토마토 시들음병에 대한 간편 대량 저항성 검정법

박명수 · 장경수 · 최용호 · 김진철 · 최경자*

한국화학연구원 바이오화학연구센터

Simple Mass-screening Methods for Resistance of Tomato to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

Myung Soo Park, Kyung Soo Jang, Yong Ho Choi, Jin-Cheol Kim, and Gyung Ja Choi*

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

Abstract. This study was carried out to establish the simple mass-screening methods for resistant tomato to Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL). Root dip inoculation method has been used in many studies on the resistance of tomato to disease. On the other hand, in mass-screening for resistant tomato to Fusarium wilt, the inoculation method is time-consuming and laborious procedure. Disease development of two FOL isolates on two cultivars of tomato according to inoculation method including root dip, tip and scalpel methods were investigated. In compatible interaction, tomato seedlings of each cultivar inoculated by tip method showed the lower and more variable disease severities than by root dip method. Whereas the seedlings by scalpel method represented clear resistant and susceptible responses to Fusarium wilt as root dip method. The resistance degree of each cultivar inoculated with FOL isolates by scalpel method was hardly affected by the tested incubation temperature and inoculum concentration. On the basis of the results, we suggest scalpel inoculation method as an efficient mass-screening method for resistant of tomato cultivars to Fusarium wilt. Roots of tomato seedlings at two-leaf stage grown in plastic cell tray were injured with scalpel and then spore suspension (more than 1×10^7 conidia $\cdot$ mL⁻¹) of FOL was poured directly on the roots. The infected plants were cultivated in a growth room at 25-30°C for 4 weeks with 12-hours light a day.

Additional key words: breeding, Fusarium wilt, inoculation method, race, *Solanum lycopersicum*

서 언

토마토 시들음병(Fusarium wilt)은 *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*(Sacc.) Snyder and Hansen에 의해 전세계적으로 발생하는 병으로, 토마토 재배에서 가장 큰 피해를 주는 병 중 하나이다(Walker, 1971). 토마토 시들음병은 감염된 토마토가 시들어 죽는 토양병으로 막대한 경제적 손실을 초래할 뿐만 아니라, 방제가 어려운 균류병으로 알려져 왔다. 토마토 시들음병의 방제는 토양 훈증제를 이용한 화학적 방제, 윤작 및 석회와 유기물 시용이 널리 사용되었다(Jones and Overman, 1971; Jones and Woltz, 1972; Jones et al., 1972; Weststeijn, 1973; Woltz and Jones, 1973). 하

지만 이들 방법은 경제성이 낮고 잔류 독성으로 인한 환경 문제를 야기하고 있으며, 친환경 농산물에 대한 수요 증가 등의 이유로 점차 기피되고 있다. 반면 저항성 대목을 이용한 접목 재배 및 저항성 품종 재배는 이런 문제점을 대체할 수 있는 친환경적인 방제 방법으로 인식되어 많은 연구자들이 저항성 품종을 개발하고자 노력하고 있다.

F. oxysporum f. sp. *lycopersici*(FOL) 균주는 단일 우성 저항성 유전자(*I*, *I*-2)를 가진 토마토 품종에 대한 병원성에 따라 race 1, 2 및 3으로 명명되었다(Alexander and Tucker, 1945; Grattidge and O' Brien, 1982). Race 1은 시들음병에 대한 저항성 유전자가 없는 토마토에만 병을 일으킬 수 있는 균주로, race 1 균주에 대한 저항성은 토마토 근원종인

*Corresponding author: kjchoi@kriict.re.kr

※ Received 11 July 2012; Revised 21 September 2012; Accepted 5 October 2012. 본 연구는 농림수산식품부 농림기술개발사업의 채소병리검정 지원사업단(과제번호: 609002-5호)의 지원에 의해 이루어진 것이다.

Lycopersicon pimpinellifolium PI79532(Missouri accession 160)로부터 유래한 단일 우성 저항성 유전자 *I*에 의한 것이다(Bohn and Tucker, 1939). 그리고 *I* 유전자를 침해할 수 있는 race 2 균주에 대한 저항성은 *L. esculentum* × *L. pimpinellifolium*의 교잡종인 PI126915에서 발견되었으며 *I*-2 유전자로 명명되었다(Cirulli and Alexander, 1966; Laterrot and Philouze, 1984). 그 이후에 출현한 race 3 균주는 *I*와 *I*-2 유전자를 가진 토마토에 시들음병을 일으킬 수 있는 균주로, race 3에 대한 저항성은 *L. pennellii*의 PI414773과 LA716에서 확인하였고, 이들로부터 유래한 저항성 유전자는 *I*-3이다(Bournival and Vallejos, 1991; McGrath et al., 1987; Scott and Jones, 1989). *I*와 *I*-2 저항성 유전자를 포함하는 많은 토마토 품종들이 개발되었으며, 현재 *I*-3 유전자를 가진 시들음병 저항성 토마토 품종들이 개발 중에 있다.

토마토 시들음병의 저항성 및 병원성 검정을 위한 FOL의 접종 방법으로는 개체 간에 시들음병 발생 정도의 차이가 적고, 저항성과 감수성 품종을 명확하게 구별할 수 있는 root dip 방법을 많이 사용하고 있다(Bost, 2001; Bournival et al., 1989; Davis et al., 1988; Grattidge and O'Brien, 1982; Huang and Lindhout, 1997; Park et al., 2012). 하지만 root dip 방법은 재배 중인 토마토 뿌리를 뽑아 물로 세척하여 흙을 제거한 후에 이를 FOL 포자 현탁액에 침지하고 다시 새로운 포트에 이식하여 재배한 후에 병조사하는 검정 방법으로 대량의 시료에 대하여 시들음병 저항성을 검정할 경우에는 많은 시간과 과도한 노동력이 소요되고 있다. 따라서 root dip 방법에 비하여 보다 간편하고 대량 유묘 검정이 가능한 접종 방법을 이용하는 것이 저항성 검정의 효율을 크게 증가시킬 수 있으리라 생각되었다. 본 연구의 tip 및 scalpel 방법은 본 연구에서 처음 보고하는 토마토 시들음병 접종 방법으로, FOL 균주가 토마토를 감염하기 위해서는 뿌리에 상처가 있어야 하므로 root dip 방법에서처럼 재배 중인 토마토 뿌리를 뽑아 FOL 포자 현탁액에 침지하고 다시 토양에 이식하는 대신에 tip 및 scalpel 방법은 재배 중인 토마토 유묘의 뿌리에 tip 및 scalpel로 상처를 내고 FOL 포자 현탁액을 뿌리에 관주하여 접종하는 방법이다. 따라서 이들 방법은 토마토를 뽑거나 이식하지 않아 root dip 방법에 비하여 FOL을 접종하는 간편한 접종 방법이다.

본 연구에서는 root dip 방법보다 더 간단하고 효율적인 접종 방법을 이용한 대량 유묘 검정 방법을 확립하고자, race가 판명된 FOL 균주인 KACC40043(race 2)과 TF104(race 3)를 사용하여 race 1에 대한 저항성 품종인 ‘도태랑마스터’와 race 1과 2에 저항성인 ‘슈퍼선로드’를 이용하여 tip 방법, scalpel 방법, root dip 방법의 접종 방법에 따른 토마

토 시들음병의 발생을 조사하였다. 그리고 대량 검정을 위하여 선발한 scalpel 접종 방법을 이용하여 포자 농도 및 발병 온도에 따른 토마토 품종들의 저항성과 감수성 차이를 비교하였다.

재료 및 방법

접종원과 유묘 준비

토마토 시들음병을 일으키는 *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*는 한국농업미생물자원센터(Korean Agricultural Culture Collection, KACC)로부터 분양받은 race 2인 KACC40043 균주와 국립농업과학원으로부터 분양 받은 race 3인 TF104 균주를 사용하였다. 토마토는 FOL race 1에 저항성 품종인 ‘도태랑마스터’(다끼이종묘)와 FOL race 1과 2에 저항성인 ‘슈퍼선로드’(사카타코리아) 두 품종을 사용하였다. FOL 균주는 malt extract broth(Becton, Dickinson and Co.)에 접종하고 25°C 암상태에서 7일 동안 150rpm으로 진탕배양 하였다. 그리고 배양한 균주는 4겹의 거즈를 이용하여 균사를 제거하고, 원심분리하여 상정액을 제거하고 멸균수로 현탁하여 접종원을 준비하였다(Park et al., 2012). 포자현탁액의 포자 농도는 hemocytometer를 사용하여 광학현미경 하에서 조사하였으며, 멸균수를 이용하여 1×10^7 conidia · mL⁻¹ 농도가 되도록 희석하였다.

접종 방법에 따른 시들음병 발생 실험에서 root dip 방법은 8 × 16 연결 포트(포트 당 토양 13mL, 범농사)에 원예용 상토(쑥쑥이, 농우바이오):vermiculite = 1:1(v/v)의 혼합토를 넣고 토마토 종자를 파종하여 온실(25 ± 5°C)에서 약 2주일 동안 재배한 2엽기 토마토 유묘를 실험에 사용하였다(Park et al., 2012). Scalpel 방법과 tip 방법은 5 × 8 연결 포트(포트 당 토양 70mL, 범농사)에 원예용 상토를 넣고 토마토 종자를 파종하여 온실(25 ± 5°C)에서 약 2주일 동안 재배한 2엽기 토마토 유묘를 실험에 사용하였다. 소면적 대량 검정을 위한 scalpel 검정 방법은 6 × 12 연결 포트(포트 당 토양 30mL, 범농사)에 쑥쑥이 상토를 넣고 종자를 파종하였다.

시들음병 접종 및 발병도 조사

Tip, scalpel 및 root dip 접종 방법에 따른 토마토 시들음병 발생은 1×10^7 conidia · mL⁻¹ 농도의 FOL 포자 현탁액을 접종하였으며 접종 후 25°C에서 재배하였다. Root dip 방법은 재배한 토마토 뿌리를 물로 세척하여 흙을 제거한 후에 FOL 포자 현탁액에 토마토 뿌리를 30분 동안 침지하여 접종하고, 5 × 8 연결 포트에 원예용 상토 쑥쑥이를 넣고 접종한 토마토 유묘를 정식하였다(Park et al., 2012). Tip 방

법은 5 × 8 연결 포트에서 재배한 2엽기 토마토 유묘에 10mL tip을 이용하여 지제부에서 1cm 떨어진 곳에서 45° 각도 2cm 깊이로 뿌리를 향하여 상처가 생기도록 찌르고 FOL 포자 현탁액을 10mL씩 관주하여 접종하였다. Scalpel 방법은 5 × 8 연결 포트의 2엽기 토마토 유묘에 scalpel을 이용하여 지제부에서 1cm 떨어진 곳에서 45° 각도 2cm 깊이로 뿌리를 향하여 찢어서 뿌리에 상처를 주고 10mL tip을 이용하여 상처난 뿌리에 FOL 포자 현탁액을 10mL씩 관주하였다. 소면적 대량 유묘 검정을 위한 6 × 12 연결 포트를 이용한 scalpel 방법에서는 앞에서와 같은 방법으로 scalpel로 상처를 주고 FOL 포자 현탁액을 포트 당 5mL씩 관주하여 접종하였다.

접종한 토마토 유묘는 25℃ 혹은 30℃ 습실상에서 1일 동안 배양한 후 각각 25와 30℃ 생육상으로 옮겨 하루에 12 시간씩 광을 조사하면서 4주 동안 재배하였다. 토마토 시들음병 병조사는 도관의 갈변 여부와 생육 억제로 발병 정도를 조사하였다. 발병 지수는 0 = 건전, 1 = 도관이 갈변되나 지상부의 생육은 정상인 것, 2 = 도관이 갈변되고 지상부의 생육이 약간 억제된 것, 3 = 도관이 갈변되고 지상부는 생육이 억제되며 약간 황화한 것, 4 = 생육이 심하게 억제되고 황화하여 시들고 낙엽된 것, 5 = 고사 등 6단계로 하였다(Cai et al., 2003; Park et al., 2012). 평균 발병도가 1.0 이하는 저항성, 1.1-3.0은 중도 저항성, 3.0 초과는 감수성으로 판정하였다. 소면적 대량 검정을 위한 6 × 12 연결 포트를 이용한 scalpel 방법 검정 외 모든 실험은 10반복으로 2회 실시

하였으며, SAS(SAS Institute, Inc., 1989, Cary, NC) 프로그램을 이용하여 ANOVA 분석을 하였으며 처리 평균 간 비교를 위하여 Duncan's multiple range test($P = 0.05$)를 실시하였다.

결과 및 고찰

접종 방법에 따른 토마토 시들음병 발생

접종 방법에 따른 토마토 시들음병의 발생에서 FOL race 1에 저항성인 '도태랑마스터'는 KACC40043(race 2)과 TF104(race 3) 균주를 root dip, tip 및 scalpel 방법으로 접종하였을 때에는 모두 3.3 이상의 높은 발병도를 보였다. 하지만 tip 방법은 root dip과 scalpel 방법에 비하여 개체 간의 발병도 차이가 심하였다(Table 1). FOL race 2에 저항성인 '슈퍼선로드'는 TF104(race 3) 균주에 대해서 scalpel 방법에서는 root dip 방법과 유사한 발병도를 보였지만, tip 방법에서는 2.7의 낮은 발병도로 중도 저항성을 보였다. 한편 '슈퍼선로드'는 KACC40043(race 2) 균주에 대해서는 접종 방법에 상관없이 모두 저항성을 나타냈다. 따라서 scalpel 방법에 의한 FOL 접종 과정에서 발생한 상처는 토마토의 시들음병에 대한 저항성에 영향을 미치지 않았다는 것을 알 수 있었다.

토마토 시들음병에 대한 품종의 저항성과 병든 식물에서 분리한 균주들의 race 판별 및 병원성 기작을 연구하기 위한 접종 방법은 토마토 유묘의 뿌리를 포자 현탁액에 침지하는

Table 1. Development of Fusarium wilt on tomato cultivars according to inoculation method.

Inoculation method	Isolate	Tomato cultivar	
		Dotaerangmaster	Supersunload
Root dip ^z	KACC40043	4.3 ± 0.4a ^w	0.0 ± 0.0b
	TF104	4.8 ± 0.2a	3.3 ± 0.4a
Scalpel ^y	KACC40043	4.2 ± 0.1a	0.0 ± 0.0b
	TF104	3.3 ± 0.1a	3.3 ± 0.1a
Tip ^x	KACC40043	3.6 ± 1.1a	0.0 ± 0.0b
	TF104	3.5 ± 1.2a	2.7 ± 0.1a

^zSeedlings of tomato cultivars at two-leaf stage were inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* by dipping roots of the plants in spore suspension of 1×10^7 conidia · mL⁻¹ for 0.5 h. The infected plants were transplanted and incubated in humidity chamber at 25℃ for 24 h and then transferred to a growth room at 25℃ with 12-h light a day. After 4 weeks, disease severity of the seedlings was investigated on a scale of 0-5.

^ySeedlings of tomato cultivars at two-leaf stage were inoculated with *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* by cutting the roots with scalpel and then pouring a 10 mL-aliquot of the spore suspension in soil. The infected plants were incubated in humidity chamber at 25℃ for 24 h and then transferred to a growth room at 25℃ with 12-h light a day. After 4 weeks, disease severity of the seedlings was investigated on a scale of 0-5.

^xSeedlings of tomato cultivars at two-leaf stage were inoculated with *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* by injuring the roots with 10-mL tip and pouring a 10 mL-aliquot of the spore suspension simultaneously. The infected plants were incubated in humidity chamber at 25℃ for 24 h and then transferred to a growth room at 25℃ with 12-h light a day. After 4 weeks, disease severity of the seedlings was investigated on a scale of 0-5.

^wEach value represents the mean disease index ± standard deviation of two runs with ten replications each. Values in the labeled with the same letter within columns are not significantly different in Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

root dip 방법이 주로 사용되고 있다(Bost, 2001; Bournival et al., 1989; Davis et al., 1988; Grattidge and O' Brien, 1982; Huang and Lindhout, 1997; Park et al., 2012). 하지만 root dip 방법은 시간과 노동력이 많이 소요되는 접종 방법이다. 본 연구에서 제안한 scalpel 접종 방법은 root dip 방법과 유사한 시들음병 발병도를 보이며 개체간 변이가 적고 (Table 1), 대량의 시료에 대한 검정에서 토마토 뿌리를 물로 세척하여 흙을 제거한 후 포자 현탁액에 침지하고 새로운 토양에 이식하는 root dip 방법보다 보다 간편하고 효율적인 검정법으로 생각되었다.

접종 농도와 재배 온도에 따른 토마토 시들음병 발생

Scalpel 방법을 이용하여 접종 농도와 접종 후 재배 온도에 따른 토마토 시들음병 발생 차이를 살펴보기 위하여, 5 × 8 연결 포트에서 자라는 2엽기 토마토 유묘에 1×10^7 과 1×10^8 conidia · mL⁻¹ 농도의 포자 현탁액을 10mL씩 접종하고 이를 25와 30℃ 습실상에서 1일 동안 배양한 후 각각 25와 30℃ 생육상에 옮겨 4주 동안 재배한 후에 발병도를 조사하였다.

Race 1에 저항성인 '도태랑마스터'는 KACC40043(race 2)와 TF104(race 3) 균주 모두에서 실험한 접종 농도나 재배 온도와 상관없이 4.0 이상의 높은 발병도를 나타내었다 (Table 2). 그리고 race 2에 저항성인 '슈퍼선로드'는 KACC 40043 균주에 대해서는 두 가지 조건에 상관없이 0.2 이하의 낮은 발병도를 보여 고도의 저항성을 나타냈으며, TF104 균주에 의해 발병도 3.1 이상의 높은 시들음병 발생을 보였다. 이들 중 FOL을 1×10^7 conidia · mL⁻¹의 농도로 접종하

고 25℃에서 재배한 처리구는 다른 처리구에 비하여 상대적으로 낮은 발병도를 나타냈지만 각 품종의 시들음병균에 대한 감수성과 저항성은 명확하게 구분되었다.

기존의 토마토 시들음병에 대한 저항성 검정은 주로 1×10^6 부터 1×10^8 conidia · mL⁻¹ 사이의 포자 농도로 접종하고 20-30℃에서 재배하였다(Bournival et al., 1989; El Mohtar et al., 2007; Huang and Lindhout, 1997; Mes et al., 1999). 하지만 Park et al.(2012)은 토마토 품종의 시들음병 발생은 접종 후 20℃에서 재배하였을 때는 감수성 품종에서 시들음병 발생이 적어 중도 저항성 반응을 보이므로 20℃보다는 25-30℃에서 실험하는 것이 적합하다고 보고하였다. Scalpel 접종 방법을 이용한 본 실험에서 토마토 두 품종의 시들음병균들에 대한 저항성 정도는 실험한 접종 농도와 재배 온도에 상관없이 감수성과 저항성 반응을 보였다(Table 2). 하지만 접종원 준비를 고려하면 1×10^8 conidia · mL⁻¹보다는 1×10^7 conidia · mL⁻¹이 더 효율적이라고 생각되었다. 따라서 scalpel 방법에 의한 토마토 품종의 시들음병에 대한 저항성 정도 조사는 1×10^7 conidia · mL⁻¹ 농도의 포자 현탁액을 10mL씩 접종하고 25-30℃에서 재배하는 것이 바람직할 것으로 생각되었다.

소면적 대량 유묘 검정을 위한 scalpel 검정 방법

5 × 8 연결 포트를 이용한 scalpel 방법보다 공간적으로 더 효율적인 소면적 대량 유묘 검정 방법을 확립하기 위하여, 6 × 12 연결 포트에서 재배한 2엽기 토마토 유묘에 scalpel로 상처를 내고 1×10^7 과 1×10^8 conidia · mL⁻¹ 농도의 포자 현탁액을 5 mL씩 접종한 후 이들을 25와 30℃ 습

Table 2. Development of Fusarium wilt on two tomato cultivars according to incubation temperature and inoculum concentration².

Incubation temperature	Inoculum concentration (conidia · mL ⁻¹)	Isolate	Tomato cultivar	
			Dotaerangmaster	Supersunload
25℃	1×10^7	KACC40043	4.0 ± 0.6 a ^y	0.0 ± 0.0 b
		TF104	4.6 ± 0.2 a	3.1 ± 0.7 a
	1×10^8	KACC40043	4.2 ± 0.5 a	0.1 ± 0.1 b
		TF104	4.6 ± 0.4 a	3.9 ± 0.5 a
30℃	1×10^7	KACC40043	4.1 ± 0.4 a	0.2 ± 0.3 b
		TF104	4.5 ± 0.1 a	4.2 ± 0.8 a
	1×10^8	KACC40043	4.0 ± 0.6 a	0.2 ± 0.0 b
		TF104	4.9 ± 0.1 a	4.2 ± 0.8 a

²Seeds of tomato cultivar were sown in 5 × 8 plastic cell tray and grown in a green house at 25 ± 5℃. Seedlings of tomato cultivars at two-leaf stage were inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* by cutting the roots with scalpel and then pouring a 10 mL-aliquot of the spore suspension in soil. The infected plants were incubated in humidity chamber at 25 and 30℃ for 24 h and then transferred to a growth room at 25 and 30℃, respectively with 12-h light a day. After 4 weeks, disease severity of the seedlings was investigated on a scale of 0-5.

^yEach value represents the mean disease index ± standard deviation of two runs with ten replications 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.

Table 3. Development of Fusarium wilt on two tomato cultivars using mass-screening method^z.

Exp.	Cultivar	Isolate	25°C		30°C	
			1×10^7 ^y	1×10^8	1×10^7	1×10^8
Exp. 1	Dotaerangmaster	KACC40043	3.8 ± 0.9^x	4.3 ± 1.0	4.0 ± 1.0	4.8 ± 0.6
		TF104	3.6 ± 1.4	4.3 ± 1.4	4.3 ± 1.0	5.0 ± 0.0
	Supersunload	KACC40043	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
		TF104	1.9 ± 2.1	4.0 ± 1.3	2.8 ± 2.0	4.8 ± 0.6
Exp. 2	Dotaerangmaster	KACC40043	4.3 ± 1.5	4.6 ± 1.0	4.8 ± 0.6	5.0 ± 0.0
		TF104	4.8 ± 0.6	4.3 ± 1.3	5.0 ± 0.0	4.9 ± 0.3
	Supersunload	KACC40043	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
		TF104	4.7 ± 0.8	4.1 ± 2.0	4.6 ± 0.7	4.6 ± 0.8

^zSeeds of tomato cultivar were sown in 6×12 plastic cell tray and grown in a green house at $25 \pm 5^\circ\text{C}$. Seedlings of tomato cultivars at two-leaf stage were inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* by cutting the roots with scalpel and then pouring a 5 mL-aliquot of the spore suspension in soil. The infected plants were incubated in humidity chamber at 25 and 30°C for 24 h and then transferred to a growth room at 25 and 30°C , respectively with 12-h light a day. After 4 weeks, disease severity of the seedlings was investigated on a scale of 0-5.

^ySpore concentration, conidia $\cdot \text{mL}^{-1}$

^xEach value represents the mean disease index $\pm$ standard deviation of twelve replications.

Fig. 1. Fusarium wilt development of tomato seedlings grown in 72-plastic cell tray. The plants were inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* by cutting the roots with scalpel and then pouring a 5 mL-aliquot of spore suspension (1×10^7 conidia $\cdot \text{mL}^{-1}$) in soil. The infected plants were incubated in humidity chamber at 25°C for 24 h and then transferred to a growth room at 25°C with 12-h light a day. A, Dotaerangmaster; B, Supersunload; Control, non-inoculated.

실상에서 1일 동안 배양하고 각각 25°C 와 30°C 생육상으로 옮겨 4주 동안 재배한 후 시들음병 발생을 조사하였다. 실험은 12반복으로 2회 실시하였다.

실험 1에서 FOL race 1에 저항성을 가진 ‘도태랑마스터’는 race 2인 KACC40043과 race 3인 TF104에서 접종 농도나 접종 후 재배 온도와 상관없이 3.6 이상의 높은 발병도를 나타내었다. 그리고 FOL race 2에 저항성인 ‘슈퍼선로드’는 KACC40043 균주에 대해서 조건에 상관없이 저항성을 보였다. 그리고 TF104 균주는 1×10^8 conidia $\cdot \text{mL}^{-1}$ 의 농도로 접종하고 25°C 와 30°C 에서 재배하였을 때에는 4.0 이상의 높은 발병도를 나타내었지만, 1×10^7 conidia $\cdot \text{mL}^{-1}$ 에서는 각각 1.9와 2.8의 낮은 시들음병 발병도를 나타내었다(Table 3). 반면에 실험 2에서는 ‘도태랑마스터’는 KACC40043과

TF104 균주에 접종 농도나 재배 온도와 상관없이 4.3 이상의 높은 감수성을 보였다. 뿐만 아니라 ‘슈퍼선로드’도 TF104에 대해 4.1 이상의 높은 발병도를 나타내었다(Table 3 and Fig. 1). 물론 KACC40043 균주에 대해서는 조건에 관계없이 저항성 반응을 보였다.

앞의 5×8 연결 포트를 이용한 scalpel 방법과 달리 소면적 대량 검정을 위한 6×12 연결 포트를 이용한 본 실험은 두 번의 유묘 검정간에 차이를 보였다(Table 3). 그리고 토마토와 FOL 균주의 감수성 반응에서 5×8 연결 포트를 이용한 scalpel 방법보다 6×12 연결 포트를 이용한 방법에서 처리구 내 개체 간의 발병도 차이가 더 크음을 알 수 있다(Tables 2 and 3). 그러나 저항성 반응은 두 방법 모두에서 고도의 저항성을 나타냈으며, 개체 간의 발병도 차이도 적었다.

기존의 토마토 시들음병의 저항성 검정을 위한 접종 방법은 대부분의 연구에서 root dip 후에 새로운 포트에 이식한 후 재배하여 시들음병 발병도를 조사하였다(Cai et al., 2003; Mes et al., 1999; Teunissen et al., 2003). 하지만 대량 유묘 검정에서 root dip 접종 방법은 시간 및 노동력이 많이 소요되는 어려움이 있다. 이를 해결하기 위한 본 연구에서 5 × 8 연결 포트를 이용한 scalpel 방법은 root dip 방법과 유사한 정도의 정확한 저항성 검정 결과를 제공하며, root dip 방법보다 접종 방법이 간단하고 효율적임을 알 수 있었다. 한편 6 × 12 연결 포트에서 재배한 토마토를 이용한 scalpel 방법은 실험 간에 그리고 반복 간에 다소 차이가 있으나 공간적으로 제약을 받는 대량 유묘 검정의 경우에 토마토 유묘의 감수성과 저항성을 간단히 검정할 수 있는 효율적인 방법이라고 생각되었다.

초 록

본 연구는 *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*(FOL)에 의해 발생하는 토마토 시들음병의 간편 대량 유묘 검정 방법을 확립하고자 수행하였다. 토마토 시들음병 연구에는 root dip 접종 방법을 많이 사용하고 있으나, 대량의 시료에 대한 병 저항성 검정에서 이 방법은 시간이 많이 소요되고 힘이 많이 드는 어려움이 있다. 대량 검정을 위한 간편한 접종 방법을 선별하고자 FOL race 2와 3 균주를 root dip, tip 및 scalpel 등의 방법으로 접종하고 두 토마토 품종에서 시들음병 발생을 조사하였다. Tip 방법에 의해 접종한 토마토는 root dip 방법으로 접종한 토마토보다 더 낮은 발병도를 보였으며 개체 간 발병도 차이가 더 컸다. 반면에 scalpel 방법은 root dip 방법에서처럼 토마토 시들음병에 대하여 분명한 감수성과 저항성 반응을 나타내었다. 이들 결과로부터 대량 시료를 위한 토마토 시들음병 저항성 검정에서 root dip 접종 방법보다 더 간단하고 효율적인 scalpel 이용 접종 방법을 선별하였다. Scalpel 접종 방법은 실험한 접종원 농도 및 재배 온도 등의 발병 조건에 의해 토마토 품종들의 저항성 및 감수성 반응은 영향을 받지 않았다. 따라서 토마토 시들음병에 대한 대량 유묘 검정 방법으로 연결 포트에서 재배한 2엽기 토마토 유묘의 뿌리를 scalpel을 이용하여 상처를 준 후에 FOL 포자 현탁액을 관주하여 25-30℃ 생육상에서 하루에 12시간씩 광을 조사하면서 4주 동안 재배하는 것을 제안한다.

추가 주요어 : 육종, 시들음병, 접종 방법, 계통, *Solanum lycopersicum*

- Alexander, L.J., and C.M. Tucker. 1945. Physiologic specialization in the tomato wilt fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. J. Agric. Res. 70:303-313.
- Bohn, G.W and C.M. Tucker. 1939. Immunity to *Fusarium* wilt in the tomato. Science 89:603-604.
- Bost, S.C. 2001. First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 on tomato in Tennessee. Plant Dis. 85:802.
- Bournival, B.L., J.W. Scott, and C.E. Vallejos. 1989. An isozyme marker for resistance to race 3 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in tomato. Theor. Appl. Genet. 78:489-494.
- Bournival, B.L. and C.E. Vallejos. 1991. New sources of genetic resistance to race 3 of *Fusarium* wilt of tomato. Plant Dis. 75:281-284.
- Cai, G., L.R. Gale, R.W. Schneider, H.C. Kistler, R.M. Davis, K.S. Elias, and E.M. Miyao. 2003. Origin of race 3 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* at a single site in California. Phytopathology 93:1014-1022.
- Cirulli, M. and L.J. Alexander. 1966. A comparison of pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and different sources of resistance in tomato. Phytopathology 56:1301-1304.
- Davis, R.M., K.A. Kimble, and J.J. Farrar. 1988. A third race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* identified in California. Plant Dis. 72:453.
- El Mohtar, C.A., H.S. Atamian, R.B. Dagher, Y. Abou-Jawdah, M.S. Salus, and D.P. Maxwell. 2007. Marker-assisted selection of tomato genotypes with the *I-2* gene for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 2. Plant Dis. 91: 758-762.
- Grattidge, R. and R.G. O'Brien. 1982. Occurrence of a third race of *Fusarium* wilt of tomatoes in Queensland. Plant Dis. 66: 165-166.
- Huang, C.-C. and P. Lindhout. 1997. Screening for resistance in wild *Lycopersicon* species to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 1 and race 2. Euphytica 93:145-153.
- Jones, J.P. and A.J. Overman. 1971. Control of *Fusarium* wilt of tomato with limes and soil fumigation. Phytopathology 61: 1415-1417.
- Jones, J.P., A.J. Overman, and C.M. Geraldson. 1972. The effect of mulching on the efficacy of DD-MENCS for control of *Fusarium* wilt of tomato. Plant Dis. Rep. 56:953-956.
- Jones, J.P. and S.S. Woltz. 1972. Effect of soil pH and micro-nutrient amendments on *Verticillium* and *Fusarium* wilt of tomato. Plant Dis. Rep. 56:151-153.
- Laterrot, H. and J. Philouze. 1984. Recombination between resistance to pathotype 1 (*I-2* allele) and susceptibility to pathotype 0 (*I+* allele) of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.), p. 70-74. In: A new era in tomato breeding. Synopses, IXth meeting, EUCARPIA Tomato Working Group, 22-24 May 1984, Wageningen, the Netherlands.
- McGrath, D.J., D. Gillespie, and L. Vawdrey. 1987. Inheritance of resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* races 2 and 3 in *Lycopersicon pennellii*. Aust. J. Agric. Res. 38: 729-733.

- Mes, J.J., E.A. Weststeijn, F. Herlaar, J.J.M. Lambalk, J. Wijbrandi, M.A. Haring, and B.J.C. Cornelissen. 1999. Biological and molecular characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* divides race 1 isolates into separate virulence groups. *Phytopathology* 89:156-160.
- Park, M. S., B. Jeong, K.S. Jang, Y.H. Choi, J.-C. Kim, and G.J. Choi. 2012. Development of efficient screening methods for resistance of tomato to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 30:426-431.
- Scott, J.W. and J.P. Jones. 1989. Monogenic resistance in tomato to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3. *Euphytica* 40:49-53.
- Teunissen, H.A.S., Y. Boer, J. Verkooijen, B.J.C. Cornelissen, and M.A. Haring. 2003. A near-isogenic *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* strain with a novel combination of avirulence characteristics. *Phytopathology* 93:1360-1367.
- Walker, J.C. 1971. *Fusarium wilt of tomato*. Monogr. 6. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- Weststeijn, G. 1973. Soil sterilization and glasshouse disinfection to control *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in tomatoes in Netherlands. *Neth. J. Pl. Path.* 79:36-40.
- Woltz, S.S. and J.P. Jones. 1973. Tomato *Fusarium wilt* control by adjustments in soil fertility. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 86: 157-159.