

수박 덩굴마름병의 품종 저항성 검정과 감염 후 품종간 단백질 발현의 비교

홍정래 · 임양주 · 권미경 · 조백호 · 김기철*
전남대학교 농과대학 응용식물학부

Screening of Resistant Watermelon Cultivars Against Gummy Stem Blight Fungus, *Didymella bryoniae*, and Comparison of Protein Expression Between Cultivars After Infection

Jeong Rae Hong, Yang Ju Im, Mi Kyung Kwon, Baik Ho Cho and Ki Chung Kim*
Applied Plant Science Division, College of Agriculture, Chonnam National University,
Kwangju 500-757, Korea

ABSTRACT: Since the leaf inoculation procedures are time-consuming and require considerable growth chamber space, a rapid bioassay method for screening of pathogenicity of *Didymella bryoniae*, a casual agent of gummy stem blight in watermelon, was established in this paper. The method produced reliable results within 8 days (5 days for growing seedlings and 3 days for rapid disease response in the seedlings). After contaminants in the root of 4-5 day-old seedlings had been washed using sterilized water, 5 seedlings were dipped into a vial containing 12 ml of conidial suspension (10^6 cells/ml). After the vials were placed in a growth chamber (22°C, RH 50%, 14hr light/10hr darkness) for 3 days, susceptibility and resistance of cultivars were determined by the degree of disease response on cotyledon. The result obtained by the dip-inoculation method was well coincided with the results by the leaf inoculation procedures and the result that had been observed for several years in the field. Screening of collected watermelon cultivars by the dip-inoculation method revealed that all the 21 domestic cultivars collected were susceptible and only 3 foreign cultivars (PI 189225, PI 482322 and IT 188207) were resistant among 18 cultivars. A cucumber cultivar (Marketer) and bitter cucumber were proven to be resistant against the *D. bryoniae* among 8 other different cucurbits tested. The SDS-PAGE patterns of total proteins from a susceptible (Keumcheon) and a resistant (PI 189225) watermelon cultivars were compared 0, 12, 24 and 36 hrs after inoculation. The amounts of two distinct protein bands (24 kDa and 70 kDa) were gradually increased after inoculation in both cultivars.

Key words: *Didymella bryoniae*, induced protein, inoculation method, resistance, watermelon.

Didymella bryoniae(Auersw.)에 의해 유발되는 덩굴마름병은 수박, 오이, 멜론, 참외 등 박과작물에 흔히 발생하는 병으로 우리나라에서도 그 피해가 점점 증가해 가는 추세이다(4, 5). 박과작물에서 비교적 넓은 기주범위를 가지고 있는 이 병원균의 병원성 검정이나 이 병원균에 대한 저항성 품종의 선발을 위하여 일반적으로 잎 접종 검정방법, 즉 유묘나 성체식물에 분생포자 현탁액을 분무접종한 후 기주체에 나타나는 이병 반응으로 병원성 혹은 저항성을 판단하는 방법이 주로 이용되어 왔다(1, 5, 6, 10, 11, 12). 그러나 이러한 잎 접종 검정방법은, 포자현탁액을 분무한 후 24시간의 습실처리를 해야 하는 번거로움이 따르고 습실처리 후에도 배양할 넓은 공간이

필요하기 때문에, 모든 실험조건을 균일하게 조정할 수 있는 단일 성장상 내에서 한꺼번에 취급하기가 어려운 실정이다. 뿐만 아니라, 식물을 파종하여 접종할 수 있을 정도로 생육시키기 까지 유묘검정의 경우는 7~10일정도, 본엽검정의 경우는 1달 이상의 긴 시간이 소요되며, 접종처리 후의 결과를 확인하기까지는 다시 10여일 이상의 시간이 걸리게 된다. 이처럼 잎 접종방법은 시간이 많이 소요될 뿐만 아니라 공간 활용면에 있어서도 불리하기 때문에, Freeman과 Rodriguez가 수박 탄저병(2)과 수박 덩굴썩김병(3)에 대한 병원성 검정에 적용해 보았던 유묘 침지 검정방법을 변형하여, 수박 덩굴마름병균의 병원성 검정이나 저항성 품종 선발에 이용할 수 있는 효율적인 방법을 확립하고자 본 실험을 실시하였다. 한편, 덩굴마름병에 의한 수박의 피해가 증가하고 있음

*Corresponding author.

에도 불구하고 현재 국내에서 재배되고 있는 품종들의 병원균에 대한 저항성 정도도 파악되지 않고 있는 실정 이기 때문에 이를 확인하기 위한 실험을 병행하였고, 병원균-기주 상호작용의 감수성 및 저항성 조합간 단백질 발현의 차이를 구명하여 차후 관련 연구의 기초자료로 이용코저 하였다.

재료 및 방법

공시균주. 96년에서 98년에 걸쳐 전국에서 재배되고 있는 수박잎에 나타난 덩굴마름 병반으로부터 수집한 균들중, 경남 함안군 군북면(DW96-67), 경남 의령군 용등면(DW96-88) 및 경기도 이천시 장호원읍(DW97-176)에서 수집한 균주들을 각각 단포자 분리하여 병원성을 검정하였다. 병원성검정에 필요한 다량의 포자를 형성하기 위하여 권 등의 방법(4)에 따랐다. 즉 Potato Dextros Agar 에 균을 접종하여 3일간 배양(26°C의 암상태)한 후 12 시간 UV조사-12 시간 암상태 유지를 3회 반복함으로써 다량의 포자를 형성하였고, 형성된 포자를 10^6 spore/ml의 농도로 조제하여 공시하였다.

공시품종. 국내·외 수박품종을 대상으로 하였다. 국내품종으로는 무등산, 대상, 백두산, 달고나, 금천, 환호성 등 모두 21품종을, 국외품종으로는 PI 482322, PI 299379, PI 271778, PI 189225, AU-Producer, AU-Golden Producer, Jubilee, Chalston Gray 등 모두 18품종을 수집하여 실험에 이용하였다. 한편, 수박이외의 박과작물인 오이(국내품종 흑진주 및 국외품종 Maketer), 참박, 애호박, 재래호박, 멜론, 참외, 수세미, 여주 등도 실험에 공시하였다.

저항성 검정. 침지검정의 경우, 발아후 종자를 pot에 파종하여 4일간 생장상(26°C, RH 60%, 광 14시간/암 10시간)에서 생육시킨 다음 뿌리의 부착물을 증류수로 제거하고, 10^6 spores/ml의 포자현탁액 12 ml이 들어있는 용기에 5개의 유묘를 침지하였다. 침지된 묘를 20°C에서 10시간 암상태로 유지한 다음, 22°C, RH 50% 및 광 14시간(10,000 lux)/암 10시간의 주기로 3일 경과한 후에 나타난 결과를 확인하였다. 유묘검정의 경우, 발아후 종자를 pot에 파종을 하여 제 1 본엽이 완전히 전개하고 제 2 본엽이 1/2 정도 전개한 식물에, 10^6 spores/ml의 포자현탁액을 식물 전체에 분무하였다. RH 95~100%의 생장상에서 24시간 습실처리후, 광 14시간(10,000 lux)/암 10시간의 주기로 25°C에서 생육시킨 다음 나타난 결과를 관찰하였다. 본엽검정의 경우, 제 7~9엽이 완전 전개한 성체식물을 이용하였으며, 처리과정은 유묘검정과 동일한 방법으로 하였다.

저항성의 판별. 침지검정의 경우, 침지한지 3일이 경과한 후에 배축이 연부하여 넘어지거나 고사되는 정도를

백분율로 표시하였으며, 5개 유묘중 배축이 연부하여 넘어지는 식물이 0~1일 때 저항성, 2~3일 때 중도저항성, 3~5일 때 감수성으로 판정하였다. 유묘검정의 경우, 습실처리하여 5일이 경과한 후의 병반면적 및 고사율이 0~25%일 때 저항성, 25~50%일 때 중도저항성 그리고 50% 이상일 때 감수성으로 판정하였다. 본엽검정의 경우, 병반면적 및 고사율이 0~20%일 때 저항성, 20~40%일 때 중도저항성, 40%이상일 때 감수성으로 판정하였다.

단백질의 추출. 제 5~6 본엽이 전개된 식물체에 10^6 포자/ml 농도의 분생포자 현탁액을 분무접종한 후, 0, 12, 24 및 36시간이 지난 전체 식물체로부터 O'Farrel의 방법(8)에 따라 단백질을 추출하였다. 신선중 약 0.8 g의 전체 식물체를, 액체질소를 이용, mortar에서 마쇄하여 얻은 powder를 O'Farrell buffer[3%(v/v) NP-40, 8%(v/v) β -mercaptoethanol, 3%(w/v) ampholines(pH 3.5~10) 및 8 mM leupeptin] 에 녹여 상온에서 30분간 방치한 다음, 반응혼합액을 15,000 g에서 15분간 원심분리하여 pellet을 제거하였다. 단백질의 농도는 BCA Protein Assay Reagent Kit(Pierce, USA)를 이용하여 측정되었다.

SDS-PAGE. 추출한 단백질의 전기영동을 위해 100 mM Tris-HCl(pH 8.0), 2%(w/v) SDS, 5%(v/v) β -mercaptoethanol, 10%(w/v) glycerol 및 0.025%(w/v) bromophenol blue가 함유된 동량의 loading buffer를 각 sample에 첨가하였다. Loading하기 전에 sample을 100°C에서 2분간 가열한 다음, Laemmili의 discontinuous SDS-buffer system으로 20 mA에서 SDS-slab gel 전기영동하였다. 전기영동후 gel은 10%(w/v) acetic acid와 40% methanol로 고정하였다.

결과 및 고찰

유묘침지 검정방법의 확립. 수박 덩굴마름병균의 병원성 확인 및 병원균에 대한 저항성 품종 선발을 위한 효율적인 검정방법을 모색하기 위하여 Freeman과 Rodriguez가 개발한 유묘 침지 검정방법(2, 3)을 약간 변형하여 덩굴마름병에 적용하여 보았다. 국내·외 수박품종 20여 가지를 대상으로, 재료 및 방법에 기술한 유묘침지 검정방법에 의한 실험결과와 관행의 유묘검정 및 본엽검정 방법에 의한 실험결과를 비교하였던 바, 결론적으로 이들 3가지 실험결과는 매우 잘 일치(Table 1)하였으며 서울종묘(주)에서 수년간 관찰해 온 포장실험 결과(결과 미제시)와도 일치하였다.

아직까지 국내에서는 수박 덩굴마름 병원균의 생리적 분화가 보고되지 않고 있으며 병원균의 분화를 검정할 수 있는 판별품종도 선정되어 있지 않다. 본 실험에서는 수집지가 다른 3가지 덩굴마름 병원균주를 공시하였는데

Table 1. Comparison among bioassay methods for screening the watermelon resistance to gummy stem blight

| Watermelon cultivar | Fungal isolate inoculated | | | | | | | | |
|---------------------|----------------------------------|-------------------|-------------------|-----------|----------|----------|-----------|----------|----------|
| | DW96-67 | | | DW96-67 | | | DW96-67 | | |
| | DIM ^{a)} | SIM ^{b)} | LIM ^{c)} | DIM | SIM | LIM | DIM | SIM | LIM |
| PI 482322 | 30 ^{d)} a ^{e)} | 42 a | 17 a | 60 a | 41 a | 42 a | 40 a | 38 a | 22 a |
| AU-Producer | 100 a | 89 a | 88 a | 100 a | 90 a | 95 a | 100 a | 96 a | 87 a |
| PI 299371 | 70 a | 75 a | 85 a | 70 a | 69 a | 72 a | 100 a | 86 a | 70 a |
| *Au-Golden Producer | 100 a (S) ^{f)} | 87 a (S) | 72 a (S) | 100 a (S) | 88 b (S) | 79 b (S) | 70 a (S) | 92 a (S) | 80 a (S) |
| PI 271778 | 40 a | 19 a | 23 a | 50 a | 42 a | 35 a | 50 a | 41 a | 44 a |
| *Jubilee | 90 a (S) | 84 a (S) | 87 a (S) | 100 a (S) | 81 b (S) | 83 b (S) | 100 a (S) | 92 a (S) | 82 a (S) |
| PI 189225 | 20 a | 26 a | 18 a | 30 a | 37 a | 18 a | 30 a | 45 a | 30 a |
| Chalston gray | 90 a | 78 a | 69 a | 100 a | 74 a | 85 a | 80 a | 87 a | 73 a |
| Au-Jbilant | 100 a | 83 a | 90 a | 100 a | 83 a | 90 a | 100 a | 91 a | 90 a |
| Crimson Sweet | 100 a | 97 a | 95 a | 100 a | 90 a | 95 a | 100 a | 100 a | 100 a |
| *Sugar Baby | 90 a (S) | 86 a (S) | 80 a (S) | 100 a (S) | 89 b (S) | 77 b (S) | 80 a (S) | 90 a (S) | 92 a (S) |
| *Black Diamond | 100 a (S) | 90 a (S) | 78 a (S) | 70 a (S) | 87 a (S) | 87 a (S) | 80 b (S) | 88 a (S) | 92 a (S) |
| *Calhoun gray | 90 a (S) | 87 a (S) | 90 a (S) | 100 a (S) | 82 a (S) | 80 a (S) | 100 a (S) | 86 b (S) | 78 b (S) |
| Mudeungsan | 80 a | 80 a | 95 a | 80 a | 78 a | 85 a | 100 a | 95 a | 77 a |
| 紅大 | 80 a | 89 a | 80 a | 80 a | 100 a | 93 a | 80 a | 90 a | 83 a |
| *Daesang | 90 a (S) | 96 a (S) | 99 a (S) | 100 a (S) | 91 a (S) | 95 a (S) | 100 a (S) | 86 b (S) | 75 c (S) |
| *Baekdusan | 100 a (S) | 86 b (S) | 80 b (S) | 100 a (S) | 80 a (S) | 92 a (S) | 100 a (S) | 94 a (S) | 77 a (S) |
| Dalgona | 70 a | 85 a | 85 a | 100 a | 92 a | 95 a | 80 a | 100 a | 99 a |
| Keumcheon | 100 a | 87 a | 85 a | 80 a | 89 a | 80 a | 100 a | 91 a | 77 a |
| Whanhoseong | 90 a | 96 a | 64 a | 100 a | 95 a | 72 a | 100 a | 85 a | 72 a |

^{a)} Dip-inoculation Method: inoculated by dipping the 4~5 day-old seedlings into a vial contained 12 ml of conidial suspension (10⁶ cells/ml), and incubated for 3 days in a growth chamber (22°C, RH 50%, 14hr day/10 hr night).

^{b)} Seedling Inoculation Method; inoculated by spraying conidial suspension (10⁶ cells/ml) onto the seedlings which second leaves had been half-expanded, treated the seedlings for 24hr in a humid chamber (RH95~100), and incubated in a growth chamber (25°C, RH 60%, 14hr day/10hr night).

^{c)} Leaf Inoculation Method; inoculated by spraying conidial suspension (10⁶ cells/ml) onto the seedlings which 7th~9th leaves had been fully-expanded, treated the seedlings for 24hr in a humid chamber (RH 95~100), and incubated in a growth chamber (25°C, RH 60%, 14hr day/10hr night).

^{d)} Percentage of plants affected.

^{e)} Mean separation within row by Duncan's multiple range test, $P \leq 0.05$.

^{f)} Assessment according to disease injury ratings: R; resistant, MR; moderately resistant, S; susceptible.

균주에 따라 20여가지 대상 품종에 대한 병원성 발현에 약간의 차이가 있었지만 저항성 판정시 같은 범주내에 속하는 정도의 차이이기 때문에 병원균의 분화로는 인정되지 않았으며, 따라서 검정방법간의 결과비교를 위한 3 반복의 의미만을 부여하였다. 유묘 침지검정, 유묘검정 및 본엽검정에 의해 도출된 결과를 유의수준 5%에서 덩컨다중 검정하여본 결과, DW96-67 균주의 경우 백두산, DW96-88 균주의 경우 Au-Golden Producer, PI 271778, Sugar Baby, DW96-176 균주의 경우 Black Diamond, Calhoun gray, 대상 품종 등에서 유의차가 인정(Table 1에서 품종이름 앞에 *로 표시하였음)되었으나, 저항성 판정시 같은 범주 내에 속하는 미미한 차이였기 때문에 최종판정에는 영향을 주지 않았다.

한편, Table 1에 나타난 바와 같이 유묘검정 및 본엽검정에 비해 유묘침지 검정에 의한 감수성 및 저항성 품종간의 구분이 훨씬 뚜렷하였다. 이것은 식물은 생육정도에 따라 병 저항성의 정도에 차이가 나며 침지검정에 사

용한 묘가 어려서 병 발생이 매우 쉽게 나타나는 생육단계이기 때문일 것으로 추정되었다. 따라서 이는 곧 유묘 침지 검정방법의 장점인 동시에 단점이 될 수도 있다. 왜냐하면, 생육후기에 검정을 하면 중도저항성 혹은 저항성으로 분류될 수 있는 품종을 저항성이 약한 아주 어린 유묘 상태에서 검정하여 오판을 할 수도 있기 때문이다. 식물은 발육시기에 따라 병 저항성의 정도에 차이가 있을 수 있기 때문에 저항성 품종 선발을 위해서는 여러 발육단계의 검정을 거쳐야 한다. 따라서 오랜 시간과 많은 공간을 필요로 하는 부담을 덜어줄 수 있는 유묘 침지 검정방법으로 일차 선발한 다음 반복간의 결과가 뚜렷치 않거나 의심이 가는 품종들을 유묘 및 본엽검정을 진행하여 유묘침지 검정방법의 가능한 단점을 보완해 갈 수 있을 것이다.

수박 덩굴마름병에 대한 저항성 품종 선별. 수박, 참외, 오이, 멜론 등의 시설재배가 성행하면서 노지에서 문제가 되었던 탄저병에 의한 피해는 줄어든 반면, 덩굴마

름 병에 의한 피해가 점차 증가 일로에 있다(2). 그러나, 덩굴마름 병원균의 병원성 분화는 물론, 현재 국내에서 주로 재배되고 있는 품종들의 저항성도 아직 파악되지 않고 있는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 국내에서 주로 재배되고 있는 품종들을 위주로 유전자원을 수집하여 수박 덩굴마름 병원균에 대한 저항성을 검정하여 보았다. 공시한 3개 균주에 대한 품종들의 반응이 거의 비슷(Table 1)하였기 때문에 대표 균주인 *Didymella bryoniae* DW96-67을 사용하여 국내 21품종, 국외 18품종 및 기타 박과 작물의 저항성을 검정하였다. Table 2는 유묘 침지검정 방법에 의한 실험결과를 R(저항성), MR(중도 저항성), S(감수성)으로 표시하였다. 공시했던 21가지 국내품종은 덩굴마름 병에 대해 모두 감수성이었고, 국외품종중 PI482322-1, PI 271778은 중도 저항성, PI482322, PI189225, IT 188207는 저항성이었으며 나머지는 감수성으로 판정되었다. Sowell(9)은 수 백 가지의 상업적 수박 품종과 PI 계통의 덩굴마름 병원균에 대한 반응을 검정하여 PI 189225가 저항성이며 PI 271778이 중도 저항성임을 보고하였는데 본 실험에서도 동일한 결과를 나타내었다. 한편, 국내에서 수집된 모든 품종이 감수성으로 판정되었는데, 차츰 증가 일로에 있는 수박 덩굴마름 병에 대한 피해를 줄이기 위해서는 시급히 저항성 품종 육성대책이 세워져야 할 것이다. 덩굴마름 병에 대한 저항성 유전자원

이 몇 가지 국외 수박품종에만 국한되었기 때문에 좀 더 넓은 영역에서 저항성 유전자원을 알아 보고저 수박 이외에 다른 박과작물의 덩굴마름 병에 대한 반응을 확인하였던 결과(Table 2), 수세미(luffa)와 재래호박(pumpkin)은 중도 저항성을 보였고, 여주(bitter cucumber)와 국외품종 오이 Marketer가 저항성을 나타내었으며, 멜론(melon), 참외(oriental melon), 조롱박(bottle gourd), 애호박(squash) 및 오이(국내품종 흑진주)는 감수성을 나타내었다.

덩굴마름 병원균 감염에 의한 수박 품종의 단백질 발현 양상. 식물의 병에 대한 저항성은 여러 가지 생리적, 생화학적 변화를 동반하는 매우 복잡한 과정으로 대상 식물의 유전적인 배경에 의해 결정된다. 그러나, 덩굴마름 병에 대한 수박의 저항성에는 한 개의 열성 유전자가 관여함이 보고(7)되어 있을 뿐, 이 분야의 연구는 극히 미미한 실정이다. 본 실험은 수박 덩굴마름 병의 감수성 및 저항성 조합간 단백질 발현에 차이가 있는지의 여부를 확인하기 위해 병원균을 접종한 후 0, 12, 24 및 36시간 이 지난 감수성(금천) 및 저항성(PI 189225) 수박 품종에서 추출한 단백질을 SDS-PAGE하여 비교하여 보았다. 그 결과(Fig. 1), 두 품종 모두에서 24 kDa과 70 kDa의 단백질 band가 감염후 시간이 지남에 따라 뚜렷이 유도 발현 됨을 확인하였으나 감수성 및 저항성 조합간 유도

Table 2. Screening of watermelon cultivars and other cucurbits by the continuous dip-inoculation method against the gummy stem blight fungus *Didymella bryoniae*

| Watermelon Cultivar | | | | Other Cucurbits | | |
|---------------------|--------|---------------|--------|-----------------|----------------------|--------|
| Domestic | | Foreign | | Plant Name | Cultivar Name | Result |
| Name | Result | Name | Result | | | |
| Boksubak | S | PI482322 | R | Cucumber | Marketer (foreign) | R |
| Whanhoseong | S | PI482322-1 | MR | | Heukjinju (domestic) | S |
| Dalgona | S | PI299379 | S | Melon | | S |
| Bitna | S | PI189225 | R | Luffa | | MR |
| Daesang | S | PI271778 | MR | Bitter cucumber | | R |
| Keumro | S | IT188207 | R | Oriental melon | | S |
| Gamro | S | Au-Producer | S | Bottle gourd | | S |
| Daegam | S | Au-Golden Pr | S | Squash | | S |
| Dalsubak | S | Jubilee | S | Pumpkin | | MR |
| Handeul | S | Au-Jubilant | S | | | |
| Keumcheon | S | Crimson Sweet | S | | | |
| Whangto | S | Sugar Baby | S | | | |
| Hongdan | S | Black Diamond | S | | | |
| Hosan | S | Chalston Gray | S | | | |
| Chamdara | S | Calhoun Gray | S | | | |
| Dajoa | S | 蟹氣樓 | S | | | |
| Dansem | S | 紅都 | S | | | |
| Seonmi | S | 紅大 | S | | | |
| Baekdusan | S | | | | | |
| Mudeungsan | S | | | | | |
| Sambokggul | S | | | | | |

R; resistant, MR; moderately resistant, S; susceptible

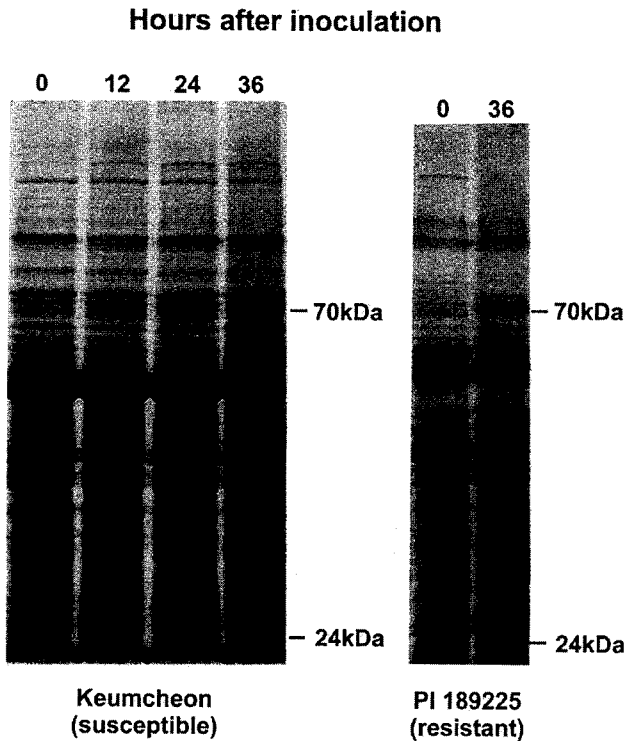


Fig. 1. Electrophoretic pattern of total proteins extracted from leaf tissues of the variety Keumcheon and the variety PI 189225 of watermelon at the indicated time points after inoculation with *Didymella bryoniae* (DW-96-67). Total proteins were solubilized in the SDS-buffer system and analyzed on 10% SDS-polyacrylamide gel. Five μ g of the protein was applied to each lane. Arrows indicate polypeptide bands, the intensity of which increased after infection.

발현의 양적 차이는 본 실험 방법만으로는 정확히 측정하기 어려웠다. 특히 감염후 36시간에 발현되었던 70 kDa의 단백질 양은 여러 반복 실험을 통해 감수성 조합보다는 저항성 조합에서 유도발현의 폭이 더 강하였는데 좀 더 확실한 결과를 얻기 위해서는 보다 정밀한 실험이 필요하였다. 감염 후 유도 발현되는 단백질들 중에는 defense-related protein일 가능성이 높기 때문에, 현재 이의 동정을 위한 amino acid sequence 분석을 진행 중에 있으며, N-terminal sequence가 확인되면 primer를 조제하여 RT-PCR에 의한 cDNA의 cloning을 계획 중이다. cDNA가 cloning되면 northern 및 western blot을 실시하여 감수성 및 저항성 조합간 유도발현의 양적 차이를 구명할 수 있기 때문이다.

요 약

수박 덩굴마름병균(*Didymella bryoniae*)의 병원성 검정에 이용되고 있는 관행의 잎 접종 검정방법은 오랜 시간과 많은 공간을 요하는 부담이 있다. 본 연구에서는 수박

육묘기간 5일 및 감염처리 기간 3일로 8일 이내에 검정이 완료되는 유묘침지 검정법을 확립하였다. 발아후 4~5일이 지나 자엽만 전개된 어린묘의 뿌리에 붙어있는 부착물을 멸균수로 씻어낸 다음, 5개의 유묘를 10⁶포자/ml 농도의 분생포자 현탁액 12 ml가 들어있는 용기에 침지하였다. 이를 22°C, RH 50% 및 광(10,000 lux) 14시간/암 10시간의 주기로 조정된 생장상에서 3일간 배양한 후, 유묘에 나타난 배측의 연부정도로 검정식물의 감수성 및 저항성을 판정하였다. 이 유묘침지 검정방법의 결과는 관행의 유묘검정과 본엽검정 결과 및 육종포장에서 수년간 관찰해 온 기존 결과와 잘 일치 하였다. 유묘침지 검정법을 기초로 하여 국·내외 수박품종의 저항성을 검정하여 본 결과, 공시한 국내 21가지 품종 모두가 감수성이었고, 국외 품종중 PI 189225, PI 482322 및 IT 188207만이 저항성으로 판별되었다. 수박 이외에 공시한 8가지 박과작물 중에서는 오이 Marketer 품종과 여주만이 저항성이었다. 병원균을 접종한 후 0, 12, 24 및 36시간이 지난 감수성(금천) 및 저항성(PI 189225) 수박품종에서 추출한 단백질을 SDS-PAGE 하여본 결과, 두 품종 모두에서 24 kDa과 70 kDa의 단백질band가 뚜렷이 유도발현 됨을 확인하였다.

감사의 말씀

본 실험을 위해 국내·외 수박품종을 제공해 주신 서울종묘(주)에 감사드립니다. 이 논문은 1996년도 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비에 의하여 연구되었음.

참고문헌

1. Amand, P. C. St. and Wehner, T. C. 1995. Eight isolates of *Didymella bryoniae* from geographically diverse areas exhibit variation in virulence but no isolate by cultivar interaction on *Cucumis sativus*. *Plant Disease* 79: 1136-1139.
2. Freeman, S. and Rodriguez, R. J. 1992. A rapid, reliable bioassay for pathogenicity of *Colletotrichum magna* on cucurbits and its use in screening for nonpathogenic mutants. *Plant Disease* 76: 901-905.
3. Freeman, S. and Rodriguez, R. J. 1993. A rapid inoculation technique for assessing pathogenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* and *F. o. melonis* on cucurbits. *Plant Disease* 77: 1198-1201.
4. 권미경, 홍정래, 선해정, 성기영, 조백호, 김기철. 1997. 박과작물 덩굴마름병균 *Didymella bryoniae*의 병포자 대량 생산 방법의 표준화. *한식병지* 13: 105-112.
5. Lee, D. H. 1985. Pathogenicity of *Didymella bryoniae* on the seedlings of Cucurbits. *Korean J. Plant Pathol.* 1: 173-177.
6. McGrath, D. J., Lawdrey, L. and Walker, I. O. 1993. Resistance to gummy stem blight in muskmelon. *HortScience* 28: 930-931.

7. Norton, J. D. 1979. Inheritance of resistance to gummy stem blight in watermelon. *Hortscience* 14 : 630-632.
8. O'Farrel, P. H. 1975. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *J. Biol. Chem.* 250 : 4007-4021.
9. Sowell, G. Jr. 1975. An additional source of resistance to gummy stem blight in watermelon. *Plant Dis. Rep.* 59 : 413-415.
10. van der Meer, Q. P., van Bennekom, J. L. and van der Giessen, A. C. 1978. Gummy stem blight resistance of cucumbers (*Cucumis sativus* L.). *Euphytica* 27 : 861-864.
11. Wehner, T. C. and Amand, P. C. St. 1993. Field tests for cucumber resistance to gummy stem blight in North Carolina. *HortScience* 28 : 327-329.
12. Zhang, Y., Kele, M., Anagnostou, K. and Zitter, T. A. 1997. Screening melon (*Cucumis melo*) for resistance to gummy stem blight in the greenhouse and field. *HortScience* 32 : 117-121.

(Received June 8, 1998)