

수박 덩굴쪄김병에 대한 간편 저항성 검정법 확립

Development of a Simple and Effective Bioassay Method to Evaluate Resistance of Watermelon Plants to *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*

조은주 · 최용호 · 장경수 · 김 현 · 최경자*

한국화학연구원 친환경신물질연구센터

*Corresponding author

Tel: +82-42-860-7434

Fax: +82-42-861-4913

E-mail: kjchoi@kriict.re.kr

Eun Ju Jo, Yong Ho Choi, Kyoung Soo Jang, 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 widely used to determine the resistance of watermelon to *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* causing Fusarium wilt. Although this method leads to the precise results of plant disease responses, more rapid and efficient assay methods have been still required because the root-dipping inoculation method is labor-intensive and time-consuming. In this study, we established a simple and effective bioassay method based on the comparison of various inoculation methods and growth conditions. To develop the system, the occurrence of Fusarium wilt on four resistant and susceptible cultivars was investigated by four different inoculation methods, root-dipping, scalpel, tip and soil-drenching methods. Of these inoculation methods, scalpel method resulted in clear plant disease resistance responses with the simplicity. With the use of scalpel method, we also explored the disease development of the cultivars depending on inoculum concentration, growth stage of seedlings, and incubation temperature after inoculation. Furthermore, we found that the resistance degrees of 23 cultivars derived by scalpel inoculation method were similar to the results by root-dipping method established previously.

Keywords: Breeding, Cucurbit, Disease resistance, Fusarium wilt, Inoculation method

Received February 6, 2017
Revised February 24, 2017
Accepted February 24, 2017

서 론

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 있

는데, 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 국내외 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(Agrios, 2005; Lee와 Lee, 1994). 또한 기주 식물에 대한 병원성 차이, 즉 기주 특이성이 있고(Lee, 1969), 수박 품종의 반

Research in Plant Disease

pISSN 1598-2262, eISSN 2233-9191

www.online-rpd.org

©The Korean Society of Plant Pathology

©This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

응에 따른 race의 분화도 알려져 있는데(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; Martyn과 Netzer, 1991; Netzer, 1976; Netzer와 Dishon, 1973; Zhou 등, 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 저항성 품종이 없으며 대신에 저항성 대목을 이용한 접목 재배가 흔히 사용되고 있다. 이 방제법은 노동력이 많이 요구되고 문제점을 가지고 있어 개선될 필요가 있다(Lee와 Lee, 1994). 그리고 병원균 분화에 따른 새로운 race의 출현 등 다양한 변이에 대응하기 위하여 다양한 저항성 품종 개발에 대한 요구가 증가하고 있다. 따라서 이를 위한 수박 덩굴쪄김병 저항성 유전자원의 탐색과 저항성 품종 개발을 위해 교배한 대량의 수박 시료에 대해 효율적으로 저항성을 검정할 수 있는 방법이 필요하다.

덩굴쪄김병균의 박과 작물에 대한 병원성과 박과 작물 유전자원의 저항성 검정에서 병원균의 접종 방법으로 뿌리 침지법(root-dipping)을 일반적으로 사용하고 있다(Jo 등, 2015; Lee 등, 2014; Martyn, 1987; Zhou 등, 2010). 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(Latin과 Snell, 1986). 따라서 이 방법으로 저항성 품종 육종과정에서 나오는 수많은 교배 종들 중에 덩굴쪄김병에 대한 저항성인 개체를 선별하는 것은 용이하지 않다. 그러므로 대량의 수박 시료의 덩굴쪄김병 저항성을 효율적으로 조사하기 위해서는 보다 간편한 검정 방법이 필요하다. Lee 등 (2015a)은 멜론의 덩굴쪄김병(*F. oxysporum* f. sp. *melonis*)에 대한 저항성 검정을 scalpel 접종 방법을 이용하여 간편하게 검정하는 방법을 보고한 바 있다.

본 연구에서는 수박 덩굴쪄김병에 대한 간편한 대량 검정법을 개발하기 위하여 감수성 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 토대

로 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.

재료 및 방법

수박 재배. 시판 중인 수박과 수박용 대목 품종의 덩굴쪄김병에 대한 저항성 검정을 위해서는 수박 21개 품종('서태자', '설강102', '슈퍼골드', '꼬꼬마', '낙동골', '웰빙', '지존골', '장춘골', '감천골', '누네띠네골', '흑호', '칠복골', '슈퍼그랑프리', '황금골', '속노란골', '노란복', '노란부시복', '부시복', '베스트골', '부라보골', '원더풀골')과 수박용 대목 2개 품종(신FR불사조, '불로장생')을 시중에서 구입하여 실험에 사용하였다.

그리고 그의 실험을 위해서는 *F. oxysporum* f. sp. *niveum*에 감수성 수박 2품종 '서태자'(Asia Seed, Seoul, Korea)와 '지존골'(Pharmhannong, Seoul, Korea), 중도저항성 수박 품종 '속노란골'(Jeilseed, Jeungpyeong, Korea), 그리고 저항성인 수박용 대목 품종인 '불로장생'(Syngenta Korea, Seoul, Korea)을 시중에서 구입하여 실험에 사용하였다(Jo 등, 2015).

네 가지 접종법 중 뿌리 침지 방법을 위해서는 8×16 연결 포트(21 ml/pot; Bumngong Co., Jeongeup, Korea)에 원예용상토 5호(Punong, Gyeongju, Korea)를 넣고 각 품종의 종자를 1립씩 파종하여 온실(25°C±5°C)에서 10일 동안 재배하여 1엽이 조금 자란 유묘를 실험에 사용하였다. 그리고 scalpel, tip 및 무상처 접종 방법을 위해서는 5×8 연결포트(68 ml/pot; Bumngong Co.)에 원예용상토 5호를 넣은 후 종자를 1립씩 파종하고 온실에서 10일 동안 재배한 유묘를 실험에 사용하였다.



Fig. 1. Growth stage of watermelon seedlings: 7-, 10-, 13-, and 16-day-old watermelon plants.

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

접종원 준비. 경남 함안군 수박 재배지에서 채집한 병든 수박묘로부터 분리한 *F. oxysporum* f. sp. *niveum* HA 균주 (race 0; Jo 등, 2015)를 potato dextrose agar (Becton, Dickinson and Co., Franklin Lakes, NJ, USA) 배지에 접종하고 25°C에서 1주일간 배양한 후에 균총으로부터 균사 조각(8×8 mm)을 잘라내어 V-8 juice broth 배지 100 ml에 6개씩 접종하였다. 접종한 배지는 25°C에서 7일 동안 150 rpm으로 진탕배양하였다. 배양한 균주를 4겹 거즈로 걸러서 균사를 제거하고 원심분리(4,300g, 10분, 4°C; Beckman Coulter Inc., Brea, CA, USA)한 후에 상등액을 제거하였다. 그리고 남은 침전물에 멸균수를 넣고 흔들어 포자현탁액을 준비하고 광학현미경 하에서 hemocytometer를 이용하여 포자(소형분생포자)의 농도를 조사하였다.

접종 방법에 따른 수박 덩굴쪄김병 발생 실험에서는 1.0×10^6 과 1.0×10^7 conidia/ml가 되도록, 그리고 발병 조건에 따른 실험에서는 접종원 농도에 따른 수박 덩굴쪄김병 발생을 제외한 모든 실험에서는 3.0×10^6 conidia/ml가 되도록 멸균수를 사용하여 포자 농도를 조정하였다. 그리고 접종원 농도에 따른 수박 덩굴쪄김병 발생의 경우에는 포자 농도가 3.7×10^5 , 1.1×10^6 , 3.3×10^6 , 1.0×10^7 conidia/ml가 되도록 조정된 포자현탁액을 준비하였다.

수박 덩굴쪄김병균 접종. 뿌리 침지 접종 방법은 재배한 수박 유묘를 포트에서 뽑아서 뿌리 주변의 흙을 물로 세척한 후에 준비한 병원균 포자현탁액에 30분 동안 침지하였다. 그리고 5×8 연결포트(68 ml/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 scalpel (Cutter301; Peace Korea, Incheon, Korea)을 이용하여 지제부 양 옆에서 0.8 cm 떨어진 곳에서 90° 각도로 깊이가 3 cm 되도록 뿌리를 향하여 찔러서 상처를 낸 후에 이곳에 수박 덩굴쪄김병균의 포자현탁액을 10 ml씩 관주하였다.

Tip 접종 방법은 5×8 연결포트에서 재배한 수박 유묘에 선단부를 45° 각도로 잘라준 10 ml-tip (Gilson, Middleton, WI, USA)을 이용하여 지제부에서 1 cm 떨어진 곳에서 45° 각도

로 깊이가 3 cm가 되도록 뿌리를 향하여 찔러서 상처를 내고 준비한 포자현탁액을 10 ml씩 관주 접종하였다. 무상처 접종 방법은 수박 유묘가 있는 5×8 연결포트 토양에 병원균의 포자현탁액을 포트당 10 ml씩 관주하여 접종하였다.

발병 및 병 조사. 접종한 유묘는 25°C 습실상에서 24시간 둔 후에 동일한 온도의 생육실로 옮겨 하루에 12시간씩 광(55 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$)을 조사하면서 재배하였다. 재배 온도에 따른 덩굴쪄김병 발생 실험의 경우에는 수박 유묘를 25°C와 30°C의 습실상에서 1일 동안 둔 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=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(Fig. 2). 평균 발병도가 1.0 이하인 경우에는 저항성, 1.1 이상에서 2.5 이하는 중도저항성, 그리고 2.6 이상은 감수성으로 판정하였다(Jo 등, 2015).

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



Fig. 2. Disease index of Fusarium wilt in watermelon plants. 0, no symptoms; 1, darkening of roots, no stunting or symptoms in tops; 2, darkening of roots, slightly top stunting; 3, dark stunted roots, severe stunting of roots and tops; 4, death.

결과 및 고찰

접종 방법에 따른 덩굴쪄김병 발생의 차이. 뿌리 침지, scalpel, tip 및 무상처 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)로 실험한 결과, 뿌리 침지 방법으로 접종하였을 때에는 '서태자'와 '지존꿀'은 실험한 두 농도 모두에서 3.5 이상의 높은 발병지수, 즉 감수성을 보였고, '속노란꿀'은 중도저항성을, '불로장생'은 저항성을 나타내었다(Table 1). 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 1). 그리고 감수성 품종인 '서태자'와 '지존꿀'은 1.0×10^6 conidia/ml의 농도에서는 저항성을, 1.0×10^7 conidia/ml의 농도로 접종하였을 경우에는 중도저항성을 보였다.

덩굴쪄김병 병원균인 *F. oxysporum*은 뿌리 끝을 직접 침입하거나 뿌리에 난 상처, 뿌리 분지 부분을 통해 침입할 수 있

는데, 토양에 존재하는 선충 같은 미소동물이 뿌리를 가해하거나 침입할 때 생긴 상처는 병원균의 침입을 용이하게 하여 병 발생을 촉진한다(Agrios, 2005; Choo 등, 1990; Mai와 Abawi, 1987; Martin 등, 1956; Sequeira 등, 1958). 토마토, 멜론, 목화, 바나나 등의 경우 토양에 뿌리혹선충이 존재할 때 덩굴쪄김병 발생이 증가한다고 알려져 있다(Abawi와 Barker, 1984; Bergeson, 1975; Minton과 Minton, 1966; Newhall, 1958). 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 1). 따라서 무상처에 의한 토양 관주 접종은 저항성 검정을 위한 수박 덩굴쪄김병 발생에 적합하지 않은 방법으로 생각되었다.

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

Table 1. Occurrence of Fusarium wilt on four cultivars depending on inoculation method*

Inoculation method	Inoculum concentration (conidia/ml)	Cultivar			
		Bulrojangsaeng	Soknoranggul	Seotaja	Jijonggul
Root-dipping [†]	1.0×10^6	0.0±0.0 [‡] a [§]	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	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 [¶]	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 ^{**}	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

*Ten-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 h and then transferred to a growth room at 25°C with 12-h light a day. After 4 weeks, disease severity of the seedling was investigated on a scale of 0–4.

[†]Seedlings of each cultivar were uprooted and the roots were washed gently in water. The plant roots were inoculated with two different spore concentration (1.0×10^6 conidia/ml and 1.0×10^7 conidia/ml) of Fon HA by which the roots were dipped in spore suspensions for 30 min. The infected plants were transplanted into 40-cell plastic trays.

[‡]Each value represents the mean of disease index±standard deviation of two runs with ten replicates each.

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

^{||}Seedlings were inoculated with Fon HA by cutting the roots with a scalpel, and then 10 ml of spore suspension was applied to soil.

[¶]Seedlings 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.

^{**}Seedlings were inoculated with Fon HA by pouring the spore suspension (10 ml) on soil without cutting of the roots.

방법을 선택하였다.

생육시기에 따른 품종간 병발생의 차이. 선발한 네 품종의 생육시기에 따른 덩굴쪄짐병 발생을 조사하기 위하여 각 품종의 종자를 파종하고 7일, 10일, 13일, 16일 동안 재배한 유묘에 scalpel 방법으로 *F. oxysporum* f. sp. *niveum*을 접종하여 덩굴쪄짐병 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 2). 하지만 떡잎이 전개된 시기인 파종 7일 후 유묘는 4종 품종들의 저항성 반응은 잘 나타났으나 중도저항성 품종과 감수성 품종들 간에 통계적으로 유의성 있는 발병도 차이를 보이지 않았다(Table 2).

Jo 등(2015)은 뿌리 침지 접종법으로 저항성, 중도저항성, 감수성 품종을 네 가지 생육시기에서 접종하고 수박 덩굴쪄짐병 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 유묘만이 통계적으로 유의성 있는 차이를 보여 수박 덩굴쪄짐병 저항성 검정에 적합한 생육 시기라고 하였다. 이와 달리 본 연구의 scalpel 접종 방법은 실험한 네 가지 생육 시기 중 7일 재배한 유묘를 제외한 세 가지 생육 시기 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 덩굴쪄짐병 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 덩굴쪄짐병 저항성 검정에 적합할 것으로 생각되었다.

재배 온도에 따른 품종간 병발생의 차이. Scalpel 방법을 이용하여 4개 품종들에 *F. oxysporum* f. sp. *niveum*을 접종하고 20°C와 30°C에서 재배하여 덩굴쪄짐병 발생을 실험한 결과, 25°C에서는 '지존꿀'과 '서태자'는 각각 발병도 3.7과 4.0으로 감수성을, '속노란꿀'은 발병도 2.0으로 중도저항성을, 그리고 '불로장생'은 발병도 0.1로 기대한 바와 동일한 저항성 반응을 보였다. 그리고 감수성, 중도저항성 및 저항성 품종들 간의 발병도 차이는 통계적으로도 유의성이 있었다(Table 3). 반면에 30°C에서는 감수성 2개 품종('지존꿀'과 '서태자')과 '불로장생'은 25°C에서와 마찬가지로 각각 감수성과 저항성 반응을 나타내었으나 중도저항성 품종인 '속노란꿀'은 25°C보다 더 높은 발병도 즉 감수성 반응을 보였다.

Jo 등(2015)이 뿌리 침지 접종법으로 수박의 덩굴쪄짐병 저항성을 조사하였을 때에도 본 연구에서와 마찬가지로 접종하고 25°C에서 재배하였을 때에는 저항성, 중도저항성, 감수성 품종들의 저항성 특성이 잘 나타났으나 30°C

Table 2. Occurrence of Fusarium wilt on four cultivars depending on plant growth stage*

Cultivar	Plant growth stage							
	7-day-old		10-day-old		13-day-old		16-day-old	
Bulrojangsaeng	0.0±0.0 [†] b [‡]	R [§]	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

*Seven-, 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) was applied to soil. 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 4 weeks, disease severity of the seedling was investigated on a scale of 0-4.

[†]Each value represents the mean of disease index±standard deviation of two runs with ten replicates each.

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

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

에서는 중도저항성 품종의 덩굴쪄김병 발생이 증가하면서 감수성 반응을 나타냈다. 멜론 덩굴쪄김병의 경우에는 *F. oxysporum* f. sp. *melonis*를 접종하고 25°C와 30°C에 재배하였을 때, 저항성 품종들은 두 온도 모두에서 저항성을 잘 나타냈다(Lee 등, 2015b). 이는 멜론의 덩굴쪄김병에 대한 저항성은 *Fom-1*과 *Fom-2*의 단인자 우성 유전자에 의한 질적 저항성이므로(Risser 등, 1976) 재배 온도(25°C와 30°C)에 따라 저항성이 크게 영향을 받지 않은 때문으로 생각되었다. 한편, 수박 품종 '속노란꿀'은 중도저항성을 나타내고 온도

에 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 등, 2014).

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

Table 3. Occurrence of Fusarium wilt on four cultivars depending on incubation temperature*

Cultivar	Incubation temperature		R ⁵	MR	S
	25°C	30°C			
Bulrojangsaeng	0.1±0.3 [†] c [‡]	0.0±0.0 b	R		
Soknoranggul	2.0±0.9 b	2.7±1.3 a		MR	S
Seotaja	4.0±0.0 a	3.6±1.0 a		S	S
Jijonggul	3.7±0.7 a	3.5±1.0 a		S	S

*Ten-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 (3.0×10⁶ conidia/ml) was applied to soil. The inoculated plants were incubated in dew chambers at 25°C and 30°C for 24 h and then transferred to growth rooms at 25°C and 30°C with 12-h light a day, respectively. After 4 weeks, disease severity of the seedling was investigated on a scale of 0–4.

[†]Each value represents the mean of disease index±standard deviation of two runs with ten replicates each.

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

⁵Resistance response: R, resistant (disease index [DI]=0–1.0); MR, moderately resistant (DI=1.1–2.5); S, susceptible (DI=2.6–4.0).

접종원 농도에 따른 품종간 병발생의 차이. *F. oxysporum* f. sp. *niveum*를 3.7×10⁵ conidia/ml부터 1.0×10⁷ conidia/ml까지의 포자 농도로 접종하고 4개 품종들의 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. 접종원의 농도가 높아질수록 감수성 품종과 중도저항성 품종은 덩굴쪄김병 발생이 점차 증가하였으나, 저항성 대목인 '불로장생'은 접종원 농도에 관계없이 덩굴쪄김병이 발생하지 않았다(Table 4).

Martyn과 McLaughlin (1983)은 *F. oxysporum* f. sp. *niveum*의 접종원 농도가 1.0×10³부터 1.0×10⁶ conidia/ml로 증가할수록 중간 정도의 저항성을 나타내는 수박 품종들의 덩굴쪄김병 발병률이 높아진다고 하였는데, 본 연구에서도 중도저항성 품종인 '속노란꿀'이 3.0×10⁵부터 1.0×10⁶ conidia/ml로 접종 농도가 증가할수록 발병도가 증가하였다.

실험한 접종원 농도 중 3.7×10⁵ conidia/ml에서는 나머지 세 농도에 비해 덩굴쪄김병 발생이 다소 적어 '지존꿀', '서태자', '속노란꿀'의 발병도가 각각 3.1, 2.8, 그리고 1.5였으며, '서태자'와 '속노란꿀' 간에 통계적으로 유의성 있는 차이도

Table 4. Occurrence of Fusarium wilt in four cultivars depending on inoculum concentration*

Cultivar	Inoculum concentration (conidia/ml)			
	3.7 × 10 ⁵	1.1 × 10 ⁶	3.3 × 10 ⁶	1.0 × 10 ⁷
Bulrojangsaeng	0.0±0.0 [†] c [‡]	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c
Soknoranggul	1.5±0.8 b	1.7±0.8 b	1.9±1.0 b	2.2±1.2 b
Seotaja	2.8±1.1 ab	3.7±0.5 a	3.6±0.7 a	3.7±0.7 a
Jijonggul	3.1±1.0 a	3.7±0.7 a	3.7±0.9 a	4.0±0.0 a

*Ten-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 h and then transferred to a growth room at 25°C with 12-h light a day. After 4 weeks, disease severity of the seedling was investigated on a scale of 0–4.

[†]Each value represents the mean of disease index±standard deviation of two runs with ten replicates each.

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

⁵Resistance response: R, resistant (disease index [DI]=0–1.0); MR, moderately resistant (DI=1.1–2.5); S, susceptible (DI=2.6–4.0).

없었다. 그러나 1.1×10^6 conidia/ml부터 1.0×10^7 conidia/ml로 접종하였을 때에는 실험한 품종들 간에 유의성 있는 발병

Table 5. Resistance degree of 21 commercial watermelon cultivars and 2 watermelon-rootstock cultivars against *Fusarium* wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* (Fon)*

Cultivar	Inoculation method			
	Scalpel [†]		Root-dipping [‡]	
Bulrojangsaeng (rootstock)	0.0±0.0 [§]	R	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

*Ten-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 h and then transferred to a growth room at 25°C with 12-h light a day. After 4 weeks, disease severity of the seedling was investigated on a scale of 0–4.

[†]Seedlings 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) was applied to soil.

[‡]Seedlings 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) of Fon HA for 30 min and then transplanted into 40-cell plastic trays.

[§]Each value represents the mean of disease index±standard deviation of two runs with ten replicates each.

^{||}Resistance response: R, resistant (disease index [DI]=0–1.0); MR, moderately resistant (DI=1.1–2.5); S, susceptible (DI=2.6–4.0).

도 차이를 보였다(Table 4). 두 농도 중 1.0×10^7 conidia/ml의 경우에는 많은 양의 접종원을 준비해야 하는 단점이 있으므로 scalpel 방법을 이용하여 수박 덩굴쪓김병 저항성을 검정하기 위해서는 1.1×10^6 conidia/ml 내지 3.3×10^6 conidia/ml의 포자현탁액을 접종하는 것이 합리적일 것으로 생각되었다.

Scalpel 접종법에 의한 시판 품종들의 저항성. 이상의 결과로부터 확립된 scalpel 접종 방법을 이용한 수박 덩굴쪓김병 검정 체계의 효용성을 확인하기 위하여 시판 중인 수박 21개 그리고 수박용 대목 2개 총 23개 품종들에 병원균을 뿌리 침지와 scalpel 방법으로 접종하고 덩굴쪓김병 발생을 비교한 결과, 두 방법 모두에서 '속노란꿀'을 제외한 20개 수박 품종 모두에서 덩굴쪓김병이 심하게 발생하였고, 수박용 대목 2개 품종은 저항성을 보였다(Table 5). 그리고 '속노란꿀'도 두 방법 모두에서 중도저항성을 나타냈다.

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

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

요 약

Fusarium oxysporum f. sp. *niveum*에 의해 발생하는 수박의 덩굴쪓김병 저항성을 검정하기 위해 뿌리 침지 접종 방법이 많이 사용되어 왔다. 이 방법은 정확한 저항성 검정 결과를 제공하나 많은 노동력과 시간이 소요되어 보다 빠르고 효율적인 검정 방법이 요구되어 왔다. 본 연구에서 수박 덩굴쪓김병의 간편한 대량 저항성 검정법을 확립하기 위해 저항성 및 감수성 4개 품종의 유묘에 *F. oxysporum* f. sp. *niveum*을 네 가지 접종 방법(뿌리 침지, scalpel, tip 및 무상

치 토양 관주법)으로 접종하고 덩굴쪄짐병 발생을 조사하였다. 이들 중 scalpel 접종 방법은 실험 방법이 간단하고 정확한 저항성 반응을 보였다. 우리는 scalpel 접종 방법을 이용하여 수박의 생육 시기, 접종원 농도 및 접종 후 재배 온도 등의 발병 조건에 따른 위의 품종들의 덩굴쪄짐병에 대한 저항성 반응을 조사하였다. 그리고 이들 결과로부터 확립한 scalpel 방법의 효용성은 시판 품종 23개의 덩굴쪄짐병균에 대한 저항성 정도를 뿌리침지 방법과 비교하여 확인하였다. 이상의 결과를 종합하여 수박 덩굴쪄짐병에 대한 간편 대량 저항성 검정 방법으로 수박 종자를 파종하여 온실에서 10-13일 동안 재배한 수박 유묘의 뿌리를 scalpel을 이용하여 상처를 준 후에 3.0×10^6 conidia/ml의 포자현탁액을 포트당 10 ml씩 관주하고 25°C에서 하루에 12시간씩 광을 조사하면서 약 4주 동안 재배하는 것을 제안하고자 한다.

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 (213006-05-1-SB910), Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs (MAFRA), Ministry of Oceans and Fisheries (MOF), Rural Development Administration (RDA) and Korea Forest Service (KFS).

References

- Abawi, G. S. and Barker, K. R. 1984. Effects of cultivar, soil temperature, and population levels of *Meloidogyne incognita* on root necrosis and *Fusarium* wilt of tomatoes. *Phytopathology* 74: 433-438.
- Agrios, G. N. 2005. Vascular wilts caused by ascomycetes and deuteromycetes (mitosporic fungi). In: Plant Pathology, ed. by G. N. Agrios, pp. 522-534. Elsevier Academic Press, Burlington, MA, USA.
- Bergeson, G. B. 1975. The effect of *Meloidogyne incognita* on the resistance of four muskmelon varieties to *Fusarium* wilt. *Plant Dis. Rep.* 59: 410-413.
- Choo, H. Y., Lee, S. M., Kim, H. K. and Choi, Y. E. 1990. Influence of *Meloidogyne incognita* infection on the development of cucumber wilt by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. *Korean J. Plant Pathol.* 6: 412-416. (In Korean)
- Cirulli, M. 1972. Variation of pathogenicity in *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* and resistance in watermelon cultivars. In: Actas III Congr. Uniao Fitopatol. Mediterr., pp. 491-500. Oeiras, Portugal.
- Crall, J. M. 1963. Physiologic specialization in *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *Phytopathology* 53: 873.
- Jo, E. J., Lee, J. H., Choi, Y. H., Kim, J. C. and Choi, G. J. 2015. Development of an efficient method of screening for watermelon plants resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *Korean J. Hortic. Sci. Technol.* 33: 409-419. (In Korean)
- Jo, S. J., Shim, S. A., Jang, K. S., Choi, Y. H., Kim, J. C. and Choi, G. J. 2014. Resistance of chili pepper to isolates of *Phytophthora capsici*. *Korean J. Hortic. Sci. Technol.* 32: 66-76. (In Korean)
- [KSPP] Korean Society of Plant Pathology. 2009. Watermelon. In: List of Plant Disease in Korea, 5th ed., eds. by W. G. Kim and H. M. Koo, pp. 119-123. KSPP, Suwon, Korea.
- Latin, R. X. and Snell, S. J. 1986. Comparison of methods for inoculation of muskmelon with *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. *Plant Dis.* 70: 297-300.
- 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. Plant Prot.* 7: 69-75. (In Korean)
- Lee, J. H., Kim, J. C., Jang, K. S., Choi, Y. H. and Choi, G. J. 2014. Efficient screening method for resistance of cucumber cultivars to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. *Res. Plant Dis.* 20: 245-252.
- Lee, S. G. and Lee, W. H. 1994. Control of *Fusarium* wilt of watermelon with the root-stock grafting of *Sicyos angulatus* L. *Korean J. Plant Pathol.* 10: 240-244. (In Korean)
- Lee, W. J., Jang, K. S., Choi, Y. H., Kim, H. T., Kim, J. C. and Choi, G. J. 2015a. 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)
- Lee, W. J., Lee, J. H., Jang, K. S., Choi, Y. H., Kim, H. T. and Choi, G. J. 2015b. Development of efficient screening methods for melon plants resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. *Korean J. Hortic. Sci. Technol.* 33: 70-82. (In Korean)
- Mai, W. F. and Abawi, G. S. 1987. Interactions among root-knot nematodes and *Fusarium* wilt fungi on host plants. *Annu. Rev. Phytopathol.* 25: 317-338.
- Martin, W. J., Newsom, L. D. and Jones, J. E. 1956. Relationship of nematodes to the development of *Fusarium* wilt in cotton. *Phytopathology* 46: 285-289.
- 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. 1996. *Fusarium* wilts. In: Compendium of Cucurbit Diseases, eds. by T. A. Zitter, D. L. Hopkins and C. E. Thomas, pp. 13-14. APS Press, St. Paul, MN, USA.
- Martyn, R. D. and McLaughlin, R. J. 1983. Effects of inoculum concentration on the apparent resistance of watermelons to *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *Plant Dis.* 67: 493-495.
- Martyn, R. D. and Netzer, 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.

- Minton, N. A. and Minton, E. B. 1966. Effect of root knot and sting nematodes on expression of *Fusarium* wilt of cotton in three soils. *Phytopathology* 56: 319-322.
- Netzer, D. 1976. Physiological races and soil population level of *Fusarium* wilt of watermelon. *Phytoparasitica* 4: 131-136.
- Netzer, D. and Dishon, I. 1973. Screening for resistance and physiological specialization of *Fusarium oxysporum* in watermelon and muskmelon. In: 2nd International Congress of Plant Pathology, Abstract 941. University of Minnesota, Minneapolis, MN, USA.
- Newhall, A. G. 1958. The incidence of Panama disease of banana in the presence of the root-knot and burrowing nematodes (*Meloidogyne incognita* and *Radopholus similis*). *Plant Dis. Report*. 42: 853-856.
- Risser, G., Banihashemi, Z. and Davis, D. W. 1976. A proposed nomenclature of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* races and resistance genes in *Cucumis melo*. *Phytopathology* 66: 1105-1106.
- Sequeira, L., Steeves, T. A., Steeves, M. W. and Riedhart, J. M. 1958. Role of root injury in Panama disease infections. *Nature* 182: 309-311.
- Zhou, X. G., Everts, K. L. and Bruton, B. D. 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.