanggenzhongbingdabaicai; D, H, L and P, Cheonhajanggun.

(2) 뿌리혹병 균주에 대한 배추 계통들의 저항성

11개 뿌리혹병균 균주에 대한 배추 계통 15종의 뿌리혹병 저항성은 배추 시판품종의 결과와 유사한 반응을 보였는데(Table 18), 모든 균주들에 대하여 'WR02', 'WR09' 및 'WR11'에서는 뿌리혹병이 많이 발생하여 저항성 유전자가 들어있지 않은 계통임을 알 수 있었고, 'SS002', 'SS004', 'WR03', 'WR05' 및 'WR06'은 mutant type 2와 mutant type 3 균주에 의하여 저항성이 무너져서 기존 CR 품종과 동일한 저항성 유전자를 지니는 계통인 것으로 생각되었다. 'SS001', 'WR01', 'WR04' 및 'WR10'은 wild type과 mutant type 2 균주에 저항성 반응을 보여서 '항근종병대백채'와 저항성 유전자가 동일할 것으로 생각되었으며, 'SS003', 'WR07' 및 'WR08'은 '천하장군' 배추와 마찬가지로 mutant type 3을 제외한 나머지 세 그룹의 균주들에서 발병도 0.1 이하의 높은 저항성을 나타내는 것을 알 수 있었다.

효율적인 배추 뿌리혹병 저항성 품종 개발을 위하여 저항성 유전자를 모를 경우는 wild type 균주, 기존 CR 품종과 같은 병 저항성 유전자가 포함된 품종을 개발하기 위해서는 mutant type 1 균주, '항근종병대백채'와 같은 품종을 개발하기 위해서는 mutant type 2 균주,

‘천하장군’과 같은 저항성 유전자가 도입된 품종을 육종하기 위해서는 mutant type 1과 mutant type 2 균주를 혼합하여 사용하고, 이들과 전혀 다른 저항성 유전자가 포함된 품종 개발을 위해서는 mutant type 3 균주를 병리검정을 수행하는 것이 필요할 것이다.

Table 18. The degree of resistance of 15 Chinese cabbage lines to 11 field isolates of *Plasmidiophora brassicae*.

Line	Trait	GN	GN2	GS	JS	HS
WR02		4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	3.8 ± 0.6	3.0 ± 1.1
WR09		4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	3.9 ± 0.4	4.0 ± 0.0	3.8 ± 0.5
WR11		3.9 ± 0.4	4.0 ± 0.0	3.9 ± 0.4	3.7 ± 0.5	2.6 ± 1.1
SS002		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
SS004		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
WR03		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
WR05		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
WR06		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
SS001		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
WR01		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
WR04		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
WR10		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
SS003		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
WR07		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
WR08		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

(Continued)

Cultivar	Trait	DJ	KS	PC	YC	HN2	SS
WR02		3.8 ± 0.6	3.7 ± 0.5	4.0 ± 0.0	3.9 ± 0.3	3.8 ± 0.4	4.0 ± 0.0
WR09		3.9 ± 0.3	3.4 ± 1.1	4.0 ± 0.0	3.9 ± 0.3	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0
WR11		3.5 ± 1.1	3.3 ± 0.7	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	3.3 ± 0.7	3.9 ± 0.3
SS002		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	3.3 ± 1.1
SS004		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	3.4 ± 1.1
WR03		0.2 ± 0.6	0.0 ± 0.0	3.9 ± 0.3	4.0 ± 0.0	3.5 ± 1.0	3.2 ± 1.1
WR05		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	3.6 ± 0.7	3.3 ± 0.8
WR06		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	3.6 ± 0.7	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	2.3 ± 1.1
SS001		3.6 ± 0.7	3.9 ± 0.3	1.0 ± 0.9	0.0 ± 0.0	3.6 ± 0.9	3.1 ± 1.5

WR01	3.8 ± 0.7	4.0 ± 0.0	0.2 ± 0.4	0.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	3.6 ± 1.0
WR04	2.8 ± 1.2	3.3 ± 1.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	3.7 ± 1.0	2.7 ± 1.4
WR10	4.0 ± 0.0	3.3 ± 0.5	0.2 ± 0.4	0.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	3.7 ± 0.7
SS003	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.3	0.0 ± 0.0	3.1 ± 1.1	3.3 ± 1.0
WR07	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.3	0.0 ± 0.0	3.7 ± 0.7	1.5 ± 1.0
WR08	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	3.0 ± 1.4	2.5 ± 1.6

제 4절. 병리검정 지원

본 연구팀에 확립된 표 1의 병리검정 기술을 종자회사 및 육종학자가 의뢰한 다음과 같은 시료에 대하여 병리검정을 수행하고 결과를 제공하였다(Table 1-4).

Table 1. 내병성 육종을 위한 병리검정 서비스가 가능한 식물병 종류

작물	식물병	병원균	종류
무	뿌리혹병	<i>Plasmodiophora brassicae</i>	균류병
	시들음병	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>raphani</i>	균류병
	검은무늬병	<i>Alternaria brassicicola</i>	균류병
	무름병	<i>Pectobacterium carotovorum</i>	세균병
배추	뿌리혹병	<i>Plasmodiophora brassicae</i>	균류병
	시들음병	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>conglutinans</i>	균류병
	무름병	<i>Pectobacterium carotovorum</i>	세균병
고추	역병	<i>Phytophthora capsici</i>	균류병
	풋마름병	<i>Ralstonia solanacearum</i>	균류병
	세균성점무늬병	<i>Xanthomonas euvesicatoria</i>	세균병
	뿌리혹선충병	<i>Meloidogyne incognita</i>	선충병
파프리카	역병	<i>Phytophthora capsici</i>	균류병
	풋마름병	<i>Ralstonia solanacearum</i>	균류병
	뿌리혹선충병	<i>Meloidogyne incognita</i>	선충병
수박	탄저병	<i>Colletotrichum orbiculare</i>	균류병
	덩굴썩음병	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i>	균류병
	덩굴마름병	<i>Didymella bryoniae</i>	균류병
	뿌리혹선충병	<i>Meloidogyne incognita</i>	선충병

Table 2. 연차별 병리검정 서비스

구 분	의뢰 건수 (건)	의뢰 기관 수 (개)	병리검정 목표 (주)	병리검정(주)
1차년도	8	4	5,000	5,709
2차년도	17	8	10,000	10,340
3차년도	23	10	10,000	10,330
4차년도	22	9	15,000	21,276
합계	70		109,918	47,655

Table 3. 식물병 종류에 따른 연차별 병리검정 서비스

작물	식물병	1차년도	2차년도	3차년도	4차년도	합계
배추	뿌리혹병	4,730	8,595	7,510	15,686	36,521
무	뿌리혹병	0	120	470	1,530	2,120
	시들음병	760	120	2,250	2,560	5,690
	검은무늬병	0	0	100	460	560
고추	역병	140	170	0	1,040	1,350
	뿌리혹선충병	79	465	0	0	544
	흰가루병	0	490	0	0	490
	꽃마름병	0	100	0	0	100
수박	덩굴쫄김병	0	140	0	0	140
	탄저병	0	140	0	0	140
파프리카						
합계		5,709	10,340	10,330	21,276	47,655
목표		5,000	10,000	10,000	15,000	40,000

Table 4. 병리검정 의뢰내역

번호	의뢰날짜	의뢰기관	작물	시료종류	수량	병리검정 종류	누계 (연차별)
1	13-08-12	서울대	무	종자	150주	시들음병	150
2	13-09-10	우리종묘	배추	종자	2,680주	뿌리혹병	2,830
3	13-11-25	코레곤	배추	종자	155주	뿌리혹병	2,985
4	14-01-23	서울대	고추	종자	140주	역병	3,125
5	14-02-12	우리종묘	배추	종자	1,725주	뿌리혹병	4,850
6	14-03-03	서울대	고추	종자	79주	뿌리혹선충병	4,929
7	14-03-11	권농종묘	배추	종자	170주	뿌리혹병	5,099
8	14-03-11	권농종묘	무	종자	610주	시들음병	5,709
9	14-04-08	서울대	고추	종자	170주	역병	170
10	14-06-13	우리종묘	배추	종자	75주	뿌리혹병	245
11	14-07-02	서울대	고추	종자	202주	흰가루병	447
12	14-07-15	서울대	고추	종자	215주	뿌리혹선충	662
13	14-08-21	배추와 육종	배추	종자	1,950주	뿌리혹병	2,612
14	14-09-12	우리종묘	배추	종자	3,000주	뿌리혹병	5,612
15	14-09-19	코레곤	수박	종자	140주	탄저병	5,752
16	14-09-19	코레곤	수박	종자	140주	덩굴쫄김병	5,892
17	14-09-19	우리종묘	배추	식물	1,440주	뿌리혹병	7,332

18	14-09-30	아시아종묘	배추	식물	800주	뿌리혹병	8,132
19	14-10-07	서울대	무	종자	120주	시들음병	8,252
20	14-10-07	서울대	무	종자	120주	뿌리혹병	8,372
21	14-11-04	진흥종묘	고추	종자	100주	청고병	8,472
22	14-12-05	코레곤	배추	종자	1,200주	뿌리혹병	9,672
23	14-12-23	서울대	고추	종자	288주	흰가루병	9,960
24	15-01-13	서울대	고추	종자	250주	뿌리혹선충	10,210
25	15-01-14	우리종묘	배추	종자	130주	뿌리혹병	10,340
26	15-01-23	코레곤	배추	종자	270주	뿌리혹병	270
27	15-01-27	바이오브리딩(연)	배추	종자	200주	뿌리혹병	470
28	15-01-30	충남대	배추	종자	700주	뿌리혹병	1,170
29	15-01-30	권농종묘	무	종자	760주	시들음병	1,930
30	15-01-30	권농종묘	배추	종자	570주	뿌리혹병	2,500
31	15-02-16	우리종묘	배추	종자	1,860주	뿌리혹병	4,360
32	15-03-03	뉴란바이오	청경채	종자	150주	뿌리혹병	4,510
33	15-04-06	네오씨드	무	종자	500주	시들음병	5,010
34	15-05-18	우리종묘	배추	종자	40주	뿌리혹병	5,050
35	15-06-12	우리종묘	배추	종자	80주	뿌리혹병	5,130
36	15-09-22	배추와육종	배추	종자	1,950주	뿌리혹병	7,080
37	15-10-26	우리종묘	배추	종자	50주	뿌리혹병	7,130
38	15-11-09	한국종묘	배추	종자	540주	뿌리혹병	7,670
39	15-11-11	코레곤	배추	종자	660주	뿌리혹병	8,330
40	15-11-18	진흥종묘	무	종자	90주	시들음병	8,420
41	15-12-01	뉴란바이오	청경채	종자	320주	뿌리혹병	8,740
42	15-12-01	뉴란바이오	무	종자	300주	시들음병	9,040
43	15-12-01	뉴란바이오	무	종자	100주	뿌리혹병	9,140
44	15-12-01	뉴란바이오	무	종자	100주	검은무늬병	9,240
45	15-12-01	코레곤	무	종자	370주	뿌리혹병	9,610
46	15-12-01	코레곤	무	종자	370주	시들음병	9,980
47	15-12-04	원예특작과학원	무	종자	230주	시들음병	10,210
48	15-12-04	원예특작과학원	배추	종자	120주	뿌리혹병	10,330
49	15-12-07	권농종묘	무	종자	860주	시들음병	860
50	15-12-07	권농종묘	배추	종자	360주	뿌리혹병	1,220
51	15-12-14	배추와 육종	배추	종자	160주	뿌리혹병	1,380
52	15-12-14	배추와 육종	배추	종자	960주	뿌리혹병	2,340
53	15-12-23	코레곤	배추	종자	1,540주	뿌리혹병	3,880
54	16-01-04	우리종묘	배추	종자	840주	뿌리혹병	4,720
55	16-01-15	우리종묘	배추	종자	3,140주	뿌리혹병	7,860

56	16-02-03	충남대	배추	종자	3,080주	뿌리혹병	10,940
57	16-02-04	코레곤	배추	종자	1,140주	뿌리혹병	12,080
58	16-02-11	충남대	배추	종자	40주	뿌리혹병	12,120
59	16-04-07	에이스종묘	고추	종자	1,040주	역병	13,160
60	16-05-31	충남대	무	종자	150주	시들음병	13,310
61	16-09-01	코레곤	무	종자	750주	뿌리혹병	14,060
62	16-09-01	코레곤	무	종자	750주	시들음병	14,810
63	16-09-05	네오씨드	무	종자	800주	시들음병	15,610
64	16-09-05	네오씨드	무	종자	460주	검은무늬병	16,070
65	16-09-05	네오씨드	무	종자	780주	뿌리혹병	16,850
66	16-09-06	권농종묘	배추	종자	486주	뿌리혹병	17,336
67	16-09-06	한국종묘	배추	종자	220주	뿌리혹병	17,556
68	16-09-06	한국종묘	배추	종자	220주	뿌리혹병	17,776
69	16-10-17	배추와육종	배추	종자	2,890주	뿌리혹병	20,666
70	16-10-24	뉴란바이오	청경채	종자	610주	뿌리혹병	21,276

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1절. 목표달성도

연차	연구계획서상의 연구목표	연구 결과	달성도 (%)
1년차	-병리검정 수요 조사	GSP 참여 종자회사의 육종가를 대상으로 병리검정 수요 조사를 위한 설문 : 내병성 작물 개발을 위해 필요한 병리검정의 종류 및 수량 <ul style="list-style-type: none"> ○ 70개 과제 중 59개에 대하여 설문 조사하였음. ○ 설문 조사 과제 중 품종육성 과제는 45개였음. ○ 이들 중 병리검정 시설을 보유하고 있지 않아 병리검정 지원이 필요한 과제는 29개였음. ○ 병리검정 지원이 우선적으로 필요한 순서 순으로 정리하면 다음과 같음. <ul style="list-style-type: none"> - 수박: 덩굴쪄김병>덩굴마름병, 탄저병, 역병, 흰가루병 - 고추 및 파프리카: 역병, 바이러스병>풋마름병>흰가루병>탄저병, 세균성점무늬병 - 배추: 뿌리혹병> 바이러스병(TuMV)>노균병>무름병 - 무: 시들음병>검은무늬병,노균병>세균성검은무늬병, 무름병, 바이러스병 	100
	-수박 덩굴쪄김병에 대한 효율적인 병리검정 체계 확립	<ul style="list-style-type: none"> ○ 수박으로부터 분리한 덩굴쪄김병균의 동정: 형태적, 분자생물학적 방법으로 <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i>으로 동정 ○ 덩굴쪄김병균의 오이, 멜론, 참외, 수박에 대한 기주 특이성 조사: 수박에만 덩굴쪄김병 발생 ○ 병원균 레이스 조사: 관별품종 4종을 확보하여 시들음병 발생을 실험한 결과 감수성 품종에만 병을 일으켜 레이스 0로 판정 ○ 접종원 대량증식 방법 확립: 7종 배지에 대하여 포자 형성량을 조사하여 최적 배지 선발 그리고 배양 조건 및 수확 방법 확립 ○ 수박 시판 품종 19종 및 수박용 대목 품종 11종을 구입하여 덩굴쪄김병에 대한 저항성을 조사하여 감수성 3품종과 저항성 2품종 선발 ○ 선발 5품종을 이용하여 접종 방법, 접종원 농도, 발병 환경 등에 따른 이들 품종의 덩굴쪄김병 저항성 차이를 조사하여 감수성 품종은 감수성을 저항성 품종은 저항성을 보이는 최적 조건을 선정하였음 	100
	-병리검정 서비스	-1차년도에는 의뢰된 8건의 병리검정(배추 뿌리혹병 4,730, 무 시들음병 760, 고추 역병 140, 고추	100

		뿌리혹선충병 79)의 총 5,709에 대하여 병리검정을 수행하였음	
2차년도	-고추 뿌리혹선충병에 대한 효율적인 병리검정 체계 확립	<ul style="list-style-type: none"> ○ 고추 뿌리혹선충병을 일으키는 뿌리혹선충 <i>Meloidogyne incognita</i> 확보 ○ 접종원 대량증식 방법 확립: 토마토유묘를 이용하여 접종원을 증식하는 방법을 확립 ○ 접종원 종류 결정: 뿌리혹선충병 병리검정을 위한 접종원은 토마토 뿌리에 형성된 egg mass를 수확하여 이로부터 선충 알을 분리하고 이를 접종원으로 사용 ○ 고추 시판 품종 102종을 구입하여 뿌리혹선충병에 대한 저항성을 조사한 결과, 저항성이 44개 품종(43%), 중도저항성이 17품종(17%) 그리고 감수성이 41개 품종(40%)이었음 ○ 효율적인 뿌리혹선충병 병리검정 체계를 확립하기 위한 실험을 위하여 감수성 2품종, 중도저항성 2품종과 저항성 2품종 총 6개 품종을 선발 ○ 선발 6품종을 이용하여 식물 생육시기, 접종원 농도, 식물 이식시기 등에 따른 이들 품종의 뿌리혹선충병 저항성 차이를 조사하여 감수성 품종은 감수성을, 저항성 품종은 저항성을 보이는 병리검정 최적 조건을 확립하였음 	100
	-고추 풋마름병에 대한 효율적인 병리검정 체계 확립	<ul style="list-style-type: none"> ○ 고추로부터 분리한 풋마름병균인 <i>Ralstonia solanacearum</i> SL1931 (race 1, biovar 3)을 확보하였음 ○ 접종원 대량 증식 방법 확립: 균주는 -80C deep freezer에 보관하면서 사용하고 실험하기 전에 TZC (tetrazolium chloride) 배지에 접종하여 갈라 반응으로 병원성 유무를 확인하고 CPG broth 배지에 접종하고 30℃에서 48시간 동안 150rpm으로 진탕배양 ○ 대비 품종 확보 및 증식: 저항성 계통 'MC4'와 감수성 계통 '수비초'를 확보하고 증식하여 병리검정에 대조 품종으로 사용 ○ 효율적인 고추 풋마름병 저항성 검정 방법을 확립하기 위한 실험을 위하여 시판 품종 중 저항성으로 판매되고 있는 '무한질주'와 '미탕' 그리고 감수성인 '강력조생건'과 '신세계'를 선발 ○ 선발 4품종과 2개 계통을 이용하여 접종 방법, 접종원 농도, 발병 환경 등에 따른 이들 품종의 풋마름병 저항성 차이를 조사하여 감수성 품종은 감수성을 저항성 품종은 저항성을 보이는 최적 조건을 선정하였음 	100
	-배추 뿌리혹병 저항성 검정 업그레이드: 배추 뿌리혹병 race 판별체계 구축	<ul style="list-style-type: none"> ○ 우리나라 여러 지역으로부터 채집하여 증식한 뿌리혹병 균주 12개에 대한 우리나라, 중국, 일본 등으로부터 확보한 다양한 뿌리혹병 저항 	100

		<p>성 배추 품종들의 뿌리혹병 저항성을 조사하였음</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 기존 CR 15개 품종은 실험한 12개 균주에 대하여 동일한 저항성 반응을 보였으며, 이들 중 7개 균주에 대해서는 저항성을 보였으나, 5개 균주에 대해서는 감수성을 보였음 ○ 기존 CR 품종 15종과 다른 저항성 유전자가 도입된 ‘천하장군’과 ‘아키메키’(일본) 배추는 실험한 12개 균주에 대하여 동일한 저항성 반응을 보였으며, 이들 중 10개 균주에 대해서는 저항성을 보였으나, 2개 균주에 대해서는 감수성을 보였음 ○ 기존 CR 품종 40종과 또 다른 저항성 유전자가 도입된 ‘항근종병대백채’(중국), ‘덕고 CR1016’(중국), ‘김금3호대백채’(중국) 배추는 실험한 12개 균주에 대하여 동일한 저항성 반응을 보였으며, 이들 중 8개 균주에 대해서는 저항성을 보였으나, 4개 균주에 대해서는 감수성을 보였음 ○ 따라서 감수성 품종 ‘노랑김장’, 기존 CR 품종 ‘CR청록’, ‘항근종병대백채’, ‘천하장군’을 사용하면 이들 균주들은 4개 그룹으로 나눌 수 있음: 모든 CR 품종이 모두 저항성을 보이는 wild type 균주, CR청록과 천하장군만 저항성인 mutant type 1 균주, 항근종병대백채와 천하장군만 저항성을 나타내는 mutant type 2 균주 그리고 3개 저항성 품종이 모두감수성을 보이는 mutant type 3 균주 ○ 배추 뿌리혹병 저항성 품종을 개발하기 위한 전략을 수립하였음: 저항성 유전자를 모를 경우는 wild type 균주를 사용하고, 기존 CR 품종과 같은 병 저항성 유전자가 포함된 품종을 개발하기 위해서는 mutant type 1 균주를 사용하여 스크리닝에 사용하고, ‘항근종병대백채’와 같은 품종을 개발하기 위해서는 mutant type 2 균주를 사용하여 병리검정에 사용하고 ‘천하장군’과 같은 저항성 유전자가 도입된 품종을 개발하기 위해서는 mutant type 1과 mutant type 2 균주를 혼합하여 사용하고, 이들과 전혀 다른 저항성 유전자가 포함된 품종을 개발하기 위해서는 mutant type 3 균주를 사용하여 병리검정을 수행 	
-병리검정 서비스		<ul style="list-style-type: none"> ○ 2차년도에는 의뢰된 17건의 병리검정(배추 뿌리혹병 8,595, 무 시들음병 120, 무 뿌리혹병 120, 수박 탄저병 140, 수박 덩굴쪼김병 140, 고추 역병 170, 고추 흰가루병 490, 고추 꽃마름병 100, 고추 뿌리혹선충병 465)의 총 	

		10,340에 대하여 병리검정을 수행하였음	
3차년도	-수박 덩굴마름병에 대한 효율적인 병리검정 체계 확립	<ul style="list-style-type: none"> ○ 수박으로부터 분리한 덩굴마름병균 동정 : 분자생물학적 방법으로 <i>Dydimella bryoniae</i> 로 동정 ○ 접종원 종류 및 대량 증식 방법 : PDA에 접종하고 25℃ 암상태에서 7일 동안 배양한 후에 2일 동안 광을 조사하여 형성된 분생포자로 결정 ○ 대조 품종 선발 : 감수성 품종으로 ‘서태자’와 ‘꼬꼬마’ 그리고 중도저항성으로 ‘원더풀꽃’, ‘지존꽃’ ○ 수박 22품종을 실험하여 그 중 저항성 정도에 차이가 있는 4품종을 선발하여 접종 방법, 접종원 농도, 발병 환경 등에 따른 이들 품종의 덩굴쪄김병 저항성 차이를 조사하여 감수성 품종은 감수성을 저항성 품종은 저항성을 보이는 최적 조건을 선정하였음 - 접종원 농도 및 접종 방법 : ml 당 5×10⁵개 포자현탁액을 수박 유묘에 살포하여 접종 - 수박 성장 시기 : 본엽 2엽이 충분히 펼쳐지는 시기에 접종 - 발병 환경 : 접종한 수박 유묘를 25℃ 습실상에서 2일 동안 배양한 후에 항온항습실(25℃, RH 80%)로 이동하여 재배 - 병조사 방법 : 본엽 1, 2엽에 형성된 병반면적율(%) 조사 	100
	-병리검정 기술의 업그레이드 : 신속하고 정확한 병리검정 서비스를 위한 기획립 수박 덩굴쪄김병 병리검정 체계의 업그레이드	<ul style="list-style-type: none"> ○ 기존에 보유 수박 덩굴쪄김병균 2균주 외에 추가로 5균주를 확보하고 총 7균주의 레이스를 동정한 결과, 레이스 0는 2균주, 레이스 1은 4균주, 레이스 2는 1균주였음. ○ 기존에 확립하였던 수박 덩굴쪄김병 병리검정법을 보다 정확한 방법으로 업그레이드하기 위하여 중도저항성 품종인 ‘속노란꽃’을 포함한 4개 품종으로 발병 조건에 따른 수박 품종의 저항성 차이를 실험하여 효율적인 수박 덩굴쪄김병 병리검정법을 확립하였음. ○ 뿌리 침지 접종법을 이용한 수박 덩굴쪄김병 병리검정법의 단점인 절차가 복잡하고 노동력이 많이 소요되어 대량 검정이 용이하지 않은 단점을 개선하고자 scalpel로 상처를 내고 포자현탁액을 관주하여 접종하는 방법을 개발하였음. ○ 저항성 정도가 다른 4개 품종을 사용하여 scalpel 접종법으로 발병 조건에 따른 품종들의 덩굴쪄김병 발생을 조사하여 최적 조건을 확립하였음. ○ 확립한 scalpel 접종을 사용하여 실험한 수박 23품종의 덩굴쪄김병 저항성을 뿌리 침지 접 	100

		<p>종법과 비교하여 이 방법의 효용성을 확인하였음.</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 기존에 보유하고 있던 뿌리혹병균 20균주 외에 추가로 포장균주 8개를 확보하였음. 	
	-병리검정 서비스	<ul style="list-style-type: none"> ○ 3차년도에는 의뢰된 23건의 병리검정(배추 뿌리혹병 7,510, 무 시들음병 2,250, 무 뿌리혹병 470, 무 검은무늬병 100)의 총 10,330에 대하여 병리검정을 수행하였음 	100
4차년도	-배추 무름병에 대한 효율적인 병리검정 체계 확립	<ul style="list-style-type: none"> ○ 병원균 : <i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i> KACC 10225 ○ 대조 품종: R, 태봉 MR, 하대장군 S, CR알찬 ○ 식물 준비 : 파종 후 온실(25±5C)에서 3주 동안 재배한 배추 유묘 ○ 접종원 준비: <ul style="list-style-type: none"> - NA plate에 도말하여 30C에서 2일간 전배양하고 콜로니를 수확하여NB 배지를 이용하여 30C에서 200rpm으로 24-36시간 진탕배양 8,000rpm에서 10분간 원심 분리하여 균체를 회수 - 회수한 균체를 멸균수에 현탁하여 1×10⁶ cfu/ml이 되도록 조정하고 준비한 세균현탁액과 멸균한 glycerol과 4:1 비율이 되도록 첨가하고 잘 섞어줌 ○ 접종 및 발병 <ul style="list-style-type: none"> - 접종 방법 : 식물체 기부에 주 당 5ml씩 세균현탁액을 접종함 - 항온실(25C, RH 80%)에서 하루에 12시간 썬광을 조사하면서 재배 ○ 병 조사 : 병반면적율(%)로 조사 ○ 저항성 기준 : 대조 품종의 무름병 발생을 고려하여 결정(R, 0-10%; MR, 11-20%; S, 21% 이상) 	100
	-고추 세균점무늬병에 대한 효율적인 병리검정 체계 확립	<ul style="list-style-type: none"> ○ 병원균 : <i>Xanthomonas euvesicatoria</i> KACC 11164 ○ 대조 품종: R, 천년약속 MR, 베테랑 S, 타네강 ○ 식물 준비 : 온실(25±5℃)에서 약 28일 동안 재배한 4엽이 완전 전개된 고추 유묘 ○ 접종원 준비: <ul style="list-style-type: none"> - NA plate에 도말하여 30℃에서 1일간 전배양하고 콜로니를 수확하여 새로운 NA 배지에 접종하고 30℃에서 36시간 동안 배양한 균을 수확 - 회수한 균체를 멸균수에 현탁하여 1×10⁸ cfu/ml이 되도록 조정함 ○ 접종 및 발병 <ul style="list-style-type: none"> - 접종 방법 : 주 당 1ml의 세균현탁액을 사용 	

		<p>하여 고추 잎의 앞면과 뒷면에 접종함</p> <ul style="list-style-type: none"> - 30℃ 습실상에서 48시간 습실처리한 후에 항온실(25℃, RH 80%)에서 하루에 12시간 썬광을 조사하면서 재배 o 병 조사 : 접종 6-10일 후에 감수성 대조구에서 충분한 병이 발생하면 발병도 0-4로 병조사 o 저항성 기준 : 발병도 R, 0.5 이하; MR, 0.6-1.0; S, 1.1 이상) 	
	-병리검정 업그레이드 : 배추 뿌리혹병 race 판별체계 업그레이드	<ul style="list-style-type: none"> o 우리나라 여러 지역으로부터 채집하여 증식한 뿌리혹병 균주 12개에 대한 종자회사로부터 확보한 다양한 뿌리혹병 저항성 배추 계통들의 뿌리혹병 저항성을 조사하였음 o 실험한 계통 중 W11은 기존 배추 품종과 다른 저항성 반응을 보였으며, 저항성 반응은 질적 저항성 반응으로 레이스 판별기주로 사용하기에 충분하였음. o 따라서 감수성 품종 ‘노랑김장’, 기존 CR 품종 ‘CR청록’, ‘덕고CR117’, ‘천하장군’ 그리고 신규한 판별기주 ‘W11’을 사용하면 이들 균주들은 6개 레이스로 나눌 수 있음 	100
	-병리검정 서비스	<ul style="list-style-type: none"> o 4차년도에는 의뢰된 22건의 병리검정(배추 뿌리혹병 15,686; 무 시들음병 2,560; 무 뿌리혹병 1,530; 무 검은무늬병 460; 고추 역병 1,040)의 총 21,276에 대하여 병리검정을 수행하였음 	100
최종 목표	-병리검정 수요조사	-GSP 참여 종자회사의 육종가를 대상으로 병리검정 수요 조사를 위한 설문 : 내병성 작물 개발을 위해 필요한 병리검정의 종류 및 수량	100
	-채소작물 주요 식물병 5종에 대한 <i>in vivo</i> 검정 기술 확립	-수박 덩굴쪼김병, 수박 덩굴마름병, 고추 뿌리혹선충병, 고추 꽃마름병, 배추 무름병에 대한 저항성을 효율적으로 검정하기 위한 <i>in vivo</i> 병리검정 기술을 확립했음	
	-병리검정 기술 업그레이드	<ul style="list-style-type: none"> -대량의 시료도 간편하게 검정할 수 있는 수박 덩굴쪼김병 검정법을 확립하였음 -배추 뿌리혹병 내병성 품종 육종을 위한 배추 뿌리혹병균 레이스 판별체계를 구축하였음 	
	-병리검정 서비스	-종자회사 및 육종학자가 의뢰한 70건 47,655점 의뢰 채소 종자의 내병성을 검정하고 결과를 제공하였음	

제 2절. 관련분야에의 기여도

1. 수박, 배추, 고추에 발생하는 주요 식물병 6에 대한 효율적인 *in vivo* 병리검정 체계를 확립하여 종자회사의 병리검정을 지원할 수 있는 내병성 육종 기반을 갖추었다고 판단된다.
2. 국내의 종자산업 관련 육종회사 중 자체적으로 병리검정을 진행하고 있는 종자회사는 소수이다. 따라서 확립한 병리검정 기술을 이용하여 종자회사의 병리검정을 지원하여 내병성 품종을 개발하는데 기여하였다. 이러한 *in vivo* 병리검정 서비스는 내병성 품종 개발 연한을 단축하고 선발효율을 증진함으로써 병저항성 품종에 대한 국제 경쟁력 확보할 수 있게 되었다. 이러한 병저항성 품종 개발은 안전 농산물 생산함으로써 최종적으로 국민 건강을 증진할 것으로 기대한다.
3. 과제에서 확립한 병리검정 기술은 논문으로 발표하여 후학들이 이용할 수 있도록 하여 우리나라 종자기업의 국가 경쟁력 강화에 기여하였다.

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제 1절. 연차별 연구성과 목표

(단위 : 건수)

구분	수출액 (단위: 만불)	국내매출 및 수입대체액 (단위:억원)	신품종			병리 검정 기술 확립	논문		병리 검정 (점)
			국내외품종 신고 및 판매 건수	국내(외)품종보호			SCI	비SCI	
				출원	등록				
1차년도	목표					1		1	5,000
	달성					1		0	5,709
2차년도	목표					2	1	1	10,000
	달성					2	1	2	10,340
3차년도	목표					1	1	1	10,000
	달성					1	2	1	10,330
4차년도	목표					2	1	1	15,000
	달성					2	2	3	21,276
1단계	목표					6	3	4	40,000
	달성					6	5	6	47,655

제 2절. 논문

SCI 5편

1. Ji Hyun Lee, Kyoung Soo Jang, Won Jeong Lee, Yong Ho Choi, and Gyung Ja Choi. 2014. Resistance of cucurbits to *Podosphaera xanthii* race 1. **Kor. J. Hort. Sci. Technol.** 32(5): 673-683.
2. Won Jeong Lee, Ji Hyun Lee, Kyoung Soo Jang, Yong Ho Choi, Heung Tae Kim, and Gyung Ja Choi. 2015. Development of efficient methods for melon plants resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. **Kor. J. Hort. Sci. Technol.** 33(1): 70-82.
3. Eun Ju Jo, Ji Hyun Lee, Yong Ho Choi, Jin-Cheol Kim, and Gyung Ja Choi. 2015. Development of an efficient method of screening for watermelon plants resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. **Kor. J. Hort. Sci. Technol.** 33(3): 409-419.
4. Sung Min Hwang, Kyoung Soo Jang, Yong Ho Choi, and Gyung Ja Choi. 2016. Development of an efficient screening method for resistance of chili pepper plants to *Meloidogyne incognita*. **Korean J. Hort. Sci. Technol.** 34(2): 282-293.
5. Hun Kim, Eun Ju Jo, Yong Ho Choi, Kyoung Soo Jang, and Gyung Ja Choi. 2016. Pathotype classification of *Plasmiodiophora brassicae* isolates using clubroot-resistant cultivar of Chinese cabbage. **Plant Pathol. J.** 32(5):423-430.

비SCI 6편

1. 황성민, 장경수, 최용호, 김진철, 최경자. 2014. 오이 뿌리혹선충병에 대한 효율적인 저항성 검정법 확립. 식물병연구 20(2): 119-125.
2. 이지현, 김진철, 장경수, 최용호, 최경자. 2014. 오이 덩굴쪄김병병에 대한 효율적인 저항성 검정 방법. 식물병연구 20(4): 245-252.
3. 이원정, 장경수, 최용호, 김홍태, 김진철, 최경자. 2015. 덩굴쪄김병 저항성 멜론을 위한 효율적이고 간편한 대량 검정법 개발. 식물병연구 21(3): 201-207.
4. 이지현, 장경수, 최용호, 김진철, 최경자. 2016. 수박 덩굴마름병에 대한 효율적인 저항성 검정 방법 개발. 식물병연구 22(2): 72-80.
5. 이지현, 장경수, 최용호, 김현, 최경자. 2016. 무 시들음병에 대한 간편한 대량 저항성 검정법 개발. 식물병연구 22(3): 152-157.
6. Jinsoo Chung, Jae-yeong Han, Jungkyu Kim, Hyekyoung Ju, Junsu Gong, Eun-young Seo, SuRyun Choi, YongPyo Lim, John Hammond and Hyoun-Sub Lim. 2016. Nationwide survey of *Turnip mosaic virus* and selection of cabbage lines with resistance against major TuMV isolates. Korea Journal of Agricultural Science. 43(4): 567-574.

제 3절. 학회발표

국내발표 15편

1. Sung Min Hwang, Kyoung Soo Jang, Yong Ho Choi, Jin-Cheol Kim, and Gyung Ja Choi. Development of efficient screening methods for resistance of cucumber cultivars to *Meloidogyne incognita*. 한국식물병리학회 추계학술발표회 2013. 10. 17-18(순천, 순천대학교).
2. Won Jeong Lee, Jin-Cheol Kim, Kyoung Soo Jang, Yong Ho Choi, Heung Tae Kim and Gyung Ja Choi. Evaluation of resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* in cucurbits. 한국식물병리학회 추계학술발표회 2013. 10. 17-18(순천, 순천대학교).
3. Eun Ju Jo, Ji Hyun Lee, Kyoung Soo Jang, Yong Ho Choi, Jin-Cheol Kim, and Gyung Ja Choi. Screening of watermelon cultivars on host specificity and resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. 한국식물병리학회 추계학술발표회 2013. 10. 17-18(순천, 순천대학교).
4. Ji Hyun Lee, Jin-Cheol Kim, Kyoung Soo Jang, Yong Ho Choi, and Gyung Ja Choi. Powdery mildew resistance of cucurbits to *Podosphaera xanthii* race1. 한국식물병리학회 추계학술발표회 2013. 10. 17-18(순천, 순천대학교).
5. Eun Ju Jo, Kyoung Soo Jang, Yong Ho Choi, Jin-Cheol Kim, and Gyung Ja Choi. Development of efficient screening method for resistance of watermelon to *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. 한국식물병리학회 춘계학술발표회 2014. 4. 24-25(안동, 안동대학교).
6. Won Jeong Lee, Ji Hyun Lee, Jin-Cheol Kim, Kyoung Soo Jang, Yong Ho Choi, Heung Tae Kim and Gyung Ja Choi. Development of efficient screening method for resistance

of melon cultivars to Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. 한국식물병리학회 춘계학술발표회 2014. 4. 24-25(안동, 안동대학교).

7. Ji Hyun Lee, Eun Ju Jo, Jin-Cheol Kim, Kyoung Soo Jang, Yong Ho Choi, and Gyung Ja Choi. Evaluation of disease resistance of cabbage and broccoli cultivars to clubroot and Fusarium wilt. 한국식물병리학회 춘계학술발표회 2014. 4. 24-25(안동, 안동대학교).
8. Sung Min Hwang, Kyoung Soo Jang, Yong Ho Choi, Jin-Cheol Kim, and Gyung Ja Choi. Development of efficient screening methods for resistance of pepper cultivars to *Meloidogyne incognita*. 한국식물병리학회 춘계학술발표회 2014. 4. 24-25(안동, 안동대학교).
9. Sung Gun Yoon, Won Jeong Lee, Vu Thu Thuy, Heung Tae Kim and Gyung Ja Choi. Development of an efficient simple mass-screening method for resistant melon to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. 한국식물병리학회 춘계학술발표회. 2015. 4.23-24(청주, 충북대학교). (P194-195, 병리검정)
10. Eun Ju Jo, Kyoung Soo Jang, Jin-Cheol Kim and Gyung Ja Choi. Resistance of F₁ cultivars and F₃ hybrids of cabbage to isolates of *Plasmodiophora brassicae*. 한국식물병리학회 춘계학술발표회. 2015. 4.23-24(청주, 충북대학교). (병리검정, P194)
11. Ji Hyun Lee, Yong Ho Choi, Jin-Cheol Kim and Gyung Ja Choi. Efficient screening method for resistance of cucumber cultivars to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. 한국식물병리학회 춘계학술발표회. 2015. 4.23-24(청주, 충북대학교). (병리검정, P196)
12. Gyung Ja Choi. Development of a new classification of *Plasmodiophora brassicae* races using differential genotypes of Chinese cabbage. 한국식물병리학회 춘계학술발표회 특강. 2015. 4.23-24(청주, 충북대학교). (병리검정, P107)
13. Hun Kim and Gyung Ja Choi. New classification of *Plasmodiophora brassicae* races using differential genotypes of Chinese cabbage. 한국균학회 춘계학술발표회 및 국제공동 뿌리혹병 심포지움 특강. 2015. 5.13(대전, 대전컨벤션센터). (무기반, P**)
14. Eun Ju Jo, Bo Ra Kim, Yong Ho Choi and Gyung Ja Choi. Development of an efficient simple mass-screening method for resistant watermelon plants to *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. 한국식물병리학회 추계학술발표회. 2015. 10. 21-23(거제도, 대명리조트). (병리검정, P175)
15. Ji Hyun Lee, Sung Geon Yoon, Min Young Kim and Gyung Ja Choi. Efficient screening method for resistance of tomato cultivars to *Ralstonia solanacearum*. 한국식물병리학회 추계학술발표회. 2015. 10. 21-23(거제도, 대명리조트). (병리검정, P176)

제 4절. 특허

국내출원 1건

지식재산권[발명특허, 실용신안, 의장, 상표, 규격] 등으로 구분하고, 세부적으로 전부(건별로)기록하며, 국외인 경우 반드시 국명을 기록합니다]									
구 분	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국 명	출원			등 록			기 타
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
발명특허	배추 뿌리혹병균의 레이스를 판별하는 신규한 방법	대한민국	한국화학연구원	2015.10.02	10-2015-0139070				

관인생략

출원번호통지서



출원 일자 2015.10.02
 특 기 사 항 심사청구(유) 공개신청(무)
 출원 번호 10-2015-0139070 (접수번호 1-1-2015-0956240-73)
 출원인 명칭 한국화학연구원(3-1998-007765-1)
 대리인 성명 이원희(9-1998-000385-9)
 발명자 성명 최경자 조은주 장경수 최윤희 김현
 발명의 명칭 배추 뿌리혹병균의 레이스를 판별하는 신규한 방법

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동봉된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.
 ※ 납부자번호 : 0131(기관코드) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [출원인코드 정보변경(경정), 정정 신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
 ※ 특허로(patent.go.kr) 접속 > 민원서비스다운로드 > 특허법 시행규칙 별지 제5호 서식
4. 특허(실용신안등록)출원은 명세서 또는 도면의 보정이 필요한 경우, 등록결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허-실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.
 ※ 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr>-특허마당-PCT/마드리드
 ※ 우선권 인정기간 : 특허-실용신안은 12개월, 상표-디자인은 6개월 이내
 ※ 미국특허상표청의 선출원을 기초로 우리나라에 우선권주장출원 시, 선출원이 미공개상태이면, 우선권로부터 16개월 이내에 미국특허상표청에 [전자적교환허가서(PTO/SB/39)]를 제출하거나 우리나라에 우선권 증명서류를 제출하여야 합니다.
6. 본 출원시실을 외부에 표시하고자 하는 경우에는 아래와 같이 하여야 하며, 이를 위반할 경우 관련법령에 따라 처벌을 받을 수 있습니다.
 ※ 특허출원 10-2010-0000000, 상표등록출원 40-2010-0000000
7. 기타 심사 절차에 관한 사항은 동봉된 안내서를 참조하시기 바랍니다.

제 5절. 병리검정 서비스

1. 병리검정 의뢰내역

번호	의뢰날짜	의뢰기관	작물	시료 종류	수량	병리검정 종류	누계 (연차별)
1	13-08-12	서울대	무	종자	150주	시들음병	150
2	13-09-10	우리종묘	배추	종자	2,680주	뿌리혹병	2,830
3	13-11-25	코레곤	배추	종자	155주	뿌리혹병	2,985
4	14-01-23	서울대	고추	종자	140주	역병	3,125
5	14-02-12	우리종묘	배추	종자	1,725주	뿌리혹병	4,850
6	14-03-03	서울대	고추	종자	79주	뿌리혹선충병	4,929
7	14-03-11	권농종묘	배추	종자	170주	뿌리혹병	5,099
8	14-03-11	권농종묘	무	종자	610주	시들음병	5,709
9	14-04-08	서울대	고추	종자	170주	역병	170
10	14-06-13	우리종묘	배추	종자	75주	뿌리혹병	245
11	14-07-02	서울대	고추	종자	202주	흰가루병	447
12	14-07-15	서울대	고추	종자	215주	뿌리혹선충	662
13	14-08-21	배추와 육종	배추	종자	1,950주	뿌리혹병	2,612
14	14-09-12	우리종묘	배추	종자	3,000주	뿌리혹병	5,612
15	14-09-19	코레곤	수박	종자	140주	탄저병	5,752
16	14-09-19	코레곤	수박	종자	140주	덩굴썩김병	5,892
17	14-09-19	우리종묘	배추	식물	1,440주	뿌리혹병	7,332
18	14-09-30	아시아종묘	배추	식물	800주	뿌리혹병	8,132
19	14-10-07	서울대	무	종자	120주	시들음병	8,252
20	14-10-07	서울대	무	종자	120주	뿌리혹병	8,372
21	14-11-04	진흥종묘	고추	종자	100주	청고병	8,472
22	14-12-05	코레곤	배추	종자	1,200주	뿌리혹병	9,672
23	14-12-23	서울대	고추	종자	288주	흰가루병	9,960
24	15-01-13	서울대	고추	종자	250주	뿌리혹선충	10,210
25	15-01-14	우리종묘	배추	종자	130주	뿌리혹병	10,340
26	15-01-23	코레곤	배추	종자	270주	뿌리혹병	270
27	15-01-27	바이오브리딩(연)	배추	종자	200주	뿌리혹병	470
28	15-01-30	충남대	배추	종자	700주	뿌리혹병	1,170
29	15-01-30	권농종묘	무	종자	760주	시들음병	1,930
30	15-01-30	권농종묘	배추	종자	570주	뿌리혹병	2,500
31	15-02-16	우리종묘	배추	종자	1,860주	뿌리혹병	4,360
32	15-03-03	뉴란바이오	청경채	종자	150주	뿌리혹병	4,510
33	15-04-06	네오씨드	무	종자	500주	시들음병	5,010
34	15-05-18	우리종묘	배추	종자	40주	뿌리혹병	5,050
35	15-06-12	우리종묘	배추	종자	80주	뿌리혹병	5,130
36	15-09-22	배추와육종	배추	종자	1,950주	뿌리혹병	7,080

37	15-10-26	우리종묘	배추	종자	50주	뿌리혹병	7,130
38	15-11-09	한국종묘	배추	종자	540주	뿌리혹병	7,670
39	15-11-11	코레곤	배추	종자	660주	뿌리혹병	8,330
40	15-11-18	진흥종묘	무	종자	90주	시들음병	8,420
41	15-12-01	뉴란바이오	청경채	종자	320주	뿌리혹병	8,740
42	15-12-01	뉴란바이오	무	종자	300주	시들음병	9,040
43	15-12-01	뉴란바이오	무	종자	100주	뿌리혹병	9,140
44	15-12-01	뉴란바이오	무	종자	100주	검은무늬병	9,240
45	15-12-01	코레곤	무	종자	370주	뿌리혹병	9,610
46	15-12-01	코레곤	무	종자	370주	시들음병	9,980
47	15-12-04	원예특작과학원	무	종자	230주	시들음병	10,210
48	15-12-04	원예특작과학원	배추	종자	120주	뿌리혹병	10,330
49	15-12-07	권농종묘	무	종자	860주	시들음병	860
50	15-12-07	권농종묘	배추	종자	360주	뿌리혹병	1,220
51	15-12-14	배추와 육종	배추	종자	160주	뿌리혹병	1,380
52	15-12-14	배추와 육종	배추	종자	960주	뿌리혹병	2,340
53	15-12-23	코레곤	배추	종자	1,540주	뿌리혹병	3,880
54	16-01-04	우리종묘	배추	종자	840주	뿌리혹병	4,720
55	16-01-15	우리종묘	배추	종자	3,140주	뿌리혹병	7,860
56	16-02-03	충남대	배추	종자	3,080주	뿌리혹병	10,940
57	16-02-04	코레곤	배추	종자	1,140주	뿌리혹병	12,080
58	16-02-11	충남대	배추	종자	40주	뿌리혹병	12,120
59	16-04-07	에이스종묘	고추	종자	1,040주	역병	13,160
60	16-05-31	충남대	무	종자	150주	시들음병	13,310
61	16-09-01	코레곤	무	종자	750주	뿌리혹병	14,060
62	16-09-01	코레곤	무	종자	750주	시들음병	14,810
63	16-09-05	네오씨드	무	종자	800주	시들음병	15,610
64	16-09-05	네오씨드	무	종자	460주	검은무늬병	16,070
65	16-09-05	네오씨드	무	종자	780주	뿌리혹병	16,850
66	16-09-06	권농종묘	배추	종자	486주	뿌리혹병	17,336
67	16-09-06	한국종묘	배추	종자	220주	뿌리혹병	17,556
68	16-09-06	한국종묘	배추	종자	220주	뿌리혹병	17,776
69	16-10-17	배추와육종	배추	종자	2,890주	뿌리혹병	20,666
70	16-10-24	뉴란바이오	청경채	종자	610주	뿌리혹병	21,276

제 6절. 교육 · 지도

번호	프로그램명	프로그램 내용	교육 기간	교육시간	교육인원
1	제 21기 종자관리전문가 교육 훈련(국립종자원 주관)	「식물병 진단」	2016.7.27	2시간	17명

제 7절. 홍보

종 류	홍보 내역
대외홍보	‘자주적인 식량안보와 종자강국을 꿈꾸며’ 기고문 게재 (2016. 10. 14. 중도일보)

제 8절. 추가연구, 타연구에 활용

- 1단계에서 확립한 병리검정 기술은 GSP 골든 시드 프로젝트 2단계에서 육종가들에게 지속적으로 내병성 품종개발을 위한 병리검정 서비스에 활용할 예정이며, 본 연구팀에서 제공한 병리검정 결과는 내병성 품종 개발을 촉진하여 우리나라 종자기업의 국가 경쟁력 강화 및 수출 확대에 이용될 예정이다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

1) 내병성 고추 품종

식품 안전성에 대한 관심이 증가하면서 합성 작물보호제를 사용하지 않고 재배한 유기농 산물에 대한 수요가 증가하고 있다. 이에 따라 식물병을 방제하기 위한 수단으로 생물농약과 함께 내병성 품종의 개발이 크게 요구되고 있다. 우리나라는 세계적 수준의 고추 육종기술을 보유하고 있으며, 지금까지 역병(Phytophthora blight), 바이러스 저항성 품종 및 탄저병(anthracnose) 저항성 품종 육성에 큰 성과가 있었다. 일반 고추 품종이 1200립 당 1-2만원이면 역병과 바이러스 저항성 품종은 5-6만원 내외 그리고 역병, 바이러스, 탄저병 복합저항성 품종은 15-24만원이므로 고부가가치 고추 종자의 핵심은 내병성이다. 하지만 풋마름병(청고병, bacterial wilt), 흰가루병(powdery mildew), 뿌리혹선충병(root-knot nematode) 등에 대한 저항성 품종의 개발은 아직 미약한 실정이다. 따라서 이들 고추에 발생하는 주요병해에 대한 내병성 품종의 개발이 요구되고 있으며, 특히 지구 온난화에 따른 풋마름병 발생이 증가하고 있어 풋마름병 저항성 품종 개발은 시급히 필요하다. 이들 식물병에 대한 내병성 품종의 개발은 국내 고추 종자 시장 규모의 확대와 수출 경쟁력을 높여줄 수 있을 것이다.

2) 내병성 배추 품종

배추에서 요구되는 내병성 품종의 1순위는 뿌리혹병(clubroot)인데, 뿌리혹병 저항성 품종은 일본, 중국, 우리나라에서만 개발되었을 정도로 우리의 배추 육종 기술은 뛰어나다. 하지만 1세대로 뿌리혹병 저항성 품종 즉 우리나라 종자회사 대부분이 뿌리혹병 저항성 품종으로 개발한 배추 품종은 뿌리혹병균에 대하여 강한 저항성을 나타낸다. 하지만 이들 CR 저항성 품종은 같은 지역에 연속적으로 재배하게 되면 수 년 이내에 이 저항성 품종을 감염할 수 있는 새로운 뿌리혹병균이 확산하게 되어 CR 저항성 품종에도 마치 감수성 품종처럼 뿌리혹병이 발생하고 있다. 따라서 이들 신균주에 대해서도 저항성을 나타낼 수 있는 슈퍼 CR계 품종 개발이 요구되고 있다. 이외에도 노균병, 무름병, TuMV 저항성 품종이 요구되고 있다.

3) 내병성 무 품종

응성불임성과 자가불화합성을 이용한 우리나라의 무의 육종 기술은 세계 최고 수준이며 채소 중 무의 수출 비중이 크게 증가하고 있다. 무에 발생하는 주요 병해는 뿌리혹병, 시들음병(위황병), 무름병 및 Turnip mosaic virus(TuMV) 등이 있는데, 현재 여러 회사에서 시들음병(위황병) 저항성과 뿌리혹병 저항성 무 품종이 개발되어 판매되고 있다. 하지만 TuMV와 검은썩음병 저항성 품종은 아직 개발되지 않았다. 따라서 이들 식물병에 대한 저항성 품종을 개발한다면 글로벌 경쟁력이 충분히 있을 것이다.

4) 내병성 수박 품종

수박의 전통 육종은 세계 최고 수준의 기술을 보유하고 있으며 국산 품종 점유율은 약 95%이다. 하지만 아직 수박 종자 수출은 미약하여 채소 종자 수출액 중 2%에 불과하다. 최근에는 기존의 수박종자 시장의 패러다임을 뛰어넘는 새로운 품종들이 중소규모 종자회사에서 개발되어 글로벌 시장 점유율을 높여가고 있는 추세이다. 또한 건강에 대한 관심이 증가함에

따라 유기농 수박에 대한 수요도 증가하고 있다. 수박에 발생하는 주요 병해는 탄저병, 흰가루병, 균핵병, 덩굴쪄김병 등이 있다. 하지만 수박 품종 중 내병성 품종은 거의 없는 실정이다. 한편 탄저병 저항성 수박 품종은 육성한 바 있으나 아직 출시된 제품은 없는 상태이다. 따라서 내병성 품종이 개발된다면 유기농 수박 재배로 인한 수박 종자 시장의 규모가 크게 증가할 것이다.

5) 내병성 파프리카 품종

파프리카는 건강식품으로 인식되어 국내 수요가 크게 증가하고 있으며 또한 1990년대 중반부터 일본 수출 품목으로 급속히 성장하여 2011년에는 424 ha의 면적에서 43,160톤이 생산되었고 이들 중 16,500톤을 수출하였다. 하지만 이에 필요한 종자는 거의 수입에 의존하고 있으며, 파프리카 품종 육성을 위한 기술 수준은 매우 낮은 편이다. 하지만 육종 기술이 우수한 고추와 같은 종에 속하므로 고추에 도입된 병 저항성 유전자원을 파프리카에 도입하여 내병성 품종을 육성할 수 있을 것이다. 파프리카에 발생하는 주요 병해는 재배 환경에 따라 발생하는 주요 병해에 차이가 있으나 기본적으로 고추와 동일하다.

제 7 장 참고문헌

- 이성희. 2002. 배추 세균성무름병에 대한 효과적 접종법과 저항성 유도. 농학석사학위논문. 충북대학교.
- 이영기, 이은형, 명인식, 최효원, 이영규, 심홍식 (2015) 배추무름병의 발생현황 및 관여 병원세균의 특성. 한국농약과학회 정기총회 및 춘계학술발표회 논문집.
- 조용섭, 박창석, 이순구, 이영근, 임춘근, 차재순, 최용철, 최재을, 허성기, 황인규. (1999) 식물세균병학. 서울대학교 p.313-316.
- Agrios, G.N. 2005. Genetics of plant disease, p. 163-164. In: Plant pathology. 5th ed. Elsevier Academic Press, Burlington, USA.
- Aleck, J. R., & Harrison, M. D. (1978) The influence of inoculum density and environment on the development of potato blackleg. American Journal of Potato Research, 55(9):479-494.
- Balatero, C.H., Hautea, D.M., Narciso, J.O. and P.M. Hanson. 2005. QTL mapping for bacterial wilt resistance in Hawaii 7996 using AFLP, RGA, and SSR markers. In : Bacterial Wilt Disease and the *Ralstonia solanacearum* Species Complex, ed. by C. Allen, P. Prior and A. C. Hayward, pp. 301-307. APS press, St. Paul, USA.
- Barker, K.R., D.P. Schmitt, and J.L. Imbriani. 1985. Nematode population dynamics with emphasis on determining damage potential to crops. p. 135-148. In: K.R. Barker, C.C. Carter, and J.N. Sasser (eds), An advanced treatise on Meloidogyne, Vol. II. North Carolina State University, Raleigh, North Carolina, USA.
- Bosland, P.W.1996. Capsicums: Innovative uses of an ancient crop, p. 479-487. In: J. Janick (eds), Progress in new crops. ASHS Press, Arlington, VA, USA.
- Boyhan, G., Norton, J.D. and Abrahams, B.R. 1994. Screening for resistance to anthracnose (race 2), gummy stem blight, and root knot nematode in watermelon germplasm. Cucurbit Genet. Coop. Rpt. 17:106-110.
- Bridge, J. and S.L.J. Page. 1980. Estimation of root-knot nematode infestation levels on roots using a rating chart. Trop. Pest Manage. 26:296-298.
- Buczacki, S. T., Toxopeus, H., Mattusch, P., Johnston, T. D., Dixon, G. R. and Hobolth, L. A. 1975. S서요 of physiologic specialization in *Plasmodiophora brassicae*: Proposals for attempted rationalization through an international approach. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 65: 295-303.
- Buddenhagen, I., Sequeira, L. and A. Kelman. 1962. Designation of races in *Pseudomonas solanacearum*. Phytopathology 52:726.
- Chatterjee, A., Murata, H., McEvoy, J. L., & Chatterjee, A. (1994). Global regulation of pectinases and other degradative enzymes in *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, the incitant of postarvest decay in vegetables. HortScience 29: 754-758.
- Chen, Z.X., Dickson, D.W., McSorley, R., Mitchell, D.J. and T.E. Hewlett. 1996. Suppression of *Meloidogyne arenaria* race 1 by soil application of endospores of *Pasteuria penetrans*. J. Nematol. 28: 159-168.

- Chiu, W.F. and Walker, J.C. 1949a. Morphology and variability of the cucurbit black rot fungus. *J. Agr. Res.* 78:81-102.
- Chiu, W.F. and Walker, J.C. 1949b. Physiology and pathogenicity of cucurbit black-rot fungus. *J. Agric. Res.* 78:589-615.
- Cho H.J and S.C. Han. 1986. 경제작물 주산단지의 선충 발생상황 조사. *Korean J. Plant Protect.* 25:175-182
- Chun, J. 1995. Computer-assisted classification and identification of Actinomycetes. PhD Diss., Newcastle Univ., Newcastle upon Tyne, UK.
- Chung JS, Han JY, Kim JK, Gong JS, Seo EY, Hammond J, Lim HS. 2015. Survey of viruses present in radish fields in 2014. *Research in Plant Disease* 21:235-242.
- Cirulli, M. 1972. Variation of pathogenicity in *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* and resistance in watermelon cultivars. p. 491-500. In: *Actas III Congr. Un. Fitopatol. Mediterr. Oeiras.*
- Crall, J.M. 1963. Physiologic specialization in *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *Phytopathology* 53:873.
- De Boer, S. H. and Kelman, A. (1978) Influence of oxygen concentration and storage factors on susceptibility of potato tubers to bacterial soft rot (*Erwinia carotovora*). *Potato Res.* 21:65-80.
- Denny T.P. and A.C. Hayward. 2001. II Gram-negative bacteria. *Ralsotonia*. In: *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*, Schaad, N.W., J.B. Jones and W. Chun (Eds.). 3rd Edn., APS Press, St. Paul, MN, pp: 151-173.
- Di Vito, M. and F. Saccardo. 1979. Resistance of Capsicum species to *Meloidogyne incognita*. p. 455-456 In: *Root-knot nematodes (Meloidogyne sp.)*. Systemics, biology and control. Lamberti F. and C.E. Taylor (eds). London: Academic Press.
- Djian-Caporalino, C., Fazari, A., Arguel, M.J., Vernie, T., VandeC-asteele, C., Faure, I., Brunoud, G., Pijarowski, L., Palloix, A., Lefebvre, V. and P. Abad. 2007. Root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) *Me* resistance genes in pepper (*Capsicum annuum* L.) are clustered on the P9 chromosome. *Theor. Appl. Genet.* 114:473-486.
- Djian-Caporalino, C., Pijarowski, L., Fazari, A., Samson, M., Gaveau, L., O'Byrne, C., Lefebvre, V., Caranta, C., Palloix, A. and P. Abad. 2001. High-resolution genetic mapping of the pepper (*Capsicum annuum* L.) resistance loci *Me3* and *Me4* conferring heat-stable resistance to root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) *Theor. Appl. Genet.* 103:592-600.
- Djian-Caporalino, C., Pijarowski, L., Januel, A., Lefebvre, V., Daubeze, A., Palloix, A., Dalmasso, A. and P. Abad. 1999. Spectrum of resistance to root-knot nematodes and inheritance of heat-stable resistance in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 99:496-502.
- Elmstrom, G.W. and D.L. Hopkins. 1981. Resistance of watermelon cultivars to Fusarium wilt. *Plant Dis.* 65:825-827.
- Fassuliotis, G. 1985. The role of nematologist in the development of resistance cultivars. p.

- 233-240. In: J.N. Sasser and C.C. Cater (eds), An advanced treaties on *Meloidogyne*. Vol. I: biology and control. North Carolina State University, Raleigh, North Carolina, USA.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-791.
- Fox, R. T. V., Manners, J. G., and Myers, A. (1971) Ultrastructure of entry and spread of *Erwinia carotovora* var. *atroseptica* into potato tubers. *Potato Res.* 14:61-73.
- Geiser, D.M., M. Jiménez-Gasco, S. Kang, I. Makalowska, N. Veeraraghavan, T.J. Ward, N. Zhang, G.A. Kuldau, and K. O'Donnell. 2004. FUSARIUM-ID v. 1.0: A DNA sequence database for identifying *Fusarium*. *Eur. J. Plant Pathol.* 110:473-479.
- Gonzalez, L., Sequeira, L. and P.R. Row. 1973. A root inoculation techniques to screen potato seedling for resistance to *Pseudomonas solanacearum*. *Amer. Potato J.* 50:96-104.
- Hahm YI, Kwon M, Kim JS, Seo HY, Ahn JH. 1998. Surveys on disease occurrence in major horticultural crops in Kangwon alpine areas. *Korean Journal of Plant Pathology* 14:668-675.
- Han JY, Chung JS, Kim JK, Seo EY, Kilcrease J, Bauchan G, Lim SM, Hammond J, Lim HS. 2016. Comparison of helper component-protease RNA silencing suppression activity, subcellular localization, and aggregation of three Korean isolates of Turnip mosaic virus. *Virus genes* 52:1-5.
- Han S.C. and Y.G. Kim. 1997. Screening Resistant Red Pepper Varieties to *Meloidogyne hapla* and their Resistance Mechanisms. *Korean J. Appl. Entomol.* 36:185-191.
- Hare, W.W. 1956. Resistance to root-knot nematodes in pepper. *Phytopathol.* 46:98-104.
- Hare, W.W. 1957. Inheritance of resistance to root-knot nematodes in pepper. *Phytopathol.* 47:455-459.
- Hatakeyama, K., Fujimura, M., Ishida, M. and Suzuki, T. 2004. New classification method for *Plasmodiophora brassicae* field isolates in Japan based on resistance of F₁ cultivars of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L.) to clubroot. *Breed. Sci.* 54: 197-201.
- Hayward, A.C. 1991. Biology and Epidemiology of Bacterial Wilt Caused by *Pseudomonas Solanacearum*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 29:65-87.
- Heald, C.M. and A.F. Robinson. 1987. Effects of soil solarization of *Rotylenchus reniformis* in the Lower Rio Grande Valley of Texas. *J. Nematol.* 19:93-103.
- Homa, M., C.S. Shobana, Y.R.B. Singh, P. Manikandan, K.P. Selvam, L. Kredics, V. Narendran, C. Vágvölogy, and L. Galgóczy. 2013. *Fusarium keratitis* in South India: causative agents, their antifungal susceptibilities and a rapid identification method for the *Fusarium solani* species complex. *Mycoses* 56:501-511.
- Huang, J., Wu, J., Li, C., Xiao, C. and G. Wang. 2009. Specific and sensitive detection of *Ralstonia solanacearum* in soil with quantitative, real-time PCR assays. *J. Appl. Microbiol.* 107:1729-1739.
- Hwang, B.K. 2002. Studies of resistance of pepper to Phtophthora blight and its control.

Res. Plant Dis. 8:131-145.

- Hwang KS, Eom MY, Park SH, Won OJ, Suh SJ, Lee IY, Park KW. 2014. Occurrence and distribution characteristics of weed species on upland Chinese cabbage fields in Chungnam province. Korean Journal of Plant Pathology 41:303-308.
- Hong SJ and Kim YG. 2011. Study on the Chinese cabbage producers' using patterns about a new variety of seed. Korean Journal of Agricultural Science 38:549-557.
- Hwang, S.M., Park, M.S., Kim, J-C., Jang, K.S., Choi, Y.H. and G.J. Choi. 2014. Occurrence of *Meloidogyne incognita* infecting tomato Mi cultivars and development of an efficient screening method for resistant tomato to the Mi-virulent nematode. Korean J. Hort. Sci. Technol. 32:217-226
- Ito, S., Ushilima, Y., Fujii, T., Tanaka, S., Kameya-Iwaki, M., Yoshiware, S. and F. Kishi. 1998. Detection of viable cells of *Ralstonia solanacearum* in soil using a semiselective medium and a PCR technique. J. Phytopathol. 146:379-384.
- Jeong, Y., Kim, J., Kang, Y., Lee, S. and I. Hwang. 2007. Genetic diversity and distribution of Korean isolates of *Ralstonia solanacearum*. Plant Dis. 91: 1277-1287.
- Jo, S. -J., Shim, S. -A., Jang, K. S., Choi, Y. H., Kim, J. -C. and Choi, G. J. 2011. Resistance of cultivars of Chinese cabbage to *Plasmodiophora brassicae* isolates of several races collected in Korea. Korean J. Hort. Sci. Technol. 29: 610-616. (In Korean)
- Keinath, A.P. and Zitter, T.A. 1998. Resistance to benomyl and thiophanate-methyl in *Didymella bryoniae* from South Carolina and New York. Plant Dis. 82:479-484.
- Kim, D.G. and J.H. Lee. 2008. Economic threshold of *Meloidogyne incognita* for greenhouse grown cucumber in Korea. Res. Plant Dis. 14:117-121.
- Kim, D.G., Kwon, T.Y., Ryu, Y.H., Yeon, I.K. and C.S. Huh. 2012. Resistance of commercial Pepper cultivars to root-knot nematodes. Res. Plant Dis. 18:370-375.
- Kim, J.I. and S.C. Han. 1998. Effect of solarization for control of root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.). Korean J. Appl. Entomol. 27:1-5.
- Kim JS, Cho JD, Choi HS, Lee SH, Choi GS, Lee SY, Kim HJ, Yoon MK. 2010. Ribgrass mosaic tobamovirus occurred on Chinese cabbage in Korea. The Plant Pathology Journal 26:328-339.
- Kim JS, Lee SH, Choi HS, Kim MK, Kwak HR, Kim JS, Choi JD, Choi IS and Choi HS. 2012. 2007-2011 Characteristics of plant virus infections on crop samples submitted from agricultural places. Research in Plant Disease 18:277-289.
- Kim, S., Kim, K.T., Chae, Y., Jamal, A. and D.G. Oh. 2008. A survey of genes differently expressed in response to *Colletotrichum* infection on chili pepper fruit. Korean J. Hort. Sci. Technol. 26:1-8.
- Kinloch, R.A. and K. Hinson. 1972. The Florida program for evaluating soybean (*Glycine max* L. Merr.) genotypes for susceptibility to root-knot nematode disease. Proc. Soil Crop Sci. Soc. Florida 32:173-176.
- Kuginuki, Y., Yoshikawa, H. and Hirai, M. 1999. Variation in virulence of *Plasmodiophora brassicae* in japan tested with clubroot resistance cultivars of Chinese

- cabbage(*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*). *Eur. J. Plant Pathol.* 105: 327–332.
- Komatsu K, Hashimoto M, Maejima K, Ozeki J, Kagiwada S, Takahashi S, Yamaji Y, Namba S. 2007. Genome sequence of a Japanese isolate of Radish mosaic virus: The first complete nucleotide sequence of a crucifer-infecting comovirus. *Archives of Virology* 152:1501–1506.
- Ku KH, Lee KA, Kim YL and Lee MG. 2006. Effects of pretreatment method on the surface microbes of radish (*Raphanus sativus* L.) leaves. *Journal of Korean Society of Food Science and Nutrition* 35:649–654.
- Kwon, M.K., Hong, J.R., Sun, H.J., Sung, K.Y., Cho, B.H. and Kim, K.C. 1997. Standardization of a mass-production technique for pycnidiospores of *Didymella bryoniae*, gummy stem blight fungus of cucurbits. *Korean J. Plant Pathol.* 13:105–112.
- Kwon M, Park CS, Hahm YI and Lee SH. 2002. Yearly fluctuation of migrated aphids and PLRV transmission rate at daegwallyeong highland region in Korea. *Korean Journal of Applied Entomology* 41:247–253.
- Kwon, Y.S., Y.H. Om, and H.T. Kim. 1998. Identification and distribution of races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* on watermelon in Korea. *Cucurbit Genet. Coop. Rpt.* 21:33–36.
- Langford, W.R., Corley, W.L., Massey, J.H. and G. Sowell, Jr. 1968. Catalogue of seed available at the Southern Regional Plant Introduction Station, Georgia Exp. Station.
- Lee, D.H. 1969. Studies on the control of Fusarium wilt of the cucurbitaceous plants - (1) Investigation on the pathogenicity of Fusarium isolates from the wilted cucurbitaceous plants. *Korean J. Appl. Entomol.* 7:69–75.
- Lee SG, Choi CS, Lee HJ, Jang YA, Do KR. 2014. Influence of covering treatment on the incidence of frost injury in Chinese cabbage during winter season. *Korean Journal of Agricultural Science* 41:163–167.
- Lee SG, Kim SK, Choi CS, Park ST, Lee HJ. 2016. Influence of waterlogging period on the growth, physiological responses, and yield of Kimchi cabbage. *Journal of Environmental Science International* 25:535–542.
- Lee SH, Heo IH, Lee KM, Kim SY, Lee YS, Kwon WT. 2008. Impacts of climate change on phenology and growth of crops: In the case of Naju. *Journal of the Korean Geographical Society* 43:20–35.
- Lim HS, Ko TS, Lambert N, Kim HG, Korban S, Hartman L, Domier L. 2005. Soybean mosaic virus helper component-protease enhances somatic embryo production and stabilizes transgene expression in soybean. *Plant Physiology and Biochemistry* 43:1014–1021.
- Lefebvre, V., Pflieger, S., Thabuis, A., Caranta, C., Blattes, A., Chauvet, J.C., Daubeze, A.M. and A. Palloix. 2002. Towards the saturation of the pepper linkage map by alignment of three intraspecific maps including known-function genes. *Genome.* 45:839–854.
- Leslie, J.F. and B.A. Summerell. 2006. Species description, p. 109. In: *The Fusarium*

- laboratory manual. Blackwell Publishing, Ames, USA.
- Lopes, C.A., Carvalho, S.I.C. and L.S. Boiteux. 2005. in Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex, Search for resistance to bacterial wilt in a Brazilian Capsicum germplasm collection, eds Allen C., Prior P., Hayward C. (APS Press, St. Paul, MN), pp 247-251.
- Martyn, R.D and B.D. Bruton. 1989. An initial survey of the United States for races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. HortScience 24:696-698.
- Martyn, R.D. 1987. *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* race 2: a highly aggressive race new to the United States. Plant Dis. 71:233-236.
- Martyn, R.D. 1991. Resistance to races 0, 1, and 2 of Fusarium wilt of watermelon in *Citrullus* sp. PI-296341-FR. Hort. Science 26:429-432.
- Martyn, R.D. 1996. Fusarium wilt of watermelon, p. 11-16. In: T.A. Zitter, D.L. Hopkins, and C.E. Thomas (eds.). Compendium of cucurbit diseases. American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN, USA.
- Martyn, R.D. and R.J. McLaughlin. 1983. Effects of inoculum concentration on the apparent resistance of watermelons to *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. Plant Dis. 67:493-495.
- Matos, F.S.A., Lopes, C.A. and A. Takatsu. 1990. Identificação de fontes de resistência a *Pseudomonas solanacearum* em *Capsicum* spp. Horticultura Brasileira 8:22-23.
- Matsunaga, H. and S. Monma. 1999. Sources of resistance to bacterial wilt in Capsicum. J. Jpn. Soc. Hort. Sci. 68:753-761.
- Maynard, D.N. and Hopkins. D.L. 1999. Watermelon fruit disorders. HortTechnology 9:155-161.
- Mimura, Y., Yoshikawa, M. and M. Hirai. 2008. Property of resistance to bacterial wilt in Capsicum line 'LS2341' [abstract in Japanese] Hort. Res. Japan 7 (suppl 1) 100.
- Nelson, P.E., T.A. Toussoun, and W.F.O. Marasas. 1983. Fusarium species: An illustrated manual for identification. Penn. State Univ. Press, University Park.
- Netzer, D. 1976. Physiological races and soil population level of Fusarium wilt of watermelon. Phytoparasitica 4:131-136.
- Netzer, D. and C. Weintall. 1980. Inheritance of resistance in watermelon to race 1 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. Plant Dis. 64:853-854.
- Netzer, D. and I. Dishon. 1973. Screening for resistance and physiological specialization of *Fusarium oxysporum* in watermelon and muskmelon. (Abstr. 941) Second Int. Congr. Plant Pathol., Minneapolis, MN.
- Norton, J. D. 1979. Inheritance of resistance to gummy stem blight caused by *Didymella bryoniae* in watermelon. HortScience 14:630-632.
- Norton, J.D., Boyhan, G., Smith, D.A. and Abrahams, B.R. 1993. 'AU-Golden Producer' watermelon. HortScience 28:681-682.
- Norton, J.D., Boyhan, G., Smith, D.A. and Abrahams, B.R. 1995. 'AU-Sweet Scarlet' watermelon. HortScience 30:393-394.
- Norton, J.D., Cospers, R.D., Smith, D.A. and Rymal, K.S. 1986. 'AU-Jubilant' and

- 'AU-Producer' watermelons. HortScience 21:1460-1461.
- O'Donnell, K.O., E. Cigelnik, and H.H. Casper. 1998. Molecular phylogenetic, morphological, and mycotoxin data support reidentification of the Quorn mycoprotein fungus as *Fusarium venenatum*. Fungal Genet. Biol. 23:57-67.
- Oka, Y., Offenbach, R. and S. Pivonia. 2004. Pepper rootstock graft compatibility and response to *Meloidogyne javanica* and *M. incognita*. J. Nematol. 36:137-141.
- Pae, D.H., Chae, Y., Wang, T.C., Engle, L.M. and S. Shanmugasundaram. 2005. Selection of new breeding materials with resistance to Anthracnose in *Capsicum annuum*. J. Korean Soc. Hort. Sci. 46:10-12.
- Park, S.D., Kwon, T.Y., Jun, H.S. and B.S. Choi. 1995. The occurrence and severity of damage by root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in controlled fruit vegetable field. RDA. J. Agri. Sci. 37: 318-323.
- Park SK, Yoon MK, Lim YP. 2011. Development of clubroot race4 resistant inbreds using conventional breeding and microspore culture method in Chinese cabbage. Korean Journal of Agricultural Science 38:613-618.
- Pegard, A., Brizzard, G., Fazari, A., Soucaze, O., Abad, P. and C. Djian-Caporalino. 2005. Histological characterization of resistance to different root-knot nematode species related to phenolics accumulation in *Capsicum annuum* L. Phytopathology. 95:158-165.
- Péombelon, M.C. M. and Salmand, G. P. C. (1995) Bacterial soft rot. In: Pathogenesis and host specificity in plant disease, ed. by I.S. Singh, r. P. Singh and K Kohmoto, pp. 1-20. Elsevier Science.
- Perombelon, M. C., & Kelman, A. (1980). Ecology of the soft rot erwinias. Annual review of phytopathology, 18(1) : 361-387.
- Quezado-Soares, A.M. and C.A. Lopes. 1995. Stability of the resistance to bacterial wilt of the sweet pepper 'MC-4' challenged with strains of *Pseudomonas solanacearum*. Fitopatol. Bras. 20:638-641.
- Raybould F, Maskell C, Edwards L, Cooper I, Gray J. 1999. The prevalence and spatial distribution of viruses in natural populations of *Brassica oleracea*. New Phytologist 141:265-275.
- Rhee SJ, Hong JS, Choi JK, Kim EJ, Lee GP. 2011. Characterization of an isolate of cucumber mosaic virus from *Raphanus sativus* L. Research in Plant Disease 17:211-215.
- Rhoades, H.L. 1976. Effects of *Indigofera hirsute* on *Belonolaimus longicaudatus*, *Meloidogyne incognita*, and *M. javanica* and subsequent crop yield. Plant Dis. Rep. 60:384-386.
- Sánchez F, Wang X, Jenner E, Walsh A, Ponz F. 2003. Strains of Turnip mosaic potyvirus as defined by the molecular analysis of the coat protein gene of the virus. Virus Research 94:33-43.
- Schonfeld, J., Heuer, H., Van Elsas, J.D. and K. Smalla. 2003. Specific and sensitive detection of *Ralstonia solanacearum* in soil on the basis of PCR amplification of *fliC*

- fragments. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:7248–7256.
- Scott, J.C., T.R. Gordon, D.V. Shaw, and S.T. Koike. 2010. Effect of temperature on severity of *Fusarium* wilt of lettuce caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae*. *Plant Dis.* 94:13–17.
- Sherf, A.F. and MacNab, A.A. 1986. *Vegetable Diseases and Their Control*. A Wiley-Interscience Publication. New York: John Wiley and Sons.
- Skarshaug, A.J. 1981. Centrum development in *Didymella bryoniae*. *Amer. J. Bot.* 68:1096–1103.
- Sowell, G. 1975. An additional source of resistance to gummy stem blight in watermelon. *Plant Dis. Rep.* 59:413–415.
- Sowell, G. and Pointer, G.R. 1962. Gummy stem blight resistance in introduced watermelons. *Plant Dis. Rep.* 46:883–885.
- St. Amand, P.C. and Wehner, T.C. 1995a. Eight isolates of *Didymella bryoniae* from geographically diverse areas exhibit variation in virulence but no isolate by cultivar interaction on *Cucumis sativus*. *Plant Dis.* 79:1136–1139.
- St. Amand, P.C. and Wehner, T.C. 1995b. Greenhouse, detached leaf, and field testing methods to determine cucumber resistance to gummy stem blight. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 120:673–680.
- Suehiro N, Natsuaki T, Watanabe T, Okuda S. 2004. An important determinant of the ability of Turnip mosaic virus to infect Brassica spp. and/or Raphanus sativus is in its P3 protein. *Journal of general virology* 85:2087–2098.
- Suwabe, K., Tsukada, H., Iketani, H., Hatakeyama, K., Fujimura, M., Nunome, T., Fukuoka, H., Matsumoto, S. and Hirai, M. 2003. Identification of two loci for resistance to clubroot (*Plasmodiophora brassicae* Woronin) in Brassica rapa L. *Theor. Appl. Genet.* 107: 997–1002.
- Taylor, A.L. and J.N. Sasser. 1978. *Biology, identification and control of root-knot nematodes (Meloidogyne species)*. Coop. Pub. Dept. Plant Pathol. North Carolina State University and United States Agency for International Development, North Carolina State University Graphics, Raleigh, USA. p. 111.
- Thies, J.A. and J. Ariss. 2009. Comparison between the *N* and *Me3* genes conferring resistance to the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in genetically different pepper lines (*Capsicum annuum*). *Eur. J. Plant Pathol.* 125:545–550.
- Thompson, J.D., D.G. Higgins, and T.J. Gibson. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 22:4673–4680.
- Umesh, K.C., H. Ferris, and D.E. Bayer. 1994. Competition between the plant-parasitic nematodes *Pratylenchus neglectus* and *Meloidogyne chitwoodi*. *J. Nematol.* 26:286–295.
- van Deer Meer, Q.P., van Bennekon, J.L. and van Der Giessen, A.C. 1978. Gummy stem blight resistance of cucumbers (*Cucumis sativus* L.). *Euphytica* 27:861–864.

- Van Poucke, K., S. Monbaliu, F. Munaut, K. Heungens, S. De Saeger, and F. Van Hove. 2012. Genetic diversity and mycotoxin production of *Fusarium lactis* species complex isolates from sweet pepper. *Intl. J. Food Microbiol.* 153:28–37.
- Van Steekelenburg, N.A.M. 1981. Comparison of inoculation methods with *Didymella bryoniae* on *Cucumis sativus* cucumbers, stem and fruit rot. *Euphytica* 30:515–520.
- Vasse, J., Frey, P. and A. Trigalet. 1995. Microscopic studies of intercellular infection and protoxylem invasions of tomato roots by *Pseudomonas solanacearum*. *Mol. Plant–Microbe Interact.* 8:241–251.
- Vokalounakis, D.J. 1993. Inheritance and genetic linkage of fusarium wilt (*Fusarium oxysporium* f. sp. *cucumerinum* race 1) and scab (*Cladisporium cucumerinum*) resistance genes in cucumber (*Cucumis sativus*). *Ann. Appl. Biol.* 123:359–365.
- Vokalounakis, D.J. 1995. Inheritance and linkage of resistance in cucumber line SMR-18 to races 1 and 2 of *Fusarium oxysporium* f. sp. *cucumerinum*. *Plant Pathol.* 44:169–172.
- Wagacha, J.M., U. Steiner, H.W. Dehne, S. Zuehlke, M. Spiteller, J. Muthomi, and E.C. Oerke. 2010. Diversity in mycotoxins and fungal species infecting wheat in Nakuru District, Kenya. *J. Phytopathol.* 158:527–535.
- Wallis, F.M. and S.J. Truter. 1978. Histopathology of tomato plants infected with *Pseudomonas solanacearum*, with emphasis on ultrastructure. *Physiol. Plant Pathol.* 13:307–317.
- Wehner, T.C. and St. Amand, P.C. 1993. Field tests for cucumber resistance to gummy stem blight in North Carolina. *HortScience* 28:327–329.
- White, T.J., T. Bruns, S. Lee, and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, p. 315–322. In: M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, and T.J. White (eds.). *PCR protocols: A guide to methods and applications*. Academic Press, San Diego.
- Whitehead, Neil A., et al. (2002) The regulation of virulence in phytopathogenic *Erwinia* species: quorum sensing, antibiotics and ecological considerations. *Antonie Van Leeuwenhoek* 81(1) : 223–231.
- Wiant, J.S. 1945. Mycosphaerella black rot of cucurbits. *J. Agr. Res.* 71:193–213.
- Williams, P. H. 1966. A system for the determination of races of *Plasmodiophora brassicae* that infect cabbage and rutabaga. *Phytopathology.* 56: 624–626.
- Winstead, N.N. and A. Kelman. 1952. Inoculation techniques for evaluating resistance to *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology* 42:628–634.
- Wolukau, J.N., X.H. Zhou, Y. Li, Y.B. Zhang and J.F. Chen. 2007. Resistance to gummy stem blight in melon (*Cucumis melo* L.) germplasm and inheritance of resistance from plant introductions 157076, 420145, and 323498. *HortScience* 42:215–221.
- Wyszogrodzka, A.J., Williams, P.H. and Peterson, C. 1986. Search for resistance to gummy stemblight (*Didymella bryoniae*) in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Euphytica* 35:603–613.
- Yoon, J.B., Do, J.W. Yang, D.C. and H.G. Park. 2004. Interspecific cross compatibility

- among five domesticated species of *Capsicum* genus. J. Korean Soc. Hort. Sci. 45:324-329.
- Yu JG, Lee GH, Lim KB, Hwang YJ, Woo ET, Kim JS, Park YD. 2010. Analysis of mutant Chinese cabbage plants using gene tagging system. Korean Journal of Horticultural Science and Technology 28:442-448.
- Zhang, L.X., J.H. Song, J.T. Shen, G.J. Tan, S.S. Li, and F. Ding. 2013. First report of stem canker on phoenix tree (*Firmiana simplex*) caused by *Fusarium oxysporum* in China. J. Phytopathol. 161:128-130.
- Zhang, X.P. and Rhodes, B.B. 1993. Inheritance of resistance to races 0, 1, and 2 *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* in watermelon. Cucurbit Genet. Coop. Rpt. 16:77-78.
- Zhang, Y.P., Anagnostou, K., Kyle, M. and Zitter, T.A. 1995. Seedling screens for resistance to gummy stem blight in squash. Cucurbit Genet. Coop. Rpt. 18:59-61.
- Zhang, Y.P., Kyle, M., Anagnostou, K. and Zitter, T.A. 1997. Screening melon (*Cucumis melo*) for resistance to gummy stem blight in the greenhouse and field. HortScience 32:117-121.
- Zhou, X.G., K.L. Everts, and B.D. Bruton. 2010. Race 3, a new and highly virulent race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* causing Fusarium wilt in watermelon. Plant Dis. 94:92-98.

<붙임 1> 특허 · 논문 · 제품(시장) 분석보고서

특허, 논문, 제품(시장) 분석보고서

프로젝트명	병리검정 서비스		
프로젝트 책임자	최 경자	프로젝트 연구기관	한국화학연구원

1. 본 연구관련 국내의 기술수준 비교

개발기술명	관련기술 최고보유국	현재 기술수준		기술개발 목표수준	비고
		우리나라	연구신청팀		
In vivo 병리검정 기술	미국 등의 다국적 기업	80%	80%	90%	

- 1) 개발기술명은 본 연구과제 최종 연구개발 목표기술을 의미
- 2) 현재 기술수준은 선진국 100% 대비 우리나라 및 신청한 연구팀의 기술수준 표시
- 3) 기술개발 목표수준은 당해과제 완료 후 선진국 100% 대비 목표수준 제시
- 4) 부가설명이 필요한 경우 비교란에 작성

2. 특허분석

가. 특허분석 범위

대상국가	국내, 국외(미국, 일본, 중국, EP)
특허 DB	WIPS ON(www.wipson.com), NDSL
검색기간	최근 10년간
검색범위	제목, 초록, 공개전문

나. 특허분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

개발기술명	In vivo 병리검정 기술
Keyword	in vivo 병리검정, seedling bioassay, disease-resistant plant cultivar, vegetable, screening
검색건수	562
유효특허건수	45

핵심특허 및 관련성	특허명	Screening method for selection of disease-resistant plant cultivars	벼 키다리병 저항성 품종의 대량 검정방법
	보유국	국제특허	대한민국
	출원년도	2015	2013
	관련성(%)	0%	10%
	유사점	내병성 검정 기술	내병성 병리검정 기술
	차이점	본 과제와 같은 in vivo 병리검정 기술이 아니라 X-ray phase contrast imaging과 biomolecular imaging을 이용하여 병 저항성관련 biomarker를 검정하는 기술임	벼에 발생하는 키다리병에 대한 종자의 저항성 여부를 검정하는 기술로 본 과제의 해당 작물이 아님

- 1) 개발기술명은 본 연구과제 최종 연구개발 목표기술을 의미
- 2) keyword는 검색어를 의미하며, 검색건수는 keyword에 의한 총 검색건수를, 유효특허건수는 검색한 특허 중 핵심(세부)개발기술과 관련성이 있는 특허를 의미
- 3) 핵심특허는 개발기술과의 관련성이 높고 인용도가 높은 특허를 기준으로 분석

3. 논문분석

가. 논문분석 범위

대상국가	국내, 미국, 유럽, 아시아, 아프리카
논문 DB	NDSL, Google
검색기간	최근 10년간
검색범위	제목, 초록, 논문전문

나. 논문분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

개발기술명		In vivo 병리검정 기술	
Keyword		(plant or crop or vegetable) and (resistance or resistant) and screening	
검색건수		619건	
유효논문건수		43건	
핵심논문 및 관련성	논문명	수박 덩굴쪄김병에 대한 효율적인 저항성 검정법 개발	Screening rice cultivars for resistance to bacterial leaf blight
	학술지명	Kor. J. Hort. Sci. Technol.	J. Microbiol. Biotechnol
	저 자	조은주, 이지현, 최용호, 장경수, 김진철, 최경자	Agaba Kayihura Fred, Gilang Kiswara, Gihwan Yi, Kyung-Min Kim
	게재년도	2015	2016
	관련성(%)	100%	40%
	유사점	in vivo 병리검정 기술	in vivo 병리검정 기술
차이점	본 연구팀이 확립한 병리검정 기술에 관한 논문으로 본과제의 병리검정 서비스에 이용 가능	본 과제 대상 작물이 아님	

- 1) 개발기술명은 본 연구과제 최종 연구개발 목표기술을 의미
- 2) keyword는 검색어를 의미하며, 검색건수는 keyword에 의한 총검색건수를, 유효논문건수는 검색한 논문 중 핵심(세부)개발기술과 관련성이 있는 논문을 의미
- 3) 핵심논문은 개발기술과의 관련성이 높고 인용도가 높은 논문을 기준으로 분석

가. 생산 및 시장현황

1) 국내 제품생산 및 시장 현황

채소 종자 시장 규모	고추	무	배추	수박	기타	합계 (억 원)
총매출 (억 원, %)	504.16 (19)	459.26 (17)	173.84 (7)	127.64 (5)	1,382.7 (52)	2,647.6
국내 (억 원)	397.53	304.8	133.02	127.64	1,169.41	2,132.4
수출 (억 원)	106.63	154.46	40.82	1.04	212.25	515.2

- 2015년 시장규모 출처 : 한국종자협회

2) 국외 제품생산 및 시장 현황

구분	아시아	유럽	북미	중동 ·아프리카	중남미	합계
채소 종자 시장 규모	21.1억 불	18.6억 불	9.6억 불	5.9억 불	2.8억 불	58억 불
특성	신홍 시장	성숙기 시장	성숙기 시장	신홍 시장	신홍 시장	

- 2011년 시장규모 출처 : Golden Seed 프로젝트 상세기획 보고서

나. 개발기술의 산업화 방향 및 기대효과

1) 산업화 방향(제품의 특징, 대상 등)

○ 내병성 고추 품종

식품 안전성에 대한 관심이 증가하면서 합성 작물보호제를 사용하지 않고 재배한 유기농산물에 대한 수요가 증가하고 있다. 이에 따라 식물병을 방제하기 위한 수단으로 생물농약과 함께 내병성 품종의 개발이 크게 요구되고 있다. 우리나라는 세계적 수준의 고추 육종기술을 보유하고 있으며, 지금까지 역병(Phytophthora blight), 바이러스 저항성 품종 및 탄저병(anthracnose) 저항성 품종 육성에 큰 성과가 있었다. 일반 고추 품종이 1200립 당 1-2만원이면 역병과 바이러스 저항성 품종은 5-6만원 내외 그리고 역병, 바이러스, 탄저병 복합저항성 품종은 15-24만원이므로 고부가가치 고추 종자의 핵심은 내병성이다. 하지만 풋마름병(청고병, bacterial wilt), 흰가루병(powdery mildew), 뿌리혹선충병(root-knot nematode) 등에 대한 저항성 품종의 개발은 아직 미약한 실정이다. 따라서 이들 고추에 발생하는 주요병해에 대한 내병성 품종의 개발이 요구되고 있으며, 특히 지구 온난화에 따른 풋마름병 발생이 증가하고 있어 풋마름병 저항성 품종 개발은 시급히 필요하다. 이들 식물병에 대한 내병성 품종의 개발은 국내 고추 종자 시장 규모의 확대와 수출 경쟁력을 높여줄 수 있을 것이다.

○ 내병성 배추 품종

배추에서 요구되는 내병성 품종의 1순위는 뿌리혹병(clubroot)인데, 뿌리혹병 저항성 품종은 일본, 중국, 우리나라에서만 개발되었을 정도로 우리의 배추 육종 기술은 뛰어나다. 하지만 1세대로 뿌리혹병 저항성 품종 즉 우리나라 종자회사 대부분이 뿌리혹병 저항성 품종으로 개발한 배추 품종은 뿌리혹병균에 대하여 강한 저항성을 나타낸다. 하지만 이들 CR 저항성 품종은 같은 지역에 연속적으로 재배하게 되면 수 년 이내에 이 저항성 품종을 감염할 수 있는 새로운 뿌리혹병균이 확산하게 되어 CR 저항성 품종에도 마치 감수성 품종처럼 뿌리혹병이 발생하고 있다. 따라서 이들 신균주에 대해서도 저항성을 나타낼 수 있는 슈퍼 CR계 품종 개발이 요구되고 있다. 이외에도 노균병, 무름병, TuMV 저항성 품종이 요구되고 있다.

○ 내병성 무 품종

웅성불임성과 자가불화합성을 이용한 우리나라의 무의 육종 기술은 세계 최고 수준이며 채소 중 무의 수출 비중이 크게 증가하고 있다. 무에 발생하는 주요 병해는 뿌리혹병, 시들음병(위황병), 무름병 및 Turnip mosaic virus(TuMV) 등이 있는데, 현재 여러 회사에서 시들음병(위황병) 저항성과 뿌리혹병 저항성 무 품종이 개발되어 판매되고 있다. 하지만 TuMV와 검은썩음병 저항성 품종은 아직 개발되지 않았다. 따라서 이들 식물병에 대한 저항성 품종을 개발한다면 글로벌 경쟁력이 충분히 있을 것이다.

○ 내병성 수박 품종

수박의 전통 육종은 세계 최고 수준의 기술을 보유하고 있으며 국산 품종 점유율은 약 95%이다. 하지만 아직 수박 종자 수출은 미약하여 채소 종자 수출액 중 2%에 불과하다. 최근에는 기존의 수박종자 시장의 패러다임을 뛰어넘는 새로운 품종들이 중소규모 종자회사에서 개발되어 글로벌 시장 점유율을 높여가고 있는 추세이다. 또한 건강에 대한 관심이 증가함에 따라 유기농 수박에 대한 수요도 증가하고 있다. 수박에 발생하는 주요 병해는 탄저병, 흰가루병, 균핵병, 덩굴쪄짐병 등이 있다. 하지만 수박 품종 중 내병성 품종은 거의 없는 실정이다. 한편 탄저병 저항성 수박 품종은 육성한 바 있으나 아직 출시된 제품은 없는 상태이다. 따라서 내병성 품종이 개발된다면 유기농 수박 재배로 인한 수박 종자 시장의 규모가 크게 증가할 것이다.

○ 내병성 파프리카 품종

파프리카는 건강식품으로 인식되어 국내 수요가 크게 증가하고 있으며 또한 1990년대 중반부터 일본 수출 품목으로 급속히 성장하여 2011년에는 424 ha의 면적에서 43,160톤이 생산되었고 이들 중 16,500톤을 수출하였다. 하지만 이에 필요한 종자는 거의 수입에 의존하고 있으며, 파프리카 품종 육성을 위한 기술 수준은 매우 낮은 편이다. 하지만 육종 기술이 우수한 고추와 같은 종에 속하므로 고추에 도입된 병 저항성 유전자원을 파프리카에 도입하여 내병성 품종을 육성할 수 있을 것이다. 파프리카에 발생하는 주요 병해는 재배 환경에 따라 발생하는 주요 병해에 차이가 있으나 기본적으로 고추와 동일하

다.

2) 산업화를 통한 기대효과

(단위 : 백만원)

항 목 \ 산업화 기준	1차 년도	2차 년도	3차 년도	4차 년도	5차 년도	계
직접 경제효과	1,000	2,000	3,000	4,000	5,000	15,000
경제적 파급효과	5,000	10,000	15,000	20,000	25,000	75,000
부가가치 창출액	2,000	4,000	6,000	8,000	10,000	30,000
합 계	8,000	16,000	24,000	32,000	40,000	120,000

- 1) 직접 경제효과 : 본 연구과제 개발기술의 산업화를 통해 기대되는 제품의 매출액 추정치
- 2) 경제적 파급효과 : 본 연구과제 개발기술의 산업화를 통한 농가소득효과, 비용절감효과 등 추정치
- 3) 부가가치 창출액 : 본 연구과제 개발기술의 산업화를 통해 기대되는 수출효과, 브랜드가치 등 추정치

5. 3P(특허, 논문, 제품)분석을 통한 연구추진계획

가. 분석결과 향후 연구계획(특허, 논문, 제품 측면에서 연구방향 제시)

1) 특허분석 측면

본 과제는 GSP 채소종자사업단의 in vivo 병리검정 서비스를 목표로 하는 과제인데, 특허를 검색한 결과 내병성 분자마커의 개발과 유전자를 형질전환하여 저항성 품종을 개발하는 특허는 다수 있으나 본 과제에서 개발하고자 하는 **효율적인 in vivo 병리검정 방법 개발에 관한 특허는 거의 없었다**. 이는 in vivo 병리검정 기술은 각 종자회사에서 노하우로 가지고 있고 공개하지 않고 있기 때문인 것으로 생각된다. 따라서 내병성 분자마커 개발과 형질전환을 통한 저항성 작물 개발에 관한 특허 명세서의 실시예에 기술되어 있는 병리검정 방법을 활용하여 효율적인 병리검정 방법을 구축하는 것이 필요하다.

2) 논문분석 측면

본 과제는 효율적인 in vivo 병리검정 기술을 개발하여 GSP 채소종자사업단의 내병성 품종 육종을 위한 병리검정 서비스를 제공하는 것을 목적으로 하는 기반성격의 과제이다. 따라서 내병성 육종을 위하여 대량의 교배 시료 중 저항성 개체를 신속 정확하게 선별하는 효율적인 in vivo 병리검정 방법이 필요하다. 그런데 기존에 보고된 논문을 분석해 보면 내병성 품종 개발을 위한 효율적인 대량검정 방법에 관한 논문은 거의 대부분 본 연구팀에서 발표한 것으로 이들 검정법은 2단계 GSP채소종자사업단에 참여하는 육종가들의 병리검정 서비스에 사용될 것이다. 본 연구팀에서 발표한 논문을 제외한 대부분의 논문은 육종 소재 선별 및 품종들의 병 저항성 평가 등에 관한 논문에서 in vivo 병리검정 방법이 설명되어 있으나, 유묘 검정이 아니라 포장 검정으로 저항성 식물을 선별하였거나 유묘 검정으로 실험하였다 하더라도 효율적인 병리검정 방법을 확립하여 병 저항성 조사를 한 것이 아니라

다른 논문에 사용하는 방법을 그대로 따라 실험한 것이 대부분이다. 그러므로 본 과제에서는 기확립된 식물병에 대한 병리검정 외에 새로운 식물병에 대한 효율적인 병리검정 방법을 확립하고 이들 논문을 학술지에 게재할 예정이다.

3) 제품 및 시장분석 측면

국내에서 개발된 내병성 채소 품종으로 고추는 역병 및 바이러스 저항성 품종이 널리 개발되었으며 일부 회사에서 탄저병 저항성 품종을 개발하여 판매하고 있다. 하지만 풋마름병, 흰가루병, 뿌리혹선충병 저항성 품종은 아직 출시된 적이 없다. 그리고 배추는 많은 회사에서 단인자우성 유전자를 도입한 CR 저항성 품종은 개발되어 널리 판매되고 있으나, 이들 저항성 품종을 침해하는 균주가 전국적으로 널리 분포하고 있는 실정이며 실용성이 떨어지고 있다. 따라서 중국배추의 덕고CR117과 같은 새로운 저항성 유전자가 도입된 저항성 품종을 개발하거나 여러 유전자가 집적된 슈퍼CR 저항성 품종의 개발이 시급히 필요하다. 또한 노균병, TuMV, 무름병 저항성 품종의 개발이 요구되고 있다. 한편 무의 경우에는 시들음병(위황병), 뿌리혹병 저항성 품종은 개발되어 판매되고 있으나, 무름병, 검은무늬병, 세균성검은무늬병 등의 저항성 품종이 개발되어야 한다. 한편 수박의 경우에는 탄저병 저항성 품종 개발에 관한 논문은 보고 된 적이 있으나 아직 상품으로 출시되지 않았으며, 그 외에도 흰가루병과 균핵병 저항성 품종의 개발이 필요하다. 따라서 **적극적으로 내병성 품종을 개발하기 위해서는 효율적인 병리검정 기술을 확립하고 대량 시료에 대하여 신속·정확한 병리검정 서비스를 지원하는 것이 필요하다고 판단된다.**

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부·해양수산부·농촌진흥청·산림청에서 시행한 골든 시드 프로젝트사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부·해양수산부·농촌진흥청·산림청에서 시행한 골든 시드 프로젝트사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.