

## 잎절편 (Leaf disk)을 이용한 오이 흰가루병 (*Sphaerotheca fusca*)에 대한 내병성 검정법

이용환\* · 서종분 · 최경주 · 박인진 · 양원모<sup>1</sup>

전남농업기술원, <sup>1</sup>순천대학교 농업생명과학대학 응용생물원에학부

### Disease Resistance Test Method of Cucumber Powdery Mildew (*Sphaerotheca fusca*) Using A Leaf Disk Assay

Yong-Hwan Lee\*, Jong-Bun Seo, Kyong Ju Choi, In-Jin Park and Won-Mo Yang<sup>1</sup>

Jeonnam Agricultural Research and Extension Services, Naju 520-715, Korea

<sup>1</sup>School of Plant Producing Science, Agriculture and Life Sciences, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

(Received on December 18, 2003)

The resistance of 10 varieties of cucumber (*Cucumis sativus* L.) to powdery mildew, caused by *Sphaerotheca fusca*, was evaluated by a leaf disk assay. Leaf disks (10 mm in diameter) were removed from fully expanded leaves and then placed in petri dishes containing 0.16% water agar amended with benzimidazole. Leaf disks were inoculated by dropping a 10  $\mu$ l of conidia suspension. Conidiophore formation of powdery mildew was the greatest at 25°C. The response of the host to powdery mildew, based on the inoculation onto disks of the first leaf, highly correlated with results obtained from harvesting stage of cucumber plants in greenhouse test ( $r = 0.99^{**}$ ). It is indicating that a leaf disk assay may precisely predict the response of cucumber plant to *S. fusca*.

**Keywords :** Cucumber, Disease resistance, Leaf disk assay, Powdery mildew

흰가루병(*Sphaerotheca fusca* L.)은 오이재배 중에 가장 심하게 발생하는 병 가운데 하나로서(Lee 등, 2000; 박 등, 1996), 이를 방제하기 위해서 살균제 살포와 내병성 품종 재배 등이 가장 보편적인 수단으로 이용되고 있다(Cohen, 1993; Sitterly, 1978). 특히, 최근 일본에 오이 수출이 증가하면서 품질 향상을 위한 살균제 살포로 농약의 잔류검사 등에 의한 클레임 발생 등으로 내병성 백침계 오이 품종의 육성이 시급한 실정이다.

내병성 품종 육성은 주로 포장에서의 내병성 개체 선발이나 병원균을 식물체에 접종하는 과정을 통해 이루어지고 있다(Cohen와 Cohen, 1986; Sitterly, 1978). 포장에서의 내병성 개체 선발에 있어서는 병 발생이 환경에 영향을 많이 받고 특히 흰가루병은 고온에서 병 발생이 억

제되기 때문에 발생시기가 특정기간에 이루어져 시간적 제한이 따를 뿐만 아니라(Aust, 1986), 포장에서 감염 정도가 균일하지 못하는 등의 문제점을 가지고 있다(Cohen, 1993). 따라서, 오이나 메론의 경우 유묘검정이나 잎절편(leaf disk)을 이용한 검정 방법이 보고되고 있다(Cohen, 1993; Fanourakis, 1990). 이들 방법이 빠르고 간편하지만 최소한 제3분엽 이상이 전개될 때까지 육묘하기 때문에 다량의 계통에 대한 실험이 곤란하였다. 또한, 온실에서 기주를 증식하는 과정에서 자연감염이 되는 경우가 많을 뿐만 아니라 많은 양의 종자가 필요하기 때문에 실제 오이 육종 과정에서 교배된 적은 수의 종자를 가지고 평가하는 것이 쉽지 않았다. 따라서, 이 연구에서는 백침계 오이 육종 과정에서 잎절편을 이용하여 적은 수의 종자를 가지고 신속하게 내병성을 평가하는데 효율적으로 이용할 수 있도록 흰가루병에 대한 오이의 내병성 검정방법을 개선하고자 실시하였다.

\*Corresponding author

Phone)+82-61-330-2563, Fax)+82-61-336-4076

E-mail)leeyh@jares.go.kr

## 재료 및 방법

**오이 재료 및 생육 조건.** 오이 흰가루병균(*Sphaerotheca fusca*)에 대해 저항성이나 감수성을 보이는 백침계 9개 품종과 낙함계 1개 품종을 대상으로 시험하였다(Table 1). 50 ml 다공 플라스틱 포트에 버미큐라이트와 피트모스(1:1 v/v)로 섞어 넣은 후 오이 종자를 1립씩 파종하여 12시간 25°C 광조건과 12시간 15°C 암조건으로 조절된 식물생장상에서 생육시켰다. 식물생장상은 시험 전 후에 70% 알코올을 분무하여 자연감염을 억제하였다.

**접종원.** 이병 오이잎에서 *Sphaerotheca fusca* 1종을 분리한 후 백성 3호 오이 품종에 접종하여 25 cm×25 cm×40 cm 투명한 아크릴용기에 넣고 25°C 12시간 광조건과 12시간 암조건의 식물생장상에서 균을 유지하면서 접종원으로 이용하였다. 신선한 분생포자를 이용하기 위하여 이병된 오이잎의 표면을 붓으로 털어 내고, 1주일 후에 이병 잎의 표면을 0.01% tween 20 용액에 붓으로 씻어 접종원으로 이용했고, 혈구측정기를 이용하여 분생포자의 농도를 측정하였다.

**잎절편 준비 및 온도조건.** Cohen(1993)의 방법을 일부 수정하여 잎절편은 콜크보러를 이용하여 오이 떡잎이나 분엽으로부터 직경 10 mm로 잘라내어 이용하였다. 잎의 노화방지를 위하여 멸균한 0.16% 한천배지와 25 µg/ml benzimidazole을 혼합하여 페트리디쉬에 분주하여 이용하였다. 오이 잎절편의 윗면이 위로 오도록 올려놓고 분생포자농도를 1.6×10<sup>4</sup>/ml로 만들어 10 µl씩 잎절편 중앙에 점적하였다. 무균상에서 페트리디쉬 뚜껑을 반쯤 열어 놓고 잎절편 표면의 접종액이 완전히 마른 후 뚜껑을 덮고 처리별로 25°C에서 12시간 광조건의 식물생장상에 치상하였다. 분생자경 형성의 적정 온도를 알아보기

위하여 입추낙합품종의 떡잎 절편을 이용하여 15°C부터 35°C까지 5°C 간격으로 식물생장상에 넣어서 접종 7일 후에 발병정도를 조사하였다.

**발병도 평가.** 흰가루병 발생도 평가는 잎절편 위의 균사와 분생자경형성정도에 따라 접종 5~7일 후에 해부 현미경을 이용하여 조사하였다. 접종한 잎절편의 분생자경형성정도는 0 = 감염 안됨; 1 = 분생자경 형성없이 균사만 자람; 2 = 분생자경수 1~50개; 3 = 분생자경수 51개 이상으로 조사하였다. 품종별로 페트리디쉬 당 잎절편 10개씩 수행하였고 오이 잎은 파종 후 5~7일된 묘의 떡잎과 완전히 전개된 제1분엽을 이용하였다.

**포장시험.** 포장시험은 2001년도에 전남 나주시 산포면 전남농업기술원 시험포장의 비닐하우스에서 9월 15일에 품종별로 10주씩 난괴법 3반복으로 정식하여 10월 20일에 조사하였다. 흰가루병 발병조사는 상위 5엽의 제외한 모든 잎을 대상으로 병반면적율을 조사하여 발병도로 아래의 식에 따라 환산하였다(Lee et al., 2000).

$$\text{발병도}(\%) = (4a + 3b + 2c + 1d) / (a + b + c + d + e) \times 100,$$

a = 50%이상 감염된 잎 수, b = 20.1~50.0% 감염된 잎 수,

c = 5.1~20.0% 감염된 잎 수, d = 0.1~5.1% 감염된 잎 수,

e = 무발병 잎 수

## 결 과

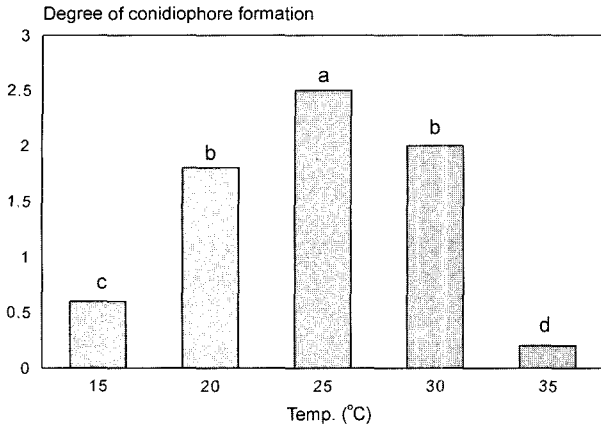
***S. fusca*의 분생자경형성에 미치는 온도의 영향.** 15°C부터 35°C까지 5°C 간격으로 흰가루병 분생자경형성정도를 조사한 결과 25°C에서 발병도 2.5로 분생자경이 가장 잘 형성되었고 15°C와 35°C에서는 각각 0.5와 0.3으로 균사만 일부 자랄 뿐 분생자경은 형성되지 않았다(Fig. 1).

**엽위에 따른 영향과 하우스포장에서의 발병도와와의 비교.** 떡잎과 제1분엽에서의 분생자경형성정도를 비교한 결과, 감수성 품종인 엑셀런트 13과 조이 품종에서 각각 3.0의 발병도를 보여 차이가 없었으나, 프론티아, 샤프 301, 알파, 입추낙합 품종의 경우에는 자엽에서는 각각 1.7, 1.5, 2.5, 2.5인 반면 제1분엽에서는 각각 3.0, 2.3, 3.0, 3.0을 나타내 엽위에 따라 발병 정도의 차이가 있었다(Table 2). 감수성 품종들은 포장에서의 발병도가 56.5%에서 80.0%의 범위로 발병이 심하였다. 저항성 품종의 경우에는 스테타스나즈 III의 경우에는 잎절편에서 균사조차도 자라지 않았고 포장에서도 전혀 발병하지 않았다. 중도저항성인 스테타스나즈, 타이쇼우 품종에서는 잎절편 검정에서 자엽과 제1분엽에서 분생자경형성정도 모두 0.1로 일부 균사만 형성되었으나 포장에서는 각각 7.0%, 8.5%

Table 1. Characteristics of cucumber (*Cucumis sativus*) varieties tested

variety	Group	Source	Response to powdery mildew <sup>a</sup>
Sutetasunatsu III	Baekchim	Japan	Resistant
Sutetasunatsu	Baekchim	Japan	Mild resistant
Taishou	Baekchim	Japan	Mild resistant
Taikichi	Baekchim	Japan	Mild resistant
Frontia	Baekchim	Japan	Susceptible
Sharp 301	Baekchim	Japan	Susceptible
Alpha	Baekchim	Japan	Susceptible
Excellent 13	Baekchim	Japan	Susceptible
Joy	Baekchim	Korea	Susceptible
Lipchunakhap	Nakhap	Korea	Susceptible

<sup>a</sup> Based on field observation at the harvesting stage.



**Fig. 1.** Effect of temperature on conidiophore formation of *Sphaerotheca fusca* on the leaf disk. Degree of conidiophore formation, average of rates for 10 leaf disks per replication on a scale from 0 to 3. 0=non-infected leaf disk, 1=only hyphae present per leaf disk, 2=up to 50 conidiophores per leaf disk; 3=over than 51 conidiophores per leaf disk. Means followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

**Table 2.** Degree of conidiophore formation of *Sphaerotheca fusca* on leaf disks and disease severity of cucumber powdery mildew in the greenhouse

Variety	Disease response <sup>a</sup>	Degree of conidiophore formation <sup>b</sup>		Disease severity in greenhouse <sup>c</sup>
		Cotyledone	First leaf	
Sutetasunatsu III	R	0.0 a <sup>d</sup>	0.0 a	0.0 a
Sutetasunatsu	MR	0.1 a	0.1 a	7.0 b
Taishou	MR	0.1 a	0.1 a	8.5 b
Taikichi	MR	0.0 a	0.1 a	10.2 b
Frontia	S	1.7 b	3.0 c	64.0 d
Sharp 301	S	1.5 b	2.3 b	56.5 c
Alpha	S	2.5 c	3.0 c	78.0 f
Excellent 13	S	3.0 d	3.0 c	64.5 d
Joy	S	3.0 d	3.0 c	73.0 e
Lipchunakhap	S	2.5 c	3.0 c	80.0 f

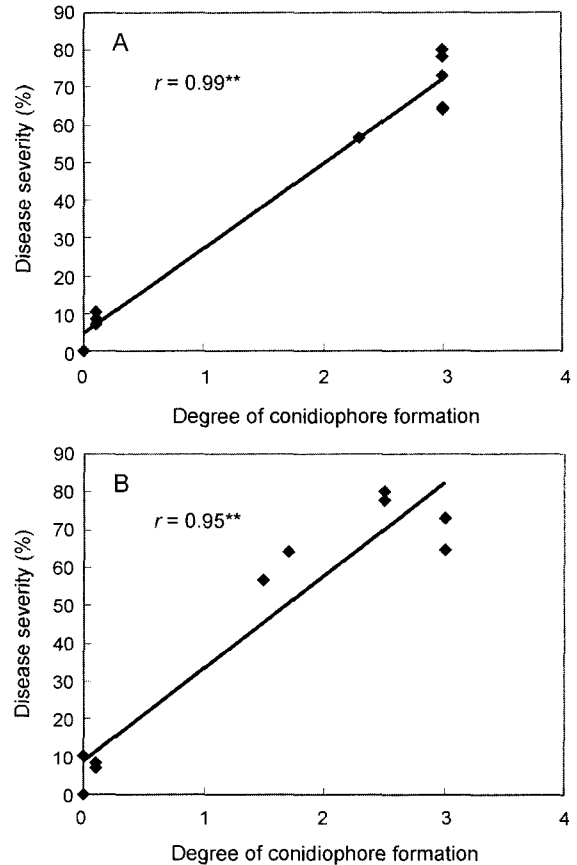
<sup>a</sup>R=resistance, MR=mild resistance, S=susceptible.

<sup>b</sup>Average of rates for 10 leaf disks per replication on a scale from 0 to 3. 0=non-infected disk, 1=only hyphae present per disk, 2=hyphae with up to 50 conidiophores per disk; 3=over than 51 conidiophores per disk.

<sup>c</sup>Disease severity (%) = (4a + 3b + 2c + 1d) / (a + b + c + d + e) \* 100, a = No. of leaves over than 50% infected; b = No. of leaves 20.1-50.0% infected; c = No. of leaves 5.1-20.0% infected; d = No. of leaves 0.1-5.1% infected; e = No. of leaves not infected.

<sup>d</sup>Means followed by the same letter within column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

의 발병도를 나타냈다. 또한 다이까지 품종의 경우 자엽에서는 0.0, 제1본엽에서는 0.1을 나타냈으나 포장에서는 10.2%의 발병도를 보였다(Table 2). 엽위별로 분생포자형



**Fig. 2.** Correlation coefficients (*r*) between degree of conidiophore formation of *S. fusca* on the first leaves (A) and on cotyledone (B) and disease severity of cucumber powdery mildew in greenhouse field test.

성도와 하우스 포장에서의 흰가루병 발병도의 상관관계를 분석한 결과 떡잎에서는  $r = 0.95^{**}$ 와 제1본엽에서는  $r = 0.99^{**}$ 로 고도의 정의 상관을 나타냈다(Fig. 2).

### 고찰

오이 흰가루병균(*Sphaerotheca fusca*) 분생포자는 20-30°C 범위에서 형성이 많다고 보고되었는데(遠藤, 1977), 본 실험에서는 25°C에 분생자경이 가장 잘 형성되어 이 온도에 맞추어 전 실험과정을 수행하였다. 분생포자는 수분과 접촉하였을 경우에는 발아가 억제되는 반면, 상대습도는 99% 이상에서 발아율이 가장 높다고 보고되어 있기 때문에(遠藤, 1977) 피펫으로 분생포자 현탁액을 접종 후 배지가 마르지 않도록 접종원 용액을 건조시키는 것이 매우 중요하다. Fanourakis(1990)는 잎절편에 붓을 이용하여 병원균을 접종하였기 때문에 균일한 농도로 접종할 수 없었지만 본 실험에서는 접종원( $1.6 \times 10^4/m$ )을 이용하여 접

중 농도를 균일하게 할 수 있었다.

Kooistra(1968)는 떡잎에서 흰가루병에 대한 저항성 반응은 포장에서의 저항성과 반드시 일치하지는 않는다고 보고하였는데, 본 시험에서는 포장에서의 병 발생과 떡잎이나 제1본엽의 잎절편을 이용한 저항성 평가 사이에 고도의 정의 상관을 나타냈다(Fig. 2). 멜론의 경우 엽위에 따라서 흰가루병에 대한 반응이 다르게 나타나 제3본엽에서 저항성 정도를 판단하는 것이 적당하다고 보고하였는데(Cohen, 1993), 본 시험에서는 다이끼지, 프론티아, 샤프 301 품종 등에서는 떡잎과 제1본엽에서 분생자경형성 정도의 차이가 있었고(Table 2), 포장에서의 병 발생과 잎절편을 이용한 저항성 평가 사이에 떡잎( $r=0.95^{**}$ ) 보다는 제1본엽( $r=0.99^{**}$ )의 상관계수가 더 높았다. 하지만 제2본엽 이상을 대상으로 실험할 경우 일정 크기(250 ml) 이상의 포트가 필요하기 때문에 온실에서 육묘를 해야만 하는데 이 과정에서 다량의 계통에 대한 검정시 공간의 한계와 온실에서 자연감염이 되는 문제점이 나타났다(자료 미 제시). 따라서 제1본엽의 절편을 이용하여 내병성 검정을 실시하는 것이 좋을 것으로 생각되었다.

Cohen(1993)은 멜론에서 균사만 자란 경우와 분생자경이 형성된 경우로 구분하여 각각의 비율로 평가를 하여 반복 당 100개 이상의 잎절편이 필요한 단점이 있었으나 본 시험에서는 잎절편별로 분생자경형성 정도에 따라 점수를 주고 이를 평균하는 방법을 이용하여 반복 당 10개 정도의 잎절편만으로도 저항성 평가가 가능하였다. 본 시험에서는 하우스에서의 흰가루병 발병도와 비교해 본 결과 분생자경형성 정도가 1 이상이면 감수성, 0.1-1 범위는 중도저항성, 전혀 균사형성도 없는 경우에 저항성으로 구분하였다.

유럽에서는 *Sphaerotheca fuliginea*와 *Erysiphe cichoracearum* 2종이 오이에 동시에 감염되고, 병원균의 race에 따라 품종에 대한 반응이 달라 내병성 품종 선발의 문제점을 지적하고 있는데(Corbarz와 Taillens, 1994), 국내에서는 *E. cichoracearum*이 오이에 보고는 되어있으나 실제 기생하는지에 대해서는 의문시되고 있고(김, 1999), 아직까지 *S. fusca*의 race에 관한 보고가 없기 때문에 오이 육묘의 잎절편을 이용한 저항성 품종 선발 시스템을 도입한다면 적은 수의 종자와 작은 공간을 이용하여 다량의 계통에 대해서 짧은 기간 내에 흰가루병 저항성 검정을 수행할 수 있을 것으로 생각되었다.

## 적 요

잎절편법을 이용하여 오이 흰가루병(*Sphaerotheca fusca*)

에 대한 10개 품종의 저항성을 평가하였다. 완전히 전개된 오이 잎에서 직경 10 mm의 절편을 잘라내어 benzimidazole을 혼합한 한천배지에 올려놓고 포자현탁액을 10  $\mu$ l씩 절편에 점적중법으로 실험하였다. 흰가루병의 분생자경은 25°C에서 가장 잘 형성되었다. 제1본엽의 disk를 이용하여 분생포자형성 정도를 측정해 흰가루병에 대한 오이의 저항성을 평가한 결과와 하우스 포장에서의 발병도 결과간에 고도의 정의 상관을 보였다( $r=0.99^{**}$ ). 이 결과들을 통해 잎절편법을 이용하여 오이 식물체의 흰가루병(*S. fusca*)에 대한 저항성을 평가할 수 있었다.

## 감사의 글

이 연구는 1998년도 농림부에서 시행하는 농림기술개발연구과제(298081-05-5-SB010)로 수행한 결과이며, 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Aust, H. J. 1986. Microclimate in relation to epidemics of powdery mildew. *Ann. Rev. Phytopathol.* 24: 491-510.
- Cohen, R. 1993. A leaf disk assay for detection of resistance of melon to *Sphaerotheca fuliginea* race 1. *Plant Dis.* 77: 513-517.
- Cohen, S. and Cohen, Y. 1986. Genetics and nature of resistance to race 2 of *Sphaerotheca fuliginea* in *Cucumis melo* PI 124111. *Phytopathology* 76: 1165-1167.
- Corbarz, R. and Taillens, J. 1994. Tolerance of cucumbers to powdery mildew: a confusing situation. *Revue Suisse de Viticulture, d'Arboriculture et d'Horticulture* 26: 397-398.
- 遠藤忠光. 1977. ウリ類うどんこ病の發生生態 - 特に病原菌の生活史お中心に ... 植物防疫 31: 185-191.
- Fanourakis, N. E. 1990. Screening procedures for powdery mildew resistance in the cucumber. *Acta Hort.* 287: 147-154.
- 김기청. 1999. 박과작물 병의 진단과 방제이론. 전남대학교 출판부. 702 pp.
- Kooistra, E. 1968. Powdery mildew resistance in cucumber. *Euphytica* 17: 236-244.
- Lee, Y. H., Cha, K. H., Ko, S. J., Park, I. J., Park, B. I. and Seong, K. Y. 2000. Evaluation of electrolyzed oxidizing water as a control agent of cucumber powdery mildew. *Plant Patho. J.* 16: 206-210.
- 박소득, 권태영, 임양숙, 정기채, 최부술. 1996. 연작연수에 따른 시설재배 참외, 수박 및 오이의 병해 발생 양상. *한국식물병리학회지* 12: 428-431.
- Sitterly, W. R. 1978. Powdery mildew of cucurbits, In: *The Powdery Mildew*, ed. by D. M. Spencer, pp359-379, Academic Press, New York.