

효율적인 무 뿌리혹병 저항성 검정법 확립

조수정 · 장경수 · 최용호 · 김진철 · 최경자*

한국화학연구원 산업바이오화학연구센터

Development of Convenient Screening Method for Resistant Radish to *Plasmodiophora brassicae*

Su-Jung Jo, Kyoung Soo Jang, Yong Ho Choi, Jin-Cheol Kim and Gyung Ja Choi*

Chemical Biotechnology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon 305-600, Korea

(Received on July 12, 2011; Revised on August 17, 2011; Accepted on August 17, 2011)

To establish simple and reliable screening method for resistant radish to *Plasmodiophora brassicae* Woron. using soil-drenching inoculation, the development of clubroot on radish seedlings inoculated with *P. brassicae* GN-1 isolate according to several conditions such as inoculum concentration, plant growth stage and incubation period after inoculation was studied. To select resistant radish against clubroot, 10-day-old seedlings were inoculated with *P. brassicae* by drenching the roots with the spore suspension of the pathogen to give 1×10^9 spores/pot. The inoculated seedlings were incubated in a growth chamber at 20°C for 3 days then cultivated in a greenhouse (20±5°C) for 6 weeks. Under the optimum conditions, 46 commercial cultivars of radish were tested for resistance to YC-1 (infecting 15 clubroot-resistant cultivars of Chinese cabbage) and GN-1 (wild type) isolates of *P. brassicae*. Among them, thirty-five cultivars showed resistance to both isolates and one cultivar represented susceptible response to the pathogens. On the other hand, the other cultivars showed different responses against the tested *P. brassicae* pathogens. The results suggest that this method is an efficient system for screening radish with resistance to clubroot.

Keywords : Breeding, Clubroot, Crucifer crops, Cultivar, Resistance

서 론

배추과(Cruciferae) 작물인 무(*Raphanus sativus*)는 아시아 또는 지중해 연안이 원산지인 한해살이 또는 두해살이풀로써 우리나라의 5대 채소 가운데 하나이다. 우리나라 전체 채소 생산량 대비 무는 10-15%로, 배추와 더불어 우리의 주요 부식인 김치, 단무지, 외식업체의 식재료로 중요도가 높은 작물이다(구 등, 2006; 이 등, 2008). 그러나 최근 많은 양의 화학비료를 사용하는 무의 연작재배지에서 각종 병해와 생리적 장애가 점차 증가하고 있다. 특히 뿌리혹병은 최근에 많이 발생하는 병으로 무 재배에서 심각한 문제로 대두되고 있다(조, 2008).

Plasmodiophora brassicae Woron.에 의한 뿌리혹병은 전

세계의 배추과 작물에 발생하여 피해를 주고 있는 주요 병해이다. 우리나라에서는 1920년에 뿌리혹병 발생이 처음 기록되었으나(Nakata와 Takimoto, 1928), 90년대 후반부터 전국적으로 대 발생하여 큰 문제를 일으키고 있다. 특히 뿌리혹병균은 휴면포자로 토양에 존재하며 환경이 적합하면 10년 이상 생존이 가능하다. 토양 및 농기구를 통한 뿌리혹병균 전파 양식 때문에 뿌리혹병은 전국으로 확산되었고, 다양한 배추과 작물의 품종 및 라인에서 실험해 보면 뿌리혹병균은 다양한 생리적 분화가 일어났다고 알려져 있다(Ayers, 1957; Buczacki 등, 1975; Johnston, 1968; Tanaka 등, 1998; Williams, 1966). 뿌리혹병균에 대하여 무는 배추보다 저항성이 높다고 보고되었지만(Akaba 등, 2009), 우리나라에서도 경기도, 강원도, 전라북도 등의 무 재배지에서 뿌리혹병 발생이 보고되고 있다(Cho 등, 2003).

뿌리혹병을 방제하기 위한 방법으로 미생물을 이용한

*Corresponding author

Phone) +82-42-860-7434, Fax) +82-42-861-4913

Email) kjchoi@kriict.re.kr

생물학적 방제(Cheah와 Page, 1995; Cheah 등, 2000), fluazinam, flusulfamide 및 cyazofamid 등의 살균제를 이용한 화학적 방제(Mitani 등, 2003; Komyoji 등, 1995; Shimotori 등, 1996), 배추과 작물 이외 작물과의 윤작 그리고 단경기 작물 및 저항성 품종 재배 등의 경종적 방제 방법 등이 이용되고 있다(조 등, 2002; Murakami 등, 2000; Tanaka 등, 1999). 최근에는 많은 나라들이 농약을 사용하지 않고 재배하는 친환경 농업 정책을 펼치고 있어 저항성 품종을 개발하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다. 저항성 품종을 재배하면 환경에 영향을 주는 화학 농약의 사용을 줄일 수 있으며, 농작물 손실을 최소화할 수 있다. 그러나 저항성 품종 육성이 활발히 진행되었던 일본에서는 병원균의 분화로 대부분의 뿌리혹병 저항성 배추 품종들의 저항성이 무너지고 있다고 보고되고 있다(Akaba 등, 2009). 따라서 뿌리혹병에 대한 새로운 저항성 유전자원 선발 및 저항성 품종의 육성이 요구된다. 이를 위해서는 효율적이고 재현성이 우수한 뿌리혹병 검정법이 필수적이다.

본 연구에서는 토양 관주 접종법을 이용하여 여러 발병 조건에 따른 무 뿌리혹병 발생을 실험하여 효율적인 무 뿌리혹병 저항성 검정법을 확립하고자 하였다. 또한 확립한 검정법을 이용하여 저항성 배추 품종에서 반응이 다른 두 균주에 대한 시판 중인 무 46개 품종의 무 뿌리혹병에 대한 저항성을 조사하였다.

재료 및 방법

뿌리혹병균 균주. 2009년에 강원도 강릉시 왕산면 대거리의 배추 재배포장에서 전형적인 병징을 나타내는 배추뿌리 이병조직을 채집하였다. 채집한 이병조직 1g을 취해 휴면포자를 수확한 후에 온실에서 재배한 본엽 2엽기 배추 100주에 접종하고 20°C 항온항습실에서 1주일 동안 배양하였다. 이를 뿌리혹병이 발생한 적이 없는 한국화학연구원 발포장에 정식하여 60일 동안 재배하여 증식한 균주를 *P. brassicae* GN-1로 명명하였다. 그리고 2009년에 경기도 연천군 연천읍 차탄리에서 채집한 배추뿌리 이병조직을 GN-1 균주와 동일한 방법으로 증식하였고 이를 *P. brassicae* YC-1 균주로 명명하였다. 뿌리혹병균 GN-1 균주와 YC-1 균주는 각각 -80°C 초저온냉동고에 보관하면서 실험에 사용하였다. 무 뿌리혹병에 대한 저항성 검정법 확립 실험에는 GN-1 균주를 사용하였으며, 무 및 배추 품종들의 뿌리혹병균에 대한 저항성 실험은 두 균주 모두를 사용하여 실험하였다.

식물 재배. 무 뿌리혹병에 대한 저항성 검정법 확립

실험은 몬산토코리아사로부터 구입한 ‘여름춘향이열무’ 품종을 사용하여 실험하였다. 종자를 5×8 육묘용 연결포트(70 ml/pot, 범농사)에 원예용상토 5호(부농사)를 넣고 파종하여 10일 동안 온실(25±5°C)에서 재배한 후 접종하였다. 시판 중인 무 품종들의 뿌리혹병에 대한 저항성 검정 실험은 여러 종자회사로부터 뿌리혹병에 대하여 저항성(CR, clubroot resistance)이라 표기된 10개 품종(‘길조’, ‘명산’, ‘비바리월동’, ‘빛고은열무’, ‘슈퍼길조’, ‘아우리월동’, ‘전무후무’, ‘청운플러스’, ‘태청’, ‘하우스청옥’)과 CR을 표시하지 않은 36종 품종(‘가을김장’, ‘강성’, ‘강추’, ‘관동여름’, ‘극동’, ‘대동’, ‘대박’, ‘대평여름’, ‘동하’, ‘미농조생’, ‘박자’, ‘백자’, ‘백춘’, ‘산나리열무’, ‘새롬’, ‘선봉알타리’, ‘송백’, ‘슈퍼모델’, ‘시래기’, ‘아시아가을저장’, ‘알파인’, ‘여름춘향이열무’, ‘장생’, ‘장형봄’, ‘청두’, ‘청수궁중’, ‘청운’, ‘청일품’, ‘초롱’, ‘초비’, ‘탐스런’, ‘태창’, ‘토광’, ‘평강김장’, ‘한농여름’, ‘YR 챔피온열무’)을 구입하여 위와 동일한 방법으로 재배하여 실험에 사용하였다. 무의 생육 시기에 따른 뿌리혹병 발생 실험에서는 원예용상토 5호에 무 종자를 파종하고 각각 4일, 7일, 10일 및 14일 동안 온실(25±5°C)에서 재배한 무 유묘를 사용하였다.

그리고 뿌리혹병균 GN-1과 YC-1 균주의 특성을 조사하기 위하여 이들에 대한 배추 품종의 저항성을 검정하였는데, CR 품종으로 판매하고 있는 15종 품종(‘금방울’, ‘노랑맛하장’, ‘산울림’, ‘상장군’, ‘쌈이랑’, ‘썸그린’, ‘영광’, ‘우리’, ‘월동천하’, ‘진청’, ‘태봉’, ‘하대장군’, ‘CR강산’, ‘CR여름맛’, ‘CR입춘’)과 저항성으로 공시하고 있지 않는 8개 품종(‘가을황’, ‘노랑관동’, ‘노랑김장’, ‘노랑김치’, ‘노랑추석’, ‘불암3호’, ‘참이슬겉말이’, ‘춘미봄’)을 구입하여 무 실험과 동일한 방법으로 파종하고 온실(25±5°C)에서 10일 동안 재배하여 실험에 사용하였다.

접종원 준비 및 접종. 접종하기 직전에 초저온냉동고에 보관 중인 균주를 꺼내어 증류수로 수 회 세척하여 이물질을 제거하고 이를 Waring blender에 넣고 멸균수를 첨가하여 마쇄하였다. 이를 2겹의 가제로 여과하여 식물조직을 제거하고 광학현미경 하(300배)에서 혈구계수기를 이용하여 휴면포자의 수를 측정하여 포자현탁액을 준비하였다. 포자현탁액의 최종 농도는 ml 당 2×10⁸개가 되도록 멸균수로 희석하였으며, 온실에서 재배한 무 유묘에 준비한 뿌리혹병균의 포자현탁액을 포트 당 5 ml씩 관주하여 접종하였다.

접종원 양에 따른 뿌리혹병 발생 실험에서는 포자현탁액 농도가 각각 ml 당 2.0×10⁶개, 2.0×10⁷개 및 2.0×10⁸개가 되도록 조정하여 실험하였다. 그리고 배추 품종의

뿌리혹병 저항성 검정 실험은 ml 당 8.0×10^7 개의 포자현탁액을 포트 당 5 ml씩 관주하여 접종하였다.

발병 및 병조사. 접종한 유묘는 20°C 항온항습실에서 하루에 12시간 광을 처리하며 3일 동안 배양한 후에 온실(20±5°C)로 이동하여 수분을 공급하며 재배하였다. 접종 후 배양 기간에 따른 뿌리혹병 발생을 제외한 모든 무 뿌리혹병 실험은 접종 6주 후에 뿌리의 흙을 제거하고 물로 씻은 후에 뿌리에 발생한 혹의 크기에 따라 발병도(0-4)를 조사하였다.

무 뿌리혹병의 병조사 기준은 0=뿌리혹병 발생이 없음, 1=주근에 뿌리혹이 착생되었으며 혹은 비대정도가 적고 서로 독립하여 존재, 2=비대정도가 큰 뿌리혹이 주근에 착생, 3=주근이 가늘고 주근과 세근에 작은 혹이 착생, 4=주근이 심하게 가늘고 주근과 세근에 큰 혹이 존재 등의 5단계로 하였다. 평균 발병도는 백분율로 환산하였으며, 발병도(%)가 25% 이하일 때 저항성으로, 그리고 25% 초과 50% 이하이면 중도 저항성, 50% 초과이면 감수성으로 판단하였다. 그리고 접종 후 배양 기간에 따른 뿌리혹병 발생 실험에서는 접종한 후에 각각 3주, 4주, 5주 및 6주 동안 온실(20±5°C)에서 재배하여 뿌리혹병 발생을 조사하였다.

배추 품종에서 GN-1과 YC-1 균주의 뿌리혹병 발생 실험은 조 등(2010)의 방법에 따라 접종 5주 후에 발병도를 조사하고, 평균 발병도를 백분율로 환산하였다. 모든 실험은 10반복으로 2회 이상 실시하였으며, SAS(SAS Institute, Inc., 1989, Cary, NC) 프로그램을 이용하여 ANOVA분석을 하였다. 처리 평균간 비교를 위하여 Duncan's multiple range test($P=0.05$)를 실시하였다.

결과 및 고찰

뿌리혹병균 균주. 기주의 병 저항성과 관련된 기주와 병원균 간의 상호작용을 이해하기 위해서는 단포자 균주 획득이 우선적으로 필요하지만(Voorrips, 1996), 뿌리혹병균은 잘 알려진 바와 같이 활물기생균이므로 *in vitro*에서 배양이 불가능하고(Arnold 등, 1996), 또한 단일 포자를 이용하여 접종하면 감염은 일어나나 전형적인 혹을 형성하지 않는 등 충분한 증식이 이루어지지 않아 접종원으로 사용하기에 어려움이 있다고 보고되었다(장 등, 2007). 따라서 본 실험에서는 단일 휴면포자를 사용하지 않고 강릉과 연천 배추포장에서 채집한 뿌리혹병 이병조직을 1g 씩 취하여 이로부터 휴면포자를 수확하고 희석하여 100주의 배추에 접종하고 무병토에 정식하여 증식한 균주인 *P. brassicae* GN-1 균주와 YC-1 균주를 실험에 사용하였다.

실험에 사용하는 뿌리혹병균 균주의 특성을 조사하기 위하여 15개 CR 배추 품종과 8개 감수성 배추 품종에 GN-1 균주와 YC-1 균주를 접종한 결과, 감수성 품종에서는 두 균주 모두 거의 동일하게 높은 뿌리혹병 발생을 나타냈으나, CR 품종들은 두 균주에 대해 서로 다른 반응을 보였다(Table 1). GN-1 균주를 접종하였을 때에는 모두 발병도 10% 이하의 저항성 반응을 나타내었으나, YC-1 균주를 접종한 경우에는 CR 품종 모두에서 감수성 품종과 거의 동일한 95% 이상의 발병을 나타내었으며, CR 품종간 뿌리혹병 발생은 거의 차이가 없었다(Table 1,

Table 1. The degree of resistance of 23 commercial Chinese cabbage cultivars to two isolates of *Plasmodiophora brassicae*^a

Cultivar	Trait	Disease severity (%)	
		GN-1 ^b	YC-1 ^c
CR Gangsan	CR ^d	8 ^e	100
CR Ipchun	CR	3	100
CR Yeoreummat	CR	5	100
Geumbangul	CR	5	100
Hadaejanggun	CR	3	100
Jincheong	CR	8	100
Norangmathajang	CR	8	95
Sangjanggun	CR	3	100
Sanulrim	CR	8	100
Ssamyrang	CR	3	100
Sungreen	CR	8	100
Taebong	CR	0	100
Woldongcheonha	CR	5	100
Woori	CR	3	100
Younggwang	CR	3	100
Bulam III	-	93	100
Chamyiseuleotgalyi	-	85	100
Chunmibom	-	98	100
Gaeulhwang	-	95	100
Norangchuseok	-	95	100
Noranggimjang	-	93	100
Norangwandong	-	90	100
Norangkimchi	-	98	98

^aSeedlings of Chinese cabbage were inoculated with GN-1 and YC-1 isolates of *P. brassicae* by drenching the roots with the spore suspension of each isolate to give inoculum density of 4.0×10^8 spores/pot. The plants were incubated in a growth chamber at 20°C for 3 days with 12-hr light a day and then transferred to a greenhouse (20±5°C). Five weeks after inoculation, disease severity of Chinese cabbage seedlings was investigated.

^bGN-1: isolate collected from Gangneung-si.

^cYC-1: isolate collected from Yeoncheon-gun.

^dCR: resistant cultivar to clubroot published by each seed company.

^eEach value represents the mean disease severity (%) of two runs with 10 replicates each.

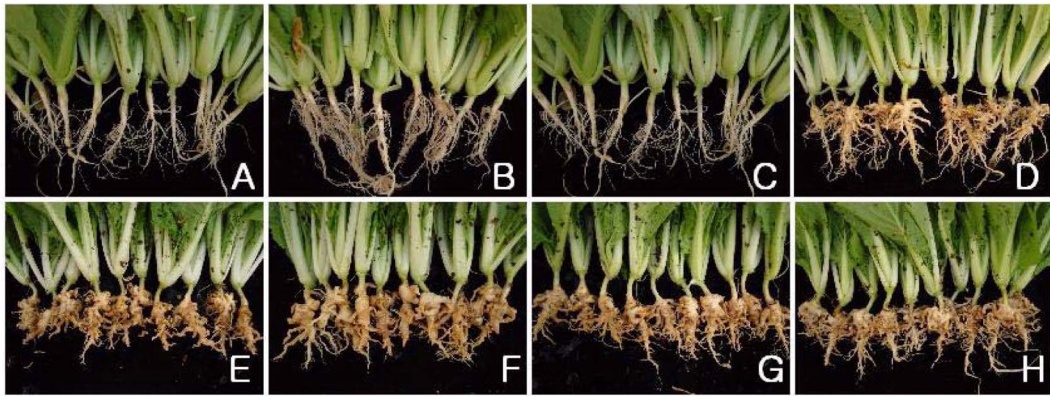


Fig. 1. Clubroot development on commercial cultivars of Chinese cabbage inoculated with GN-1 (A–D) and YC-1 (E–H) isolates of *Plasmodiophora brassicae*. A and E, ‘CR Gangsan’; B and F, ‘CR Ipchun’; C and G, ‘CR Yeoreummat’; D and H, ‘Noranggimjang’.

Table 2. Clubroot development of radish seedlings inoculated with *Plasmodiophora brassicae* at four plant growth stages^a

Growth stage (after sowing)	Inoculum concentration ($\times 10^7$ spores/pot)			Mean
	1.0	10	100	
4 days	51 ^{bde}	68b–e	68b–e	63
7 days	54cde	70abc	78ab	67
10 days	70b–e	79ab	98a	82
14 days	47e	49e	67b–e	54

^aSeedlings of radish (cv. Yeoreumchunhyangyiyeolmu) were inoculated with *P. brassicae* GN-1 by drenching the roots with the spore suspension of the pathogen. The plants were incubated in a growth chamber at 20°C for 3 days with 12-hr light a day and then transferred to a greenhouse (20±5°C). Six weeks after inoculation, disease severity of radish seedlings was investigated.

^bEach value represents the mean disease severity (%) of two runs with 10 replicates each.

Table 3. Clubroot development of radish seedlings according to incubation period after inoculation^a

Incubation period	Inoculum concentration ($\times 10^7$ spores/pot)			Mean
	1.0	10	100	
3 weeks	6 ^{bf}	8f	18f	10
4 weeks	44e	53de	63cd	53
5 weeks	66cd	64cd	74bc	68
6 weeks	79abc	89ab	90a	86

^aSeedlings of radish (cv. Yeoreumchunhyangyiyeolmu) were inoculated with *Plasmodiophora brassicae* GN-1 by drenching the roots with the spore suspension of the pathogen. The plants were incubated in a growth chamber at 20°C for 3 days with 12-hr light a day and then transferred to a greenhouse (20±5°C). Three to six weeks after inoculation, disease severity of radish seedlings was investigated.

^bEach value represents the mean disease severity (%) of two runs with 10 replicates each.

Fig. 1). 따라서 GN-1 균주는 CR 품종에 뿌리혹병을 일으킬 수 없는 균주이고, YC-1 균주는 실험한 CR 배추 품종들을 침해할 수 있는 즉 배추 CR 품종의 저항성을 무력화시키는 뿌리혹병균이라는 것을 알 수 있었다. Yoshikawa (1981)는 *B. rapa*에 속하는 European fodder turnip에서 뿌리혹병균에 대한 저항성 라인을 발견하여 50종이 넘는 뿌리혹병 저항성 배추품종을 육종하였다. 하지만 이후에 대부분 배추 품종의 뿌리혹병 저항성이 무너졌다고 하였다 (Kuginuki 등, 1999). 우리나라에서 육종한 15종 CR 배추 품종도 일본에서와 같이 YC-1 균주에 의해 저항성이 무너짐을 알 수 있었다.

생육 시기에 따른 뿌리혹병 발생. 과중한 후 온실에서 4일, 7일, 10일 및 14일 동안 키운 무 유묘에 여러 가지 농도의 뿌리혹병균을 접종하여 뿌리혹병 발생을 조사한 결과, 모든 생육 시기의 무는 *P. brassicae*의 접종 농도가

증가함에 따라 뿌리혹병이 많이 발생하였으며, 무의 생육 시기에 따른 뿌리혹병 발생은 과중 10일, 7일, 4일 14일 후 순으로 높았다(Table 2). 즉, 접종한 여러 생육 시기 중 과중 10일 후에 접종한 무에서 뿌리혹병이 가장 많이 발생하였으며, 포트 당 1.0×10^7 개, 1.0×10^8 개, 1.0×10^9 개를 접종하였을 때 각각 70%, 79%, 98%의 뿌리 혹병 발생을 보였다. 하지만 과중 4일 및 14일 후에 접종한 무의 발병도는 실험한 모든 접종원 농도에서 68% 이하의 비교적 낮은 발병을 나타냈다. 따라서 과중 10일 후에 포트 당 1.0×10^9 개를 접종하는 것이 바람직하다고 생각되었다.

배양 기간에 따른 발병. 접종 후 배양 기간에 따른 뿌리혹병 발생을 조사하기 위하여 원예용 상토에서 10일 동안 재배한 무 유묘에 여러 가지 농도의 포자현탁액을 접종하고 3주, 4주, 5주 그리고 6주 후에 발병도를 조사한

결과, 실험한 모든 접종원 농도에서 접종한 후에 재배하는 기간이 증가함에 따라 뿌리혹병 발생은 증가하였다 (Table 3). 접종 3주 후에는 모든 접종원 농도에서 18% 이하의 발병을 보였으나, 접종 6주 후에는 79% 이상의 높은 발병을 나타내 1.0×10^7 개, 1.0×10^8 개, 1.0×10^9 개를 접종하였을 때 각각 79%, 89%, 90%의 발병을 보였다. 따라서 뿌리혹병균의 포자 농도가 100배 증가하여도 뿌리혹병 발생은 크게 증가하지 않음을 알 수 있었다. 따라서 무 뿌리혹병 발생은 일정 농도 이상일 경우 *P. brassicae* 접종원 농도보다 접종 이후의 재배 기간이 더 크게 영향을 미침을 알 수 있었다. 조 등(2010)은 배추 품종의 뿌리혹병에 대한 저항성 정도를 조사하기에 적합한 발병 기간을 접종 후 5주로 보고한 바 있다. 이는 무 뿌리혹병의 경우에는 배추보다 뿌리혹병 발생 속도가 늦어 정확한 무 뿌리혹병 저항성을 검정하기 위해서는 충분한 배양 기간이 필요하다고 생각되었다.

무 품종들의 뿌리혹병 저항성. 시판 중인 무 46개 품종의 두 균주(GN-1, CR 배추 품종에 뿌리혹병을 일으키지 못하는 균주; YC-1, 15개 CR 배추 품종을 감염할 수 있는 균주)의 뿌리혹병균에 대한 저항성 정도를 관주 접종법을 이용하여 앞에서 선발한 최적화 조건으로 실험한 결과, 무 품종들은 두 균주에 대하여 다양한 저항성 반응을 나타내었으며 두 균주에 대한 저항성 정도에 따라 네 가지 그룹으로 분류할 수 있었다(Table 4). ‘빛고은열무’를 포함한 35개(76%) 품종들은 GN-1 균주와 YC-1 균주 모두에 대하여 저항성 반응을 보였으며, 이들 중 ‘아우리월동’을 포함한 3품종은 GN-1 균주에는 고도의 저항성 반응을 그러나 YC-1 균주에는 중도 저항성 반응을 나타냈다(그룹 1). 그리고 ‘강성’을 포함한 7개(15%) 품종은 GN-1 균주에는 저항성 반응을, 하지만 YC-1 균주에는 감수성 반응을 보였다(그룹 2). 이 중 ‘초비’는 GN-1 균주에 대해 중도 저항성을 나타냈다. 이와 반대로 ‘새롬’을 포함한 3개(7%) 품종은 YC-1 균주에 대해서는 중도 저항성 반응을, 그러나 GN-1 균주에 대해서는 감수성을 나타내었다(그룹 3). 그리고 실험한 무 품종 중 ‘초롱’ 만이 두 균주 모두에 대하여 감수성을 보이는 품종이었다(그룹 4).

이러한 반응은 배추 품종의 뿌리혹병균에 대한 저항성 반응과는 상이한 결과이다(Tables 1, 4). YC-1 균주는 실험한 모든 CR 배추 품종들에 감수성 품종과 동일한 정도의 뿌리혹병을 일으켰으며, GN-1 균주는 모든 CR 품종에 병을 일으키지 못하였다(Table 1). 하지만 무 품종들의 경우에는 GN-1과 YC-1 두 균주 모두에 저항성 혹은 감수성을 나타내는 경우도 있지만, GN-1 균주에 더 저항성인 품종과 YC-1 균주에 더 저항성인 품종들이 존재하

Table 4. The degree of resistance of commercial radish cultivars to two isolates of *Plasmodiophora brassicae*^a

Cultivar	Trait	Disease severity (%)	
		GN-1 ^b	YC-1 ^c
Ahwooriwoldong	CR ^d	10 ^e	40
Bitgoeunyeolmu	CR	3	3
Chungwoon plus	CR	0	0
Housecheongok	CR	5	8
Jeonmuhumu	CR	3	0
Kiljo	CR	0	0
Myeongsan	CR	0	0
Superkiljo	CR	0	0
Taecheong	CR	0	0
Varywoldong	CR	0	13
Alpine	-	3	3
Asia gaulgimjang	-	0	15
Asia gauljeojang	-	3	3
Backja	-	0	3
Baekchun	-	3	0
Bakja	-	10	3
Chengdu	-	5	0
Cheongilpum	-	0	3
Cheongsugungjungmu	-	0	0
Chungwoon	-	0	0
Daeback	-	3	0
Daedong	-	5	25
Daepyeongyeoreum	-	10	30
Geukdong	-	5	0
Jangsaeng	-	3	0
Minongjosaeng	-	5	0
Pyeongganggimjang	-	5	0
Sannariyeolmu	-	3	13
Seonbongaltari	-	3	0
Siraegi	-	8	0
Songbaeck	-	5	13
Taechang	-	18	3
Tamseureon	-	13	23
Togwang	-	8	0
YR Championyeolmu	-	0	0
Chobi	-	30	53
Dongha	-	13	65
Gangchu	-	10	75
Gangseong	-	10	60
Gwandongyeoreum	-	10	60
Hannongyeoreum	-	15	70
Janghyeongbom	-	8	53

Table 4. Continued

Cultivar	Trait	Disease severity (%)	
		GN-1 ^b	YC-1 ^c
Saerom	-	63	40
Supermodel	-	65	25
Yeoreumchunhyangiyoolmu	-	100	33
Chorong	-	55	100

^aSeedlings of each radish cultivar were inoculated with GN-1 and YC-1 isolates of *P. brassicae* by drenching the roots with the spore suspension of each isolate on pot to give inoculum density of 1.0×10^9 spores/pot. The plants were incubated in a growth chamber at 20°C for 3 days with 12-hr light a day and then transferred to a greenhouse (20±5°C). Six weeks after inoculation, disease severity of the seedlings was investigated.

^bGN-1: isolate collected from Gangneung-si

^cYC-1: isolate collected from Yeoncheon-gun

^dCR: resistant cultivar to clubroot published by seed companies.

^eEach value represents the mean of two runs with 10 replicates each.

였다(Table 4). 이것은 무(*R. sativus*)와 배추(*B. rapa* ssp. *pekinensis*)의 뿌리혹병 저항성 유전자는 서로 다르기 때문인 것으로 생각되었다. 배추의 뿌리혹병 저항성 유전자는 European turnip(*B. rapa*)으로부터 도입된 것으로 단인자 우성으로 유전한다고 알려져 있다(James와 Williams, 1980; Kuginuki 등, 1999). *B. rapa*에서 보고된 뿌리혹병 저항성 유전자는 5개의 주동 유전자[*CRa* (Matsumoto 등, 1998), *Crr1* (Kuginuki 등, 1997; Suwabe 등, 2003), *Crr2* (Suwabe 등, 2003), *Crr3* (Hirai 등, 2004) 및 *CRb* (Piao 등, 2004)]와 QTL인 *Crr4*가 있지만 아직 정확한 유전자 분석과 역할에 대해서는 보고되어 있지 않다(Akito 등, 2010). 한편 무에서는 배추과에 피해를 주는 beet cyst nematode (Peterka 등, 2004), *Albugo candida* (Kolte 등, 1991) 그리고 뿌리혹병(Ashizawa 등, 1980)과 같은 병에 대한 저항성을 나타내는 유전자원이 보고되었다. 그리고 뿌리혹병에 대해 강한 저항성을 가지고 있는 무 품종과 라인들이 많이 보고되었지만(Scheijgrond와 Vos, 1954; Yoshikawa, 1993), 이러한 뿌리혹병에 대한 무의 저항성 유전자 및 저항성 유전 분석은 아직 보고된 바 없으며, 무의 저항성 유전자와 *Brassica* 속 작물의 뿌리혹병 저항성 유전자를 서로 비교한 연구도 보고되지 않았다(Akito 등, 2010).

CR 배추 품종의 저항성 반응이 서로 다른 두 뿌리혹병 균 균주를 이용하여 시판중인 46종 무 품종의 뿌리혹병에 대한 저항성 반응을 검정한 결과, CR 품종으로 표기된 품종들 뿐만 아니라 CR임을 표시하지 않은 품종 중 상당수가 뿌리혹병균에 대하여 저항성 반응을 보였다(Table 4). 실험한 무 품종들은 GN-1 균주에 대해서 41개(89%)

품종이 뿌리혹병에 대하여 고도 저항성을, 그리고 1개(2%) 품종이 중도 저항성, 4개(9%) 품종이 감수성을 나타내었다. 그리고 YC-1 균주에 대해서는 32개(70%) 품종이 고도 저항성을, 6개(13%) 품종이 중도 저항성 반응을 보이고, 8개(17%) 품종이 감수성을 나타내 시판 중인 무 품종 대부분은 GN-1 균주뿐만 아니라 YC-1 균주에 대하여 저항성인 품종임을 알 수 있었다. 하지만 소비자의 기호를 충족할 수 있는 고부가가치의 수출용 및 내수용 뿌리혹병 저항성 품종들을 꾸준히 개발할 필요가 있다.

이상의 결과로부터 무 품종들의 *P. brassicae*에 의한 뿌리혹병 저항성을 검정하기 위한 방법으로, 무 종자를 원예용 상토에 파종하고 온실(25±5°C)에서 10일 동안 재배한 후에 2×10^8 spores/ml 농도의 *P. brassicae*의 포자현탁액을 주 당 5 ml씩 관주하여 접종한다. 그리고 접종한 무는 20°C 생육상에서 하루에 12시간 씩 광을 조사하면서 3일 동안 배양한 후에 온실(20±5°C)로 이동하여 약 6주 동안 재배한 후에 뿌리혹병 발생을 조사하는 것을 제안하고자 한다.

요 약

Plasmodiophora brassicae Woron.에 의해 발생하는 무 뿌리혹병에 대한 효율적인 저항성 검정법을 확립하기 위하여, GN-1 균주를 사용하여 접종원 농도, 무 생육 시기 및 접종 후 배양 기간 등 발병 조건에 따른 무 뿌리혹병 발생을 조사하였다. 종자를 파종하고 10일 동안 재배한 무 유묘에 뿌리혹병균을 포트 당 1.0×10^9 개의 포자 농도가 되도록 관주하여 접종하였을 때 뿌리혹병이 가장 많이 발생하였다. 그리고 뿌리혹병 발생을 위해서, 접종한 무 유묘는 20°C 생육상에서 하루에 12시간 동안 광을 처리하며 3일 동안 배양하고, 그 후 온실(20±5°C)에서 6주 동안 재배한 후에 발병 정도를 조사하는 것이 효율적이었다. 확립한 무 뿌리혹병 저항성 검정법을 이용하여, 시판 중인 무 품종 46개의 *P. brassicae* GN-1 균주(저항성 배추 품종에 침입할 수 없는 균주)와 YC-1 균주(15개 저항성 배추 품종에 뿌리혹병을 일으키는 균주)에 대한 저항성 정도를 실험한 결과, 실험한 무 품종 중 35개 품종은 두 균주 모두에 대하여 저항성을, 그리고 1개 품종은 감수성을 나타내었다. 한편, 나머지 10개 품종은 균주에 따라 서로 다른 반응을 나타냈다. 이상의 결과로부터 본 연구에서 확립한 뿌리혹병 저항성 검정법은 뿌리혹병균에 대한 무의 저항성을 조사하기 위한 효율적인 방법임을 알 수 있었다.

Acknowledgement

This study was supported by a grant (Project No. 609002-5) from the Screening Center for Disease Resistant Vegetable Crops of Technology Development Program for Agriculture and Forestry, Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries, Republic of Korea.

참고문헌

- 구경형, 이경아, 김영립, 이명기. 2006. 전처리 방법이 무청의 표면 미생물 변화에 미치는 영향. 한국식물영양과학회지 35: 511-572.
- 이희정, 이유정, 양덕조. 2008. 새로운 세포질 웅성불임 계통 무 (*Raphanus sativus* L.)의 미토콘드리아 DNA 유전적 특성. 자연과학연구 22: 107-118.
- 장세정, 허승환, 장창순, 간성우, 임용표, 김홍기. 2007. 국내 배추 뿌리혹병균, *Plasmodiophora brassicae*의 race와 그 우점 양상. 식물병연구 13: 45-49.
- 조광수, 한영환, 이정태, 허은주, 양태진, 우종규. 2002. 고랭지 지역 배추 무사마귀병원균의 생리형 분화와 저항성 품종 선발. 한국육종학회지 34: 168-173.
- 조수정, 장경수, 최용호, 김진철, 최경자. 2010. 관주 집중법을 이용한 효율적인 배추 뿌리혹병 저항성 검정법. 식물병연구 16: 279-284.
- 조영환. 2008. 내병성 무 품종 육성: 무. 한국채소종자산업발달사, 서울대학교출판부, pp. 271-280.
- Akaba, M., Kaneko, Y., Hatakeyama, K., Ishida M., Bang, S. W. and Matsuzawa, Y. 2009. Identification and evaluation of clubroot resistance of radish chromosome using a *Brassica napus*-*Raphanus sativus* monosomic addition line. *Breeding Science* 59: 203-206.
- Akito, K., Masato, T., Nakao, K., Takeshi, H., Ning, W., Tatsuhito, F. and Masashi, H. 2010. QTL mapping of clubroot resistance in radish. *Theor. Appl. Genet.* 120: 1021-1027.
- Arnold, D. L., Blakesley, D. and Clarkson, J. M. 1996. Evidence for the growth of *Plasmodiophora brassicae* in vitro. *Mycol. Res.* 100: 535-540.
- Ashizawa, M., Yoshikawa, H. and Hida, K. 1980. Studies on the breeding of clubroot-resistance in cole crop. II. Screening of cole crops of clubroot-resistance (2). *Bull. Vegetable and Ornamental Crops Res. Stn. A.* 7: 35-75.
- Ayers, G. W. 1957. Races of *Plasmodiophora brassicae*. *Can. J. Bot.* 35: 923-932.
- Buczacki, S. T., Toxopeus, H., Mattusch, P., Johnston, T. D., Dixon, G. R. and Hobolth, L. A. 1975. Study of physiologic specialization in *Plasmodiophora brassicae*: Proposals for attempted rationalization through an international approach. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 65: 295-303.
- Cheah, L. H. and Page, B. B. C. 1995. *Trichoderma* spp. for potential biocontrol of clubroot of vegetable brassicas. *Proc. 50th N. Z. Plant Protection Conf.* 150-153.
- Cheah, L. H., Veerakone, S. and Kent, G. 2000. Biological control of clubroot on cauliflower with *Trichoderma* and *Streptomyces* spp. *N. Z. Plant Protection* 53: 18-21.
- Cho, W. D., Kim, W. G. and Takahashi, K. 2003. Occurrence of clubroot in cruciferous vegetable crops and races of the pathogen in Korea *Plant Pathol. J.* 19: 64-68.
- Hirai, M., Harada, T., Kubo, N., Tsukada, M., Suwabe, K. and Matsumoto, S. 2004. A novel locus for clubroot resistance in *Brassica rapa* and its linkage markers. *Theor. Appl. Genet.* 108: 639-643.
- James, R. V. and Williams, P. H. 1980. Clubroot resistance and linkage in *Brassica campestris*. *Phytopathology* 70: 776-779.
- Johnston, T. D. 1968. Clubroot in Brassicae: A standard inoculation technique and the specification of races. *Plant Pathol.* 17: 184-187.
- 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.
- Kolte, S. J., Bordoloi, D. K. and Awarthi, R. P. 1991. The search for resistance to major diseases of rapeseed and mustard in India. *GCIRC Rapeseed Congr.* 6: 219-225.
- Komyoji, T., Sugimoto, K., Mitani, S., Matsuo, N. and Suzuki, K. 1995. Biological properties of a new fungicide, fluazinam. *J. Pestic. Sci.* 20: 129-135.
- Kuginuki, Y., Ajisaka, H., Yui, M., Yoshikawa, H., Hida, K. and Hirai, M. 1997. RAPD markers linked to a clubroot-resistance locus in *Brassica rapa* L. *Euphytica* 98: 149-154.
- Kuginuki, Y., Yoshikawa, H. and Hirai, M. 1999. Variation in virulence of *Plasmodiophora brassicae* in Japan tested with clubroot resistant cultivars of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*). *Eur. J. Plant Pathol.* 105: 327-332.
- Matsumoto, E., Yasui, C., Ohi, M. and Tsukada, M. 1998. Linkage analysis of RFLP markers for clubroot resistance and pigmentation in Chinese cabbage. *Euphytica* 104: 79-86.
- Mitani, S., Sugimoto, K., Hayashi, H., Takii, Y., Ohshima, T. and Matsuo, N. 2003. Effects of cyazofamid against *Plasmodiophora brassicae* Woronin on Chinese cabbage. *Pest Manag. Sci.* 59: 287-293.
- Murakami, H., Tsushima, S., Akimoto, T., Murakami, K., Goto, I. and Shishido, Y. 2000. Effects of growing leafy daikon (*Raphanus sativus*) on population of *Plasmodiophora brassicae* (Clubroot). *Plant Pathol.* 49: 584-589.
- Nakata, K. and Takimoto, K. 1928. List of disease of cultivated plants in Korea. *J. Agric. Exp. Stn., Govern-Gen. Chosen* 15: 77-78. (In Japanese)
- Peterka, H., Budahn, H., Schrader, O., Ahne, R. and Schutze, W. 2004. Transfer of resistance against the beet cyst nematode from radish (*Raphanus sativus*) to rape (*Brassica napus*) by monosomic chromosome addition. *Theor. Appl. Genet.* 109:

- 30–41.
- Piao, Z. Y., Deng, Y. Q., Choi, S. R., Park, Y. J. and Lim, Y. P. 2004. SCAR and CAPS mapping of *CRb*, a gene conferring resistance to *Plasmodiophora brassicae* in Chinese cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*). *Theor. Appl. Genet.* 108: 1458–1465.
- Scheijgrond, W. and Vos, H. 1954. Investigation on the susceptibility to clubroot. *Euphytica* 3: 125–139.
- Shimotori, H., Yanagida, H., Enomoto, Y., Igarashi, K., Yoshinari, M. and Umemoto, M. 1996. Evaluation of benzenesulfonanilide derivatives for the control of crucifers clubroot. *J. Pestic. Sci.* 21: 31–35.
- 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.
- Tanaka, S., Fujiyama, S., Shigemori, S., Nakayama, A., Ito, S. and Kameya, I. M. 1998. Pathogenesis of isolates of *Plasmodiophora brassicae* from Japan. (1) Race and pathogenesis in clubroot resistant cultivars. *Proc. Assoc. Plant Protect. Kyushu* 44: 15–19.
- Tanaka, S., Kochi, S., Kunita, H., Ito, S. and Kameya, I. M. 1999. Biological mode of action of the fungicide, flusulfamide, against *Plasmodiophora brassicae* (clubroot). *Eur. J. Plant Pathol.* 105: 577–584.
- Voorrips, R. E. 1996. Production and characterization of single-spore isolates of *Plasmodiophora brassicae*. *Eur. J. Plant Pathol.* 102: 377–383.
- Williams, P. H. 1966. A system for the determination of races of *Plasmodiophora brassicae* that infect cabbage and rutabaga. *Phytopathology* 56: 624–626.
- Yoshikawa, H. 1981. Breeding for clubroot resistance in Chinese cabbage. In : Chinese Cabbage, ed. by N. S. Talekar and T. D. Griggs, pp. 405–413. Proc. 1st Int. Symp., Tsukuba, Japan.
- Yoshikawa, H. 1993. Studies on breeding of clubroot resistance in cole (Cruciferae) crops. *Bull. Natl. Res. Inst. Veg. Ornam. Plants Tea. Japan. Ser. A.* 7: 1–16.