

무 시들음병에 대한 간편한 대량 저항성 검정법 개발

Development of an Efficient Mass-screening Method for Testing the Resistance of Radish to Fusarium Wilt

이지현 · 장경수 · 최용호 · 김 현 · 최경자*

한국화학연구원 친환경신물질연구센터

*Corresponding author

Tel: +82-42-860-7434
Fax: +82-42-861-4913
E-mail: kjchoi@kricr.re.kr

Ji Hyun Lee, Kyoung Soo Jang, Yong Ho Choi, Hun Kim, and Gyung Ja Choi*

Center for Eco-friendly New Materials, Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon 34114, Korea

Root-dipping inoculation method has been used to investigate resistance of radish plants to Fusarium wilt. However, the method requires a lot of labor and time because of complicate procedure. This study was conducted to establish a simple and effective mass-screening method for resistant radish to Fusarium wilt. Radish seedlings of susceptible and resistant cultivars were used to investigate wounding method by scalpel, inoculum concentration, and pathogen-inoculated growth stage of seedlings. We established an efficient mass-screening method based on our results as following: Roots of 14-day-old seedlings of radish are cut with a scalpel at a 90° angle to a 2 cm-depth at a 1 cm-distance from main stem and then inoculated by pouring with a 10 ml-aliquot of a fungal spore suspension (1.0×10^7 conidia/ml) on soil. The inoculated plants are cultivated in a growth room at 25°C for about 4 weeks with 12-hour light a day. The proposed screening method enables to effectively select resistant from mass radish plants cultivars to Fusarium wilt.

Keywords: Breeding, Disease resistance, *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*, Inoculation method, Screening

Received June 28, 2016
Revised August 12, 2016
Accepted August 13, 2016

서 론

배추과 채소인 무(*Raphanus sativus* L.)는 우리나라 대표 채소 중 하나로, 국내 생산 과채류 중 배추와 더불어 총 생산량의 60% 이상을 차지하고 있는 매우 중요한 작물이다(Jung 등, 2004). 최근에 무 연작 재배지에서 각종 병해와 생리적 장애 발생이 증가하여 무 재배에 어려움을 겪고 있다. 현재 까지 무에 발생하는 병해로 국내에서는 시들음병(Fusarium wilt), 뿌리혹병(cluroot), 검은썩음병(black rot), 노균병(downy

mildew), 검은무늬병(black spot), 세균검은무늬병(bacterial leaf spot) 등 19종이 보고되었다(KSPP, 2009).

*Fusarium oxysporum*에 의해 발생하는 시들음병은 예전에 위황병(yellows)로 불렸던 토양전염성 병으로, 수백 종의 작물에 발생하여 세계적으로 큰 피해를 일으키고 있다(Armstrong and Armstrong, 1981; Booth, 1971; Kistler, 1997). *F. oxysporum*은 침입하는 기주에 따라 분화형(forma specilais, f. sp.)으로 나누고, 기주의 품종에 대한 병원성 차이로 race를 구별한다. 배추과 작물에 시들음병을 일으키는 병원균은 다섯 주요 병원성 그룹 *F. oxysporum* f. sp. *conglutinans* race 1-5가 분류되었다(Armstrong and Armstrong, 1952, 1966, 1981; Ramirez-Villupadua 등, 1985). 후에 이들 다섯 race는 재

분류되었는데 race 1은 *f. sp. conglutinans* race 1로, race 5는 *f. sp. conglutinans* race 2로, race 3과 race 4는 각각 *f. sp. matthioli* race 1과 race 2로, 그리고 race 2는 주로 무를 감염하는 *f. sp. raphani*로 재정립되었다(Brayford, 1992).

무 시들음병은 *F. oxysporum f. sp. raphani*에 의해 발생하며, 전 세계적으로 발생하여 막대한 피해를 일으키고 있는 무의 주요 병해이다. 무 시들음병은 1934년 미국 캘리포니아 주 San Benito에 있는 white Chinese winter radish 채종포에서 처음 보고된 이후 1946년 위스콘신 주 Waukesha의 무 포장에서, 그리고 현재 미국 각지에서 발생하고 있다(Pound, 1959; Pound and Fowler, 1953). 국내에서도 오래 전부터 발생되었을 것으로 생각되나 1981년 청원군 미농 재배단지에서 처음 보고되었고 계속된 연작으로 인해 시들음병 발생이 점차 증가하고 있는 추세이다(Moon 등, 2001).

현재 시들음병에 저항성인 무 품종을 여러 회사에서 판매하고 있으나, 무 시들음병 저항성 유전자 규명과 저항성 유전양식, 분자마커 개발에 관한 보고는 매우 부족한 것이 현실이다(Baik 등, 2011). 이들 연구를 위해서는 안정적이고 효율적인 저항성 검정법이 필요하다. 무의 시들음병 발생 정도를 명확하게 구별할 수 있는 방법으로 뿌리 침지법을 이용한 검정법이 보고된 바 있다(Baik 등, 2010, 2011). 하지만 뿌리를 뽑아 물로 세척하여 흙을 제거한 후에 이를 포자현탁액에 침지하고 다시 새로운 포트에 이식하여 재배한 후에 병조사하는 뿌리 침지법을 이용한 검정 방법은 대량의 시료에 대하여 시들음병 저항성 검정을 할 경우 시간과 노동력이 많이 필요하다. 따라서 뿌리 침지 접종 방법보다 대량의 무 유묘에 대한 시들음병 저항성을 효율적으로 조사하기 위한 간편하고 효율적인 접종 방법을 이용한 검정법의 개발이 필요하다.

본 연구는 뿌리 침지 접종 방법보다 더 간단하고 편리한 scalpel 접종 방법을 이용한 무 시들음병에 대한 유묘 검정법을 확립하고자, 저항성 정도가 다른 4종의 무 품종을 사용하여 scalpel 접종 방법(상처의 지제부와와의 거리, 각도, 깊이 조절), 접종원 농도(3.7×10^5 , 1.1×10^6 , 3.3×10^6 , 1.0×10^7 conidia/ml), 접종하는 기주의 생육 시기(8일, 10일, 12일, 14일, 16일 재배한 유묘)에 따른 시들음병 발생을 조사하였다. 그리고 이들 결과로부터 확립한 간편 대량 검정법의 효용성을 확인하고자 일반적으로 사용 중인 뿌리 침지 접종 방법과 본 연구에서 확립한 접종 방법에 의한 무 품종들의 시들음병에 대한 저항성 차이를 비교하였다.

재료 및 방법

공시 무 품종과 재배. 저항성 품종인 '명산' (Syngenta Korea, Seoul, Korea), 중도저항성 품종인 '청일품' (Monsanto Korea, Seoul, Korea), 감수성 품종인 '미농조생' (Asia Seed Co., Ltd., Seoul, Korea)과 '백춘' (Asia Seed Co., Ltd.)을 시중에서 구입하여 실험에 사용하였다.

무 품종의 종자를 5×8 연결 포트(포트당 토양 70 ml; Bumnong Co., Ltd., Jeongeup, Korea)에 월예용상토 5호 (Punong, Gyeongju, Korea)를 넣고 품종당 10포트씩, 그리고 포트당 2립씩 파종하고 온실($25^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$)에서 재배하였다. 종자가 발아한 후 유묘의 생장이 고르게 되도록 포트당 1주씩 남기고 솟아 주었으며, 파종 후 14일 동안 재배한 유묘를 실험에 사용하였다. 접종하는 유묘의 생육 시기에 따른 시들음병 발생 실험에서는 위와 동일한 방법으로 종자를 파종하고 8일, 10일, 12일, 14일, 16일 동안 재배한 유묘를 사용하여 실험을 수행하였다.

접종원 준비. *F. oxysporum f. sp. raphani* KR1 균주를(Baik 등, 2010, 2011) potato dextrose agar (Becton, Dickinson and Co., Sparks, MD, USA) 배지에 접종하고 25°C 에서 7일 동안 배양한 균총으로부터 균사조각을 떼어 malt extract broth (Becton, Dickinson and Co.) 배지에 접종하고 이를 25°C 암상태에서 7일 동안 150 rpm으로 진탕배양하였다. 배양한 KR1 균주를 4겹 거즈로 걸러 균사를 제거하고 8,000 rpm에서 10분간 원심 분리($4,300 \times g$, 10분, 4°C ; Beckman Coulter Inc., Brea, CA, USA)를 한 후에 상등액을 제거하고 침전물에 멸균수를 넣고 잘 흔들어 포자현탁액을 준비하였다. 포자현탁액의 포자 농도는 광학현미경(Nikon Instruments Inc., Melville, NY, USA) 하에서 hemocytometer (Paul Marienfeld GmbH & Co. KG, Lauda-Konighofen, Germany)를 사용하여 측정하였으며, 접종 농도에 따른 무 시들음병 발생 실험을 제외한 모든 실험의 포자 농도는 멸균수로 희석하여 1.0×10^7 conidia/ml로 조정하였다.

그리고 접종원 농도에 따른 무 시들음병 발생 실험을 위해서는 앞에서와 같은 방법으로 희석하여 3.7×10^5 , 1.1×10^6 , 3.3×10^6 , 1.0×10^7 conidia/ml 농도의 포자현탁액을 준비하였다.

시들음병균 접종. Scalpel을 사용하여 상처를 내는 방법에 따른 무 시들음병 발생 실험을 제외한 모든 실험은 무 유묘에 scalpel을 이용하여 지제부에서 0.5 cm 떨어진 곳에서 90° 각도, 2 cm 깊이로 찔러서 뿌리에 상처를 주고 준비한 포

자현탁액을 10 ml씩 관주하여 접종하였다.

Scalpel로 상처 내는 방법에 따른 무 시들음병 발생 실험은 scalpel을 이용하여 (1) 지제부에서 1 cm 떨어진 곳에서 45° 각도, 2 cm 깊이로 찢어서 뿌리에 상처를 내는 방법, (2) 지제부에서 1 cm 떨어진 곳에서 90° 각도, 2 cm 깊이로 찢어서 뿌리에 상처를 내는 방법, (3) 지제부에서 0.5 cm 떨어진 곳에서 90° 각도, 2 cm 깊이로 찢어서 뿌리에 상처를 내는 방법, (4) 지제부에서 0.5 cm 떨어진 곳에서 90° 각도, 3 cm 깊이로 찢어서 뿌리에 상처를 내는 방법 등 네 가지 방법으로 유묘의 뿌리에 상처를 주고 준비한 포자현탁액을 10 ml씩 관주하여 접종하였다.

뿌리 침지 접종법과 확립된 scalpel 접종법에 의한 시들음병 발생 비교. 확립한 scalpel 접종법의 효용성을 검증하기 위하여 뿌리 침지 접종법과 동시에 접종하여 무 품종들의 시들음병 발생을 비교하였다. 뿌리 침지 접종법은 8×16 연결 포트(포트당 토양 21 ml; Bumngong Co., Ltd.)에 네 가지 품종의 무 종자를 파종하고 온실(25°C±5°C)에서 9 일 동안 재배된 유묘의 뿌리를 물로 세척하여 흙을 제거한 후에 앞에서와 같은 방법으로 준비한 포자현탁액(3.0×10⁶ conidia/ml)에 30분 동안 침지하여 접종하였다. 그리고 5×8 연결 포트에 원예용상토 5호(Punong)를 넣고 접종한 유묘를 이식하였다.

Scalpel 접종을 이용한 간편검정법은 5×8 연결 포트에 무 종자를 파종하고 온실(25°C±5°C)에서 14일 동안 재배한 유묘를 scalpel을 이용하여 지제부에서 0.5 cm 떨어진 곳에서 90° 각도, 2 cm 깊이로 찢어서 뿌리에 상처를 주고 준비한 포자현탁액(1.0×10⁷ conidia/ml)을 포트당 10 ml씩 관주하여 접종하였다.

발병 및 병조사. Scalpel 접종법으로 *F. oxysporum* f. sp. *raphani* KR1 균주를 접종한 유묘는 25°C 습실상에서 1일 동안

배양한 후에 25°C 항온실에서 하루 12시간씩 광을 조사하면서 4주 동안 재배한 후, 침지접종법으로 접종한 유묘는 3주 동안 재배한 후에 시들음병 발생을 조사하였다.

병조사는 각 식물체의 시들음병 발병 정도(disease severity)를 조사하였으며, 발병 정도는 다음과 같은 발병도(disease index)로 조사하였다. 0=건전, 1=지하부는 갈변되나 지상부는 시들지 않고 병징이 없는 것, 2=지하부는 갈변되고 지상부는 시드는 것, 3=지하부는 갈변되고 지상부는 시들며 황화하는 것, 4=지하부는 갈변되고 지상부는 심하게 황변하여 시들고 낙엽된 것, 5=고사 등 6단계로 하였으며(Fig. 1), 평균 발병도가 1.0 이하인 경우에는 저항성, 1.1-2.5는 중도저항성, 2.5 초과는 감수성으로 판정하였다.

모든 실험은 10반복으로 2회 실시하였다. SAS 프로그램(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 이용하여 ANOVA 분석을 하였으며, 처리 평균 간 비교를 위하여 Duncan's multiple range test (P=0.05)를 실시하였다.

결과 및 고찰

Scalpel 상처 방법에 따른 무 시들음병 발생. 다양한 상처 각도와 깊이의 조합 네 가지 방법 모두 접종조건에 따른 유의성은 인정되지 않았으며, '명산'은 저항성을, '미농조생'과 '백춘'은 감수성을 보였다(Table 1). 지제부에서 0.5

Table 1. Development of Fusarium wilt on radish cultivars according to scalpel inoculation method*

Cultivar	Trait	Scalpel-wounding method (distance from stem, angle, depth)			
		1 cm, 45°, 2 cm	1 cm, 90°, 2 cm	0.5 cm, 90°, 2 cm	0.5 cm, 90°, 3 cm
Myoungsan	R	0.5 b [†] z [‡]	0.6 bz	0.8 bz	1.0 bz
Minongjosaeng	S	3.1 az	2.7 az	3.3 az	3.4 az
Baekchun	S	3.0 az	3.8 az	3.4 az	3.7 az

Each value represents the mean disease severity of two runs with ten replicates each.

R, resistance; S, susceptibility.

*Fourteen-day-old seedlings of each cultivar were inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani* KR1 by cutting the roots with a scalpel and then pouring a 10 ml-aliquot of spore suspension on soil at a concentration of 1.0×10⁷ conidia/ml. The inoculated plants were incubated a dew chamber at 25°C and then cultivated in a growth room at 25°C with 12-hour light a day. Four weeks after inoculation, disease severity of the plant was investigated on a scale of 0-5.

[†]Values in the labeled with the same letter in each column are not significantly different in Duncan's multiple range test at P=0.05.

[‡]Values in the labeled with the same letter in each row are not significantly different in Duncan's multiple range test at P=0.05.

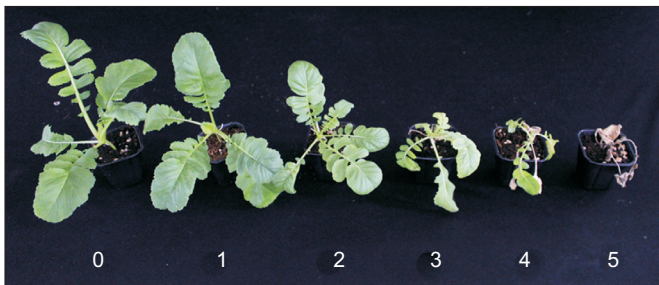


Fig. 1. Disease index of Fusarium wilt in radish plants. 0, no symptoms; 1, discolored root system; 2, plant wilting; 3, wilting and chlorosis; 4, wilting and necrosis; 5, dead.

cm 떨어진 곳에서 scalpel로 90° 각도, 2 cm 깊이로 찢러 뿌리에 상처를 내고 병원균을 접종한 '명산', '미농조생', '백춘' 품종에서 각각 0.8, 3.3, 3.4의 평균발병도가 나타났으며, 이 방법이 실험한 방법 중 저항성-감수성 품종 간 저항성 차이가 가장 뚜렷했다(Table 1).

Song 등(1996)은 양배추 시들음병 발생을 위하여 병원균을 접종하였을 때 토양 관주법보다 침지 접종법에서 병 발생이 다소 높았다고 보고하였다. 하지만 Baik 등(2010)은 무 시들음병에 대한 저항성 검정법을 확립하기 위한 연구에서 무 유묘에 시들음병균의 포자현탁액을 상처없이 관주하는 방법으로 접종하였을 때에는 시들음병이 전혀 발생하지 않으므로 관주 접종법은 무 시들음병 저항성 검정에 적합하지 않은 방법이라고 보고하였다. 따라서 *F. oxysporum* f. sp. *raphani*의 무 유묘 뿌리로 효과적인 침입을 위해서는 반드시 상처가 필요하다고 생각되었다.

Park 등(2013)은 *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*에 의한 토마토 시들음병의 간편 대량 저항성 검정법으로 scalpel을 이용한 접종 방법을 제안하였는데, 지제부에서 1 cm 떨어진 곳에서 45° 각도, 2 cm 깊이로 scalpel을 찢러서 뿌리에 상처를 주는 방법이 효과적이라고 하였다. 그리고 *F. oxysporum* f. sp. *melonis*에 의한 멜론 덩굴쪼김병의 대량 검정법 개발에서도 동일한 scalpel 방법이 효율적이었다(Lee 등, 2015).

하지만 무의 경우에는 토마토와 멜론에서와 동일하게 지제부 옆 1 cm 떨어진 곳에서 45° 각도로 뿌리에 상처를 가했을 때에는 경우에 따라 주근이 잘려 저항성 품종에서 덩굴쪼김병 발생이 크게 증가하는 경우도 있었다(data not shown). 그리고 지제부에서 0.5 cm 떨어진 곳에서 90° 각도 3 cm 깊이로 찢른 경우에는 감수성 품종들에서 시들음병 발생이 가장 높았으나, 저항성 품종인 '명산'에서도 1.0의 발병도를 보여 실험한 방법 중 가장 높은 병 발생을 보였다. 따라서 무 시들음병 저항성 검정을 위한 scalpel을 이용한 효과적인 상처 방법은 지제부에서 0.5 cm 떨어진 위치에 90° 각도로 2 cm 깊이로 뿌리에 상처를 주는 것이라 생각되었다.

접종원 양에 따른 무 시들음병 발생. 접종원 양에 따른 무 시들음병 발생을 조사하고자, 네 가지 무 품종 유묘에 3.7×10^5 , 1.1×10^6 , 3.3×10^6 , 1.0×10^7 conidia/ml의 포자현탁액을 사용해 접종하고 시들음병 발생을 조사한 결과, 저항성 품종인 '명산'을 제외한 나머지 세 가지 품종은 접종원 농도가 증가함에 따라 시들음병 발생이 증가하였으나 통계적으로 유의성 있는 차이는 없었다(Table 2).

'명산'은 실험한 네 접종원 농도 모두에서 저항성을, 감수

성 품종인 '미농조생'과 '백춘'은 모두 감수성을 나타냈다. 중도저항성 품종인 '장생'은 1.0×10^7 conidia/ml에서만 발병도 1.4로 중도저항성을 보였으며 나머지 농도에서는 1.0 이하의 발병도, 즉 저항성을 보였다. 그러므로 실험한 접종원 농도 중 1.0×10^7 conidia/ml 농도에서만 '명산', '장생', '미농조생', '백춘'이 각각 발병도 0.8, 1.4, 3.9, 4.4의 발병도를 보여 각 품종들의 저항성 특성을 잘 나타낸다는 것을 알 수 있었다(Table 2).

Baik 등(2011)은 뿌리 침지 접종법으로 3.0×10^6 – 3.0×10^7 conidia/ml 농도의 포자현탁액을 접종하여 무 품종들에서의 시들음병 발생을 조사한 결과, 감수성 품종인 '한농여름'은 접종원 농도가 증가함에 따라 병 발생이 크게 증가하였는데 이는 본 연구의 '미농조생'과 유사한 결과이다. 또 '장생'도 낮은 농도에서는 저항성을, 높은 농도에서는 중도저항성을 보여 본 연구에서와 같은 경향을 보였으며, 본 연구에서와 마찬가지로 '명산'은 실험한 접종 농도에 관계없이 저항성을 보였다고 하였다. 따라서 접종원 양에 따른 무 품종들의 *F. oxysporum* f. sp. *raphani*에 대한 저항성 반응은 침지 접종법과 scalpel 접종법에서 유사하다는 것을 알 수 있다. 그리고 scalpel 접종 방법을 이용한 무 시들음병 간편검정법을 위한 접종원 양은 1.0×10^7 conidia/ml 농도의 포자현탁액을 포트당 10 ml씩 접종하는 것이 바람직하리라 생각되었다.

생육시기에 따른 무 시들음병 발생. 종자를 파종하고 온실(25°C±5°C)에서 8일, 10일, 12일, 14일, 16일 동안 재배

Table 2. Development of Fusarium wilt on radish cultivars according to inoculum concentration*

Cultivar	Trait	Inoculum concentration (conidia/ml)			
		3.7×10^5	1.1×10^6	3.3×10^6	1.0×10^7
Myoungsan	R	0.8 b ^{†z}	0.7 bz	0.9 bz	0.8 bz
Jangsaeng	MR	0.6 bz	1.0 bz	0.8 bz	1.4 bz
Minongjosaeng	S	2.6 abz	3.6 az	3.4 az	3.9 az
Baekchun	S	3.7 az	4.0 az	4.8 az	4.4 az

Each value represents the mean disease severity of two runs with ten replicates each.

R, resistance; MR, moderate resistance; S, susceptibility.

*Fourteen-day-old seedlings of each cultivar were inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani* KR1 by cutting the roots with a scalpel and then pouring a 10 ml-aliquot of spore suspension on soil. The inoculated plants were incubated a dew chamber at 25°C and then cultivated in a growth room at 25°C with 12-hour light a day. Four weeks after inoculation, disease severity of the plant was investigated on a scale of 0–5.

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

[‡]Values in the labeled with the same letter in each row are not significantly different in Duncan's multiple range test at $P=0.05$.

한 유묘에 *F. oxysporum* f. sp. *raphani*을 접종하고 무 시들음병의 발생을 조사한 결과, 실험 무의 생육 시기 중 14일 유묘는 '명산', '장생', '미농조생', '백춘'이 각각 0.8, 1.1, 3.3, 4.0의 발병도를 보이며 저항성, 중도저항성, 감수성 반응을 나타냈다 (Table 3). 하지만 8일, 10일, 12일 재배한 유묘는 '백춘'과 '명산'에서는 감수성과 저항성을 잘 나타냈으나, 감수성 품종인 '미농조생'은 중도저항성을, 중도저항성 품종인 '장생'은 저항성을 나타냈다.

그리고 16일 재배한 유묘는 저항성 품종 '명산'에서는 저항성이 감소하여 중도저항성을 나타냈다. 재배 기간이 증가할수록 뿌리가 많이 자라게 되고 여기에 scalpel로 상처를 내면 다른 생육 시기에 비하여 상처가 더 컸으리라 생각되며 이 때문에 저항성 품종인 '명산'이 *F. oxysporum* f. sp. *raphani*에 대한 저항성을 나타내게 하는 것이 어려웠을 것으로 생각되었다.

이상의 결과로부터 대량의 무 시료에 대하여 *F. oxysporum* f. sp. *raphani*에 대한 저항성을 간편하게 검정하기 위해서는 원예용 상토에 무 종자를 파종하고 온실(25°C±5°C)에서 14일 동안 재배한 유묘에, scalpel을 사용하여 지제부에서 0.5 cm 떨어진 곳에서 90° 각도 2 cm 깊이로 찔러서 뿌리에 상처를 주고, 1.0×10⁷ conidia/ml 농도의 포자현탁액을 포트당 10 ml씩 관주하여 접종하고, 25°C에서 재배하는 것이 효율적이라고 생각되었다.

Table 3. Development of Fusarium wilt on radish cultivars according to growth stages*

Cultivar	Trait	Plant growth stage (days after sowing)				
		8	10	12	14	16
Myoungsan	R	0.5 b [†] z [‡]	0.7 bz	0.6 bz	0.8 bz	1.2 bz
Jangsaeng	MR	0.6 bz	0.6 bz	0.8 bz	1.1 bz	1.2 bz
Minongjosaeng	S	1.7 bz	2.1 abz	2.2 abz	3.3 az	2.5 abz
Baekchun	S	4.1 az	4.0 az	4.2 az	4.0 az	3.6 az

Each value represents the mean disease severity of two runs with ten replicates each.

R, resistance; MR, moderate resistance; S, susceptibility.

*Eight-, ten-, twelve-, fourteen-, sixteen-day-old seedlings of each cultivar were inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani* KR1 by cutting the roots with a scalpel and then pouring a 10 ml-aliquot of spore suspension on soil at a concentration of 1.0×10⁷ conidia/ml. The inoculated plants were incubated a dew chamber at 25°C and then cultivated in a growth room at 25°C with 12-hour light a day. Four weeks after inoculation, disease severity of the plant was investigated on a scale of 0–5.

[†]Values in the labeled with the same letter in each column are not significantly different in Duncan's multiple range test at P=0.05.

[‡]Values in the labeled with the same letter in each row are not significantly different in Duncan's multiple range test at P=0.05.

확립한 간편검정법의 효용성. 본 연구에서 확립한 scalpel 접종법을 이용한 간편검정법의 효용성을 확인하고자 기존에 널리 사용하고 있는 뿌리 침지 접종 방법과 동시에 실험하여 무 품종들의 시들음병 발생 및 저항성 반응을 비교한 결과, 뿌리 침지법을 사용하면 '명산', '장생', '미농조생', '백춘'에서 각각 1.0, 1.6, 3.9, 4.7의 발병도를, 즉 각각 저항성, 중도저항성, 감수성, 감수성을 나타냈다. 간편검정법으로 실험하였을 때에는 '명산', '장생', '미농조생', '백춘'에서 각각 0.6, 1.1, 2.7, 3.2의 발병도를 보여 뿌리 침지법과 마찬가지로 각 품종은 저항성, 중도저항성, 감수성, 감수성 반응을 잘 나타냈다 (Table 4). 또한 본 연구에서 확립한 검정법은 저항성 품종인 '명산'에서 기존 방법에 비하여 더 높은 저항성 반응을 나타내므로 대량의 무 시료로부터 *F. oxysporum* f. sp. *raphani*에 대한 저항성 개체를 효과적으로 선별할 수 있으리라 생각되었다.

이상의 결과로부터 본 연구에서 확립한 scalpel 접종법을 이용한 무 시들음병 저항성 간편검정법은 기존 방법의

Table 4. Comparison of resistance degree between root dipping and scalpel inoculation methods to Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*

Cultivar	Trait	Inoculation method	
		Root dipping*	Scalpel [†]
Myoungsan	R	1.0 b [‡] z [§]	0.6 cz
Jangsaeng	MR	1.6 bz	1.1 bcz
Minongjosaeng	S	3.9 az	2.7 abz
Baekchun	S	4.7 az	3.2 az

Each value represents the mean disease severity of two runs with ten replicates each.

R, resistance; MR, moderate resistance; S, susceptibility.

*Nine-day-old seedlings of radish cultivars were uprooted and the roots were washed gently in water. And then the plants were inoculated with *F. oxysporum* f. sp. *raphani* by dipping the roots in inoculum suspensions at a concentration of 3.0×10⁶ conidia/ml for 30 minutes and were transplanted into 40-cell plastic trays. The plants were incubated a dew chamber at 25°C and then cultivated in a growth room at 25°C with 12-hour light a day. Three weeks after inoculation, disease severity of the plant was investigated on a scale of 0–5.

[†]Fourteen-day-old seedlings of each cultivar were inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani* KR1 by cutting the roots with a scalpel and then pouring a 10 ml-aliquot of spore suspension on soil at a concentration of 1.0×10⁷ conidia/ml. The inoculated plants were incubated a dew chamber at 25°C and then cultivated in a growth room at 25°C with 12-hour light a day. Four weeks after inoculation, disease severity of the plant was investigated on a scale of 0–5.

[‡]Values in the labeled with the same letter in each column are not significantly different in Duncan's multiple range test at P=0.05.

[§]Values in the labeled with the same letter in each row are not significantly different in Duncan's multiple range test at P=0.05.

단점인 시간과 노동력이 많이 소요되는 것을 개선하고 무 품종들의 저항성 반응도 잘 나타내므로 적은 시간과 노동력으로 간단하고 용이하게 무 시들음병의 감수성과 저항성을 검정할 수 있는 효율적인 방법이라고 생각되었다.

요 약

무 시들음병 저항성 검정에는 대부분 뿌리 침지(root-dipping) 접종 방법을 사용하고 있지만, 이 방법은 복잡한 접종 과정 때문에 많은 노동력과 시간이 소요된다. 본 연구는 *F. oxysporum* f. sp. *raphani*에 의해 발생하는 무 시들음병의 간편 대량 저항성 검정법을 확립하기 위하여 수행하였다. 간편 저항성 검정법을 개발하기 위해 scalpel 접종 방법, 접종 농도 및 성장 단계에 따른 무 감수성 및 저항성 품종의 시들음병 발생을 조사하였다. 그리고 그 결과로부터 무 시들음병 대량 검정을 위한 효율적인 간편 저항성 검정방법으로 14일 동안 재배된 유묘에 scalpel을 사용하여 지체부에서 0.5 cm 떨어진 곳에서 90° 각도 2 cm 깊이로 찔러서 뿌리에 상처를 주고 포자현탁액(1.0×10^7 conidia/ml)을 10 ml씩 관주하여 접종하고 25°C에서 하루 12시간씩 광을 조사하면서 약 4주간 재배하는 것이 효율적이라고 생각되었다. 본 연구를 통해 확립한 접종 방법은 대량의 무 시들음병에 대한 저항성 개체를 효과적으로 선발하는 것을 가능하게 할 것이다.

Conflicts of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

Acknowledgement

This research was supported by Golden Seed Project Vegetable Seed Center (213002-04-4-SBc10, 213002-04-4-SBZ10), Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs (MAFRA), Ministry of Oceans and Fisheries (MOF), Rural Development Administration (RDA) and Korea Forest Service (KFS).

References

Armstrong, G. M. and Armstrong, J. K. 1952. Physiological races of

the fusaria causing wilts of the Cruciferae. *Phytopathology* 42: 255-257.

Armstrong, G. M. and Armstrong, J. K. 1966. Races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans* race 4, new race; and a new host for race 1, *Lychnis chalconica*. *Phytopathology* 56: 525-530.

Armstrong, G. M. and Armstrong, J. K. 1981. Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases. In: *Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy*, eds. by P. E. Nelson, T. A. Toussoun and R. J. Cook, pp. 391-399. The Pennsylvania State University Press, University Park, PA, USA.

Baik, S. Y., Jang, K. S., Choi, Y. H., Kim, J. C. and Choi, G. J. 2011. Resistance degree of radish cultivars to *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani* according to several conditions. *Korean J. Hortic. Sci. Technol.* 29: 48-52.

Baik, S. Y., Kim, J. C., Jang, K. S., Choi, Y. H. and Choi, G. J. 2010. Development of effective screening method and evaluation of radish cultivars for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*. *Res. Plant Dis.* 16: 148-152. (In Korean)

Booth, C. 1971. The Genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 237 pp.

Brayford, D. 1992. IMI description of fungi and bacteria no. 1114. *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans*. *Mycopathologia* 118: 45-46.

Jung, M., Lee, G. and Chae, H. J. 2004. In vitro biological activity assay of ethanol extract of radish. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 47: 67-71. (In Korean)

Kistler, H. C. 1997. Genetic diversity in the plant-pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* 87: 474-479.

[KSPP] Korean Society of Plant Pathology. 2009. Vegetables. In: *List of Plant Disease in Korea*. 5th ed., eds. by W. G. Kim and H. M. Koo, pp. 99-103. KSPP, Suwon, Korea.

Lee, W. J., Jang, K. S., Choi, Y. H., Kim, H. T., Kim, J. C. and Choi, G. J. 2015. Development of an efficient simple mass-screening method for resistant melon to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. *Res. Plant Dis.* 21: 201-207. (In Korean)

Moon, Y. G., Kim, W. G., Cho, W. D. and Sung, J. M. 2001. Occurrence of *Fusarium* wilt on cruciferous vegetable crops and pathogenic differentiation of the causal fungus. *Res. Plant Dis.* 7: 93-101. (In Korean)

Park, M. S., Jang, K. S., Choi, Y. H., Kim, J. C. and Choi, G. J. 2013. Simple mass-screening methods for resistance of tomato to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Korean J. Hortic. Sci. Technol.* 31: 110-116. (In Korean)

Pound, G. S. 1959. Red prince is new radish. *Wis. Univ. Agric. Exp. Sta. Bull.* 538: 93.

Pound, G. S. and Fowler, D. L. 1953. *Fusarium* wilt of radish in Wisconsin. *Phytopathology* 43: 277-280.

Ramirez-Villupadua, J., Endo, R. M., Bosland, P. and Williams, P. H. 1985. A new race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans* that attacks cabbage type A resistance. *Plant Dis.* 69: 612-613.

Song, J. H., Kim, Y. W. and Cho, J. H. 1996. Varietal difference and inheritance of cabbage yellows (*Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans* Snyder et Hansen) resistance in cabbage. *Korean J. Breed.* 28: 171-177. (In Korean)