

연초의 세균성마름병 저항성 유전에 관한 연구

정 석 훈*

한국인삼연초연구원 수원시험장
(2000년 5월 19일 접수)

Studies on the Inheritance of Resistance to Bacterial Wilt (*Ralstonia solanacearum*) in Tobacco(*Nicotiana tabacum* L.)

Suk Hun Jung*

Suwon Experiment Station, Korea Ginseng & Tobacco Research Institute,
P.O. Box 59, Suwon, 440-600, Korea
(Received May 19, 2000)

ABSTRACT : Bacterial wilt(*Ralstonia solanacearum*) is one of the major diseases of flue-cured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) in the world. This study was conducted to investigate degree of dominance, selection, and correlation between leaf shape and degree of bacterial wilt resistance in flue-cured tobacco. The degree of disease caused by bacterial wilt was evaluated in parents, F₁, F₂ and F₃ populations of two crosses, BY 4 x NC 95 and BY 4 x Coker 86, in the infected field. The leaf shape index was also measured in parents and F₂ population of BY 4 x NC 95. The incidence of bacterial wilt was observed in the middle of June and peaked in late July, when the highest value of pathogen density reached 1.0 x 10⁶ colony forming unit per gram. It was concluded that the inheritance mode of resistance to bacterial wilt in the above two crosses of susceptible and resistant varieties was recessive and polygenic. The resistance to bacterial wilt was significantly correlated with leaf shape in F₂ generation of BY 4 x NC 95. But certain plants having narrower leaves were also resistant to bacterial wilt. It is considered that the bacterial wilt resistant lines having narrower leaves could be selected. The selection for bacterial wilt resistance in the F₂ population might be effective.

Key words : *Nicotiana tabacum*, bacterial wilt, *Ralstonia solanacearum*, leaf shape

연초(*Nicotiana tabacum* L.)의 세균성마름병(*Ralstonia solanacearum*)은 지하부로부터 줄기를 타고 올라오는 도관병으로 연초 외에도 100여종에 걸쳐 광범위한 식물에 발생한다. 우리나라의 경우 최근(1995~1999) 세균성마름병의 피해는 황색종이 4.2%로 버어리종 2.5%보다 더 심하다.

세균성마름병 방제 방법으로는 화학약제에 의한 토양소독, 윤작재배, 심경 등에 의한 경종적 방법이 있으나 완전방제가 어렵고 우리나라에서는 경작면적의 협소로 윤작이 어려운 실정이고 화학약제에 의한 토양소독은 약제가 비싸므로 실용적으로 사용할 수 없어 내병성 품종재배가 가

*연락처 : 440-600, 경기도 수원시 수원우체국사서함 59, 한국인삼연초연구원 수원시험장

*Corresponding author : Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Suwon Experiment Station, Suwon P.O.Box 59, Kyunggi-Do 440-600, Korea.

장 효과적인 것으로 알려져 있다(Clayton & Smith, 1942; 田中, 1973).

재배품종의 세균성마름병 저항성인자는 대체로 T.I. 448A에서 유래한 것인데 유전양상에 대한 보고는 연구자에 따라 다르다. Smith와 Clayton (1948), Nakamura(1967)는 Polygene에 의해 지배되는 열성이라고 하였고 Schweppenhauser(1966), Gutierrez(1967)는 우성이나 단순유전은 아니라고 하였으며, Matsuda와 Ohash(1973)은 Polygene에 지배되는 양적형질이라고 하였다. 한편 진(1987)은 많은 유전자에 의해 지배되며 이 병성쪽으로 부분 우성을 보인다고 하였고, 정(1993)은 F₂에서 선발은 F₁보다 이 병지수가 낮으며 유전획득량이 높다고 하였다. 이와 같이 결과가 상이한 것은 내병성 인자와 환경의 상호작용으로 해석할 수 있으며 저항성 검정의 조건 차이를 원인으로 보는 견해도 있다.(Rowe & Sequeira. 1970)

세균성마름병 저항성인 T.I. 448A와 세엽형 품종과의 교배에서는 저항성품종이 얻어지지 않았으나 광엽형 품종과의 교배에서는 저항성 품종이 용이하게 얻을 수 있다고 하였으며 저항성 인자 중의 하나 또는 그 이상이 광엽형 및 만생과 연관되어 있는 것이라는 보고도 있다(Clayton. 1942; Smith & Clyton, 1945; 岡와 大橋 1959).

이와같이 세균성마름병 내병인자가 환경과의 상호작용으로 이루어지고 유전양상이 연구자에 따라 상이한 결과를 나타내므로 본 연구는 세균성마름병 저항성품종 육성을 위한 기초자료를 얻고자 BY 4 x NC 95와 BY 4 x Coker 86 조합의 모본, F₁, F₂, 그리고 F₂에서 이병정도별로 선발한 F₃ 3개 group을 세균성마름병 오염포지에 시험재배하여 각 세대 및 group별 발병정도를 조사하여 세균성마름병 저항성의 우성정도와 선발효율을 구명하고 엽형과의 관련성을 밝히고자 수행하였다.

재료 및 방법

세균성마름병(*R. solanacearum*)에 이병성인 황색종(*N. tabacum* L. var. flue-cured) BY 4에 저항성인 NC 95와 Coker 86을 각각 교배한 2조합의 F₁, F₂ 그리고 F₂ 에서 이병정도를 기준으로하여

선발한 3개 group의 F₃세대를 시험재료로 하였다. F₃ group I, II 및 III은 각각 F₂에서 이병정도가 0~1, 2~3 및 4~5인 개체를 선발하여 혼합한 계통이다. 파종은 3월 5일, 이식은 4월 25일 그리고 휴간 95cm에 주간 40cm로 하여 일반멸청 재배하였으며 오염포지는 세균성마름병이 매년 발생하는 충북 음성군 원남면 소재의 포지를 이용하였다.

개체별 이병정도는 발병 최성기인 7월 10일 ~ 7월 25일의 세균성마름병 밀도가 $4.0 \times 10^4 \sim 1.0 \times 10^6$ CFU/g 일때 조사하여 이병지수(I)로 표시하였다.

0 = 무병징, 1 = 하위엽의 2-3매 위조 시작, 2 = 하위엽의 1/3이하 위조 또는 줄기의 지체부 같은 시작, 3 = 하위엽 1/3이상 위조 또는 줄기의 1/3이내 흑변, 4 = 엽의 2/3이상 위조 또는 줄기의 1/2 흑변, 5 = 고사의 단계로 구분하였다.

$$\text{이병지수(I)} = \frac{\sum(\text{세균성마름병정도} \times \text{발병주수})}{\text{조사주수} \times \text{최고지수}} \times 100$$

토양내 세균성마름병의 세균밀도 조사시기는 4월 25일, 5월 25일, 6월 25일, 7월 10일과 7월 25일로 5회 실시하였다. Agar plate method로, 배지 조성은 bacto peptone 10g, casein hydrolysate 1g, glucose 0.5g, bacto agar 20g 과 0.5% tetrazolium solution 100ml을 증류수 1ℓ로 조제하여 사용하였다.

조사는 토양 시료 1g을 채취하여 살균수 10ml를 넣은 시험관에 넣고 혼합후 (10^{-1} 희석액) 살균된 피펫을 이용 $10^{-5} \sim 10^{-9}$ 희석액을 만든다. 각 토양세균 희석액 0.5ml를 취하여 한천 평판 배지나 tetrazolium 한천 평판 배지에 골고루 펴고 평판 배지가 토양 현탁액을 흡수하면 30℃의 항온 배양기에서 2일간 배양하였다. 한천 배지위에 형성된 single colony의 수가 사레당 20-80개 형성된 것을 골라서 조사하였다.

엽의 형태와 세균성마름병의 관련성을 알기 위하여 개체별로 엽장폭비(엽장/엽폭)를 구하여 이병정도와 엽형지수와의 상관, 광엽형 및 저항성 출현율을 조사하였다.

결과 및 고찰

오염포지 병원균 밀도 조사

세균성마름병이 오염된 포지에서의 병원균의 밀도는 표 1과 같다. 토양시료는 지하 15cm에서 채취하였으며, Teterzolium agar plate count method로 조사하였다. 생육초기인 5월 25일의 병원균 밀도는 1.5×10^3 CFU/g 이었으며 생육중기인 6월 25일 경에는 3.5×10^4 CFU/g으로 병 발생이 나타나기 시작하였고 7월 25일의 병원균 밀도는 1.0×10^6 CFU/g 이었다. 이와같이 생육후기로 갈수록 오염포지의 병원균 밀도는 높아졌다.

오염포지 병원균 밀도의 생육단계별 차이는 토

Table 1. Population of the pathogen, *Ralstonia solanacearum*, in the field soil at Wonnam, Eumsung in 1983

Investigation day	Bacterial population (CFU/g)*	Remarks
April 25	0.7×10^2	Field infested with pathogen
May 25	1.5×10^3	
June 25	3.5×10^4	
July 10	4.0×10^4	
July 25	1.0×10^6	

* CFU/g : Colony Forming unit/g(soil)

양 증 온도의 상승과 적절한 강우량에 기인된 것으로 생각되며, 병발생은 토양내 병원균의 밀도, 온도 및 습도에 영향을 받으므로 7월 중하순의 고온 다습한 시기에 이병정도의 판독과 저항성 개체의 선발이 용이하였다.

세대별 세균성마름병 저항성의 분포 및 분산

BY 4 x NC 95 조합의 모부분, F₁, F₂, 및 F₃ group의 이병정도 및 분리개체수는 표 2와 같다.

BY 4의 이병지수는 86이며 NC 95는 18로서 교배친간 이병정도가 뚜렷한 차이를 보였으며 F₁은 교배친의 평균보다 높아 이병성이 우성을 보였다. Matuda와 Ohash(1973), Nakamura(1967), Smith & Clayton(1948)은 이와 유사한 결과를 보고한 바 있다.

F₃의 I group은 이병성 정도가 0에서 1정도를 선발한 것으로 F₂ 세대에서 선발한 평균 이병지수는 62이며 이병정도가 0~1로 나타난 개체가 28주이었다. II group에서는 이병지수가 72이었고 이병정도가 0~1로 나타난 개체가 5주였다. III group에서는 이병지수가 74이었으며 이병정도가 0~1인 개체는 없는 것으로 나타나 F₂ 세대에서 선발 효율이 높지 않았다.

I group의 평균 이병지수는 62로서 저항성 교배친인 NC 95의 18에 비하여 저항성이 현저히 떨어지나 F₃의 각 group 중에는 세균성마름병 정도에서

Table 2. Rate, degree and variance of disease and disease index of parents, F₁, F₂ and F₃ groups derived from BY4 x NC 95 on bacterial wilt infected field

Generation	No. of plants tested	No. of plants rated by degree of disease						Degree of disease	Variance	Disease index
		0	1	2	3	4	5			
BY4(P ₁)	40			5	3	9	23	4.3	1.11	86
NC95(P ₂)	40	10	25	4	1			0.9	0.45	18
Mid-parents								2.6		52
F ₁	40		1	9	12	15	3	3.2	0.85	64
F ₂	405	17	15	59	116	163	35	3.7	0.82	74
F ₃ I group	202	14	14	22	34	116	2	3.1	1.61	62
II group	195	3	2	26	42	96	26	3.6	1.03	72
III group	190			18	24	132	16	3.7	0.53	74

NC 95와 동등한 수준을 나타내는 계통들이 있다. 즉 저항성 교배친과 엽형 및 초형이 BY 4와 유사하고 병저항성이 NC 95 정도 이상의 수준을 유지하는 계통이 F₃에서 발견되는 것을 알 수 있다. 이는 岡과 大橋(1959), Clayton (1959) 등이 세균성 마름병의 저항성은 F₅~F₆세대에서 고정된다고 하였으며 F₃ 세대 이후 저항성으로 나타난 개체는 선발을 계속하여 계통화하면 NC 95와 같은 정도의 저항성을 가진 고정계통을 얻을 수 있을 것으로 생각된다.

BY 4 x Coker 86 조합의 오염포지검정은 표 3과 같다. BY 4의 세균성마름병 이병지수는 86인 반면 Coker 86은 6으로 저항성을 보였으며 모부본간 차이가 뚜렷하였다.

F₁에서 평균이병지수는 50이었으며 교배친의 평균은 46으로 이병성이 우성을 보이며 F₂에서는 평균이병지수가 40으로 세균성마름병에 저항성으로 나타나는 개체가 많았다.

F₃세대는 I group의 평균이병지수는 36이고 0~1인 개체는 170주였으며 II group에서는 저항성으로 165주가 발견되었다.

이상에서 BY 4 x Coker 86조합은 BY 4 x NC 95조합에서 보다 세균성마름병 저항성 개체가 많았다. 이러한 현상은 Coker 86의 저항성이 개화기 및 숙기와 관련이 있는 것으로 생각한다.

세균성마름병과 엽형과의 관계

BY 4와 NC 95조합에서의 이병정도에 따른 엽형지수의 빈도는 표 4와 같다. 저항성 개체를 선발함에 있어 생육특성을 표지인자로 하여 선발효율을 높이고 엽형 및 초형은 BY 4와 유사하며 내병성이 NC 95정도의 저항성을 가진 개체를 선발하는 것이 가능한지를 검토하기 위하여 세균성마름병 정도와 엽형과의 상관, 광엽형 및 저항성으로 나타나는 비율을 조사하였다. BY 4는 오염포지에서 세엽형으로 엽형지수가 2.5이었으며 NC 95는 엽형지수가 1.9로 광엽형이었다.

이병정도 0~1에 해당하는 개체를 저항성으로 볼 때 전체 405개체 중 저항성 개체는 32주로서 8%로 나타났다. 엽형은 1.6에서 1.9에 해당하는 개체는 전체 405개체 중 51주로서 광엽형 출현은 12%였다. 엽형지수별로 보면 세엽으로 갈수록 저항성 개체의 출현 비율이 떨어지는 경향이다.

Clayton & Smith(1942), Clayton et al. (1945), 岡과 大橋(1959)등은 T.I. 448A와 세엽형 품종과의 교배에서는 저항성품종이 얻어지지 않았으나 광엽형의 품종과의 교배에서는 저항성 품종을 얻을 수 있다고 하였으며, 다수인자에 의해 지배되고 있는 연초 세균성마름병 저항성 인자의 하나 또는 그 이상의 인자가 광엽형 및 만생과 연관되어 있다고 추정하였다.

Table 3. Rate, degree and variance of disease and disease index of parents, F₁, F₂ and F₃ groups derived from BY 4 x Coker 86 on bacterial wilt infected field

Generation	No. of plants tested	No. of plants rated by degree of disease						Degree of disease	Variance	Disease index
		0	1	2	3	4	5			
BY4(P ₁)	40			5	3	9	23	4.3	1.11	86
Coker 86(P ₂)	40	30	8	2				0.3	0.31	6
Mid-parents								2.3		46
F ₁	40	1	9	11	11	4	4	2.5	1.69	50
F ₂	358	57	107	53	54	49	38	2.0	2.64	40
F ₃ I group	338	126	44	33	58	43	34	1.8	1.22	36
II group	330	50	115	60	42	27		2.0	1.29	40
III group	338		36	112	95	51	44	2.8	1.41	54

연초의 세균성마름병 저항성의 유전에 관한 연구

Table 4. Friguency distribution in numbers for degree of disease and leaf shape index of BY 4 x NC 95 cross in F₂ generation

Degree of disease	Upper limit of class for leaf shape index							Total Plants	**Rate of broad leaf shap
	1.6-1.7	1.8-1.9	2.0-2.1	2.2-2.3	2.4-2.5	2.6-2.7	2.8-2.9		
0	3	2	4	5	2	1		17	29
1	2	1	6	3	3			15	20
2	1	11	12	6	6	5	10	59	20
3	5	9	20	15	15	13	24	116	12
4	2	12	35	15	15	23	54	163	8
5	1	2	2	5	5	2	18	35	8
Total	14	37	79	79	79	46	106	405	12%
***Rate of wilt resistance	35	8	13	10	6	2	0	8%	r=0.31*

r* : Correlation coefficient between degree of disease and leaf shape index was significant at 5% probability level.

** Percent of plants whose leaf shape index were less than 1.9.

*** Percent of plants whose degree of disease were 0 and 1.

그림 1은 세균성마름병이 오염된 포지에서 BY 4와 NC 95를 교배한 F₁, 및 F₂ 세대의 엽의 형태와 이병정도를 나타낸 것이다. BY 4와 F₁은 위조에서 황화단계에 이르나 NC 95는 건전하며, F₂는 고사에서 건전상태에 이르기까지 다양하게 분리되고 있음을 알 수 있다.

中村(1967)에 의하면 Hicks x Coker 139조합에서 세균성마름병 이병지수는 열성방향이 우성으로 작용하며, F₂ 분리세대의 이병정도는 양친의 중간치를 보였고 엽형은 F₂에서 양친중 세엽쪽에 많이 분포 하였다. Smith 등(1948)도 저항성품종 T.I. 448A에 이병성품종과의 교배에 있어 F₁은 이병성 모본에 가까운 이병율을 보였다고 하였고 세균성마름병은 polygene에 지배된다고 하였다.

이상에서 세균성마름병 저항성은 양적형질로 이병성이 우성을 나타내고 polygene에 의해 지배되는 것으로 보이며, F₃ 이후 포장선발에서 세균성마름병에 저항성을 갖고 엽형에서 형태적으로 BY 4와 유사한 계통의 선발도 가능할 것으로 보여진다.

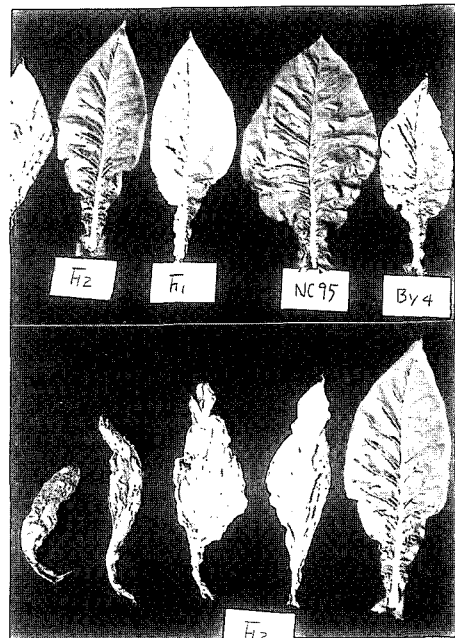


Fig. 1. Comparison of leaf shape and degree of disease on BY4, NC95, F₁(upper) and F₂ generation(below) for BY4 and NC95 crosses in the field infected with bacterial wilt pathogen

결 론

연초(*N. tabacum* L.)의 세균성마름병(*R. solanacearum*)은 황색종 산지에서 피해를 주고 있는 주요 병해이다. 세균성마름병 저항성 품종육성의 기초자료를 얻기 위하여 양질이며 이병성인 황색종 BY4에 저항성인 NC95 와 Coker 86을 각각 교배한 양친, F₁, F₂ 그리고 F₂에서 이병정도를 기준으로 3개 group의 F₃ 세대를 시험재료로 오염 포지에서 세균성마름병 저항성의 우성정도와 선발 및 엽형과 이병정도와의 상관성을 조사하였다.

세균성마름병균에 오염된 포지에서의 저항성 검정은 6월 중순부터 발병하기 시작하였으며, 이때 병원균의 밀도는 3.5×10^4 CFU/g 이었고 저항성개체 선발 및 채종시기인 7월 하순의 병원균 밀도는 1.0×10^6 CFU/g이었다.

BY4 x NC 95 조합에서 모부분의 평균 이병지수는 52인데 비하여 F₁은 64, F₂세대는 74로 이병성이 우성으로 나타났고, F₃세대의 저항성 group 별 이병지수는 모부분의 평균치 보다 높으며 F₁ 및 F₂는 비슷한 경향으로 선발효율이 낮았다. BY4 x Coker 86조합의 모부분의 평균 이병지수는 46인데 비하여 F₁은 50, F₂세대는 40이었고 F₃세대는 계통별 이병지수가 낮으며 선발효율이 높았다.

F₂세대에서 이병정도와 엽형은 상관성이 인정되고 광엽형 중에서 저항성으로 나타나는 비율이 높으며 광엽형 출현율은 12%, 세균성 마름병 저항성 출현율은 8%였다.

참 고 문 헌

- 정운화 (1993) 반수체 육종법을 이용한 잎담배 세균성마름병 저항성 개체선발의 효율성비교. *한국연초학회지* 15:137-143.
- 진정의 (1987) 황색종연초의 세균성마름병 저항성 유전과 육종방법에 따른 형질변이. *경상대 박사학위논문* 1-29.
- 田中行久 (1973) タバコの立枯病菌の生態および防除-最近の研究方向. *農園* 48:1333-1336, 1485-1490.
- 松田俊夫 (1977) タバコ立枯病抵抗性品種の育成に關する研究. *宇都宮試報* 15:1-95.
- 岡英人, 大橋雄司(1959) 立枯病抵抗性の品種間差異と品種育成. *秦野試報* 44:1-38.
- Clayton, E.E. and T.E. Smith (1942) Resistance of tobacco to bacterial wilt(*Bacterium Solanacearum*). *J. Agr.* 65:547-554.
- Gutierrez, M.E. and J.E. Figueroa (1967) Breeding tobacco for wilt resistance. *Philippine J. Pl. Ind.* 32:7-9.
- Kelman, A. (1954) The relationship of pathogenicity of *Pseudomonas Solanacearum* to colony appearance in a tetrazolium medium. *Phytopathology* 44:693-695.
- Matsuda, T. and Y. Ohashi, (1973) Inheritance of resistance to bacterial wilt disease in tobacco. I. Analysis of gene controlling the resistance in Japanese domestic cultivar. *Japan J. Breed* 23 ; 175-180.
- Nakamura, A. (1967) Fundamental studies on breeding tobacco varieties resistant to some of the major disease. *Hatano Tob. Expt. Str. Bull.* 59:3-13.
- Rowe, P.R. and L. Sequeira (1970) Inheritance of resistance to *Pseudomonas solanacearum* in solanum phureja. *Phytopathology* 60; 1499-1501.
- Schweppenhauser, M.A. (1966) Behaviour in Rhodesia of granville wilt resistance derived from tobacco Dixie Bright 102. *Proc. 4th Int. Tob. Sci. Congr. Athene.* 555-562.
- Smith, T.E., and E.E. Clayton (1948) Inheritance of resistance to bacterial wilt in tobacco. *Jour. Agr. Res.* 76:27-32.