

배추 뿌리혹병의 효율적인 저항성 검정법 확립

Establishment of an Efficient Screening Methods for Resistance of Chinese Cabbage to Clubroot Disease


***Corresponding author**

Tel: +82-42-860-7434

Fax: +82-42-861-4913

E-mail: kjchoi@kricr.re.kr

ORCID

<https://orcid.org/0000-0003-1564-1487>이수민¹ · 정희수^{1,2} · 김현^{1,3} · 김흥태² · 최경자^{1,3*} ¹한국화학연구원 친환경신물질연구센터, ²충북대학교 식물외과, ³과학기술연합대학원대학교 의약화학 및 약리생물학과Soo Min Lee¹, Hee Soo Jung^{1,2}, Hun Kim^{1,3}, Heung Tae Kim², and Gyung Ja Choi^{1,3*} ¹Eco-Friendly New Materials Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon 34114, Korea²Department of Plant Medicine, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea³Department of Medicinal Chemistry and Pharmacology, University Science and Technology, Daejeon 34113, Korea

Clubroot caused by *Plasmodiophora brassicae* is an important disease of crucifer crops worldwide. This study aimed to establish an efficient screening method to determine resistant cultivars of Chinese cabbage against *P. brassicae*. To do this, we investigated the virulence of seven *P. brassicae* isolates using seedlings of susceptible Chinese cabbage cultivar. The isolates exhibited different virulence in the plants and were divided into three groups based on their virulence. When we explored the disease occurrence in Chinese cabbage seedlings according to photoperiod after inoculation of *P. brassicae* and incubation temperature, the plants with all-day light showed higher disease severity than seedlings cultivated under 14 hr of light a day. The occurrence of clubroot disease was most severe at 25°C, followed by 20°C and 18°C, but the fresh weight of clubroot of the seedlings cultivated at 20°C was the highest, followed by plants grown at 25°C and 18°C. When the seedlings of two commercial resistant cultivars were inoculated with the mixed spore suspensions of two different pathotype isolates of *P. brassicae*, disease severity increased as the spore concentration of the susceptible *P. brassicae* isolate among the two strains increased, suggesting that the clubroot development by different pathotype isolates was independent and not influenced by each other. Taken together, our results provide a faster and more accurate screening methods to determine the resistance of Chinese cabbage against *P. brassicae*.

Keywords: Brassica, Breeding, Disease resistance, Pathotype, *Plasmodiophora brassicae*

Received July 30, 2024

Revised August 27, 2024

Accepted September 11, 2024

Research in Plant Disease

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.

서론

배추(*Brassica rapa* subsp. *pekinensis*)는 국내에서 가장 많이 재배되는 채소 중 하나로, 연작 재배와 친환경 농법이 확대되면서 뿌리혹병의 피해가 증가하고 있다(Jung 등, 2007). 배추에 뿌리혹병을 일으키는 *Plasmodiophora brassicae*는 활물기생균으

로, 배추뿐만 아니라 양배추, 꽃양배추, 브로콜리, 무 등의 다양한 배추과 작물에 뿌리혹병을 일으킨다. 뿌리혹병에 감염된 식물체는 뿌리에 흑이 생겨 양분과 수분을 흡수하기 위한 세균이 발생하지 못하게 되고, 생육이 저해된다(Feng 등, 2012). 그리고 한낮의 무더운 시간에는 극심한 위조 증상이, 밤에는 다시 회복되는 증상이 반복되다가 결국은 고사하게 된다(Voorrips, 1995). 뿌리혹병에 걸린 뿌리는 내부에 무수히 많은 휴면포자가 형성되며, 뿌리혹병균은 휴면포자, 유주포자, 변형체 등의 다양한 형태로 토양에 존재한다(Kim 등, 2003; Yoon 등, 2010). 이렇게 토양에 있는 휴면포자는 환경이 적합하면 15년 이상 생존이 가능한 것으로 알려져 있다(Mattush, 1977).

이와 같은 뿌리혹병균 특성으로 인하여 배추 뿌리혹병을 방제하는 것은 매우 어려운 실정이다. 배추 뿌리혹병을 방제하기 위해, 토양의 pH 조절과 비기주 작물과의 윤작 등 경종적 방제 방법, 길항 미생물 등을 이용한 생물학적 방제 방법(Cheah 등, 2000), amisulbrom과 flusulfamide 등 토양 소독제를 사용하여 토양을 소독하거나(Kim 등, 2002), fluazinam, flusulfamide, ethaboxam 및 cyazofamid 등의 살균제를 이용한 화학적 방제 방법 등이 있다(Komyoji 등, 1995; Mitani 등, 2003; Shimotori 등, 1996; Zhang 등, 2005). 하지만 경종적 방제는 뿌리혹병에 대한 방제 효과가 낮고, 살균제를 이용한 화학적 방제는 병원균의 밀도를 일시적으로 저하시켜 단기간 내에 방제 효과를 볼 수 있지만 약효가 떨어지게 되면 다시 병원균의 밀도가 높아지면서 뿌리혹병이 발생하게 된다(Yoshigawa, 1983). 또한 살균제의 오남용으로 인한 환경오염 등의 문제점을 야기함에 따라, 보다 친환경적인 방제 방법이 요구되고 있는 실정이다(Jo 등, 2010).

배추 뿌리혹병의 방제를 위한 가장 친환경적이고 효과적인 방법은 저항성 품종을 재배하는 것인데, 저항성 품종을 이용한 방제의 가장 큰 어려움 중 하나는 병원균의 다양한 분화로 인한 저항성 극복 균주의 출현이다. 저항성 품종이더라도 이를 연속하게 되면, 이 품종을 감염할 수 있는 새로운 레이스의 병원균이 출현하여 결국 이 품종의 저항성은 무너지게 된다(Crute와 Pink, 1989). 실제로 일본에서는 50개 품종 이상의 뿌리혹병 저항성(clubroot resistance, CR) 배추 품종이 개발되었으나, 거의 모든 CR 배추 품종의 저항성이 무너졌다(Kuginuki 등, 1999; Tanaka 등, 1998). 이는 *P. brassicae* 균주의 다양한 변이 발생과 품종의 CR 저항성이 단인자 우성이기 때문에 발생하는 문제이다(James와 Williams, 1980; Kuginuki 등, 1999).

국내에서는 뿌리혹병에 대한 저항성 배추 품종의 육성과 국내 병원균의 레이스 판별 및 분화에 대한 연구가 보고되었다(Cho 등, 2003; Kim 등, 2003, 2016; Lee 등, 2001). Cho 등(2008)

은 ‘CR새로나’ 품종의 뿌리혹병 저항성이 단인자 우성 유전자에 의해 나타난다고 하였으며, Lee 등(2001)도 육성한 CR 배추 품종이 단인자 우성 유전을 한다고 하였다. 이렇게 CR 배추들이 계속해서 육성되고 있지만, 우리나라 CR 배추 품종을 모두 침입할 수 있는 균주들도 보고되었다(Kim 등, 2016). 이를 해결하기 위해서는 병원균의 레이스 분화에 따른 저항성 유전자원을 확보하여, 새로운 CR 배추 육성이 시급하다. 또 다른 방법은 저항성 유전자가 하나만 포함된 품종이 아니라, gene pyramiding을 통하여 여러 저항성 유전자를 지니는 품종을 개발하는 것이다.

뿌리혹병 저항성 품종의 육성, 저항성 유전자 규명 및 병 저항성 분자마커 개발 등을 위해서는 재현성이 우수한 효율적인 뿌리혹병 저항성 검정 방법이 필요하다. 그동안 다양한 뿌리혹병 저항성 검정법이 보고되었지만, 그 방법이 복잡하거나 노동력과 시간이 많이 소요되며, 재현성 부족 등 여러 가지 문제점이 있었다. 이를 해결하기 위하여 Jo 등(2010)은 병원균의 휴면포자 현탁액을 토양에 관주하여 접종하는 방법을 이용한 배추 뿌리혹병 저항성 검정 방법을 제안하였다. 하지만 여러 발병 조건에 따른 배추 뿌리혹병 발생 실험을 통한 효율적인 배추 뿌리혹병 저항성 검정법은 거의 보고된 바 없다.

본 연구에서는 보다 효율적인 배추 뿌리혹병 저항성 검정 방법을 확립하고자, 7개의 뿌리혹병균의 병원력을 조사하고, 온도 및 광 조건에 따른 배추 뿌리혹병 발생, 저항성 검정을 위한 식물체 재배 기간을 결정하기 위한 배추의 저항성 발현 생육 시기 그리고 pathotype이 다른 균주의 혼합 접종에 따른 CR 배추 품종들의 뿌리혹병 발생을 조사하였다.

재료 및 방법

식물체 준비. 뿌리혹병균의 pathotype을 결정하는 판별품종인 배추 품종 ‘노랑김장’(Monsanto Korea, Seoul, Korea), ‘겨울진명’(Sakata Korea, Seoul, Korea), ‘CR청록’(Monsanto Korea, Seoul, Korea), ‘DegaoCR117’(Degao Seed, Dezhou, China) 및 ‘천하장군’(Sakata Korea, Seoul, Korea)의 종자를 시중에서 구입하여 실험에 사용하였다(Kim 등, 2016).

뿌리혹병 균주들의 병원력 차이를 확인하기 위한 실험과 온도 및 광 조건에 따른 배추 뿌리혹병 발생 실험은 ‘노랑김장’을, 뿌리혹병균에 대한 저항성 발현 배추의 생육 시기를 알아보기 위해서는 ‘노랑김장’, ‘겨울진명’ 및 ‘천하장군’을, 균주 혼합에 따른 배추 뿌리혹병 발생 정도를 비교하기 위하여 ‘CR청록’과 ‘DegaoCR117’을 실험에 사용하였다.

5×8 육묘용 연결 포트(70 ml/pot; Bumong, Jeongup,

Korea)에 원예용상토 2호(Punong, Gyeongju, Korea)를 넣고 포트당 2립씩 배추 종자를 파종하고, 온실(25°C±5°C)에서 재배하였다. 파종 7일 후에 포트당 1개의 식물체가 되도록 배추를 솟아주거나 이식해주었고, 파종 10일 후에 배추 유묘를 실험에 사용하였다. 뿌리혹병균에 대한 배추의 저항성 발현 시기를 조사하기 위해서는 '노랑김장', '겨울진명', '천하장군'을 접종 10일 전부터 1일 간격으로 그리고 접종 12시간 전 및 접종 직전에 위와 같은 방법으로 파종한 배추 유묘를 실험에 사용하였다.

실험에 사용한 병원균. 배추에 뿌리혹병을 일으키는 *P. brassicae* 균주는 강원도 강릉시(GN), 정선군(JS), 평창군(PC), 경기도 연천군(YC), 전라남도 해남군(HN), 충청남도 서산시(SS), 대전시(DJ)의 배추 및 양배추 재배 포장 6곳에서 전형적인 뿌리혹병 병징을 보이는 뿌리를 수집하고, 이를 다음과 같은 방법으로 증식하고, 이를 deep freezer (-80°C)에 보관하면서 실험에 사용하였다(Table 1; Jo 등, 2016; Kim 등, 2016).

각 균주의 이병조직 1 g으로부터 휴면포자를 수확하고, 뿌리혹병균에 대하여 감수성 배추 품종인 '노랑김장'을 파종하여 온실에서 재배한 본엽 2엽기 유묘 100주에 준비한 뿌리혹병균을 접종하였다. 접종한 식물은 20°C 항온항습실에서 1주일 동안 배양한 후 온실(25°C±5°C)에서 60일 동안 큰 포트에 이식하면서 재배하여 형성된 뿌리혹을 수확하고, 수돗물로 세척하여 1일간 풍건한 후 -80°C deep freezer에 저장하였다.

뿌리혹병균 7개 균주의 병원력 차이를 조사하기 위하여 GN1, JS, DJ, YC, PC1, SS, HN2 균주를, 배추의 뿌리혹병균에 대한 저항성 발현 시기를 확인하기 위하여 그리고 접종 후 재배 온도 및 광 조건에 따른 배추 뿌리혹병 발생 실험을 위해서는 GN1 균주를, 균주 혼합에 따른 배추 뿌리혹병 발생 정도를 비교하기 위하여는 GN1 균주, DJ 균주, PC1 균주를 사용하여 실험하였다.

Table 1. Isolates of *Plasmiodiophora brassicae* used in this study

Location	Isolate	Pathotype ^a	Williams race ^a
Gangneung-si, Gangwon-do	GN1	1	9
Jeongsun-gun, Gangwon-do	JS	1	9
Daejeon-si	DJ	2	5
Pyeongchang-gun, Gangwon-do	PC1	3	9
Yeoncheon-gun, Gangwon-do	YC	3	2
Seosan-si, Chungcheongnam-do	SS	4	5
Haenam-gun, Jeollanam-do	HN2	4	4

^aKim et al. (2016).

접종원 준비. 뿌리혹병균의 접종을 위하여 -80°C deep freezer에서 보관 중인 뿌리혹을 0.125 g/pot가 되도록 꺼내어 증류수로 수차례 세척하여 이물질을 제거한 후 멸균수를 첨가하여 Warning blender로 마쇄하였다. 그리고 식물 조직을 제거하기 위하여 4겹의 거즈로 여과하였으며, 준비한 포자현탁액을 광학현미경(BX53F; Olympus, Tokyo, Japan) 하에서 hemocytometer (Paul Marienfeld GmbH & Co. KG, Lauda-Konighofen, Germany)를 이용하여 포자의 수를 측정하였다. 실험을 위해 멸균수로 희석하여 포자현탁액의 최종 농도를 2.4×10^7 spores/ml가 되도록 조정하였다.

서로 다른 레이스의 균주 혼합에 따른 저항성 배추 품종에서의 뿌리혹병 발생을 비교하기 위하여, pathotype 1인 GN1 균주, pathotype 2인 DJ 균주, pathotype 3인 PC1 균주를 사용하였다(Kim 등, 2016). GN1 균주와 DJ 균주 혼합 실험은 각 균주의 포자현탁액 농도를 2.4×10^7 spores/ml가 되도록 준비한 포자현탁액을 각각 0:100, 1:99, 10:90, 50:50, 90:10, 99:1, 100:0이 되도록 섞은 후 잘 혼합하여 100 ml씩 준비하였다. 그리고 DJ 균주와 PC1 균주 혼합 실험도 동일한 방법으로 접종할 혼합 포자현탁액을 준비하였다.

접종 및 발병. 준비한 포자현탁액을 흔들어서, 사선으로 자른 팁을 이용하여 포트당 5 ml씩 관주하여 접종하였다. 접종된 플러그 포트는 관수상자에 증류수를 채워서 저면관수하였다. 접종한 배추는 20°C 항온항습실에서 하루에 14시간씩 광(photosynthetic photon flux density [PPFD], 광합성유효광량 자속밀도 $55 \mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$)을 조사하면서 3일간 재배하고, 3일 후에는 저면 관수한 물을 제거해 주었다. 그리고 접종 7일 후에는 온실(25°C±5°C)로 이동하여 통상적인 방법으로 재배하였다.

온도 및 광 조건에 따른 배추 뿌리혹병 발생을 위해서는 18°C, 20°C, 25°C의 각 항온항습실에서 하루에 14시간 혹은 24시간씩 광(PPFD $55 \mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$)을 조사하면서 재배하였다.

배추 뿌리혹병 병 조사. 접종 5주일 후에 식물체의 뿌리를 뽑아 세척한 후에 아래와 같은 기준에 따라 발병도(0-4)로 발병 정도를 조사하였다. 병 조사 기준은 0=뿌리혹병 발생이 없음, 1=측근에 뿌리혹이 착생되어 흑의 크기가 적고 서로 독립하여 존재, 2=측근에 뿌리혹이 착생되며 흑의 크기가 비교적 큼, 3=주근에 뿌리혹이 착생되며 서로 접합되고 흑의 크기가 큼, 4=주근에 뿌리혹이 착생되며 서로 접합되고 흑의 크기가 매우 큼 등의 5단계로 하였다(Kuginuki 등, 1999; Suwabe 등, 2003). 평균 발병도가 0.0-1.0 경우에는 저항성, 1.1-2.0은 중도저항성, 2.1-4.0은 감수성으로 판정하였다.

온도 및 광 조건에 따른 배추 뿌리혹병 발생을 위해서는 접종 18일, 21일, 25일, 28일, 32일, 35일 후에 병 조사를 실시하였고, 형성된 뿌리혹들의 무게를 측정하였다. 그리고 균주에 따른 병원력 차이를 비교하기 위해서는 접종 21일, 25일, 28일, 32일, 35일, 39일 후에 균주별로 병 조사를 실시하였고, 병 조사 결과를 아래와 같은 식에 따라 병진전곡선면적(area under the disease progress curve, AUDPC)을 계산하였다(Jeger와 Viljanen-Rollinson, 2001; Madden 등, 2007).

$$AUDPC = \sum_{i=1}^n [t(i+1) - t_i] \times [DS(i+1) + DS_i] / 2$$

n = 병 조사 수, t_i = i 병 조사일의 접종 후 경과 일수, DS_i = i 병 조사일의 병반면적률(%)

통계 분석. 모든 실험은 처리당 10개의 식물체에 뿌리혹병 균을 접종하여 수행하였고, 실험은 2회 반복하였다. 이들의 결과는 SAS 프로그램(version 9.1; SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA)을 이용하여 analysis of variance 분석을 하였다. 처리 평균 간 비교를 위하여 Duncan's multiple range test ($P=0.05$)를 실시하였다.

결과 및 고찰

뿌리혹병균 균주의 병원력. *P. brassicae* 7개 균주(YC, GN1, PC, JS, DJ, SS, HN2)를 감수성 배추('노랑김장')에 접종하고 뿌리혹병 발생을 조사한 결과, Fig. 1과 같이 균주에 따라 배추 뿌리혹병 발생은 차이가 있었다. 접종 21일 후에 각 균주에 의한 뿌리혹병 발병도를 살펴보면, 7개 균주 중 YC 균주와 GN1 균주는 4.0으로 가장 높은 발병도를 보였으며, 반대로 HN2 균주는 0.2의 가장 낮은 발병도를 나타냈다(Fig. 1).

각 균주에 의한 접종 21일부터 접종 39일 후까지 뿌리혹병 발병도를 사용하여 병진전곡선면적(AUDPC) 값을 계산한 결과, YC 균주와 GN1 균주에 의한 AUDPC는 98로 가장 컸으며, 그 다음은 PC1, JS, DJ, SS 균주 순으로 각각 67, 55, 60, 57의 AUDPC를 보였다(Fig. 2). 그리고 뿌리혹병 발생이 가장 적은 HN2 균주는 32의 AUDPC 값을 나타냈다. 이상의 결과로부터 7개 균주의 병원력은 통계적으로 3개 그룹으로 구분할 수 있었는데, YC 균주와 GN1 균주는 병원력이 가장 높은 그룹이고, 그 다음 그룹은 PC1, JS, DJ, SS 균주였으며, HN2 균주는 실험한 균주 중 병원력이 가장 낮은 그룹이었다.

뿌리혹병균은 기주의 종 및 계통에 따라 다양한 병원성 반응을 나타낸다고 보고한 바 있다(Buczacki 등, 1975; Williams, 1966). 상업화된 뿌리혹병 저항성 배추 품종들은 질적저항성을 나타내며, 품종과 뿌리혹병균 균주 간에 특이적인 레이스

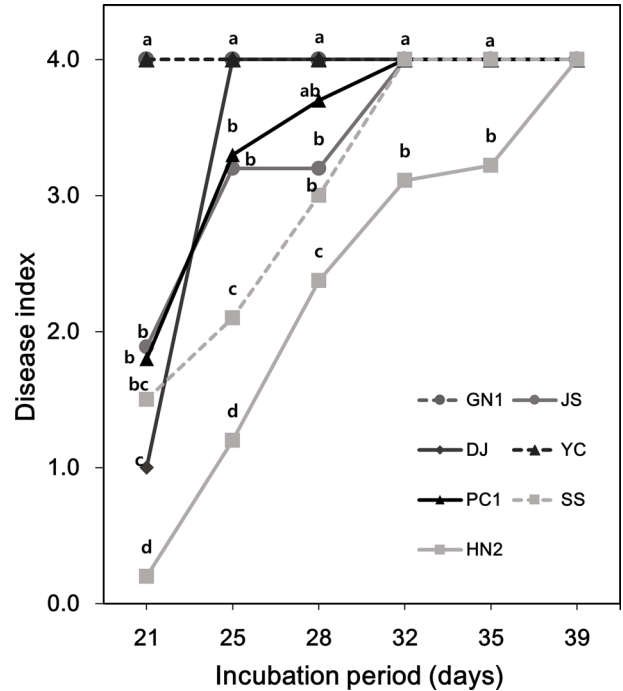


Fig. 1. Development of clubroot in seedlings of Chinese cabbage by 7 isolates of *Plasmodiophora brassicae*. Ten-day-old seedlings of Chinese cabbage 'Norangkimjang' were inoculated with *P. brassicae* by drenching the roots with a spore suspension of each isolate to give inoculum density of 1.2×10^8 spores/pot. The plants were incubated in a growth chamber at 20°C for 7 days with 14 hr light a day and then transferred to a greenhouse (25°C±5°C). Twenty-one, 25, 28, 32, 35, and 39 days after inoculation, disease severity of the seedlings was rated on a scale 0 to 4. Each value represents the mean disease index of two runs with 10 replicates each. Values labeled with the same letter within each incubation period are not significantly different based on Duncan's multiple range test at $P=0.05$.

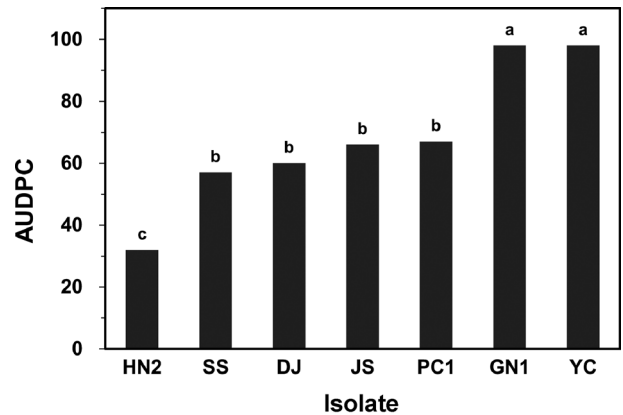


Fig. 2. Area under the disease progress curve (AUDPC) of clubroot on seedlings of Chinese cabbage 'Norangkimjang' caused by seven isolates of *Plasmodiophora brassicae*. Each value represents the mean AUDPC of two runs with 10 replicates each. Values labeled with the same letter are not significantly different based on Duncan's multiple range test at $P=0.05$.

Table 2. Disease reactions between Chinese cabbage cultivars and *Plasmiodiophora brassicae*

Cultivar	Group			
	Pathotype 1	Pathotype 2	Pathotype 3	Pathotype 3
	1	2	3	3
Noranggimjang	S	S	S	S
CR-Cheongrok	R	R	S	S
DegaoCR117	R	S	R	S
Cheonhajangkun	R	R	R	S

Modified from Kim et al. (2016).

S, susceptible; R, resistant.

분화가 존재한다고 하였다(Hatakeyama 등, 2004; Jo 등, 2011; Kim 등, 2016; Kuginuki 등, 1999). 그리고 Kim 등(2016)은 우리나라 여러 지역으로부터 12개의 뿌리혹병균을 채집하여 Williams 판별품종을 이용하여 레이스를 검정하고, 이들 균주에 대한 뿌리혹병 저항성(CR)을 국내, 일본 및 중국으로부터 수집한 배추 품종 30개의 저항성 정도를 조사하고, 배추 뿌리혹병균의 레이스는 Williams 레이스와 무관하게 4개의 pathotype으로 구분할 수 있다고 보고하였다(Table 2). 본 연구의 GN1과 JS 균주는 감수성 품종에만 병을 일으키고, 저항성 3개 품종은 저항성 반응을 나타내어 pathotype 1로 동정하였다. DJ 균주는 감수성 품종인 '노랑김장'과 'DegaoCR117'에만 뿌리혹병을 일으키고, 'CR청록'과 '천하장군'에는 저항성을 보이는 pathotype 2로 그리고 YC과 PC1 균주는 '노랑김장'과 'CR청록'에는 뿌리혹병을 일으키고, 'DegaoCR117'과 '천하장군'은 저항성을 보이는 pathotype 3로 동정하였다. 또한 SS와 HN2 균주는 판별품종 4개 모두에 뿌리혹병을 일으키므로 pathotype 4로 동정하였다.

본 연구의 뿌리혹병균 7개 균주의 병원력과 pathotype을 비교하면, 병원력이 가장 높은 GN1과 YC 균주는 각각 pathotype 1과 pathotype 3이고, 저항성 배추 품종의 저항성을 모두 극복하는 pathotype 3 균주인 HN2 균주는 병원력이 가장 낮았다(Table 1, Fig. 2). 이들 결과로부터 뿌리혹병균 균주의 병원력과 저항성 품종에 병을 일으키는 능력 간에는 상관관계가 없다는 것을 알 수 있었다. 따라서 균주의 병원력과 저항성 품종에서 병을 일으키는 능력은 동일 개념이 아니며, 구분할 필요가 있을 것이다.

저항성을 나타내는 배추의 생육 시기. 뿌리혹병균에 대해 저항성을 나타내는 배추의 생육 시기를 알아보기 위해, '노랑김장'(감수성), '겨울진명'(저항성), '천하장군'(저항성)의 종자를 파종하고 GN1 균주(pathotype 1)를 접종한 후 종자의 발아율을 조

사한 결과, 배추 종자를 파종한 직후, 파종 12시간 후, 그리고 파종 24시간 후에 뿌리혹병균을 접종하였을 때에 '노랑김장', '겨울진명', '천하장군'은 각각 10-40%, 20-60%, 30-60%의 발아율을 보였다(Table 3). 하지만 파종 2-10일 후에 뿌리혹병균을 접종하였을 때에는 모두 100% 발아하였다(Table 3). 따라서 배추는 파종 직후부터 24시간 이내에 뿌리혹병균을 접종하면, 병원균이 종자의 발아에 영향을 미친다고 생각되었다.

배추 종자의 파종 시기를 달리하여 파종하고 GN1 균주를 접종한 후 뿌리혹병 발생을 조사한 결과, 파종 직후부터 1일 후까지 접종한 종자 중 발아한 개체들은 모두 '노랑김장'은 감수성을 그리고 '겨울진명'과 '천하장군'은 저항성을 나타냈다(Table 3). 그리고 파종 2일 후부터 10일 후까지 접종하였던 '노랑김장'은 감수성 그리고 '겨울진명'과 '천하장군'은 저항성을 나타냈다(Table 3). 요약하면, 감수성 품종인 '노랑김장'의 발아한 모든 배추 유묘는 4.0의 높은 뿌리혹병 발병도를 보였으며, 저항성 품종인 '겨울진명'과 '천하장군'의 모든 배추 유묘는 뿌리혹병이 전혀 발생하지 않았다.

특히, 파종 2일 후에는 실험한 3개 품종의 모든 종자가 발아하였으나, 아직 지상부에 떡잎도 보이지 않는 시기인데(Fig. 3), 뿌리혹병균에 대하여 완벽한 저항성을 보였다. 또한 배추는 파종 후 2일 이상이면 접종 시기에 관계없이 모두 동일한 저항성을 나타낸다는 것을 알 수 있었다(Table 3).

배추의 뿌리혹병에 대한 저항성 검정법은 뿌리혹병균을 접종하고 약 5주일 후에 병 조사를 하므로, 다른 병에 대한 저항성 검정보다 시간이 많이 소요된다(Jo 등, 2010; Kim 등, 2016). 따라서 식물체를 파종하고 병원균을 접종하기까지 시간을 단축시키는 것은 대량의 배추 뿌리혹병 저항성 검정에 있어서 매우 효과적이다. 본 연구에서 파종 2일 후에 병원균을 접종하여도, 배추의 저항성이 잘 나타나기 때문에, Jo 등(2010)에 의한 파종하고 10일 후에 병원균을 접종하는 저항성 검정 방법에서 식물체 준비 기간을 8일 정도 단축할 수 있을 것으로 생각되었다(Fig. 4).

배추의 뿌리혹병 저항성 품종은 1984년에 일본에서 처음 판매되기 시작하여 이후에 많은 저항성 품종들이 개발되었다. 이들의 저항성은 European turnip (*Brassica rapa*)인 'Siloga', 'Gelria R', 'Milan White', 'Debra'로부터 도입되었으며, 이들 배추 품종의 저항성은 단인자 우성 유전을 한다고 보고되었다(James와 Williams, 1980; Kuginuki 등, 1999). 그리고 이후 일본의 CR 품종들 대부분은 포장에서 저항성이 무너졌다고 보고되었다(Kuginuki 등, 1999; Tanaka 등, 1998). 이상의 보고들은 배추 뿌리혹병에 대한 저항성이 질적저항성이라는 것을 알 수 있다. 따라서 본 연구의 뿌리혹병균 저항성 품종 개발을 위한 배추 유

Table 3. Development of clubroot on seedlings of three Chinese cabbage cultivars according to growth stage^a

Culture period (day after sowing)	Cultivar					
	Norangkimjang (S)		Gyeouljinmyeong (R)		Cheonhajangkun (R)	
	Seed germination (%)	Disease index	Seed germination (%)	Disease index	Seed germination (%)	Disease index
0	30±1.4	4.0±0.0 ^b	40±2.4	0.0±0.0 ^b	30±1.4	0.0±0.0 ^b
0.5	40±2.4	4.0±0.0	60±1.4	0.0±0.0	60±1.4	0.0±0.0
1	10±0.9	4.0±0.0	20±1.3	0.0±0.0	40±2.4	0.0±0.0
2	100	4.0±0.0	100	0.0±0.0	100	0.0±0.0
3	100	4.0±0.0	100	0.0±0.0	100	0.0±0.0
4	100	4.0±0.0	100	0.0±0.0	100	0.0±0.0
5	100	4.0±0.0	100	0.0±0.0	100	0.0±0.0
6	100	4.0±0.0	100	0.0±0.0	100	0.0±0.0
7	100	4.0±0.0	100	0.0±0.0	100	0.0±0.0
8	100	4.0±0.0	100	0.0±0.0	100	0.0±0.0
9	100	4.0±0.0	100	0.0±0.0	100	0.0±0.0
10	100	4.0±0.0	100	0.0±0.0	100	0.0±0.0

S, susceptible; R, resistant.

^aSeedlings of three cultivars were inoculated with *Plasmodiophora brassicae* GN1 (pathotype 1) by drenching the roots with the spore suspension to give inoculum density of 1.2×10^8 spores/pot. The plants were incubated in a growth chamber at 20°C for 7 days with 14 hr light a day and then transferred to a greenhouse (25°C±5°C). Five weeks after inoculation, disease severity of the seedlings was rated on a scale 0 to 4, where 0=no symptoms; 1=a few very small, separate globular clubs on lateral roots; 2=medium, separate globular clubs on lateral roots; 3=intermediate symptoms on main roots; and 4=severe clubs on main roots.

^bValues are presented as mean disease index±standard deviation of two runs with 10 replicates each or number.

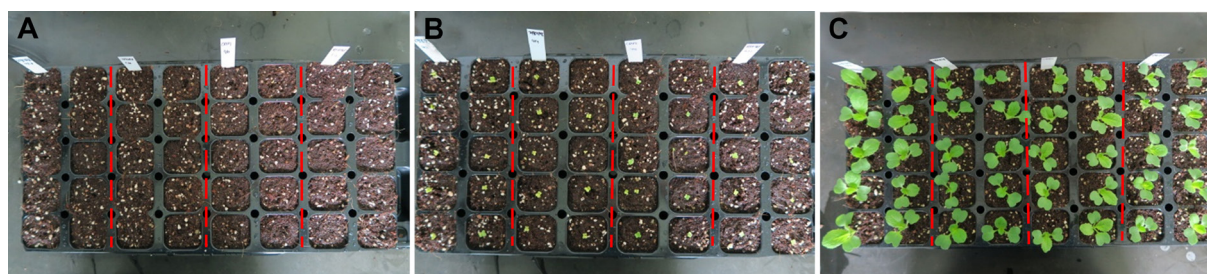


Fig. 3. Growth stage of Chinese cabbage four cultivars before inoculation with *Plasmodiophora brassicae* GN1. (A) Two days after sowing; (B) 3 days after sowing; (C) 10 days after sowing. From the left, 'Norangkimjang', 'Gyeouljinmyeong', 'DegaoCR117', and 'Chunhajangkun' were sown for each growth stage of Chinese cabbage.

묘 생육 시기의 결과는 질적저항성을 하는 유전자원들의 저항성 검정에 적용할 수 있을 것이다. 하지만 'Siloga'에는 *Crr1*, *Crr2*, *Crr3* 같이 질적저항성 유전자뿐만 아니라, QTL 저항성을 하는 *Crr4*도 존재하므로(Hirai, 2006), 양적저항성 배추 품종을 개발하기 위한 저항성 검정에서는 Jo 등(2010)의 방법에 따라 파종 10일 후에 뿌리혹병균을 접종하는 것이 더 효과적일 것이다. 이는 양적저항성은 접종하는 기주 식물의 생육 시기에 따라 저항성 차이가 크기 때문이다.

온도 및 광 조건에 따른 배추 뿌리혹병 발생. 뿌리혹병균 GN1 균주를 접종한 후 재배 온도와 광 조사시간에 따른 뿌리혹병 발생을 접종 18일, 21일, 25일, 28일, 32일, 35일 후에 조사한 결과, 재배 온도에 따른 접종 18일 후의 배추 뿌리혹병 발생은 25°C 항온항습실에서 재배한 배추의 경우에는 실험한 광 조건에 관계없이 3.8 이상의 높은 발병도를 보였으며, 20°C 항온항습실에서는 광 조건에 따라 3.1 혹은 4.0의 평균 3.6의 발병도를 나타냈다(Fig. 5). 그러나 접종 후 18°C 항온항습실에서 재배한 경우에는 평균 발

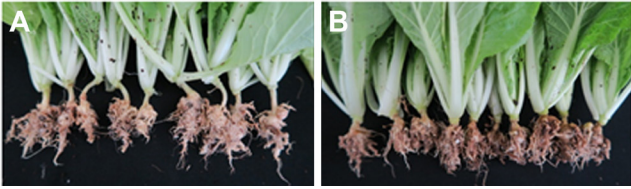


Fig. 4. Clubroot development of Chinese cabbage seedlings according to inoculum time. (A) Two-day after sowing; (B) 10-day after sowing. Seedlings of Chinese cabbage 'Norankimjang' were inoculated with *Plasmodiophora brassicae* GN1 by drenching the roots with a spore suspension of the isolate to give inoculum density of 1.2×10^8 spores/pot. The plants were incubated in a growth chamber at 20°C for 7 days with 14 hr light a day and then transferred to a greenhouse (25°C±5°C). The photos were taken 35 days after inoculation.

병도 2.5로 가장 낮은 발병도를 보였다. 따라서 배추의 뿌리혹병 발생은 광 조사시간에 따라 차이를 보이지만, 3가지 재배 온도 중 25°C에서 재배하는 것이 뿌리혹병 발생에 가장 효과적이었으며, 그 다음은 20°C, 18°C 순이었다(Fig. 5).

광 조건에 따른 배추 뿌리혹병 발생을 조사한 결과, 14시간 광을 조사하였을 때에는 18°C, 20°C, 25°C에서 각각 2.2, 3.1, 3.8의 발병도를 보여 평균 3.0의 발병도를 보였다(Fig. 5). 반면에 계속 광을 조사하였을 때에는 18°C, 20°C, 25°C에서 각각 2.7, 4.0, 3.9의 발병도를 보여 평균 3.5의 발병도를 나타냈다. 따라서 실험한 모든 재배 온도에서 접종 후에 광을 하루에 14시간 동안 조사하는 것보다 24시간 광을 조사하는 것이 뿌리혹병 발생에 효과적임을 알 수 있었다(Fig. 5).

재배 온도와 광 조사시간에 따른 6가지 처리구에서 접종 후 18일부터 28일까지 조사한 뿌리혹병 발병도를 바탕으로 AUDPC를 계산한 결과, 25°C에서 14시간 혹은 24시간 광을 조사하면서 재배하는 것과 20°C에서 하루 24시간 광을 조사한 처리구들은 각각 39, 40, 40의 AUDPC를 보였으며, 이들은 통계적으로 유의성 있는 차이가 없이 가장 높은 뿌리혹병 발생을 보였다. 그 다음은 18°C에서 하루 종일 광을 조사하는 처리구와 20°C에서 하루 14시간 광을 조사하는 처리구의 AUDPC가 각각 38과 36이었다. 그리고 18°C에서 하루에 14시간 광을 조사하는 구의 AUDPC는 가장 낮은 33을 보였다.

접종 후 재배 온도와 광 조사시간에 따른 뿌리혹 발생 실험에서 접종 후 18일부터 35일까지 발병도를 조사한 후에 뿌리혹의 무게를 조사한 결과, 실험한 재배 온도 18°C, 20°C, 25°C에서 하루 종일 광을 조사하는 처리구들의 뿌리혹 무게는 각각 주당 12.3, 17.5, 15.4 g으로 평균 15.1 g이었다. 한편, 18°C, 20°C, 25°C에서 하루에 14시간 광을 조사하는 처리구는 각각 주당 10.4, 10.5, 11.6 g이고 평균 10.8 g이었다(Fig. 6). 즉, 실험한 모든 재배

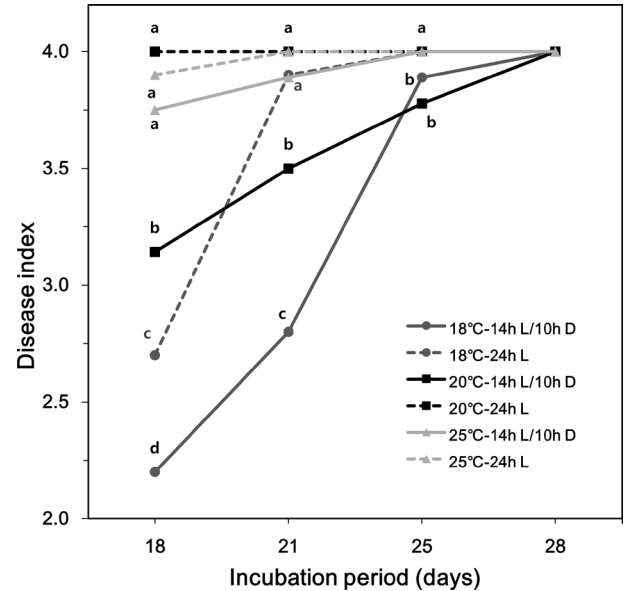


Fig. 5. Development of clubroot in seedlings of Chinese cabbage inoculated with *Plasmodiophora brassicae* according to temperature and photoperiod. Ten-day-old seedlings of Chinese cabbage 'Norankimjang' were inoculated with *P. brassicae* GN1 by drenching the roots with a spore suspension of the isolate to give inoculum density of 1.2×10^8 spores/pot. The plants were incubated in growth chambers at 18°C, 20°C, and 25°C with 14 hr or 24 hr light a day. Eighteen, 21, 25, and 28 days after inoculation, disease severity of the seedlings was rated on a scale 0 to 4. Each value represents the mean disease index of two runs with 10 replicates each. Values labeled with the same letter within each incubation period are not significantly different based on Duncan's multiple range test at $P=0.05$. L, light; D, dark.

온도에서 14시간 광을 조사하는 것보다 24시간 광을 조사하였을 때 뿌리혹 무게가 많았으며, 6가지 처리구 중 20°C에서 하루 종일 광을 조사하면서 재배한 경우에 주당 뿌리혹의 무게가 가장 높았다(Fig. 6).

활물기생균인 *P. brassicae*는 감염 초기단계에서 cytokinin이 증가하고 그 결과 세포 분열이 증가하게 된다(Devos와 Prinsen, 2006; Siemens 등, 2006). 또한 배추 뿌리에 뿌리혹을 형성하기 위해서는 기주식물로부터 영양분을 공급받아야 한다. 건전 식물에서는 광합성이 일어나는 낮 동안에 잎에 sucrose 축적이 일어나지만, 뿌리혹병이 감염된 식물에서는 잎에 sucrose가 축적되지 않고, 전분의 양도 대조군 잎에 비해 감소한다(Evans와 Scholes, 1995). 병원균에 감염된 식물의 잎에서 형성된 광합성 산물은 뿌리로 이동하는 속도가 증가하게 되고(Mitchell과 Rice, 1979), 이동한 광합성산물들은 생합성을 통하여 가용성 당류인 hexose와 sucrose 및 전분 등으로 식물의 흑에 축적된다(Brodmann 등, 2002; Evans과 Scholes, 1995; Keen과 Williams, 1969; Mithen과 Magrath, 1992). 따라서 계속 광을 처리

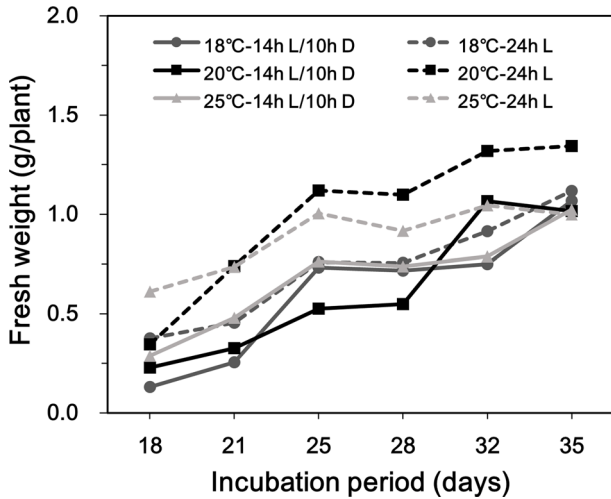


Fig. 6. Fresh weight of clubroot in seedlings of Chinese cabbage inoculated with *Plasmiodiophora brassicae* according to temperature and photoperiod. Ten-day-old seedlings of Chinese cabbage 'Norangkimjang' were inoculated with *P. brassicae* GN1 by drenching the roots with a spore suspension of the isolate to give inoculum density of 1.2×10^8 spores/pot. The plants were incubated in growth chambers at 18°C, 20°C, and 25°C with 14 hr or 24 hr light a day. Eighteen, 21, 25, 28, 32, and 35 days after inoculation, fresh weight of the clubroot was measured. Each value represents the mean fresh weight of two runs with 10 replicates each. D, dark; L, light.

하면서 재배한 배추는 광합성이 하루 종일 이루어지고 뿌리로 이동하여, 병원균이 이 양분을 지속적으로 획득하게 되어 뿌리혹이 비대해질 수 있었을 것으로 생각되었다.

접종 18일 후의 6개 처리구의 무게를 비교하면, 뿌리혹병 발생이 가장 빨랐던 25°C에서 24시간 광을 조사하며 재배하고 있는 뿌리혹의 무게가 가장 많았고, 뿌리혹병 발생이 가장 늦었던 18°C 항온항습실에서 14시간 광을 조사한 뿌리혹의 무게가 가장 적었다(Figs. 5, 6). 그러나 재배 기간이 길어질수록 25°C 항온항습실에서 재배하는 배추들의 뿌리는 썩고 무르는 증상이 나타났다. 이와 달리 20°C 항온항습실에서 24시간 광을 조사한 배추들은 뿌리혹병 발생이 가장 많았을 뿐만 아니라 뿌리혹의 썩음 증상이 없이 깨끗하였으며, 접종 후 35일까지 뿌리혹의 무게가 꾸준히 증가하였다(Fig. 6).

*P. brassicae*에 감염된 배추 뿌리는 이상 비대가 더욱 진전되어 뿌리의 고유한 형태를 상실하고 온도 등 환경 조건에 따라 부패도 함께 수반된다고 보고된 바 있다(Kim 등, 2000). 배추의 뿌리혹병에 대한 저항성을 검정하기 위해서는 뿌리혹 발생 정도에 따라 저항성 정도를 판단해야 하는데, 발생한 뿌리혹이 부패하게 되면 정확한 뿌리혹병 발생 정도를 조사할 수 없게 된다. 따라서 뿌리혹병이 발생이 높으면서, 동시에 뿌리부패가 발생하지 않는 온도 조건에서 실험하는 것이 필요하다. 이상의 결과

로부터 실내에서 배추의 뿌리혹병에 대한 저항성을 검정하기 위해서는 배추에 뿌리혹병균을 접종한 후에 20°C에서 24시간 동안 광을 조사하면서 재배하는 것이 가장 효과적인 것으로 생각되었다.

균주 혼합 접종에 따른 배추 뿌리혹병 발생. 서로 다른 pathotype 균주들의 혼합 접종이 저항성 배추 품종인 'CR청록'과 'DegaoCR117'의 뿌리혹병 발생에 미치는 영향을 조사하기 위하여, pathotype 1과 pathotype 2 균주 그리고 pathotype 2와 pathotype 3 균주를 혼합하여 실험하였다. 먼저 pathotype 1인 GN1 균주와 pathotype 2인 DJ 균주를 두 균주의 비율을 달리하여 혼합하고 'CR청록'과 'DegaoCR117'의 배추 유묘에 접종하고 뿌리혹병 발생을 조사한 결과, 모든 혼합비율 처리구에서 'CR청록'은 뿌리혹병이 발생하지 않았고, 'DegaoCR117'에서는 접종한 GN1 균주의 양과 관계없이 pathotype 2인 DJ 균주의 비율이 증가할수록 뿌리혹병 발생이 증가하는 정의 상관관계를 보였다(Table 4).

그리고 마찬가지로 방법으로 pathotype 2인 DJ 균주와 pathotype 3인 PC1 균주의 혼합 접종이 저항성 배추의 뿌리혹병 발생에 미치는 영향을 조사한 결과, 'CR청록'에서는 DJ 균주의 접종 농도와 관계없이 PC1 균주의 농도에 비례하여 뿌리혹병 발생이 증가하였다(Table 5). 이와 반대로 'DegaoCR117'에서는 PC1 균주의 접종원 농도와 관계없이 DJ 균주의 접종 농도 증가에 비례하여 뿌리혹병 발병도가 증가하였다(Table 5).

Kim 등(2016)은 뿌리혹병균을 4개의 배추 판별품종('노랑김장', 'CR청록', 'DegaoCR117', '천하장군')을 사용하여 4개의 pathotype으로 구분하였다(pathotypes 1, 2, 3, 4). 그리고 이들 판별품종은 발병도 0과 발병도 4에 가까운 극단적인 감수성 및 저항성 반응을 보인다고 하였다. Pathotype 1과 2의 혼합 접종에 의한 저항성 품종의 뿌리혹병에 대해 살펴보면, 'CR청록'은 pathotype 1과 pathotype 2에 대해 저항성을 나타낸다. 따라서 pathotype 1인 GN1 균주도 pathotype 2인 DJ 균주도 뿌리혹병을 일으킬 수 없는 품종이므로, 두 균주의 혼합 비율에 관계없이 뿌리혹병이 발생하지 않았다는 것을 알 수 있었다(Table 4). 그리고 'DegaoCR117'은 pathotype 1에 대해서는 저항성을 pathotype 2에 대해서는 감수성 반응을 보이므로(Kim 등, 2016), 혼합 균주 포자 현탁액에 pathotype 1인 GN1 균주의 양과 상관없이, pathotype 2인 DJ 균주의 양의 증가에 따라 뿌리혹병 발생이 증가한 것으로 생각되었다(Table 5). 즉, 이들 결과는 배추 품종에 pathotype 1 균주와 pathotype 2 균주를 혼합하여 접종하여도 pathotype 1 균주가 pathotype 2 균주의 뿌리혹병을 일으키는 것에 전혀 영향을 미치지 않는다는 것을 알 수 있었다.

'CR청록'은 pathotype 2 균주에 대해서는 저항성을 그리고

Table 4. Clubroot development on seedlings of two Chinese cultivars by mixed inoculation of *Plasmodiophora brassicae* GN1 (pathotype 1) and *P. brassicae* DJ (pathotype 2)^a

Mixed ratio of two isolates	Cultivar	
	CR-Cheongrok	DegaoCR117
0:100 ^b	0.0±0.0 e ^c	4.0±0.0 a ^c
1:99	0.0±0.0 e	3.3±0.7 b
1:9	0.0±0.0 e	2.2±0.8 c
1:1	0.0±0.0 e	0.9±0.8 d
9:1	0.0±0.0 e	0.6±1.3 d
99:1	0.0±0.0 e	0.6±1.3 d
100:0	0.0±0.0 e	0.0±0.0 e

Values are presented as mean disease index±standard deviation of two runs with 10 replicates each.

^aSeedlings of two cultivars were inoculated with *P. brassicae* GN1 (pathotype 1) and *P. brassicae* DJ (pathotype 2) by drenching the roots with mixed spore suspension of the isolates to give inoculum density of 1.2×10^8 spores/pot. The plants were incubated in a growth chamber at 20°C for 7 days with 14 hr light a day and then transferred to a greenhouse (25°C±5°C). Five weeks after inoculation, disease severity of the seedlings was rated on a scale 0 to 4.

^bRatio of GN1 and DJ isolates, respectively.

^cValues labeled with the same letter are not significantly different based on Duncan's multiple range test at $P=0.05$.

pathotype 3 균주에 대해서는 감수성을 나타내므로(Kim 등, 2016), pathotype 2와 3의 혼합 접종에서도 pathotype 2인 DJ와 pathotype 3인 PC1 균주를 비율을 달리하여 혼합하여 접종하여도 DJ 균주는 저항성 반응에 의해 뿌리혹병이 발생하지 않고, 감수성 관계인 PC1 균주의 접종 농도에 따라 뿌리혹병 발생이 증가한 것으로 생각되었다(Table 5). 또한 'DegaoCR117'은 pathotype 2에는 감수성을 pathotype 3 균주에 대해서는 감수성 반응을 보이므로, 저항성 관계인 PC1 균주는 뿌리혹병 발생에 영향을 미치지 못하고, 감수성 관계인 DJ 균주의 접종 원 농도에 의해서만 뿌리혹병 발생이 증가하였다(Table 5). 따라서 서로 다른 pathotype 균주의 혼합 접종은 두 CR 배추 품종에서의 뿌리혹병 발생에 서로 영향을 미치지 않고, 각 균주와의 관계에만 영향을 받는다는 것을 알 수 있었다.

요 약

*Plasmodiophora brassicae*에 의해 발생하는 배추 뿌리혹병은 전 세계적으로 경제적 손실이 큰 식물병이다. 본 연구는 뿌리혹병 저항성 배추 품종 개발을 위한 저항성 검정법을 확립하기 위

Table 5. Clubroot development on seedlings of two Chinese cultivars by mixed inoculation of *Plasmodiophora brassicae* DJ (pathotype 2) and *P. brassicae* PC1 (pathotype 3)^a

Mixed ratio of two isolates	Cultivar	
	CR-Cheongrok	DegaoCR117
0:100 ^b	4.0±0.0 a ^c	0.3±1.0 d ^c
1:99	4.0±0.0 a	1.0±1.2 c
1:9	4.0±0.0 a	1.3±1.1 bc
1:1	3.4±0.8 ab	1.9±1.5 b
9:1	1.8±1.4 b	1.7±1.3 b
99:1	0.5±1.0 bc	1.7±1.4 b
100:0	0.0±0.0 c	2.5±1.2 a

Values are presented as mean disease index±standard deviation of two runs with 10 replicates each.

^aSeedlings of two cultivars were inoculated with *P. brassicae* DJ (pathotype 2) and *P. brassicae* PC1 (pathotype 3) by drenching the roots with mixed spore suspension of the isolates to give inoculum density of 1.2×10^8 spores/pot. The plants were incubated in a growth chamber at 20°C for 7 days with 14 hr light a day and then transferred to a greenhouse (25°C±5°C). Five weeks after inoculation, disease severity of the seedlings was rated on a scale 0 to 4.

^bRatio of DJ and PC1 isolates, respectively.

^cValues labeled with the same letter within each cultivar are not significantly different based on Duncan's multiple range test at $P=0.05$.

해 수행되었다. 7개의 *P. brassicae* 균주는 감수성 배추 품종에서 서로 다른 병원력을 보였으며, 병원력에 따라 3개 그룹으로 나눌 수 있었다. 뿌리혹병균 접종 후 재배 온도와 광 처리시간에 따른 뿌리혹병 발생은 실험한 모든 재배 온도에서 하루에 14시간 광을 처리하는 것보다 하루 종일 광을 조사한 처리구에서 뿌리혹병 발생이 많았다. 그리고 재배 온도에 따른 뿌리혹병 발생은 25°C, 20°C, 18°C 순으로 많았지만, 뿌리혹의 무게는 20°C에서 가장 높았으며 그 다음은 25°C, 18°C 순으로 높았다. 또한 서로 다른 pathotype의 두 균주를 혼합하여 저항성 배추 품종에 접종하면, 두 균주 중 감수성 관계의 뿌리혹병균의 포자 농도 증가에 따라 뿌리혹병 발생이 증가하였다. 즉, 다른 pathotype 균주들의 뿌리혹병 발생은 서로에게 영향을 받지 않고 독립적이었다. 이들 결과로부터 보다 신속하고 정확한 배추 뿌리혹병 저항성 검정법을 확립할 수 있었다.

Conflicts of Interest

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

Acknowledgments

This work was supported by the Korea Institute of Planning and Evaluation for Technology in Food, Agriculture, Forestry and Fisheries (IPET) through the Digital Breeding Transformation Technology Development Program funded by the Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs (MAFRA) with a grant number: 322059-03.

References

- Brodmann, A., Schuller, A., Ludwig-Müller, J., Aeschbacher, R. A., Wiemken, A., Boller, T. et al. 2002. Induction of trehalase in Arabidopsis plants infected with the trehalose-producing pathogen *Plasmodiophora brassicae*. *Mol. Plant Microbe Interact.* 15: 693-700.
- Buczacki, S. T., Toxopeus, H., Mattusch, P., Johnston, T. D., Dixon, G. R. and Hobolth, L. A. 1975. Study of physiologic specialization in *Plasmodiophora brassicae*: proposals for attempted rationalization through an international approach. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 65: 295-303.
- Cheah, L. H., Veerakone, S. and Kent, G. 2000. Biological control of clubroot on cauliflower with *Trichoderma* and *Streptomyces* spp. *N. Z. Plant Protec.* 53: 18-21.
- Cho, K.-S., Hong, S.-Y., Han, Y.-H., Yoon, B.-K., Ryu, S.-R. and Woo, J.-G. 2008. Genetic analysis of clubroot resistance in Chinese cabbage using single-spore isolates of *Plasmodiophora brassicae* and development of RAPD markers linked to its resistance gene. *J. Crop Sci. Biotech.* 11: 101-106.
- Cho, W.-D., Kim, W. G. and Takahashi, K. 2003. Occurrence of clubroot in cruciferous vegetable crops and races of the pathogen in Korea. *Plant Pathol. J.* 19: 64-68.
- Crute, I. R. and Pink, D. A. C. 1989. The characteristics and inheritance of resistance to clubroot in *Brassica oleracea*. *Aspect. Appl. Biol.* 23: 57-60.
- Devos, S. and Prinsen, E. 2006. Plant hormones: a key in clubroot development. *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.* 71: 869-872.
- Evans, J. L. and Scholes, J. D. 1995. How does clubroot alter the regulation of carbon metabolism in its host? *Asp. Appl. Biol.* 42: 125-132.
- Feng, J., Xiao, Q., Hwang, S. F., Strelkov, S. E. and Gossen, B. D. 2012. Infection of canola by secondary zoospores of *Plasmodiophora brassicae* produced on a nonhost. *Eur. J. Plant Pathol.* 132: 309-315.
- Hatakeyama, K., Fujimura, M., Ishida, M. and Suzuki, T. 2004. New classification method for *Plasmodiophora brassicae* field isolates in Japan based on resistance of F1 cultivars of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L.) to clubroot. *Breed. Sci.* 54: 197-201.
- Hirai, M. 2006. Genetic analysis of clubroot resistance in *Brassica* crops. *Breed. Sci.* 56: 223-229.
- James, R. V. and Williams, P. H. 1980. Clubroot resistance and linkage in *Brassica campestris*. *Phytopathology* 70: 776-779.
- Jeger, M. J. and Viljanen-Rollinson, S. L. H. 2001. The use of the area under the disease-progress curve (AUDPC) to assess quantitative disease resistance in crop cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 102: 32-40.
- Jo, E. J., Jang, K. S., Choi, Y.-H., Ahn, K. G. and Choi, G. J. 2016. Resistance of cabbage plants to isolates of *Plasmodiophora brassicae*. *Hortic. Sci. Technol.* 34: 442-452. (In Korean)
- Jo, S.-J., Jang, K.-S., Choi, Y.-H., Kim, J.-C. and Choi, G.-J. 2010. Convenient screening method of Chinese cabbage for resistance to *Plasmodiophora brassicae* using soil-drenching inoculation. *Res. Plant Dis.* 16: 279-284. (In Korean)
- Jo, S.-J., Shim, S.-A., Jang, K.-S., Choi, Y.-H., Kim, J.-C. and Choi, G.-J. 2011. Resistance of cultivars of Chinese cabbage to *Plasmodiophora brassicae* isolates of several races collected in Korea. *Hortic. Sci. Technol.* 29: 610-616. (In Korean)
- Jung, J.-M., Yoon, B.-K., Kim, H.-J., Seo, Y.-W., Yang, S.-K. and Choi, K.-J. 2007. The effects on resources of soil amendment matters friendly-environment on the marketing for agriculture of Chinese cabbage. *J. Korean Bio-Environ. Cont.* 16: 276-281. (In Korean)
- Keen, N. T. and Williams, P. H. 1969. Translocation of sugars into infected cabbage tissues during clubroot development. *Plant Physiol.* 44: 748-754.
- Kim, C. H., Cho, W. D. and Kim, H. M. 2000. Yield loss of spring Chinese cabbage as affected by infection time of clubroot disease in fields. *Res. Plant Dis.* 6: 23-26.
- Kim, C.-H., Cho, W.-D. and Lee, S.-B. 2003. Review of researches on clubroot disease of Chinese cabbage in Korea and future tasks for its management. *Res. Plant Dis.* 9: 57-63. (In Korean)
- Kim, H., Jo, E. J., Choi, Y. H., Jang, K. S. and Choi, G. J. 2016. Pathotype classification of *Plasmodiophora brassicae* Isolates using clubroot-resistant cultivars of Chinese cabbage. *Plant Pathol. J.* 32: 423-430.
- Kim, S.-M., Choi, H.-J., Kim, H.-Y., Lee, D.-K., Kim, T.-H., Ahn, M.-S. et al. 2002. Survey on pesticide use by Chinese cabbage growers in gangwon alpine farmland. *Korean J. Pestic. Sci.* 6: 250-256. (In Korean)
- Komyoji, T., Sugimoto, K., Mitani, S., Matsuo, N. and Suzuki, K. 1995. Biological properties of a new fungicide, fluazinam. *J. Pestic. Sci.* 20: 129-135.
- Kuginuki, Y., Yoshikawa, H. and Hirai, M. 1999. Variation in virulence of *Plasmodiophora brassicae* in Japan tested with clubroot-resistant cultivars of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*). *Eur. J. Plant Pathol.* 105: 327-332.
- Lee, S.-B., Lee, C.-S., Kim, S.-K., Hong, S.-S., Park, J.-K., Lee, J.-H. et al. 2001. Screening resistant varieties of crucifer crops to clubroot disease caused by *Plasmodiophora brassicae* in Korea. *Plant Pathol. J.* 17: 369-370.
- Madden, L. V., Hughes, G. and van den Bosch, F. 2007. The Study of

- Plant Disease Epidemics. APS Press, St. Paul, MN, USA. 421 pp.
- Mattush, P. 1977. Epidemiology of clubroot of crucifers caused by *Plasmodiophora brassicae*. In: Woronin 100 International Conference on Clubroot, eds. by S. T. Buczacki and P. H. Williams, pp. 22-28. Univ. of Wisconsin, Madison, WI, USA.
- Mitani, S., Sugimoto, K., Hayashi, H., Takii, Y., Ohshima, T. and Matsuo, N. 2003. Effects of cyazofamid against *Plasmodiophora brassicae* Woronin on Chinese cabbage. *Pest Manag. Sci.* 59: 287-293.
- Mitchell, D. T. and Rice, K. A. 1979. Translocation of ¹⁴C-labelled assimilates in cabbage during club root development. *Ann. Appl. Biol.* 92: 143-152.
- Mithen, R. and Magrath, R. 1992. A contribution to the life history of *Plasmodiophora brassicae*: secondary plasmodia development in root galls of *Arabidopsis thaliana*. *Mycol. Res.* 96: 877-885.
- Shimotori, H., Yanagida, H., Enomoto, Y., Igarashi, K., Yoshinari, M. and Umemoto, M. 1996. Evaluation of benzenesulfonanilide derivatives for the control of crucifers clubroot. *J. Pestic. Sci.* 21: 31-35.
- Siemens, J., Keller, I., Sarx, J., Kunz, S., Schuller, A., Nagel, W. et al. 2006. Transcriptome analysis of *Arabidopsis clubroots* indicate a key role for cytokinins in disease development. *Mol. Plant Microbe Interact.* 19: 480-494.
- Suwabe, K., Tsukazaki, H., Iketani, H., Hatakeyama, K., Fujimura, M., Nunome, T. et al. 2003. Identification of two loci for resistance to clubroot (*Plasmodiophora brassicae* Woronin) in *Brassica rapa* L. *Theor. Appl. Genet.* 107: 997-1002.
- Tanaka, S., Fujiyama, S., Shigemori, S., Nakayama, A., Ito, S. I. and Kameya-Iwaki, M. 1998. Pathogenesis of isolates of *Plasmodiophora brassicae* from Japan (1) race and pathogenesis in clubroot resistant cultivars. *Proc. Assoc. Plant Protect. Kyushu* 44: 15-19.
- Voorrips, R. E. 1995. *Plasmodiophora brassicae*: aspects of pathogenesis and resistance in *Brassica oleracea*. *Euphytica* 83: 139-146.
- Williams, P. H. 1966. A system for the determination of races of *Plasmodiophora brassicae* that infect cabbage and rutabaga. *Phytopathology* 56: 624-626.
- Yoon, C.-S., Jung, E.-K., Lee, S.-J., Zhang, Y., Lee, J.-E. and Kim, B.-S. 2010. Screening of resistant Chinese cabbage cultivar against clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) for cultivation in highland. *Res. Plant Dis.* 16: 59-65. (In Korean)
- Yoshigawa, H. 1983. Breeding for clubroot resistance of crucifer crop in Japan. *Jpn. Agr. Res. Quart.* 17: 6-11.
- Zhang, X.-Z., Lee, S.-U., Kim, J.-S., Yoon, Y.-S., Choi, G.-S., Kim, H.-K. et al. 2005. Control efficacy of flusulfamide GR on Chinese cabbage clubroot caused by *Plasmodiophora brassicae*. *Res. Plant Dis.* 11: 43-47. (In Korean)