

種子接種法에 의한 大豆 紫斑病 抵抗力 檢定에 關한 研究

權 臣 漢 · 吳 正 行

韓國原子力研究所

Screening for Resistance to Purple Seed Stain "*Cercospora kikuchii*" by Seed Inoculation Technique.

Shin Han Kwon and Jeung Haing Oh

Korea Atomic Energy Research Institute

Abstract

An attempt was made to establish a mass-screening technique for resistance to purple seed stain disease in soybean. Seeds sterilized in 1:10000 mercuric chloride for 1 minute and transferred to Petridishes containing 20ml water agar plus 50ppm of the sodium salt of 2,4-D were inoculated by placing a small agar cube containing fungal mycelium on the seed coat of each seed. A positive correlation between natural infection of purple seed stain and purple discoloration by seed inoculation technique was highly significant and by this technique, some native soybean collections and introduced varieties were tested for resistance to the disease. Most of the soybean varieties tested were susceptible except for the varieties Hill, Harosoy and Sac, resistant comparatively.

緒 言

大豆 紫斑病, *Cercospora kikuchii*(Matsumoto & Tomoyasce) Gardner,는 收量減少의 直接的인 要因으로서 보다는 品質에 影響을 미치는 大豆의 重要的인 種子病으로서 우리나라에서는 1934年 中田 等⁷⁾에 의하여 처음으로 報告되었었다. 紫斑病에 感染된 種子是 자주빛으로 變色이 되는 것이 特徵인데 이러한 種子是 種皮에 균열이 생기고 品種에 따라 7~15%의 發芽率 減少를 招來하며¹⁰⁾ 또 發芽된 苗는 生育이 不良하여 收量減少의 間接的인 要因이 된다.⁶⁾ 大豆

紫斑病의 自然感染率은 甚한 경우 50% 以上으로 알려져 있으나^{1),9)} 栽培品種, 地域 및 環境에 따라 差異가 있으며 우리나라 在來種에서는 最高 12.7%의 種子感染率이 報告된 바 있다.⁶⁾

紫斑病은 잎의 病徵이 뚜렷하지 않은 種子病으로서 抵抗力 檢定을 위해서는 收穫한 後에 種子の 감염을 調査할 수 밖에 없어서 많은 노력과 時間이 所要된다. 그러나 紫斑病菌을 直接 種子에 接種시키면 種皮에 菌系가 자라면서 變色을 일으키기 때문에⁴⁾ 本實驗에서는 이 種子接種法을 利用하여 導入種 및 在來品種의 紫斑病 抵抗力 檢定을 實施하였다.

材料 및 方法

蒐集 在來種 中에서 1977年度에 韓國原子力研究所 試驗園場에서 栽培한 早熟性인 50系統과 導入品種의 抵抗力 檢定을 實施하였다. 檢定할 種子를 1% 승홍수에 1分間 表面殺菌한 後 50ppm의 2,4-D鹽(2,4-Dichlorophenoxyacetic acid)을 함유하는 1.5% Water agar plate 위에다 올려놓은 다음 감자한천배지에서 2週間 培養한 紫斑病菌의 菌系體를 2mm²크기로 잘라서 大豆 種子위에 接種시켰다. 接種된 Petridish는 約 25°C정도에서 4日間 Incubation시킨 後에 種子 表面에 形成된 變色의 범위에 따라 1~5等級으로 分類하여 抵抗力을 判別하였다.

實 驗 結 果

前年度에 收穫한 早熟性 50系統에서 조사한 抵抗力의 自然感染率과 人工接種에 의한 感染率(色素形成程度)의 關係를 회귀직선으로 求하여 本結果(Fig. 1)

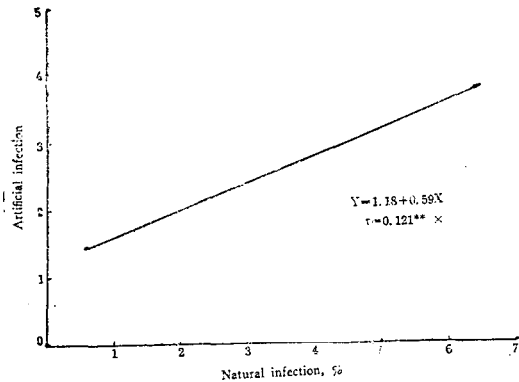


Fig. 1. Relation between natural infection and pigmentation by artificial inoculation with purple seed stain.

$r=0.121$ 로서 相互間에 高度의 有意性이 인정되는 正의 相關을 보였기 때문에 이 方法을 利用하여 蒐集 在來種 및 品種의 抵抗性 檢定을 實施하였다. Table 1은 수집 재래종 중에서 熟期가 132日 以上인 晩熟 系統으로서 前年度에 紫斑病의 自然感染이 전혀 없었던 계통들의 저항성을 種子接種法에 依하여 確認 檢定한 結果이다. 圃場에서 自然感染에 依한 紫斑種子가 전혀 없어 抵抗性 系統으로 分類되었던 85系統 中에서 種子接種에 依하여 中間程度 抵抗性을 나타낸 系統은 12系統이었으며 나머지 大部分은 罹病性 反應을 나타내어 自然感染率에 依한 晩熟系統의 抵抗性 檢定은 부적당함을 알 수 있었다. 紫斑病에 對한 抵抗性 因子源을 찾기 위하여 우리나라 품종을 비롯한 各國의 栽培品種을 種子接種法에 依하여 抵抗性 檢定을 實施한 結果 우리나라의 36品種은 모두가

Table 1. Frequency distribution of pigmented lines/varieties due to artificial inoculation on seed with purple seed stain.

Variety	Degree of pigmentation					Total No. of var.
	I	II	III	IV	V	
Late maturing group in native collection	0	0	12	38	35	85
Korea	0	0	0	14	22	36
U.S.A.	1	*2	6	14	16	39
Japan	0	0	1	5	10	16
Taiwan	0	0	0	7	9	16
Vietnam	0	0	0	4	7	11
Philippines	0	0	0	2	6	8
Total	1	4	17	84	105	211

*Varieties Sac, Hill and Harosoy were resistant comparatively.

Table 2. The isolates of *Cercospora kikuchii* isolated from soybean seeds of different varieties and locations.

Location	No. of var. or line	No. of isolate*	Remark
Chuncheon	2	20	
Kumkok	10	70	**
Suweon	3	20	
Daejeon	3	20	
Cheongju	3	20	
Milyang	3	20	**
Samrangjin	5	20	
Jinyeong	3	20	
Wando	2	18	
Jindo	2	16	
Total	36	244	

*Isolations made from different seeds infected with purple stain.

**Location in which B-strain (no purple discoloration in pure culture) was isolated.

罹病性反應을 보였으며 日本 16品種, 대만 16品種, 베트남 11品種 및 필리핀 8品種의 大部分이 높은 罹病性을 나타냈다. 그리고 美國의 39品種중에서는 Sac. 등이 抵抗性이었고 Hill, Harosoy 등을 포함한 8品種이 中間정도였으며 나머지 30品種은 모두 罹病性으로 나타났다.

우리나라에서 發生하는 紫斑病菌의 病原性を 檢定하기 위하여 Table 2에 기재된 10個 地域에서 蒐集한 紫斑種子로부터 244 isolates를 分離하여 그들의 病原性 即 色素形成力을 比較해본 結果 大部分의 isolates가 감자한천培地에서 자주 빛 色素를 形成하였으나 밀양, 금곡 地方에서 分離한 2 isolate는 자주빛 變色을 이르지 않고 培地를 黑變시켰다.

Table 3은 자주빛 色素를 가장 잘 形成하는 isolate와 形成하지 않는 그 isolates의 生長, 分生孢子 形成 및 色素形成力 등을 培地의 種類와 培養條件에 따라 比較한 것이다. 이 두 strain 即 P-strain과 B-strain은 Water agar plate에서는 잘 자라지 못했으나 감자한천培地, 오토밀한천培地에서는 光條件에 영향없이 잘 자랐으며 分生孢子는 어느 條件에서도 形成되지 않아 Murakishi⁽⁶⁾의 報告와 一致하였다. 그러나 色素形成力에 있어서는 B-strain이 어느조건에서도 자주 빛 색소형성을 하지 않는 반면 P-strain은 暗條件에서는 감자한천培地에서, 光條件에서는 오토밀한천培

Table 3. Comparative study with two different strains of purple seed stain under different condition.

		B-strain			P-strain		
		PDA	OMA	WA	PDA	OMA	WA
Growth(mm)	Light	21.2	22.0	6.5	20.8	10.2	7.0
	Dark	21.3	21.2	6.5	22.3	20.7	6.7
	Alternate*	21.3	23.3	6.8	23.8	18.7	6.8
Sporulation	Light	—	—	—	—	—	—
	Dark	—	—	—	—	—	—
	Alternate	—	—	—	—	—	—
Pigmentation**	Light	—	+	—	+	##	—
	Dark	—	—	—	##	—	—
	Alternate	—	+	—	##	+	—

* Growth was treated under light for 12 hrs, dark for 12 hrs alternately during culture of 2 weeks.

** —, +, ## indicate negative, traceable, intermediate and abundant pigmentation, respectively.

地에서 자주빛 색소 형성을 더 잘 하였다.

이와같이 培地에서의 色素形成力의 차이가 곧 種子에서의 病原性과 一致하는가를 보기 위하여 비교적 自然感染率이 낮은 수집재래종 10系統을 對比品種과 함께 種子接種試驗을 한 結果(Table 4) 培地上에서 자주빛 색소형성력이 큰 P-strain은 B-strain에 비하여 種子接種에서도 현저히 色素형성을 잘하였으며 비교적 저항성품종인 Sac, Hill, 및 Harosoy 등에서 도 상당히 빠른 색소형성을 볼수가 있었다.

Table 4. Pigmentation of resistant soybean lines by artificial inoculation with two different strains of purple seed stain.

Line	Natural infection (%)	Artificial infection*	
		B-strain	P-strain
KAS 238-2	3.1	1	4
KAS 681-27	1.0	3	4
KAS 544-11	1.0	3	4
KAS 540-16	1.0	3	4
KAS 230-7	0.8	3	4
KAS 150-19-2	0.8	2	4
KAS 551-5	0.5	2	4
KAS 351-1	0.8	2	3
KAS 233-1	0.5	2	4
KAS 330-4	0.5	2	4
Harosoy	—	2	4
Hill	—	2	4
Sac	—	1	3

*Degree of pigmentation (1-5) was measured in 3 days after inoculation.

考 察

突然變異 誘起에 의한 耐病性品種 育成을 위해서는 우선 誘起된 突然變異體를 커다란 集團으로 부터 効果的으로 選拔해 낼 수 있는 Mass-screening technique의 確立이 重要하다. 大豆 紫斑病은 種子病으로서 抵抗性 檢定을 하기 위해서는 收穫後 種子의 感染程度를 調査할 수 밖에 없으므로 오랜 時間과 넓은 面積이 所要되어 많은 個體를 취급해야하는 突然變異育種에서는 적합하지 못하다. 本實驗에서 使用한 種子接種法은 短時日內에 多量의 種子를 檢定할 수 있으며 Fig. 1에서와 같이 紫斑病 自然感染率과 高度의 有意성이 있는 正의 相關을 보임으로서 放射線育種에 있어 紫斑病 抵抗性系統 選拔을 위한 Mass-screening technique로서 効果的이라고 생각되었다.

蒐集在來種 中에서 晚熟系統의 紫斑病 自然感染率이 極히 낮은 原因을 究明하기 위하여 이들의 저항성을 種子接種法에 의하여 檢定해본 結果 Table 1에서와 같이 大部分의 系統이 罹病性反應을 보였다. 이 結果는 晚熟系統의 낮은 自然感染率이 遺傳的인 特性이기 보다는 栽培環境에 의한 병해도피(disease escaping) 현상에 기인한다는 著者等⁽⁵⁾의 結論을 立證할 수 있었다.

一般的으로 많은 *Cercospora* sp.가 大豆種子에 자주 빛 變色을 이끄는 것으로 알려져 있으나^(2,3,4) 紫斑病菌의 race에 관한 報告는 없다. Kilpatrick *et al.*⁽⁴⁾, Jones⁽²⁾ 그리고 Howard *et al.*⁽³⁾ 등은 各種 豆科作物에서 分離한 여러가지 *Cercospora* sp.를 콩꼬투리 및

種子에 接種시킨 結果 種子에서 자주빛 色素를 形成하는 *Cercospora* sp.는 모두 감자한천培地에서도 色素形成을 하였으며 감자한천培地에서 色素形成을 하지 않는 *Cercospora sorghi*와 *Cercospora sojina* 등은 大豆種子에서도 전혀 자주빛 색소형성을 하지 않아 培地에서의 색소형성력과 病原性間에는 相關關係가 있음을 報告하였다. 本 實驗에서도 오토밀한천培地 및 감자한천培地에서 色素形成을 잘하는 P-strain은 大豆種子에서도 強한 病原性을 나타냈으며 (Table 4) 감자한천培地에서 거의 자주빛 色素形成을 하지 않는 B-strain도 大豆種子에서는 자주빛 색소형성이 가능한 것으로 보아 이는 報告되지 않은 다른 *Cercospora* sp.이거나 *Cercospora kikuchii*의 다른 Strain일 가능성이 있다. 따라서 대두 紫斑病에서도 耐病性系統 選拔을 效果의으로 遂行하기 위해서는 race의 病原性을 고려하여야 할 것으로 생각된다.

摘 要

大豆 紫斑病에 對하여 抵抗性인 계통 선발을 위한 Mass-screening technique를 確立하고 이 種子接種法을 利用하여 蒐集在來種 및 各 品種의 抵抗性檢定을 實施한 結果는 다음과 같다.

1. 早熟性인 蒐集在來種 50系統의 紫斑病 自然感染率과 種子接種에 依한 자주빛 色素 形成率間에 나타난 正의 相關關係는 $r=0.121$ 로서 高度의 有意性이 認定되었으며 이 種子接種法은 效果의인 Mass-screening technique으로서 放射線을 利用한 突然變異 異種에서 紫斑病抵抗性 系統選拔에 利用可能性이 높았다.

2. 紫斑病 自然感染率이 극히 낮은 晩熟性 蒐集在來種 85系統은 種子接種에 依하여 大部分이 罹病性 반응을 보였으며 이는 포장에서의 單속계통의 저항성이 遺傳的인 특성이기 보다는 病害도피 현상에 기인한 것으로 생각되었다.

3. 大豆品種의 抵抗性檢定에서 우리나라 大豆 36品種을 비롯하여 日本과 대만의 各 16品種, 베트남 11品種, 필리핀 8品種 및 美國 38品種 등 大部分이 罹病性이었고 美國品種인 Sac, Hill, Harosoy 등이 비교적 抵抗性 이었다.

4. 各 地域에서 分離한 大豆 紫斑病菌 244 isolates 중에서 培地에서 자주빛 색소를 形成하지 않는 두 菌株을 除外하고는 모두가 暗條件에서는 감자한천培地에서, 光條件에서는 오토밀한천培地에서 자주빛 색소形成이 잘 되었으며 培地에서의 색소형성 정도는

種子에서의 病原性과 密接한 相關이 있었다.

引 用 文 獻

1. Caldwell, B.E. et al. 1973. Soybeans. American Soc. of Agron. Wisconsin pp.22-24.
2. Johnson, H.W. and J.P. Jones. 1962. Purple stain of guar. Phytopath. 52:269-271.
3. Jones, J.P. 1959. Purple stain of soybean seeds incited by several cercospora species. Phytopath. 49:430-432.
4. Kilpatrick, R.A. and H.W. Johnson. 1956. Purple stain of legume seeds caused by *Cercospora* species. Phytopath. 46:201-204.
5. Kwon, S.H., J.H. Oh, J.R. Kim, and H.S. Song. 1977. Studies on purple seed stain of native soybean collections. Kor. Soc. Crop Sci. 22:11-15.
6. Murakishi, H.H. 1951. Purple seed stain of soybean. Phytopath. 41:305-318.
7. Nakata, K. and K. Takimoto. 1934. A list of crop diseases in Korea. Agr. Exp. Sta. Govt. Central Chosen. Res. Rpt. 15:1-146.
8. Roy, K.W. and T.S. Abney. 1976. Purple seed stain of soybeans. Phytopath. 66:1045-1049.
9. Sindair, J.B. et al. 1975. Compendium of soybean diseases. The American Phytopath. Soc., Minnesota pp.22-24.
10. Wilcox, J.R. and T.S. Abney. 1973. Effects of *C. kikuchii* on soybeans. Phytopath. 63:796-797.

Summary

The seed inoculation method was modified to establish mass screening technique for purple seed stain disease caused by *Cercospora kikuchii* (Mats. & Tomoy.) Gardner in soybean and by this technique, some native soybean collections and introduced varieties were tested for resistance to the disease. The results obtained were as follows:

1. A positive correlation between natural infection percent of purple seed stain and purple discoloration percent by seed inoculation method in early maturing 50 native soybean lines was highly significant, $r=0.121$, statistically, and then this method

seemed to be effective as a mass-screening technique for resistance to purple seed stain in mutation breeding.

2. Most of late maturing 85 native soybean line which showed little infection under natural conditions gave susceptible reaction by seed inoculation technique and the result indicated that low natural infection of the lines was found to be due to disease escaping instead of their genetic character.

3. Most of the introduced soybean varieties tested, including 36 native varieties showed susceptible reaction but varieties Sac, Hill and Harosoy were

resistant comparatively.

4. A total of 244 *Cercospora* isolates originated from purple stained seed lots of different locations made better purple discoloration in potato dextrose agar medium under dark condition and in oatmeal agar medium under light condition, except for two isolates incapable of purple discoloration in pure culture, and the isolates showed a correlation between the ability to incite purple stain on soybean seeds and production of purple pigmentation in pure culture.