

토마토 Cf-9 저항성 품종에 잎곰팡이병을 일으키는 *Fulvia fulva* 균주의 국내 발생

이지현¹ · 박명수¹ · 김진철¹ · 장경수¹ · 최용호¹ · 김홍태² · 최경자^{1*}

¹한국화학연구원 바이오화학연구센터, ²충북대학교 식물학과

Occurrence of Leaf Mold Pathogen *Fulvia fulva* Isolates Infecting Tomato Cf-9 Cultivars in Korea

Ji Hyun Lee¹, Myung Soo Park¹, Jin-Cheol Kim¹, Kyoung Soo Jang¹,
Yong Ho Choi¹, Heung Tae Kim², and Gyung Ja Choi^{1*}

¹Research Center for Biobased Chemistry, Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon 305-600, Korea
²Department of Plant Medicine, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

Abstract. Leaf mold symptoms were found on commercial tomato cultivars carrying the Cf-9, a resistance gene to leaf mold pathogen *Fulvia fulva* in 2012 at Buyeo, Chungnam in Korea. Fifteen-fungal isolates were obtained from four Cf-9 cultivars of tomato including 'Cutie', 'Dotaerangdia', 'Unicorn' and 'Rapito'. Due to their same morphological appearances and colony color, nine isolates were selected and identified as *F. fulva* based on molecular analysis of the internal transcribed spacer rDNA sequence. Pathogenicity of the 15 isolates on five commercial cultivars carrying Cf-4, Cf-5, and Cf-9 were tested. All the isolates showed strong pathogenicity on Cf-9 cultivars, 'Cutie' and 'Dotaerangdia', and Cf-5 cultivar, 'Yoyocaptain'. In contrast, on Cf-4 cultivar, 'Superdotaerang', five isolates were virulent and the other isolates were not. In addition, two fungal isolates, infecting Cf-9 cultivar and non-infecting Cf-4 cultivar, were selected and their pathogenicity was tested on 17 commercial cultivars reported as tomato having Cf-9 resistance gene. Among them, 15 cultivars were susceptible and 2 cultivars were resistant. It is likely that the two cultivars include other resistance gene. To our knowledge, this is the first report on the occurrence of Cf-9 infecting *F. fulva* strains in Korea.

Additional key words: Cf gene, *Cladosporium fulvum*, pathogenicity, race, tomato leaf mold

서 언

가지과 작물인 토마토(*Solanum lycopersicum*)는 중요한 농가 소득 작물 중 하나로서 생산량 증대와 품질 향상을 위해 시설재배가 꾸준히 증가하고 있는 작물이다(Kang et al., 2011). 최근 토마토의 시설재배가 증가함에 따라 노지 재배에서는 문제가 되지 않았던 잎곰팡이병이 심하게 발생하여 경제적으로 큰 피해를 주고 있어 그 중요도가 증가하고 있다. *Fulvia fulva*(syn. *Cladosporium fulvum*)에 의해 발생하는 잎곰팡이병은 시설재배와 같은 특수 환경에서 그리고

20-25°C의 비교적 낮은 온도에서 시설 내 상대습도가 높을 때 많이 발생하고, 일단 발생하면 급격히 퍼져 그 피해가 매우 심하게 된다(Kim, 1992). 토마토 잎곰팡이병을 방제하기 위한 방법으로는 주로 살균제 처리에 의한 화학적 방제가 널리 이용되어왔으나, 인축에 대한 독성 및 환경 오염 등에 대한 사회적 관심이 증가하고 친환경 농산물에 대한 수요가 증가함에 따라 잎곰팡이병을 방제하기 위해 저항성 토마토 품종을 재배하는 방법을 선호하고 있다.

F. fulva 저항성은 약 100년 전부터 Cf 저항성 유전자에 의해 결정된다고 보고되었으며(Lind, 1909; Norton, 1914), 이

*Corresponding author: kjchoi@kriict.re.kr

※ Received 23 January 2013; Revised 14 June 2013; Accepted 16 June 2013. 본 연구는 농림수산식품부 생명산업기술개발사업의 채소병리검정 지원사업단(과제번호: 609002-5호)의 지원에 의해 이루어진 것이다.

후 야생 토마토 근연종으로부터 *Cf* 저항성 유전자를 재배 품종에 도입해 왔다. 토마토 재배 품종에 도입된 *Cf* 저항성 유전자는 *Cf-2*, *Cf-4*, *Cf-5*, *Cf-6*, *Cf-9*, *Cf-11*이 있는데, *Cf-2*, *Cf-9*와 *Cf-11*는 *S. pimpinellifolium*부터, *Cf-5*는 *S. lycopersicum* var. *cerasiforme*로부터, 그리고 *Cf-4*는 *Lycopersicon habrochaites*로부터 도입되어 잎곰팡이병 저항성 품종을 육성하기 위하여 이용되고 있다(Enya et al., 2009; Takken et al., 1998). 다양한 야생 토마토로부터 얻은 저항성 유전자를 도입한 토마토는 이미 개발되어 상업적으로 판매되고 있다. 국내에서는 *Cf-4*와 *Cf-9* 저항성 품종이 주종을 이루고 있고 *Cf-5* 품종도 일부 개발되었으며, 저항성 품종의 육종 또한 지속적으로 이루어지고 있다(Kim et al., 2011).

1970년 말에 *F. fulva*에 의한 토마토 피해가 더 이상 크게 일어나지 않을 것이라 기대하며 *Cf-9* 저항성 유전자를 토마토 품종에 도입하였고(Thomma et al., 2005), 현재까지 상업적으로 판매되고 있는 많은 토마토 품종에 *Cf-9* 유전자가 이용되고 있으며, 국내에도 많은 *Cf-9* 토마토 품종이 재배되고 있다. 토마토 잎곰팡이병균 *F. fulva*의 race는 감염할 수 있는 *Cf* 저항성 유전자 이름을 열거하는 방법으로 race를 명명한다. 즉 *Cf-2*를 침해하는 균주는 race 2 그리고 *Cf-2*와 *Cf-4*를 감염하는 균주는 race 2.4이다. *Cf* 저항성 유전자가 도입된 토마토 품종이 포장에 재배됨에 따라 병원성이 다른 race를 가진 *F. fulva*의 발생이 뒤따르게 되어 다양한 race 분화가 지속적으로 보고되고 있다(Boukema, 1981; Day, 1954; Enya et al., 2009; Laterrot, 1986; Laterrot and Clerjeau, 1979; Laterrot et al., 1985; Lindhout et al., 1989). 일본에서는 Enya et al.(2009)이 기존 발견된 6개의 race(race 0, 2, 4, 2.4, 4.11, 2.4.11)와 *Cf-4*, *Cf-9*, *Cf-11*을 감염하는 2개의 새로운 race 4.9와 4.9.11을 보고하였으며, 뉴질랜드에서도 race 2.4.5.9를 발견함에 따라 이 잎곰팡이 병원균에 의해 *Cf-2*, *Cf-4*, *Cf-5*와 *Cf-9* 저항성 유전자가 극복되었다(Boukema, 1981). 그리고 프랑스에서는 race 2.4, race 2.5, race 2.5.9를 분리하였다고 보고하였으며(Laterrot, 1986; Laterrot and Clerjeau, 1979; Laterrot et al., 1985), 현재 유럽에서는 *Cf-6*을 제외한 모든 저항성 유전자를 침입하는 균주들이 보고되었다(Lindhout et al., 1989). 이와 같이 국외 여러 나라에서 *Cf-9* 유전자를 극복하는 race의 출현을 지속적으로 보고하고 있으나, 국내에서는 토마토 잎곰팡이병의 발생뿐만 아니라 병원균의 race에 대한 연구가 거의 없는 실정이다.

본 연구에서는 충청남도에 위치한 토마토 재배지에서 잎곰팡이병이 발생한 4개의 *Cf-9* 품종으로부터 토마토 잎을 채집하고, 병반으로부터 *F. fulva* 15개 균주를 분리하고 동정하였다. 그리고 이들의 병원성을 2개 *Cf-9* 품종뿐만 아니

라 *Cf-4*와 *Cf-5* 품종들에 대하여 실험하였으며, 이들 중 *Cf-9* 품종은 감염하나 *Cf-4* 품종은 감염하지 못하는 2개 균주를 선발하여 *Cf-9* 품종으로 보고된(Kim et al., 2011) 17개 토마토 품종의 이들 균주에 대한 저항성을 조사하였다.

재료 및 방법

균주 분리

2012년 충남 부여군 일대에서 *Cf-9* 저항성 토마토 품종 ‘큐티’, ‘도태랑다이아’, ‘유니콘’ 및 ‘라피토’에 잎곰팡이병이 심하게 발생하여 잎곰팡이 병징을 보이는 토마토 잎을 채집하였다. 각 품종의 토마토 잎 뒷면에는 황갈색 혹은 갈색의 원형 내지 부정형의 병반 위에 토마토 잎곰팡이병 병원균의 전형적인 포자가 형성되어 있었으며, 이로부터 다음과 같은 방법으로 단포자 분리를 하였다. 병반의 포자를 백금으로 긁어내어 1.5% water agar(Junsei Chemical Co.) 배지에 희석도말한 후에 광학현미경 하에서 배지 위에 있는 단일 포자를 떼어내어 potato dextrose agar(PDA; Becton, Dickinson and Co.) 배지에 올려 놓고 25°C에서 배양하였다.

균주 동정

분리한 15개 균주들은 균총의 색과 모양 그리고 광학현미경 하에서 관찰하였을 때 포자의 색, 크기, 모양 등이 거의 동일하였다. 따라서 15개 균주 중에서 분리한 품종을 고려하여 9개를 선발하고 이들의 genomic DNA를 분리하여 PCR 증폭하고 염기서열 분석을 통하여 균주를 동정하였다. 선발한 9개 균주를 PDA 배지에 접종하고 25°C에서 10일 동안 전배양한 균총으로부터 균사조각을 떼어 potato dextrose broth(PDB; Becton, Dickinson and Co.) 배지에 접종하고 25°C에서 18일 동안 정치 배양을 한 후에 균사체를 수확하였다.

균사체를 동결 건조하고 1.5mL tube에 넣고 마쇄한 뒤 Park et al.(2005)의 방법에 따라 genomic DNA 분리와 ITS 영역의 Polymerase chain reaction(PCR) 증폭을 수행하였다. 마쇄된 균사체를 STES buffer(500mM NaCl, 200mM Tris-HCl(pH 7.6), 10mM EDTA, 1% SDS)와 혼합하고 phenol/chloroform/isoamyl alcohol(25:24:1) extraction 처리 후 ethanol로 genomic DNA를 침전시켰으며, 분리한 DNA는 -20°C에 보관하면서 실험에 사용하였다. PCR은 15ng의 genomic DNA, 10pmol의 ITS5(5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3')와 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') primer(White et al., 1990), 10mM Tris-HCl, 40mM KCl, 1.5mM MgCl₂, 250μM dNTP, 2.5units의 *Taq* DNA polymerase(Bioneer, Korea)에

H₂O를 첨가하여 최종 50μL의 반응액을 만들어 94°C에서 3분간 initial denaturation을 실시한 후에 denaturation 96°C/40초, annealing 55°C/40초, extention 72°C/60초로 30 cycle을 수행하고 final extension 72°C에서 15분간 실시하였다.

PCR 산물은 PCR quick-spin PCR product purification kit (iNtRON BioTechnology, Korea)로 정제하고 ABI Prism[®] Big Dye terminator cycle sequencing kits(Applied Biosystems, USA)로 반응 후 ITS5/4 primer를 이용하여 PTC-225 peltier thermal cycler(MJ research, USA)로 염기서열을 결정하였다. 그리고 이 염기서열을 BLAST search에 의해 GenBank에 등록된 ITS 영역의 염기서열과 비교하였다(Fig. 1). GenBank accession no.는 Fig. 1의 균주 이름 다음의 괄호 안에 표기하였다. 토마토에서 분리한 균주와 GenBank로부터 얻은 염기서열은 CLUSTAL X(Thompson et al., 1997)와 PHYDIT program version 3.0(Chun, 1995)을 이용하여 분석하였다. Neighbor-joining tree는 PHYLIP 3.57c package(Felsenstein,

1985)의 Kimura's 2-parameter distance model(Kimura, 1980)를 이용하여 작성하였다.

식물 재배

분리한 균주들의 병원성을 검정하기 위하여 감수성 품종인 '서광'(몬산토코리아)과 *Cf-4* 품종인 '슈퍼도태랑'(코레곤종묘), *Cf-5* 품종인 '요요캡틴'(고농종묘) 그리고 *Cf-9* 품종인 '큐티'(다끼이종묘)와 '도태랑다이아'(다끼이종묘) 총 5개 품종의 토마토 종자를 각각 6 × 12 육묘용 연결포트(40mL/pot, 범농사)에 월예용 상토(쑥쑥이, 농우바이오)를 넣고 파종하였다. 그리고 온실(25 ± 5°C)에서 2주일 동안 재배한 후에 플라스틱 포트(직경 6.5cm, 토양 180mL)로 토마토 유묘를 이식하고 약 2주일 동안 더 재배하여 본엽 3엽이 완전히 전개된 4-5엽기의 토마토 유묘를 실험에 사용하였다.

그리고 분리한 *F. fulva* 균주에 대한 시판 중인 *Cf-9* 저항

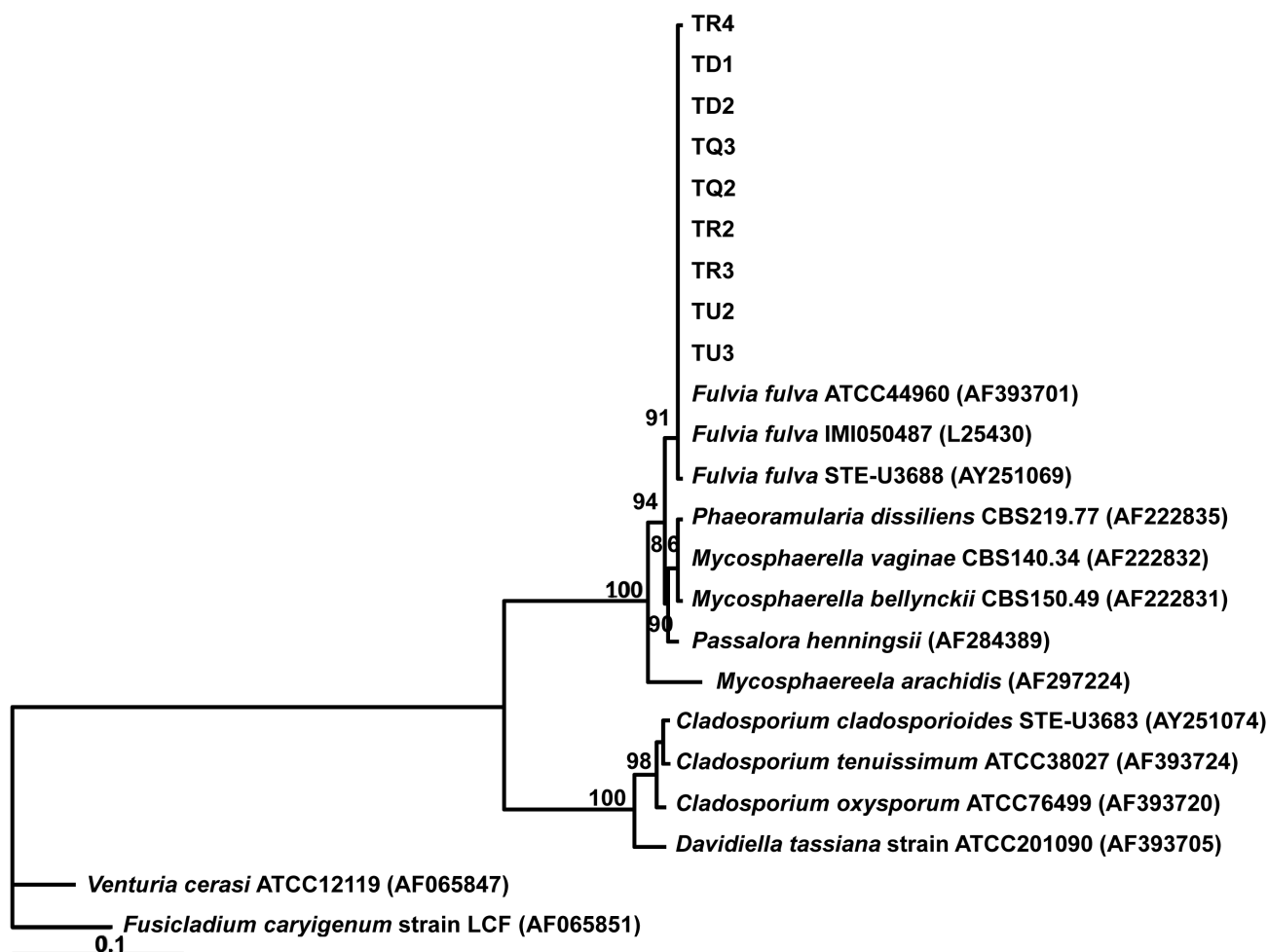


Fig. 1. Neighbor-joining tree based on ITS sequences showing relationships among *Fulvia fulva* (= *Cladosporium fulvum*) isolated from tomato and closely related species. The values above each branch indicate the percentage levels of bootstrap support (> 50%) for the branch point based on 1000 resamplings. The bar represents 0.1 substitutions per nucleotide position. () is GenBank accession number.

성 품종들의 저항성을 조사하기 위하여, Kim et al.(2011)이 ‘토마토 품종 2011’에서 *Cf-9* 저항성 품종으로 보고한 토마토 17개 품종(‘큐티’, ‘도태랑골드’, ‘도태랑마스터’, ‘도태랑다이아’, ‘포세이돈’, ‘유니콘’, ‘롱런’, ‘제우스42’, ‘조이풀’, ‘호용’, ‘토사마’, ‘마이로꾸’, ‘슈퍼선로드’, ‘하드랑’, ‘키스꿀’, ‘미니찰미니’, ‘큐피랑’)을 시중에서 구입하여 감수성 대조 품종인 ‘서광’과 함께 앞에서와 동일한 방법으로 파종하고 재배하여 실험에 사용하였다.

접종원 준비

분리한 균주들의 시판 중인 *Cf-4*, *Cf-5* 및 *Cf-9* 저항성 품종에 대한 병원성은 분리한 *F. fulva* 15개 균주 모두를 사용하였으며, 시판 중인 17개의 품종에 대한 병원성은 2개 균주 (TQ-3와 TR-4)를 선발하여 실험하였다. 그리고 모든 병원성 실험에는 한국농업미생물자원센터(KACC)로부터 분양 받은 KACC 46044(race 2.4)를 대조 균주로 포함하였다. *F. fulva* 균주들은 PDA 배지에 접종하고 25°C에서 3주일 동안 배양하여 포자를 형성하였다. 형성된 포자를 수확하기 위하여 배양한 균주의 균층에 멸균한 PDB 용액(5배 희석액)을 넣고 멸균한 붓으로 긁어준 후에 4겹의 거즈로 걸러 균사를 제거하여 포자 현탁액을 준비하였다. 접종원의 포자 농도를 광학현미경 하에서 혈구측정기를 이용하여 측정하고 $1-5 \times 10^5$ conidia·mL⁻¹의 농도가 되도록 멸균한 PDB 용액(5배 희석액)으로 희석하였다.

병원균 접종 및 병 조사

온실에서 재배한 4-5엽기의 토마토 유묘에 준비한 *F. fulva*의 포자 현탁액을 흘러내리기 직전까지 충분히 분무하여 접종하였다. 접종한 토마토 유묘는 25°C 습실상에서 48시간 동안 배양한 후 25°C, 상대습도 80%의 항온항습실로 이동하여 하루 12시간씩 광을 처리하며 재배하였다. 접종 18-28일 후에 감수성 대조 품종인 ‘서광’에서 잎곰팡이병이 충분히 발생하면 각 토마토 유묘의 본엽 1엽부터 3엽까지의 잎면적 중 잎곰팡이병 병징이 나타난 비율인 병반면적율(%)을 달관조사 하였다. 모든 실험은 처리당 토마토 유묘 3개씩을 사용하여 2회 실시하였으며, 평균 병반면적율이 10% 이하이면 저항성으로, 10% 초과한 경우에는 감수성으로 결정하였다.

결과 및 고찰

균주 분리 및 동정

2012년 충남 부여군 일대에서 잎 뒷면에 황갈색 내지 갈

Table 1. List of *Fulvia fulva* isolated from *Solanum lycopersicum* cultivars collected in 2012.

Host	Isolate
<i>S. lycopersicum</i> cv. dotaerangdia	TD-1, TD-2, TD-3, TD-4
<i>S. lycopersicum</i> cv. cutie	TQ-1, TQ-2, TQ-3, TQ-4
<i>S. lycopersicum</i> cv. rapito	TR-2, TR-3, TR-4
<i>S. lycopersicum</i> cv. unicorn	TU-1, TU-2, TU-3, TU-4

색의 전형적인 토마토 잎곰팡이병 병징을 보이는 *Cf-9* 저항성 토마토 4개 품종(‘큐티’, ‘도태랑다이아’, ‘유니콘’, ‘라피토’)의 잎을 채집하여 광학현미경 하에서 단포자 분리를 수행하여 총 15개 균주를 분리하였다. ‘큐티’, ‘도태랑다이아’ 및 ‘유니콘’ 품종으로부터 각각 4개 균주씩 그리고 ‘라피토’ 품종으로부터 3개 균주가 분리되었다. 4개의 *Cf-9* 토마토 품종으로부터 분리한 토마토 잎곰팡이병균 15개 균주는 Table 1과 같다.

분리한 균주들의 포자의 크기 및 형태 그리고 PDA 배지에서의 균층의 모양 및 색이 거의 같아서 모두 동일한 병원균으로 생각되었다(Holliday and Mulder, 1976). 따라서 분리한 15개의 균주 중 품종을 고려하여 9개 균주를 선발하고 이들의 ITS 영역의 ITS5/4 염기서열을 분석한 결과, 9개 균주는 모두 100% 동일한 염기서열을 가졌으며 이들 중 TQ-3 균주의 염기서열을 Genbank에 등록하였다(Genbank accession no. KC999875). 분리한 9개 균주의 ITS 염기서열은 GenBank에 등록된 *F. fulva* 3개 균주를 포함하여 총 14개 균주의 ITS 염기서열과의 유연관계 분석을 수행하기 위하여, 이들 균주의 ITS 영역 염기서열 상동성 비교를 통해 작성된 phylogenetic tree에서 실험한 9개 균주 모두는 *F. fulva*(= *Cladosporium fulvum*)와 동일한 그룹을 형성하였다(Fig. 1). 따라서 *Cf-9* 저항성 토마토 품종으로부터 분리한 균주들은 모두 *F. fulva*로 동정되었다.

분리 균주의 *Cf-4*, *Cf-5* 및 *Cf-9* 품종에 대한 병원성

국내에는 잎곰팡이병에 대한 저항성을 위해 저항성 유전자 *Cf-4*, *Cf-5* 및 *Cf-9*를 포함하는 토마토 품종들이 판매되고 있다. 분리한 15개 균주의 *Cf-4*, *Cf-5* 및 *Cf-9* 저항성 품종에 대한 병원성을 *Cf-9* 품종은 ‘큐티’와 ‘도태랑다이아’, *Cf-4* 품종은 ‘슈퍼도태랑’ 그리고 *Cf-5* 품종은 ‘요요캡틴’을 사용하여 실험한 결과, 분리한 15개 균주는 모두 *Cf-9* 품종인 ‘도태랑다이아’와 ‘큐티’에 강한 병원성을 나타내었으나, *Cf-4* 저항성 품종인 ‘슈퍼도태랑’은 분리한 균주 중 5개에 대해서는 감수성을 그리고 10개 균주에는 저항성을 보였다(Table 2). 한편 *Cf-5* 저항성 품종인 ‘요요캡틴’에는 15개 균

Table 2. Pathogenicity of *Fulvia fulva* isolates on five tomato cultivars carrying diverse *F. fulva* resistance genes such as *Cf-4*, *Cf-5*, and *Cf-9*^z.

Isolate	Tomato cultivar									
	Seogwang (-)		Superdotaerang (<i>Cf-4</i>)		Yoyocaptain (<i>Cf-5</i>)		Cutie (<i>Cf-9</i>)		Dotaerangdia (<i>Cf-9</i>)	
TD-1	65 ± 8.7 ^y	S ^x	6.7 ± 2.9	R	55 ± 0.0	S	98 ± 2.9	S	100 ± 0.0	S
TD-2	85 ± 8.7	S	0.0 ± 0.0	R	95 ± 5.0	S	98 ± 2.9	S	100 ± 0.0	S
TD-3	43 ± 31	S	22 ± 12	S	38 ± 34	S	47 ± 14	S	70 ± 20	S
TD-4	97 ± 5.8	S	0.0 ± 0.0	R	75 ± 22	S	77 ± 2.9	S	98 ± 2.9	S
TQ-1	68 ± 10	S	50 ± 44	S	67 ± 5.8	S	25 ± 15	S	48 ± 13	S
TQ-2	73 ± 15	S	0.0 ± 0.0	R	75 ± 13	S	95 ± 5.0	S	92 ± 7.6	S
TQ-3	88 ± 2.9	S	10 ± 8.7	R	67 ± 7.6	S	97 ± 2.9	S	97 ± 5.8	S
TQ-4	95 ± 5.0	S	5.0 ± 7.1	R	70 ± 5.0	S	80 ± 5.0	S	77 ± 12	S
TR-2	77 ± 12	S	70 ± 23	S	57 ± 5.8	S	82 ± 7.6	S	82 ± 10	S
TR-3	52 ± 5.8	S	53 ± 13	S	52 ± 5.8	S	55 ± 10	S	78 ± 20	S
TR-4	87 ± 2.9	S	0.0 ± 0.0	R	53 ± 20	S	80 ± 26	S	68 ± 7.6	S
TU-1	97 ± 5.8	S	0.0 ± 0.0	R	100 ± 0.0	S	98 ± 2.9	S	97 ± 5.8	S
TU-2	80 ± 13	S	10 ± 7.1	R	57 ± 10	S	73 ± 16	S	87 ± 14	S
TU-3	80 ± 8.7	S	85 ± 22	S	68 ± 12	S	78 ± 15	S	88 ± 10	S
TU-4	90 ± 13	S	0.0 ± 0.0	R	85 ± 5.0	S	97 ± 2.9	S	95 ± 5.0	S
KACC 46044	100 ± 0.0	S	100 ± 0.0	S	0.0 ± 0.0	R	3.3 ± 2.9	R	0.0 ± 0.0	R

^zSeeds of tomato cultivar were sown in 5 × 8 plastic cell tray and grown in a greenhouse at 25 ± 5°C. Seedlings of tomato at four to five leaf stage were inoculated with each *F. fulva* isolate (1-5 × 10⁵ conidia·mL⁻¹). The infected plants were incubated in humidity chamber at 25°C for 48 hours and then transferred to a growth chamber at 25°C and 80% RH with 12-hour light a day. Disease severity of the plant was measured using percentage of infected leaf area 18 to 28 days after inoculation.

^yEach value represents the mean disease severity ± standard deviation of two runs with three replicates each.

^xS, susceptible; R, resistant.

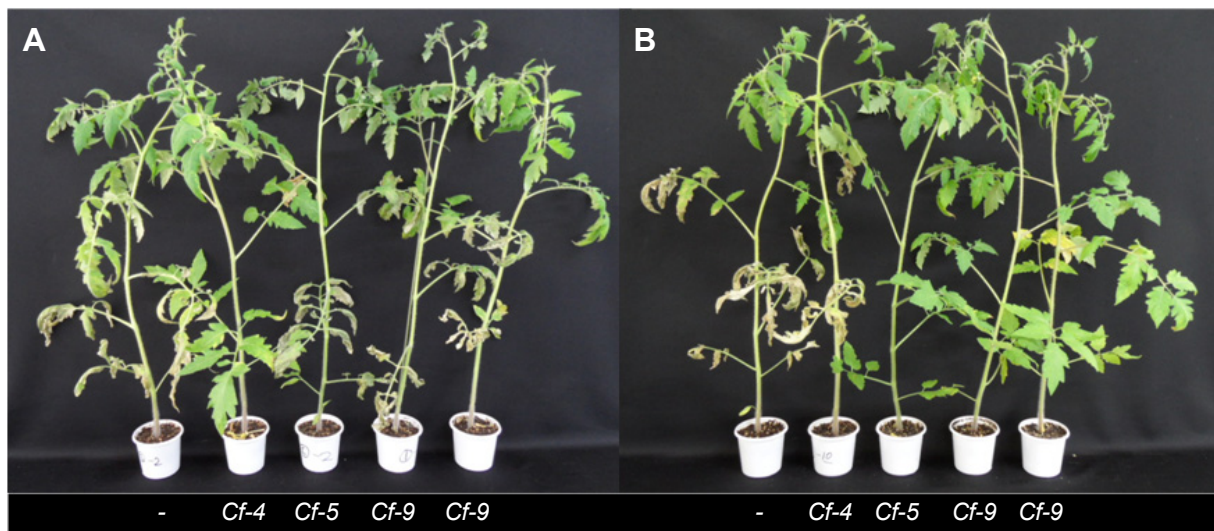


Fig. 2. Leaf mold development on seedlings of tomato cultivar carrying a resistance gene such as *Cf-4*, *Cf-5*, and *Cf-9*. A, *F. fulva* TQ-4; B, *F. fulva* KACC 46044 (race 2.4); -, 'Seogwang'; *Cf-4*, 'Superdotaerang'; *Cf-5*, 'Yoyocaptain'; *Cf-9*, 'Cutie' and 'Dotaerangdia'.

주 모두가 높은 병원성을 보였다. 따라서 분리한 균주 중 약 33%는 *Cf-4*, *Cf-5* 및 *Cf-9* 품종 모두에 병원성을 가지나, 약 67%는 *Cf-5*와 *Cf-9* 품종은 가해할 수 있으나 *Cf-4* 품종에는 병원성을 나타내지 못하는 것을 알 수 있었다(Table 2

and Fig. 2).

Cf-9 품종의 잎곰팡이병 저항성을 극복하는 새로운 race는 일본, 네덜란드, 폴란드 등의 세계 각국에서도 지속적으로 보고되고 있으나(Enya et al., 2009; Laterrot, 1986; Lindhout

et al., 1989), 국내에서는 아직 보고된 바 없다. 따라서 본 연구에서, 국내에서 저항성 육종에 *Cf* 저항성 유전자로 가장 많이 이용 중인 *Cf-9*을 도입한 토마토 품종에 잎곰팡이병을 일으키는 새로운 race의 *F. fulva* 균주가 국내에도 발생하였음을 처음으로 보고하고자 한다. 그리고 국내 다양한 race를 가진 균주들이 존재하고 있을 가능성이 있으므로 보다 효율적인 저항성 품종 육성 및 이용을 위하여 앞으로 국내에 분포하고 있는 *F. fulva*의 race 종류 및 분포 비율 등에 대한 연구가 필요하다.

그리고 *Cf-4*, *Cf-5* 및 *Cf-9* 저항성 품종을 침해하는 균주들은 이들 품종에서 감수성 대조 품종과 거의 동일한 정도의 병반면적율을 나타내었다(Table 2). 즉 양적 저항성과 달리 저항성 품종을 감염할 수 있는 *F. fulva* 균주는 마치 저항성 유전자가 없는 것과 같이 병 저항성 토마토에 잎곰팡이병을 일으키는 것을 알 수 있었다. 이는 토마토의 *F. fulva*에 대한 저항성은 *Phytophthora capsici*에 대한 고추의 역병 저항성과 달리 gene-for-gene 이론을 따르는 질적 저항성이기 때문이라 생각되었다(van den Ackerveken et al., 1992; van Kan et al., 1991).

시판 중인 17개 토마토 품종에 대한 병원성

분리한 *F. fulva* 15개 균주 중 *Cf-9* 품종에는 잎곰팡이병을 일으키나 *Cf-4* 품종은 감염하지 못하는 *F. fulva* 2개 균주(TQ-3와 TR-4)를 선발하여 이들에 대한 *Cf-9* 저항성 품종으로 보고된(Kim et al., 2011) 토마토 17개 품종의 저항성 차이를 실험한 결과, 두 균주 모두에 대해 15개 품종들은 감수성 대조 품종인 ‘서광’과 유사한 정도의 높은 감수성을 보였다(Table 3). 그리고 이들 15개 품종들은 *Cf-9* 품종을 감염하는 두 균주에 의해 품종 간에 큰 차이가 없이 거의 동일하게 저항성이 무너짐을 알 수 있었다(Table 3). 그러므로 이들 15개 토마토 품종들은 잎곰팡이병 저항성을 위해 *Cf-9*만을 가지는 품종으로 생각되었다. 이것은 *Cf-9* 특이적인 분자마커를 이용하여 확인할 필요가 있다.

실험한 17개 품종들은 대조 균주인 KACC 46044(race 2.4)에 대하여 높은 저항성을 나타내었다. 그러므로 실험한 17개 품종들은 *Cf-2*와 *Cf-4* 저항성 유전자를 단독으로 혹은 동시에 포함하고 있지 않다는 것을 알 수 있었다. 한편 실험한 17개 품종 중 ‘호용’과 ‘슈퍼선로드’ 두 품종은 두 균주 모두에 대해 저항성을 나타냈다(Table 3). Kim et al.(2011)

Table 3. Resistance degree of the 18 commercial tomato cultivars to three isolates of *Fulvia fulva*^z.

Cultivar	Resistance gene ^y	Isolate					
		TQ-3		TR-4		KACC 46044	
Cutie	<i>Cf-9</i>	32 ± 15 ^x	S ^w	67 ± 7.6	S	0.0 ± 0.0	R
Dotaeranggold	<i>Cf-9</i>	50 ± 13	S	70 ± 5.0	S	0.0 ± 0.0	R
Dotaerangmaster	<i>Cf-9</i>	43 ± 18	S	82 ± 13	S	0.0 ± 0.0	R
Dotaerangdia	<i>Cf-9</i>	45 ± 5.0	S	58 ± 7.6	S	0.0 ± 0.0	R
Poseidon	<i>Cf-9</i>	31 ± 16	S	62 ± 16	S	0.0 ± 0.0	R
Unicorn	<i>Cf-9</i>	27 ± 2.9	S	48 ± 10	S	0.0 ± 0.0	R
Longrun	<i>Cf-9</i>	25 ± 5.0	S	52 ± 5.8	S	0.0 ± 0.0	R
Zeus42	<i>Cf-9</i>	45 ± 5.0	S	68 ± 33	S	0.0 ± 0.0	R
Joyful	<i>Cf-9</i>	43 ± 2.9	S	52 ± 7.6	S	0.0 ± 0.0	R
Hoyong	<i>Cf-9</i>	0.0 ± 0.0	R	0.0 ± 0.0	R	0.0 ± 0.0	R
Tosama	<i>Cf-9</i>	60 ± 5.0	S	58 ± 18	S	0.0 ± 0.0	R
Myroggu	<i>Cf-9</i>	25 ± 13	S	53 ± 13	S	0.0 ± 0.0	R
Supersunload	<i>Cf-9</i>	1.7 ± 2.9	R	0.0 ± 0.0	R	0.0 ± 0.0	R
Hardrang	<i>Cf-9</i>	28 ± 12	S	28 ± 16	S	0.0 ± 0.0	R
Kisggul	<i>Cf-9</i>	47 ± 2.9	S	55 ± 17	S	0.0 ± 0.0	R
Minichalmini	<i>Cf-9</i>	42 ± 2.9	S	55 ± 8.7	S	0.0 ± 0.0	R
Kewpierang	<i>Cf-9</i>	27 ± 2.9	S	53 ± 28	S	0.0 ± 0.0	R
Seogwang	-	40 ± 10	S	45 ± 10	S	37 ± 5.0	S

^zSeeds of tomato cultivar were sown in 5 × 8 plastic cell tray and grown in a greenhouse at 25 ± 5°C. Seedlings of tomato at four to five leaf stage were inoculated with each *F. fulva* isolate (1-5 × 10⁵ conidia·mL⁻¹). The infected plants were incubated in humidity chamber at 25°C for 48 hours and then transferred to a growth chamber at 25°C and 80% RH with 12-hour light a day. Disease severity of the plant was measured using percentage of infected leaf area 18 to 28 days after inoculation.

^yResistance gene of each cultivar to *F. fulva* was reported by Kim et al. (2011).

^xEach value represents the mean disease severity ± standard deviation of two runs with three replicates each.

^wS, susceptible; R, resistant.

은 ‘호용’과 ‘슈퍼선로드’ 두 품종에 *Cf-9* 저항성 유전자가 포함되어 있다고 보고하였으나, 두 품종은 실험한 TQ-3, TR-4 및 KACC 46044 균주 모두에 대해 저항성을 보였으므로 두 품종은 *Cf-2*, *Cf-4*, *Cf-5* 및 *Cf-9*을 제외한 다른 잎곰팡이병 저항성 유전자를 포함하고 있거나, 이들 품종에 2개 이상의 *Cf* 저항성 유전자가 도입되어 있다고 생각되었다(Tables 2, 3). 개발된 대부분의 토마토 품종들은 하나의 저항성 유전자만을 포함하고 있는데, 이는 여러 개의 병원성 유전자를 가질 수 있는 *F. fulva*의 race에는 효과적이지 않다(Lindhout et al., 1989). 따라서 저항성 유전자를 한 개 도입하는 것보다 여러 개를 도입하였을 때 새로 도입된 유전자에 병원성을 보이는 race의 발생을 지연시킬 수 있다(Laterrot, 1981). 따라서 이를 위한 저항성 품종 개발이 지속적으로 시도되고 있다(Enya et al., 2009; Thomas et al., 1998).

그리고 Enya et al.(2009)은 화학적 방제를 하지 않은 지역에서 *Cf-9* 병원성 *F. fulva*가 발견된 것이 화학적 방제제를 사용하지 않음에 따라 더 빠르고 쉽게 새로운 race가 가속화되어 진화하였다고 보고 빠른 병원균의 진화에 대비하여 화학적, 경종적 방제와 저항성 토마토 품종이 조합된 체계적인 경작 방법이 발전되어야 한다고 하였다. 우리나라도 현재 상업적으로 많이 이용되고 있는 *Cf-9* 저항성 유전자를 극복하는 잎곰팡이 병원균 race가 포장에 존재하는 것으로 확인됨에 따라 토마토 잎곰팡이병 방제를 위한 종합적 방제 체계 구축이 필요하리라 생각된다.

초 록

2012년 충남 부여에서 *Fulvia fulva* 저항성 유전자 *Cf-9*를 가지고 있는 토마토 품종(‘큐티’, ‘도태랑다이아’, ‘유니콘’, ‘라피토’)에서 잎곰팡이병이 크게 발생하였다. 이들 4개 *Cf-9* 토마토 품종으로부터 총 15개 균주를 분리하였다. 이들은 모두 형태적 특성이 같았으므로 이들 중 9개 균주를 선발하여 ITS rDNA 염기서열을 분석하여 동정한 결과, 모든 균주는 *F. fulva*임을 알 수 있었다. *Cf-4*, *Cf-5* 그리고 *Cf-9* 저항성 품종에 대한 분리한 15개 균주의 병원성을 검정하였다. 모든 균주들은 *Cf-9* 품종인 ‘큐티’와 ‘슈퍼도태랑’ 그리고 *Cf-5* 품종 ‘요요캡틴’에서 강한 병원성을 나타냈다. 반면에 *Cf-4* 품종인 ‘슈퍼도태랑’에서는 5개의 균주만이 병원성을 나타내었고, 나머지 균주들에 대해서 이 품종은 저항성을 보였다. 그리고 *Cf-9* 품종에는 감수성을 그리고 *Cf-4* 품종엔 저항성을 나타내는 두 균주를 선발하여 *Cf-9* 품종으로 보고된 시판 중인 토마토 17개 품종에 대한 이들의 병원성을 조사하였다. 이들 중 15개 품종은 감수성을, 그리고 2개 품종

은 저항성을 보였다. 이는 저항성 두 품종이 다른 저항성 유전자를 가지고 있기 때문으로 생각되었다. 본 논문은 우리나라에서 *Cf-9* 토마토 품종에 잎곰팡이병을 일으키는 *F. fulva* 균주의 발생을 처음으로 보고하는 것이다.

추가 주요어 : *Cf* gene, *Cladosporium fulvum*, 병원성, 레이스, 토마토 잎곰팡이병

인용문헌

- Boukema, I.W. 1981. Races of *Cladosporium fulvum* Cooke (*Fulvia fulva*) and genes for resistance in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Eucarpia Tomato Mtg. Avignon, France p. 287-292.
- Chun, J. 1995. Computer-assisted classification and identification of Actinomycetes. Ph.D. thesis., University of Newcastle, Newcastle upon Tyne, UK.
- Day, P.R. 1954. Physiologic specialization of *Cladosporium fulvum* in England and Wales. Plant Path. 3:35-39.
- Enya, J., K. Ikeda, T. Takeuchi, N. Horikoshi, T. Higashi, T. Sakai, Y. Iida, K. Nishi, and M. Kubota. 2009. The first occurrence of leaf mold of tomato caused by races 4.9 and 4.9.11 of *Passalora fulva* (syn. *Fulvia fulva*) in Japan. J. Gen. Plant Pathol. 75:76-79.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. Evolution 39:783-791.
- Holliday, P. and J.L. Mulder. 1976. *Fulvia fulva*: CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria No. 487. CMI, Kew, Surrey, UK.
- Kang, B.R., S.J. Ko, D.I. Kim, D.S. Choi, and S.G. Kim. 2011. Determination of proper application timing and frequency for management of tomato leaf mold disease by commercially available microbial preparations. Res. Plant Dis. 17:142-147.
- Kim, C.H. 1992. Vegetable products disease control focus research (7) tomato. Agrochem. Plant Protec. 13:80-88.
- Kim, Y.S., K.S. Park, S.H. Yu and M.H. Lee. 2011. Species of tomato 2011. Center for Tomato Research and Service (CTRS), Cheonan, Korea.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitution through comparative studies of nucleotide sequence. J. Mol. Evol. 16:111-120.
- Laterrot, H. 1981. First results of the study of the effectiveness against *Cladosporium fulvum* 24 new origins resistant tomato. Eucarpia Tomato Mtg., Avignon, France p. 293-298.
- Laterrot, H. 1986. Race 2.5.9, a new race of *Cladosporium fulvum* (*Fulvia fulva*) and sources of resistance in tomato. Neth. J. Pl. Path. 92:305-307.
- Laterrot, H. and M. Clerjeau. 1979. Determination of *Fulvia fulva* (= *Cladosporium fulvum*) pathotypes existing on tomato in French glasshouses. Ann. Amelior. Plantes 29:447-462.
- Laterrot, H., M. Gerlagh, A. Ester, and L. Stamova. 1985. Race 2.5, a new race of *Cladosporium fulvum* (*Fulvia fulva*) on tomato. Neth. J. Pl. Path. 91:45-47.
- Lind, J. 1909. Tomato varieties are not affected by the disease

- of tomato leaf mold. *Gardner Tidende*. 25:201.
- Lindhout, P., W. Korta, M. Cislik, I. Vos, and T. Gerlagh. 1989. Further identification of races of *Cladosporium fulvum* (*Fulvia fulva*) on tomato originating from the Netherlands, France and Poland. *Neth. J. Pl. Path.* 95:143-148.
- Norton, J. 1914. Resistance to *Cladosporium fulvum* in tomato varieties. *Phytopathology* 4:398.
- Park, M.S., G.S. Seo, K.S. Bae, and S.H. Yu. 2005. Characterization of *Trichoderma* spp. associated with green mold of oyster mushroom by PCR-RFLP and sequence analysis of ITS regions of rDNA. *Plant Pathology J.* 21:229-236.
- Takken, F.L.W., D. Schipper, H.J.J. Nijkamp, and J. Hille. 1998. Identification and *Ds*-tagged isolation of a new gene at the *Cf-4* locus of tomato involved in disease resistance to *Cladosporium fulvum* race 5. *Plant J.* 14:401-411.
- Thomas, C.M., M.S. Dixon, M. Parniske, C. Golstein, and J.D.G. Jones. 1998. Genetic and molecular analysis of tomato *Cf* genes for resistance to *Cladosporium fulvum*. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 353:1413-1424.
- Thomma, B.P.H.J., H.P. van Essee, P.W. Crous, and P.J.G.M. de Wit. 2005. *Cladosporium fulvum* (syn. *Passalora fulva*), a highly specialized plant pathogen as a model for functional studies on plant pathogenic Mycosphaerellaceae. *Mol. Plant Pathol.* 6:379-393.
- Thompson, J.D., T.J. Gibson, F. Plewniak, F. Jeanmougin, and D.G. Higgins. 1997. The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res.* 24:4876-4882.
- van den Ackerveken, G.F.J.M., J.A.L. van Kan, and P.J.G.M. de Wit. 1992. Molecular analysis of the avirulence gene *avr9* of the fungal tomato pathogen *Cladosporium fulvum* fully supports the gene-for-gene hypothesis. *Plant J.* 2:359-366.
- van Kan, J.A.L., G.F.J.M. van den Ackerveken, and P.J.G.M. de Wit. 1991. Cloning and characterization of cDNA of avirulence gene *avr9* of the fungal pathogen *Cladosporium fulvum*, causal agent of tomato leaf mold. *Mol. Plant Microbe Interact.* 4:52-59.