Research Report

멜론 덩굴쪼김병에 대한 효율적인 저항성 검정법 개발

이원정^{1,2}, 이지현¹, 장경수¹, 최용호¹, 김흥태², 최경자^{1*}

Development of Efficient Screening Methods for Melon Plants Resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*

Won Jeong Lee^{1,2}, Ji Hyun Lee¹, Kyoung Soo Jang¹, Yong Ho Choi¹, Heung Tae Kim², and Gyung Ja Choi^{1*}

Abstract: This study was conducted to establish an efficient screening system to identify melon resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. melonis. F. oyxsporum f. sp. melonis GR was isolated from infected melon plants collected at Goryeong and identified as F. oxysporum f. sp. melonis based on morphological characteristics, molecular analyses, and host-specificity tests on cucurbits including melon, oriental melon, cucumber, and watermelon. In addition, the GR isolate was determined as race 1 based on resistance responses of melon differentials to the fungus. To select optimized medium for mass production of inoculum of F. oxysporum f. sp. melonis GR, six media were tested. The fungus produced the most spores (microconidia) in V8-juice broth. Resistance degrees to the GR isolate of 22 commercial melon cultivars and 6 rootstocks for melon plants were investigated. All tested rootstocks showed no symptoms of Fusarium wilt. Among the tested melon cultivars, only three cultivars were susceptible and the other cultivars displayed moderate to high resistance to the GR isolate. For further study, six melon cultivars (Redqueen, Summercool, Superseji, Asiapapaya, Eolukpapaya, and Asiahwanggeum) showing different degrees of resistance to the fungus were selected. The development of Fusarium wilt on the cultivars was tested according to several conditions such as plant growth stage, root wounding, dipping period of roots in spore suspension, inoculum concentration, and incubation temperature to develop the disease. On the basis of the test results, we suggest that an efficient screening method for melon plants resistant to F. oxysporum f. sp. melonis is to remove soil from roots of seven-day-old melon seedlings, to dip the seedlings without cutting in spore suspension of 3×10^5 conidia/mL for 30 min, to transplant the inoculated seedlings to plastic pots with horticulture nursery media, and then to cultivate the plants in a growth room at 25 to 28°C for about 3 weeks with 12-hour light per day.

Additional key words: bioassay, breeding, cucurbit, disease resistance, Fusarium wilt

서 언

최근 고품질 소비추세와 웰빙 식품의 선호에 따라 멜론의 대중적인 소비가 증가하고 있다(RDA, 2006). 멜론(*Cucumis melo* L.)은 박과 작물에 속하는 1년생 식물로 수분을 제외한 대부분의 성분이 탄수화물이며, 이 중 대부분은 가용성 당

성분이고 식이섬유도 소량 함유되어 있다. 수확하여 후숙을 시키면 단맛과 특이한 향기가 나는 것이 멜론의 주요 특징 이다. 멜론이 고온, 건조를 요하는 작물이기 때문에 우리나 라에서 생산되는 멜론은 대부분 시설 내에서 토경 재배를 하여 연중 출하되고 있다. 일반적으로 멜론은 다른 과실에 비하여 생육기간이 짧아 전업으로 재배할 경우 봄·여름·가

¹한국화학연구원 바이오화학연구센터

²충북대학교 식물의학과

¹Research Center for Biobased Chemistry, Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon 305-600, Korea

²Department of Plant Medicine, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

^{*}Corresponding author: kjchoi@krict.re.kr

[※] Received 8 June 2014; Revised 25 July 2014; Accepted 17 September 2014. 본 연구는 농림축산식품부·해양수산부·농촌진흥청·산림청 Golden Seed 프로젝트 채소종자사업단(213002-04-1-SBZ10)과 원예종자사업단(213003-04-2-WTV11)의 지원에 의해 이루어진 것임.

^{© 2015} Korean Society for Horticultural Science

을·겨울의 연간 4회 재배가 가능하다(Cha et al., 2013).

Fusarium oxysporum은 형태상으로는 구별이 되지 않지만 적어도 80개 이상의 분화형을 가지며 각각의 기주에 높은 특 이성을 나타낸다고 알려져 있다. 하지만 최근 오이나 수박 등 박과 작물 간에 교차 병원성을 나타낸다는 보고도 있다 (Cafri et al., 2005; Owen, 1955; Zhou and Everts, 2007). 멜론 덩굴쪼김병은 Fusarium oxysporum f. sp. melonis에 의 해 발생하며, 세계적으로 심각한 수량 손실을 일으켜 멜론 재배에서 가장 피해가 큰 병해 중 하나이다. 덩굴쪼김병균 은 식물의 뿌리로 침입한 후, 기주의 도관에 정착하여 식물 에 시들음 증상을 나타내고 결국 유묘나 성숙한 식물체가 고사하게 된다. 그리고 이 병원균은 토양에 한 번 유입되면 끊임없이 생존하여 연작장애를 일으킨다(Banihashemi et al., 1975). 하지만 멜론의 덩굴쪼김병을 방제할 수 있는 살균제 가 거의 없는 실정이므로 저항성 대목 품종을 이용한 접목 재배 방법이 가장 널리 사용되고 있으나 이것은 노동력이 많 이 소요되는 단점이 있다. 따라서 환경친화적인 저항성 품종 의 재배가 효율적인 방제 방법으로 알려져 있다(Freeman et al., 2002).

멜론에 덩굴쪼김병을 일으키는 F. oxysporum f. sp. melonis 에는 4개의 race가 보고되어 있다(Risser et al., 1976). Race 0, 1, 2, 그리고 1, 2인데, 저항성 유전자가 없는 감수성 품종 에만 병을 일으키는 race 0, 감수성 품종과 Fom-1 저항성 유전자를 가지는 저항성 품종에 병을 일으키는 race 1, 감수 성 품종과 Fom-2 저항성 유전자가 도입된 저항성 품종에 병을 일으키는 race 2, 그리고 Fom-1과 Fom-2 둘 다 가지는 품종에도 병을 일으키는 race 1, 2(race 3)가 보고되어 있다. Race 1, 2는 1976년 Southern California에서 처음 보고되었 으며, 병장에 따라 식물이 고사되기 전에 황화증상이 나타 나는 race 1, 2y와 식물 고사되기 전에 황화증상 없이 시들 음 증상이 나타나는 race 1, 2w로 구분하기도 한다(Bouhot, 1981). Fom-1과 Fom-2 저항성 유전자는 단인자 우성 유전 을 한다고 알려져 있으며(Zuniga et al., 1999), 현재 race 0, 1, 그리고 2에 저항성인 멜론 품종이 개발되어 있으나, race 1, 2에 대한 저항성인 멜론 품종은 아직 개발된 적이 없다 (Matsumoto et al., 2011). 따라서 멜론 덩굴쪼김병에 대한 새로운 저항성 유전자원 탐색과 저항성 품종 개발을 위해서 는 대량의 시료에 대하여 효율적으로 병 저항성을 검정하는 것이 필요하다. 하지만 균주의 병원성 조사를 위한 간편 접 종법 개발 그리고 침지 접종법을 보다 용이하게 하기 위하 여 고안한 새로운 방법들과 기존 방법의 비교에 관한 논문 등이 보고되어 있으나(Freeman and Rodriguez, 1993; Latin and Snell, 1986), 덩굴쪼김병균에 대한 멜론의 저항성을 검정하기 위한 효율적이고 체계적인 방법의 확립에 관한 논문은 보고된 바 없다.

본 연구는 덩굴쪼김병이 발생한 멜론 식물로부터 분리한 균주를 동정하고, Risser et al.(1976)의 방법에 따라 race를 판별하였다. 그리고 F. oxysporum f. sp. melonis의 접종원 대량 생산을 위한 최적배지를 선발하였다. 그리고 멜론의 저항성 품종을 개발하기 위한 효율적인 덩굴쪼김병 저항성 검정 방법을 확립하고자 시판 중인 22개 멜론 품종과 6개 대목 품종의 덩굴쪼김병 저항성 정도를 실험하고, 이들 중 저항성의 정도가 서로 다른 6개 멜론 품종을 선발하여 멜론의 생육 시기, 뿌리 상처, 접종원 농도, 침지시간, 재배 온도등 다양한 발병 조건에 따른 멜론 품종들의 덩굴쪼김병 발생 정도를 조사하였다.

재료 및 방법

덩굴쪼김병균의 분리 및 동정

고령 지역의 온실에서 덩굴쪼김병이 발생한 멜론을 채집 하고 이로부터 병원균을 단포자 분리하고 GR 균주로 명명 하였다. 분리한 덩굴쪼김병균은 광학현미경 하에서 대형분 생포자와 소형분생포자의 형태, 후막포자 형성 유무, 균총 색 등의 형태학적인 관찰(Nelson et al., 1983)과 분자생물학 적인 방법으로 동정하였다. 분자생물학적 동정을 위해 GR 균주를 potato dextrose agar(PDA; Becton, Dickinson and Co.) 배지에 접종하고 25°C에서 7일 동안 배양한 후에 균사체 를 수확하였다. 이것을 InstaGene Matrix #732-6020 solution 20μL에 현탁하여 12,000rpm으로 5분간 원심분리한 후에 상 등액 1μL를 PCR에 사용하였다. 염기서열 분석을 위하여 ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')와 ITS4(5'-TCCT CCGCTTATTGATATGC-3') 프라이머(White et al., 1990) 그리고 EF-1(5'-ATGGGTAAGGAGGACAAGAC-3') 프라 이머와 EF-2(5'-GGAAGTACCAGTGATCATGTT-3') 프라 이머(O'Donnell et al., 1998)를 사용하여 PCR을 하였다. 두 프라이머 세트를 이용하여 InstaGene Matrix 산물 1μL, 10mM dNTP 1μL, 10 × PCR buffer 3μL, 10pmol의 프라이머 각각 1μL, 2.5unit/μL의 EF-Taq DNA polymerase(Solgent, Korea) 0.2μL을 넣고 멸균수를 첨가하여 최종 30μL의 반응액을 만들어 PCR 증폭 하였다. PCR은 95°C에서 2분간 initial denaturation을 실시한 후에 denaturation 95°C·30s⁻¹, annealing 54°C·30s¹, extention 72°C·min¹으로 35 cycle을 수행하고 final extention 72°C에서 10분간 실시하였다(Wagacha et al., 2010). 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 PCR 반응을 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 ITS와 TEF영역의 염기서열과 비교하였다. GR 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.

최적배지 선발

접종원 대량생산을 위한 최적배지를 선발하기 위하여 GR 균주를 PDA 배지에 접종하고 25℃ incubator에서 7일 동안 전배양 하였다. Fusarium oxysporum의 포자 생산을 위해 많 은 연구자들이 사용하고 있는 6종 배지, malt extract broth (MEB; Becton, Dickinson and Co.), Czapek-dox broth(CDB; Becton, Dickinson and Co.), potato dextrose broth(PDB; Becton, Dickinson and Co.), V8-juice broth[V8 broth; V8 Juice(Campbell Soup Co.) 200mL, CaCO₃ 3g(Samchun Chem. Co., LTD), distilled water 1L], Clarified V8 broth(C-V8 broth; V8-juice broth를 4,000rpm에서 15분 동안 원심분리 하여 침전물을 제거한 배지), glucose-peptone-yeast extract broth[GPYB; Glucose(Junsei Chem. Co., Japan) 20g, peptone (Becton, Dickinson and Co.) 5g, yeast extract(Becton, Dickinson and Co.) 5g, distilled water 1L)를 선발하여 125mL 삼각플 라스크당 배지를 50mL씩 넣고 멸균하여 준비하였다. 이들 배지에 전배양한 GR 균주의 균총 말단부위로부터 7mm cork borer를 사용하여 떼어낸 균사 조각을 플라스크당 3개 씩 접종하고 이들을 shaking incubator(25°C, 150rpm)에서 배양하였다. 생산된 포자(소형분생포자)의 수를 측정하기 위하여, 접종 2일 후부터 8일 후까지 하루에 한 번 배양액을 1mL씩 수확하여 4겹 거즈로 거르고 hemocytometer를 이용 하여 광학현미경 하에서 포자의 수를 측정하였다. 실험은 배 지당 3개 플라스크씩 그리고 플라스크당 2회씩 조사하였다.

접종원 준비

PDA 배지 중앙에 GR 균주의 균사 조각을 접종하고 25℃에서 7일 동안 배양한 균총으로부터 균사 조각을 떼어 V8-juice broth 배지에 접종하였다. 그리고 이를 25℃ 암 상태에서 7일 동안 150rpm으로 진탕배양 하였다. GR 균주 배양액을 수확하여 4겹의 거즈로 걸러 균사를 제거하고 원심분리하여(4,300g, 10분, 4℃, Beckman Coulter Inc.) 배양여액을 제거하였다. 포자 침전물에 멸균수를 넣고 잘 현탁한 후에 hematocytometer를 이용하여 광학현미경하에서 포자(소형분생포자)의 농도를 측정하였다.

접종원 농도에 따른 멜론 품종들의 덩굴쪼김병 발생 실험을 제외한 모든 실험에서는 포자 농도가 3.3×10^6 conidia/mL이 되도록 접종원을 준비하였다. 한편, 접종원 농도에 따른 발병 실험을 위해서는 1.3×10^4 , 4.0×10^4 , 1.2×10^5 , 3.6×10^5 , 1.1×10^6 conidia/mL로 조정하여 실험에 사용하였다.

식물 재배

분리한 GR 균주의 기주 특이성을 조사하기 위하여 오이 (Cucumis sativus), 멜론(C. melo), 참외(Cucumis melo var. makawa), 수박(Citrullus lanatus) 등의 박과 작물에 대한 GR 균주의 병원성을 조사하였다. 오이는 '아시아청장'(아시아종묘)과 '백미백다다기'(동부팜한농), 멜론은 '베타리치'(동부팜한농)와 '아시아황금'(아시아종묘), 참외는 '금제'(아시아종묘)와 '조은대'(신젠타종묘) 그리고 수박은 '서태자'(아시아종묘)와 '꼬꼬마수박'(아시아종묘) 품종을 시중에서 구입하여 실험에 사용하였다. 각 박과 작물의 종자를 8 × 16 육묘용 연결 포트(15mL/pot, 범농사)에 원예용상토 5호(부농사)를 넣고 1립씩 파종하여 온실(25 ± 5°C)에서 7일 동안 재배하였다.

F. oxysporum f. sp. melonis GR 균주의 race를 검정하기 위하여 Risser et al.(1976)의 방법에 따라 감수성인 'Charentais T', Fom-1 저항성 유전자를 가지는 'Charentais Fom-1', Fom-2 저항성 유전자가 도입된 'Charentais Fom-2' 그리고 Fom-1 과 Fom-2를 지니는 'MR-1' 등 4종의 멜론 품종들을 농업유전 자원센터(KACC)로 부터 분양 받아 실험에 사용하였다. Race 판별 품종의 재배는 앞에서와 같은 방법으로 실험하였다.

시판 중인 멜론 품종과 멜론용 대목 품종들의 F. oxysporum f. sp. melonis GR 균주에 대한 저항성을 조사하기 위하여 멜론 22개 품종, '아시아황금'(아시아종묘), '아세아조춘만 추'(아시아종묘), '아시아파파야'(아시아종묘), '아시아성하' (아시아종묘), '베타리치'(동부팜한농), '얼스엘리제'(신젠타

종묘), '얼스골드킹'(코레곤종묘), '얼스해피'(코레곤종묘), '얼스하리'(코레곤종묘), '얼스마운트하계'(아시아종묘), '얼스마 티'(신젠타종묘), '얼스탑원'(아시아종묘), '얼스VIP'(농협종묘), '얼룩파파야'(아시아종묘), '장춘FR파파이야'(장춘종묘), 'IJ하계'(아시아종묘), 'JJ원탑'(아시아종묘), '레드퀸'(농협종묘), '세지오케이'(동부팜한농), '썸머쿨'(코레곤종묘), '슈퍼세지'(아시아종묘)과 멜론용 대목 6개 품종, '강근토좌'(아시아종묘), '황제토좌'(코레곤종묘), '중토좌'(코레곤종묘), 'NO.8'(한국다끼이), 'RS111'(신젠타종묘), '신토좌'(아시아종묘)를 시중에서 구입하여 실험에 사용하였다. 멜론 품종및 대목들의 재배는 앞에서와 동일한 방법으로 하였다.

발병 조건에 따른 멜론 품종들의 덩굴쪼김병 저항성 차이 실험을 위해서는 저항성으로 '레드퀸'(농협종묘), '썸머쿨' (코레곤종묘), '슈퍼세지'(아시아종묘)를, 중도저항성으로 아시아파파야'(아시아종묘)를, 그리고 감수성으로 '얼룩파파야'(아시아종묘)와 '아시아황금'(아시아종묘) 등 6개 멜론 품종을 실험에 사용하였다. 6개 품종의 종자를 8 × 16 육묘용 연결 포트(포트 당 토양 21mL/pot, 범농사)에 원예용상토 5호(부농사)를 넣고 종자를 1립씩 파종하여 온실(25 ± 5°C)에서 재배하였다.

멜론의 생육 시기에 따른 덩굴쪼김병 발생 실험을 제외한 모든 실험은 종자를 파종하고 7일 동안 재배한 유묘를 실험 에 사용하였다. 멜론의 생육 시기에 따른 발병 실험을 위해 서 접종하기 7, 10, 13, 16일 전에 각각 파종하고 온실에서 재배하여 실험에 사용하였다.

덩굴쪼김병균 접종

온실에서 재배한 멜론 유묘의 뿌리를 물로 세척하여 흙을 제거한 후에 GR 균주의 포자현탁액에 30분 동안 침지하여 접종하였다. 그리고 5×8 연결 포트(포트당 토양 80 mL/pot, 범농사)에 원예용상토 5 호(부농사)를 넣고 접종한 멜론 유묘를 이식하였다.

그 외 뿌리 상처 유무에 따른 6개 멜론 품종의 덩굴쪼김 병 발생 실험에서 상처처리구는 앞에서와 같은 방법으로 준비한 멜론 유묘의 뿌리가 2.0-2.5cm 정도 남도록 가위로 잘라서 상처를 낸 후에 앞에서와 동일한 방법으로 GR 균주의 포자현탁액에 침지하여 접종하였다.

또한 침지시간에 따른 멜론 품종들의 덩굴쪼김병 발생의 경우에는 준비한 GR 균주 포자현탁액에 각각 0, 0.5, 1, 3 및 5시간 동안 침지하여 접종하였다. 0시간 처리를 위해서는 씻어서 준비한 멜론 뿌리를 포자현탁액에 침지한 즉시

꺼내 토양에 이식하였다.

발병 및 병조사

접종 후 재배 온도에 따른 멜론의 덩굴쪼김병 발생 실험을 제외한 모든 실험은 접종한 멜론 유묘를 25℃ 습실상에서 1일 동안 배양한 후에 25℃ 항온항습실로 옮기고 하루에 12시간씩 광을 조사하면서 6일 동안 재배하였다. 그리고 28℃에서 약 2주 동안 더 재배한 후에 덩굴쪼김병 발생을 조사 하였다.

재배 온도에 따른 발병 실험은 접종한 멜론 유묘를 20, 25 및 30°C 습실상에서 1일 동안 배양한 후에 각각 20, 25 및 30°C 항온항습실로 이동하고 하루에 12시간씩 광을 조사하면서 약 3주 동안 재배한 후에 병 발생을 조사하였다.

병조사는 접종 3주일 후에 각 식물체의 덩굴쪼김병 발생 정도(disease severity)를 조사하였다. 발병 정도는 다음과 같은 발병도(disease index)로 조사하였는데, 0 = 건전, 1 = 도 관이 갈변되고 생육이 약간 억제된 것, 2 = 도관이 갈변되고 생육이 억제된 것, 3 = 도관이 갈변되고 생육이 심하게 억제되고 황화된 것, <math>4 = 고사 등의 5단계로 하였다. 그리고 평균 발병도가 1.0 이하인 경우에는 저항성, <math>1.1-2.5는 중도저항성, 2.6 이상은 감수성으로 판정하였다.

모든 덩굴쪼김병 발생 실험은 10반복으로 2회 실시하였다. 통계분석은 SAS(SAS Institute, Inc., 1989, Cary, NC) 프로그램을 이용하여 ANOVA 분석을 하였으며, 처리 평균간비교를 위하여 Duncan's multiple range test(p=0.05)를 실시하였다.

결과 및 고찰

균주 동정

덩굴쪼김병이 발생한 멜론 시료로부터 분리한 GR 균주는 PDA 배지에서 균사 생장이 빠르고 균충의 색은 흰색이고 배지에 보라색 색소를 분비하며, 3-5개의 격막을 가지는 Fusarium의 전형적인 낫 모양의 대형분생포자를 형성하고, false head에 kidney-shaped의 소형분생포자와 후막포자를 형성하는 등의 형태적 특징을 바탕으로 *F. oxysporum*으로 동정되었다(Nelson et al., 1983).

또한 분자생물학적으로도 동정하였는데 GR 균주의 ITS 영역(White et al., 1990)과 translation elongation factor 1-α (TEF) 영역(O'Donnell et al., 1998)의 염기서열을 NCBI에 등록된 Fusarium 종들과 비교한 결과, 두 영역 모두에서 F.

oxysporum과 100%의 상동성을 보였다. 그리고 두 영역 각각에 대하여 phylogenic tree를 작성하였을 때 둘 다 F. oxysporum과 동일한 그룹을 형성하였다(Fig. 1). ITS 영역은 일반적으로 곰팡이의 종을 구분하기 위하여 널리 사용되고

있으며, Fusarium 속의 종간 구별을 위해서는 TEF 유전자가 가장 적당하다고 알려져 있다(Geiser et al., 2004). 하지만 본 실험의 GR 균주는 두 유전자 영역 모두에서 F. oxysporum과 일치하였다. 그러므로 이상의 형태적 및 분자생물학적 동정

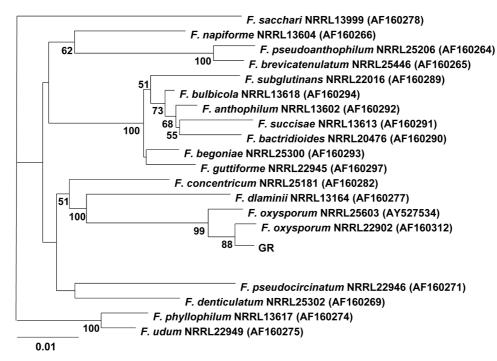


Fig. 1. Phylogenetic tree based on sequences of rDNA-TEF regions of *Fusarium oxysporum* isolates and related species. The values above each branch indicate the percentage levels of bootstrap support (> 50%) for the branch point based on 1,000 resamplings. The bar represents 0.01 substitutions per nucleotide position. GenBank accession numbers are represented in parentheses.

Table 1. Pathogenicity of Fusarium oxysporum f. sp. melonis GR isolate on four cucurbits².

Crop	Cultivar	Scientific name	Disease index ^y
Melon	Betarich	Cucumis melo	3.2 ± 0.8
	Asiahwanggeum	Cucumis melo	4.0 ± 0.0
Oriental melon	Geumje	C. melo var. makuwa	4.0 ± 0.0
	Joeundae	C. melo var. makuwa	4.0 ± 0.0
Cucumber	Asiacheongjang	Cucumis sativus	0.0 ± 0.0
	Baekmibaekdadagi	Cucumis sativus	0.0 ± 0.0
Watermelon	Seotaja	Citrullus lanatus	0.3 ± 0.5
	Kokoma	Citrullus lanatus	0.0 ± 0.0

^zSeven-day-old seedlings of eight cultivars were inoculated with GR isolate by dipping the roots of seedlings in spore suspension of 3.3×10^6 conidia/mL for 30 minutes. 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 3 weeks, disease severity of the seedling 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.

결과에 따라 GR 균주는 F. oxysporum으로 동정되었다.

GR 균주의 기주 특이성을 조사하기 위하여 오이, 멜론, 수박 그리고 참외의 2개 품종씩에 GR 균주를 접종하고 덩굴쪼김병 발생을 조사한 결과, 멜론('베타리치'와 '아시아황금')과 참외('금제'와 '조은대')에서는 덩굴쪼김병이 심하게 발생하였다(Table 1). 반면에 오이('아시아청장'과 '백미백다다기')와 수박('서태자'와 '꼬꼬마수박')에는 덩굴쪼김병이 거의 발생하지 않았다. 따라서 GR 균주는 멜론 또는 참외에만 병을 일으키는 F. oxysporum f. sp. melonis임을 알수 있었다.

GR 균주의 Race 검정

Risser et al.(1976)의 방법에 따라 *F. oxysporum* f. sp. *melonis* GR 균주의 race를 확인하기 위하여 4종 판별품종을 사용하여 실험한 결과, 감수성인 'Charentais T' 그리고 *Fom-1* 저항성 유전자를 가진 'Charentais Fom-1'에서는 발병도 3.9 이상의 높은 덩굴쪼김병 발생이 있었으나, *Fom-2* 유전자가 도입된 'Charentais Fom-2'는 덩굴쪼김병이 발생하지 않았다. 그리고 *Fom-1*와 *Fom-2* 모두를 가지는 'MR-1'은 GR 균주에 대해 저항성을 나타냈다(Table 2). 이상의 결과로부터 *F. oxysporum* f. sp. *melonis* GR 균주는 race 1임을 알 수 있었다(Risser et al., 1976).

F. oxysporum f. sp. melonis은 세계적으로 4개의 race 즉 race 0, 1, 2 및 1,2가 보고되어 있다(Cohen et al., 1989; Gerlach et al., 1988; Leary and Wilbur, 1976; Risser et al., 1976). 미국에서는 race 2가 우점 race이고, 유럽에서는 race 1이 가장 널리 분포되어 있다(Martyn and Gordon, 1996).

일본의 경우에는 race 0과 2가 널리 퍼져 있으며, race 1과 1, 2y가 제한적인 지역에서 보고되고 있다(Namiki et al., 1998, 2000). 하지만 우리나라에서 멜론 덩굴쪼김병균의 race 분포에 대한 보고는 거의 없는 실정이다.

최적배지 선발

일반적으로 *F. oxysporum*의 포자 형성을 위해 많이 사용하고 있는 6종 배지(V8-juice broth, Clarified V8 broth, malt extract broth, Czapek-dox broth, potato dextrose broth 및 glucose-peptone-yeast extract broth)에 GR 균주를 접종하고 8일 후까지 포자 형성량을 매일 조사한 결과, GR 균주는 실험한 배지 중 V8-juice broth 배지에서 가장 많은 포자(소형분생포자)를 형성하였다(Fig. 2). 그리고 Clarified V8 broth 배지에서는 V8 배지보다는 포자 형성이 다소 적었지만 나머지 4종 배지보다는 많은 양의 포자를 생산하였다. 따라서 *F. oxysporum* f. sp. *melonis* GR 균주의 접종원인 소형분생

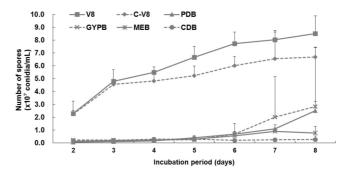


Fig. 2. Spore production of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* GR in six incubation media.

Table 2. Resistance of four melon differentials to Fusarium oxysporum f. sp. melonis GR².

Cultivar	Resistance gene	Disease index ^y	Response ^x
Charentais T		4.0 ± 0.0	S
Charentais Fom-1	Fom-1	4.0 ± 0.0	S
Charentais Fom-2	Fom-2	0.1 ± 0.3	R
MR-1	Fom-1, Fom-2	0.0 ± 0.0	R

^zSeven-day-old seedlings of four melon cultivars with different genotypes were inoculated with *F. oxysporum* f. sp. *melonis* GR by dipping the roots of seedlings in spore suspension of 3.3×10^6 conidia/mL for 30 minutes. 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 for 6 days. And the seedlings were further cultivated at 28°C. Three weeks after inoculation, disease severity of the seedling 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.

 $^{^{}x}$ R, resistant [disease index (DI) = 0 - 1.0]; MR, moderately resistant (DI = 1.1 - 2.5); S, susceptible (DI = 2.6 - 4.0).

포자를 대량 생산하기 위해서는 V8-juice broth 배지에서 약 7일 동안 150rpm으로 진탕배양하는 것이 효율적일 것이다.

시판 멜론 품종의 덩굴쪼김병에 대한 저항성

시판 중인 멜론 품종 22종과 멜론 재배용 대목 품종 6종 의 F. oxysporum f. sp. melonis GR 균주(race 1)에 대한 저항성 정도를 조사한 결과, 종자회사에서 덩굴쪼김병 저항성으로 판매하고 있는 멜론 재배용 대목 6개 품종('강근토좌', '황제토좌', '중토좌', 'NO.8', 'RS111', '신토좌')에서는 덩굴쪼김병이 전혀 발생하지 않았다. 따라서 이들 대목 품종들은 GR 균주에 대한 고도의 저항성 품종임을 알 수 있었다.

실험한 22종 멜론 품종 중 종자회사에서 덩굴쪼김병에 대한 저항성 품종으로 판매하고 있는 5개 품종('레드퀸', '썸머쿨', '아시아성하', '아세아조춘만추', '장춘FR파파이야') 중 '아세아조춘만추'와 '장춘FR파파이야'를 제외한 나머지 3 종은 모두 1.0 이하의 낮은 발병도를 보여 이들은 race 1 균주에 대한 높은 저항성 품종임을 알 수 있었다(Table 3). 따라서 이들 품종에는 'Fom-2' 저항성 유전자가 단독으로 혹은 'Fom-1' 유전자와 함께 도입되어 있을 것으로 생각되었다. 한편 덩굴쪼김병 저항성 품종으로 판매되고 있는 '장춘FR파파이야'는 race 1인 GR 균주에 대하여 감수성을 보였으므로 이 품종은 'Fom-1' 저항성 유전자를 가지는 품종으로 추정되었다.

그 외 덩굴쪼김병 저항성 품종으로 공시되지 않은 17종 품종 중 2개 '아시아황금'과 '얼룩파파야'에서는 발병도 4.0을 보여 높은 감수성 품종임을 알 수 있었다. 그리고 나머지 15개 품종 중 'JJ원탑'와 '세지오케이'는 발병도 2.2와 2.4의 다소 낮은 저항성을 나타냈으며, 그 외 13개 멜론 품종들은 발병도 0.9-2.0의 덩굴쪼김병 발생을 보였다(Table 3). 따라서 판매되고 있는 멜론 품종들 중 종자회사에서 공시하는 저항성 품종은 5개뿐이나 실험한 시판 멜론품종 대부분은 저항성 정도에 차이는 있지만 race 1에 대한 저항성 품종임을 알 수 있었다.

멜론 덩굴쪼김병에 대한 효율적인 저항성 검정 방법을 확립하기 위하여 여러 발병조건에 따른 멜론 품종들의 F. oxysporum f. sp. melonis에 대한 저항성 차이를 조사하기 위하여, 실험한 22종 멜론 품종으로부터 GR 균주에 대한 저항성 정도가 서로 다른 6개 품종, 저항성인 '레드퀸', '썸머쿨' 및 '슈퍼세지', 중도저항성인 '아시아파파야', 그리고 감수성인 '얼룩파파야'와 '아시아황금' 품종을 선발하였다.

생육 시기에 따른 멜론 덩굴쪼김병 발생

유묘의 생육 시기에 따른 멜론 품종들의 덩굴쪼김병 발생 정도를 실험하기 위하여 선발한 6개 품종을 파종하고 7, 10,

Table 3. Resistance degree of 22 commercial melon cultivars to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* GR^z.

<i>J</i> 1		•	
Cultivar	Trait ^y	Disease index ^x	Response ^w
Asiahwanggeum		4.0 ± 0.0	S
Asiajochunmanchu	R	1.3 ± 0.5	MR
Asiapapaya		2.0 ± 0.0	MR
Asiaseongha	R	1.0 ± 0.0	R
Betarichi		2.0 ± 0.6	MR
Earlselite		2.0 ± 0.0	MR
Earlselysee		1.3 ± 0.5	MR
Earlsgoldking		1.3 ± 0.7	MR
Earlshappy		1.4 ± 0.5	MR
Earlsking		1.9 ± 0.3	MR
Earlsmounthagye		1.3 ± 0.5	MR
Earlsparty		1.1 ± 0.8	MR
Earlstopone		1.5 ± 0.5	MR
EarlsVIP		1.1 ± 0.3	MR
Eolukpapaya		4.0 ± 0.0	S
JangchoonFRpapaiya	R	4.0 ± 0.0	S
Jjhagye		1.7 ± 0.5	MR
Jjonetop		2.2 ± 0.4	MR
Redqueen	R	0.7 ± 0.7	R
Sejiokay		2.4 ± 0.5	MR
Summercool	R	0.7 ± 0.5	R
Superseji		0.9 ± 0.3	R

²Seven-day-old seedlings of 22 melon cultivars were inoculated with F. oxysporum f. sp. melonis f sp. dipping the roots of seedlings in spore suspension of f seedlings in spore suspension of f seedlings 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 for 6 days. And the seedlings were further cultivated at 28°C. Three weeks after inoculation, disease severity of the seedling was investigated on a scale of 0-4, where f = represents no disease symptom; f = slight discoloration of vascular system, slight stunting; f = slight discoloration of vascular system, stunting; f = death.

^yResistant cultivar to Fusarium wilt published by each seed company.

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

 $^{\text{W}}$ R, resistant [disease index (DI) = 0 - 1.0]; MR, moderately resistant (DI = 1.1 - 2.5); S, susceptible (DI = 2.6 - 4.0).

13, 16일 후에 접종하여 병 발생을 조사한 결과, 감수성 품종인 '얼룩파파야'와 '아시아황금'은 실험한 모든 생육 시기의 식물에서 덩굴쪼김병이 심하게 발생하였다. 그리고 저항성 품종들에서는 멜론의 생육 시기에 관계없이 '레드퀸', '슈퍼세지'는 저항성을, '아시아파파야'는 중도저항성을 보였다(Fig. 3).

Latin and Snell(1986)은 F. oxysporum f. sp. melonis의 접종방법 비교 실험 중 11일 이상 키운 유묘는 6일 동안 키운유묘에 비해 병 발생이 적다고 보고하였으나, 본 실험에서는 유묘의 생육 시기에 따른 덩굴쪼김병 발생의 차이가 저항성 검정에 영향을 미칠 만큼 크지 않음이 확인되었다. 따라서 실험에 사용하는 멜론 유묘가 어릴수록 이식 후 활착율이 높은 점 등을 고려하여 멜론 덩굴쪼김병의 저항성 검정을 위해서는 멜론을 파종하고 7일 동안 재배한 유묘를 실험에 사용하는 것이 효율적이라 생각되었다.

뿌리 상처에 따른 멜론 덩굴쪼김병 발생

파종 후 7일 동안 재배한 유묘를 뽑아 물로 씻어 토양을 제거한 후에 가위로 멜론의 뿌리를 자르고 덩굴쪼김병군(F. oxysporum f. sp. melonis GR)을 접종하거나, 뿌리를 자르지

않고 접종하여 가위 상처 유무에 따른 6개 품종 멜론의 덩굴 쪼김병의 저항성 차이를 실험하였다. 가위 상처 유무에 따 른 멜론 품종들의 덩굴쪼김병 발생에서 통계적으로 유의성 있는 차이를 보이지 않았지만, 가위로 인한 인위적인 상처 없이 저항성 품종인 '레드퀸'과 '썸머쿨', 그리고 감수성 품 종인 '얼룩파파야'와 '아시아황금'이 각각 고도의 저항성과 높은 감수성을 보이며 저항성 특성을 잘 나타내었다(Fig. 4). 인위적인 상처를 내지 않아도 저항성 검정에 충분한 덩굴쪼 김병 발생을 보이므로 멜론 덩굴쪼김병에 대한 저항성 검정 을 위해서는 멜론 유묘의 뿌리를 뽑아 물로 깨끗하게 씻어 흙을 제거한 후에 가위로 뿌리를 자르지 않고 F. oxysporum f. sp. melonis의 포자현탁액에 침지하여 접종하는 것이 효율 적이라 생각되었다.

침지시간에 따른 멜론 덩굴쪼김병 발생

멜론 유묘의 뿌리를 포자현탁액에 0, 0.5, 1, 3, 5시간 동안 침지하여 접종한 6개 품종들의 덩굴쪼김병 발생 차이를 실험한 결과, 감수성 품종들은 실험한 침지시간에 관계없이 모든 처리구에서 높은 감수성을 보였다(Fig. 5). 그러나 저항성 품종들은 침지시간이 증가함에 따라 덩굴쪼김병 발생이

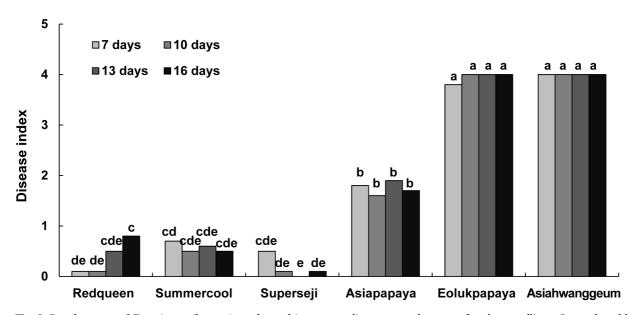


Fig. 3. Development of Fusarium wilt on six melon cultivars according to growth stage of melon seedlings. Seven-day-old, ten-day-old, thirteen-day-old, and sixteen-day-old seedlings of each cultivar were inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* GR by dipping the roots of seedlings in spore suspension of 3.3×10^6 conidia/mL for 30 minutes. 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 for 6 days. And the seedlings were further cultivated at 28°C. Three weeks after inoculation, disease severity of the seedling was investigated. Each value represents the mean disease index \pm standard deviation of ten replicates each. And values labeled with the same letter are not significantly different in Duncan's multiple range test at p = 0.05.

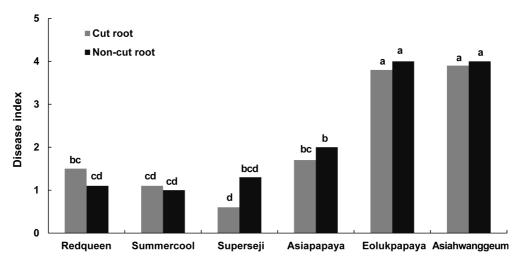


Fig. 4. Development of Fusarium wilt on six melon cultivars when cut and non-cut roots were dipped in the spore suspension of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* GR. Seven-day-old seedlings of each cultivar were inoculated with GR isolate by dipping the roots of seedlings in spore suspension of 3.3×10^6 conidia/mL for 30 minutes. The inoculated plants were incubated in a dew chamber at 25°C for 24 hours and transferred to a growth room at 25°C with 12-hour light a day for 6 days. And the seedlings were further cultivated at 28°C. Three weeks after inoculation, disease severity of the seedling was investigated. Each value represents the mean disease index \pm standard deviation of ten replicates each. And values labeled with the same letter are not significantly different in Duncan's multiple range test at p = 0.05.

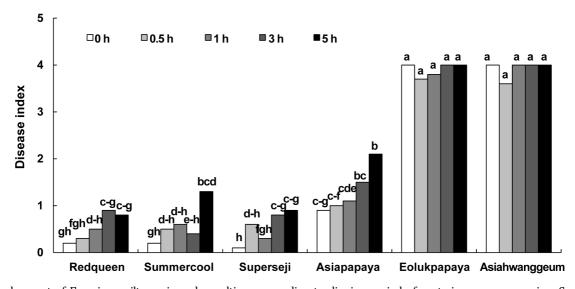


Fig. 5. Development of Fusarium wilt on six melon cultivars according to dipping period of roots in spore suspension. Seven-day-old seedlings of each cultivar were inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* GR by dipping the roots of seedlings in spore suspension of 3.3×10^6 conidia/mL for 0 to 5 hours. 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 for 6 days. And the seedlings were further cultivated at 28°C. Three weeks after inoculation, disease severity of the seedling was investigated. Each value represents the mean disease index \pm standard deviation of ten replicates each. And values with the same letter are not significantly different in Duncan's multiple range test at p = 0.05.

증가하였다. 그리고 포자현탁액에 침지한 즉시 꺼내는 0분 처리구에서 중도저항성 대조 품종인 '아시아파파야'도 고도 의 저항성을 나타냈다(Fig. 5).

멜론 유묘의 뿌리에 포자 현탁액을 침지하는 방법으로

덩굴쪼김병을 접종하는 경우 많은 실험에서 1분 미만의 매우 짧은 시간 동안의 접종으로 병 발생을 유도하고 있으나 (Freeman et al., 2002; Jacobson and Gordon, 1988; Namiki et al., 2000), 멜론 유묘에서 안정적인 *F. oxysporum* f. sp.

melonis의 접종을 위해서는 멜론의 뿌리를 포자현탁액에 30분 정도 침지하여 접종하는 것이 더 바람직하다고 생각되었다.

접종원 농도에 따른 멜론 덩굴쪼김병 발생

준비한 멜론 유묘를 GR 균주의 다섯 가지 농도(1.3 × 10⁴, 4.0 × 10⁴, 1.2 × 10⁵, 3.6 × 10⁵, 1.1 × 10⁶conidia/mL)의 포자 현탁액에 침지하고 이식하여 6개 멜론 품종의 덩굴쪼김병 발생 정도를 실험한 결과, '얼룩파파야'와 '아시아황금'은 접종원 농도와 관계없이 모든 농도에서 높은 감수성을 나타냈다. 그러나 저항성 품종에서는 대부분의 품종에서 접종원의 포자 농도가 증가함에 따라 덩굴쪼김병의 발병도도 증가하였다(Fig. 6). 1.2 × 10⁵conidia/mL 농도 접종구에서는 저항성 품종들뿐만 아니라 중도저항성인 '아시아파파야'도 고도의 저항성을 보였다. 그리고 Kuc(1987, 1994)는 식물체의병 저항성 검정에서 고농도로 병원균을 접종하면 식물체가조기 낙엽되어 저항성을 유도할 수 있는 잎이 없어 정확한 저항성 검정이 이루어질 수 없다고 보고한 바 있다.

따라서 예비실험을 통해 선택한 3.3 × 10⁶conidia/mL의 접종원 농도를 사용하여 멜론의 생육 시기, 접종 후 재배온 도, 침지 시간 등에 따른 덩굴쪼김병 발생을 실험하였으나,

최종적으로 선정된 멜론의 생육 시기, 접종 후 재배온도, 침 지 시간을 이용하여 접종 농도에 따른 덩굴쪼김병 발생을 실험한 결과에서 포자 농도를 1.3×10^4 , 4.0×10^4 , 1.2×10^5 , 3.6×10^5 , 1.1×10^6 conidia/mL로 더 낮추어 실험한 결과, F. oxysporum f. sp. melonis에 대한 멜론의 저항성 정도는 3×10^5 conidia/mL 농도의 포자현탁액에 침지하여 접종하는 것이 더 효과적이라 생각되었다.

재배 온도에 따른 멜론 덩굴쪼김병 발생

덩굴쪼김병균을 접종한 유묘의 재배 온도(20, 25, 30°C)에 따른 6종 멜론 품종들의 저항성이 차이를 조사한 결과, 감수성 품종들에서는 실험한 재배 온도에 관계없이 덩굴쪼김병이 심하게 발생하였다(Fig. 7). 하지만 저항성 품종들은 25°C와 30°C에서 높은 저항성을 나타냈으나, 20°C에서는 저항성이 무너지면서 높은 덩굴쪼김병 발생을 보였다(Fig. 7).

저항성 품종들의 평균 덩굴쪼김병 발생은 통계적으로 유의성 있는 차이는 없으나 25℃보다 30℃에서 다소 적었다. 하지만 30℃에서는 이식 후에 유묘들의 활착율이 떨어지는 경우가 많다. 따라서 멜론 덩굴쪼김병의 저항성 검정을 위

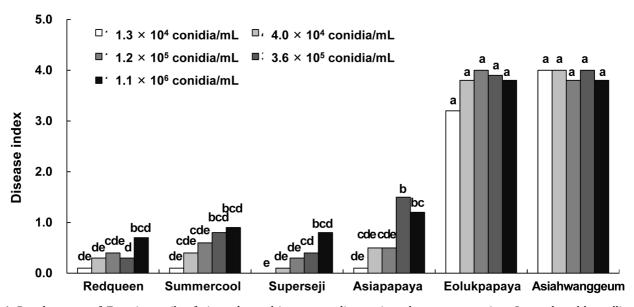


Fig. 6. Development of Fusarium wilt of six melon cultivars according to inoculum concentration. Seven-day-old seedlings of each cultivar were inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* GR by dipping the roots of seedlings in spore suspension of five concentrations for 30 minutes. The inoculated 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 for 6 days. And the seedlings were further cultivated at 28° C. Three weeks after inoculation, disease severity of the seedling was investigated. Each value represents the mean disease index \pm standard deviation of ten replicates each. And values labeled with the same letter are not significantly different in Duncan's multiple range test at p = 0.05.

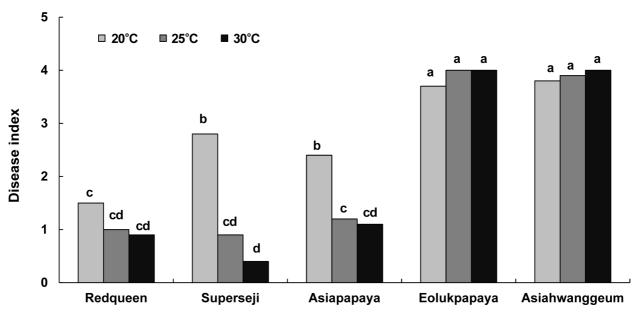


Fig. 7. Development of Fusarium wilt of six melon cultivars according to incubation temperature. Seven-day-old seedlings of each cultivar were inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* GR by dipping the roots of seedlings in spore suspension of 3.3×10^6 conidia/mL for 30 minutes. The inoculated plants were incubated in a dew chamber at 20, 25, and 30°C for 24 hours and then transferred to a growth room at 20, 25, and 30°C, respectively, with 12-hour light a day. After 3 weeks, disease severity of the seedling was investigated. Each value represents the mean disease index \pm standard deviation of ten replicates each. And values labeled with the same letter are not significantly different in Duncan's multiple range test at p = 0.05.

해서는 접종한 후에 멜론 유묘를 25-28°C에서 재배하는 것이 효율적이라 생각되었다.

초 록

본 연구는 덩굴쪼김병균(Fusarium oxysporum f. sp. melonis)에 대한 저항성 멜론의 효율적인 검정법을 확립하기 위하여 수행하였다. 고령에서 채집한 덩굴쪼김병이 발생한 멜론으로부터 GR 균주를 분리하였으며, 형태학적 및 분자생물학적 동정 방법에 의해 그리고 오이, 멜론, 참외, 수박의박과 작물에 대한 기주 특이성 조사를 통하여 GR 균주는 F. oxysporum f. sp. melonis로 동정되었다. 그리고 4종 덩굴쪼김병 race 판별품종들의 저항성 반응에 따라 GR 균주는 race 1임을 알 수 있었다. GR 균주의 접종원(소형분생포자)대량생산을 위해서는 실험한 6종 액체배지 중 V8-juice broth에서 가장 많은 포자가 형성되었다. 시판 중인 22개의 멜론품종과 6개 멜론 재배용 대목 품종의 GR 균주에 대한 저항성의 정도를 실험하였다. 실험한 멜론 품종 중 3개 품종을 제외한 모든 품종은 다양한 정도의 저항성을 보였다. 그리

고 실험한 대목 품종들 모두에서는 덩굴쪼김병이 전혀 발생하지 않았다. 실험한 멜론 품종 중 GR 균주에 대한 저항성 반응에 차이를 보이는 6개 품종('레드퀸', '썸머쿨', '슈퍼세지', '아시아파파야', '얼룩파파야', '아시아황금')을 선발하여 멜론 생육시기, 뿌리 상처, 침지 시간, 접종원 농도및 재배 온도 등의 발병 조건에 따른 덩굴쪼김병 발생을조사하였다. 이들 실험의 결과로부터 멜론 품종들의 덩굴쪼김병에 대한 저항성을 검정하기 위해서는 멜론 종자를 파종하고 온실(25 \pm 5°C)에서 7일 동안 재배한 유묘(떡잎 시기)를 뽑아 흙을 제거하고 뿌리 자르기와 같은 상처를 내지 않고 멜론 유묘의 뿌리를 3×10^5 conidia/mL 농도의 F. oxysporum f. sp. melonis 포자현탁액에 30분 정도 침지하여접종하고, 이를 새로운 토양에 이식하고 25-28°C에서 약 3주일 동안 재배하는 것이 가장 효율적인 방법임을 알 수 있었다.

추가 주요어: 병리검정, 육종, 박과 작물, 내병성, Fusarium 시들음병

인용문헌

- Banihashemi, Z. and D.J. DeZeeuw. 1975. The behavior of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* in the presence and absence of host plants. Phytopathology 65:1212-1217.
- Bouhot, D. 1981. Some aspects of the pathogenic potential in formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* on Cucurbitaceae, p. 318-326. In: P.E. Nelson, T.A. Toussoun, and R.J. Cook (eds.). Fusarium: disease, biology, and taxonomy. Pennsylvania State University Press, University Park.
- Cafri, D., J. Katan, and T. Katan. 2005. Cross-pathogenicity between formae speciales of *Fusarium oxysporum*, the pathogens of cucumber and melon. J. Phytopathol. 153:615-622.
- Cha, H.S., A.R. Youn, S.A. Lee, K.H. Kwon, B.S. Kim, and D.J. Choi. 2013. Effects of the initial storage temperature of a PA film-packaged muskmelon (*Cucumis melo* L.) during its storage. Kor. J. Food Preserv. 20:14-22.
- Chun, J. 1995. Computer-assisted classification and identification of Actinomycetes. Ph.D. thesis. University of Newcastle upon Tyne, Newcastle upon Tyne, UK.
- Cohen, R., T. Katan, J. Katan, and R. Cohn. 1989. Occurrence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1,2 on muskmelon in Israel. Phytoparasitica 17:319-322.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. Evolution 39:783-791.
- Freeman, S. and R.J. Rodriquez. 1993. A rapid inoculation technique for assessing pathogenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* and *F. o. melonis* on cucurbits. Plant Dis. 77: 1198-1201.
- Freeman, S., A. Zveibil, H. Vintal, and M. Maymon. 2002. Isolation of nonpathogenic mutants of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* for biological control of Fusarium wilt in cucurbits. Phytopathology 92:164-168.
- Geiser, D.M., M. del 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.
- Gerlach, M. and W.J. Blok. 1988. Fusarium oxysporum f. sp. cucurbitacearum embracing all formae speciales of F. oxysporum attacking Cucurbitaceae. Neth. J. Plant Pathol. 94:17-31.
- Jacobson, D.J. and T.R. Gordon. 1988. Vegetative compatibility and self-incompatibility within *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. Phytopathology 78:668-672.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of

- nucleotide sequences. J. Mol. Evol. 16:111-120.
- Kuc, J. 1987. Plant immunization and its applicability for disease control, p. 255-273. In: I. Chet (ed.). Innovative approaches to plant disease control. John Wiley, New York.
- Kuc, J. 1994. Induced systemic resistance, a non-pesticide technology for disease control in plant, p. 511-518. In: D.L. Weigmann (ed.). Proc. 4th. Nat. Conf. pesticides. Blacksburg, Virginia.
- Latin, R.X. and S.J. Snell. 1986. Comparison of methods for inoculation of muskmelon with *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. Plant Dis. 70:297-300.
- Leary, J.V. and W.D. Wilbur. 1976. Identification of the races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* causing wilt of muskmelon in California. Phytopathology 66:15-16.
- Martyn, R.D. and T.R. Gordon. 1996. Fusarion wilt of melon, p.
 14-15. In: T.A. Zitter, D.L. Hopkins, and C.E. Thomas (eds.).
 Compendium of cucurbit diseases. American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN.
- Matsumoto, Y., T. Ogawara, M. Miyagi, N. Watanabe, and T. Kuboyama. 2011. Response of wild *Cucumis* species to inoculation with *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1,2y. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 80:414-419.
- Namiki, F., K. Shimizu, K. Satou, T. Hirabayashi, K. Nishi, T. Kayamura, and T. Tsuge. 2000. Occurrence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1 in Japan. J. Gen. Plant Pathol. 66:12-17.
- Namiki, F., T. Shiomi, K. Nishi, T. Kayamura, and T. Tsuge. 1998. Pathogenic and genetic variation in the Japanese strains of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. Phytopathology 88: 804-810.
- Nelson, P. E., T.A. Toussoun, and W.F.O. Marasas. 1983. Fusarium species. An illustrated manual for identification. Pennsylvania State Univ. Press, University Park.
- 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.
- Owen, J.H. 1955. Fusarium wilt of cucumber. Phytopathology 45:435-439.
- Risser, G., Z. Banihashemi, and D.W. Davis. 1976. A proposed nomenclature of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* races and resistance genes in *Cucumis melo*. Phytopatholoy 66: 1105-1106.
- Rural Development Administration (RDA). 2006. Food composition table. 7th ed. RDA, Suwon, Korea.
- 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.
- 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.
- 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.
- Zhou, X.G. and K.L. Everts. 2007. Characterization of a regional population of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* by race, cross pathogenicity, and vegetative compatibility. Phytopathology 97:461-469.
- Zuniga, T.L., J.P. Jantz, T.A. Zitter, and M.M. Jahn. 1999.
 Monogenic dominant resistance to gummy stem blight in two melon (*Cucumis melo*) accessions. Plant Dis. 83:1105-1107.