

## 칼라의 무름병 저항성 품종 선발을 위한 검정 방법 개발

정향영<sup>1</sup> · 최목필<sup>1</sup> · 한경숙<sup>2</sup> · 김 수<sup>3</sup> · 구대회<sup>1</sup> · 강운임<sup>1</sup> · 최윤정<sup>1</sup> · 박상근<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>국립원예특작과학원 화훼과, <sup>2</sup>국립원예특작과학원 원예특작환경과, <sup>3</sup>국립원예특작과학원 채소과

### A New Screening Method for the Selection of Calla Lily *Zantedeschia aethiopica* Cultivars Resistant to Calla Lily Soft Rot

Hyang Young Joung<sup>1</sup>, Mok Pil Choi<sup>1</sup>, Kyung Sook Han<sup>2</sup>, Su Kim<sup>3</sup>, Dae Hoe Goo<sup>1</sup>, Yun Im Kang<sup>1</sup>, Youn Jung Choi<sup>1</sup>, and Sang Kun Park<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Floriculture Research Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science, Suwon 441-440, Korea

<sup>2</sup>Horticultural and Herbal Crop Environment Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science, Suwon 441-440, Korea

<sup>3</sup>Vegetable Research Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science, Suwon 440-706, Korea

**Abstract.** This experiment was carried out to establish the screening methods for the selection of *Zantedeschia aethiopica* cultivars resistant to calla lily soft rot caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. A center of leaf and petiole tissues of four *Z. aethiopica* cultivars were wounded and inoculated with three different inoculum concentrations,  $1 \times 10^7$  cfu/mL,  $1 \times 10^8$  cfu/mL, and  $1 \times 10^9$  cfu/mL, of EccNHRI-21 isolate. And they were evaluated at 4, 18, and 26 hours after inoculation. The lesion of maceration was developed well in the leaf tissues inoculated with  $1 \times 10^9$  cfu/mL concentration. And evaluation of resistance in 18 hours after inoculation was correlated with field resistance positively. Using this method, ten *Z. aethiopica* commercial cultivars and four wild types were screened. ‘Crowbrough’ and ‘White Cutie’ were selected as highly resistant genotypes and ‘Mont Blanc’ and ‘Silky White’ as resistant genotypes. ‘Wedding March’ and ‘Kiwi Blush’ were evaluated as moderate resistant and the others including ‘Childsiana’ were susceptible. And all of four wild types were evaluated as more than moderate resistant. In spite of control through cultural, biological and chemical methods, the use of resistant cultivars is most efficient to overcome calla lily soft rot. This newly developed screening method was helpful for breeding new varieties resistant to calla lily soft rot.

**Additional key words:** disease control, inoculation method, *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*, resistance breeding

## 서 언

칼라(*Zantedeschia* spp.)는 나리, 프리지아, 글라디올러스와 함께 국내에서 재배되는 주요 구근화훼 작물 가운데 하나로, 절화 및 분화 등으로 많이 이용된다. 특히 절화용 칼라는 호텔 등에서 장식용으로 이용되는 고급 절화로 취급되면서, 2011년도 양재동 화훼공영도매시장의 평균거래가가 6,700원/속에 달하는 등 농가의 주요 소득 작목으로 각광받고 있다. 그러나 우리나라에서는 여름철에 비가 많고 온도가 높아 무름병 발생이 심해 노지재배가 불가능하여 주

로 시설 내에서만 재배하여 왔으나, 최근 들어서는 연작으로 인한 무름병 피해가 크게 증가하여 2002년 26ha에 이르던 재배면적이 2008년에는 8.9ha까지 급감하기에 이르렀다(MFAFF, 2012). 따라서 무름병에 대한 방제 대책 마련이 시급한 실정이다. 칼라의 무름병은 *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*(= *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*)에 의해 발생하는 토양전염성 세균병으로, 주로 지면 부위의 잎자루에 감염되어 잎이 황화되고 지체부가 짓무르며 심하게 되면 구근까지 부패시킨다(Wright, 1998). 특히 *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*은 고온활동성 세균으로, 칼라의 개화

\*Corresponding author: theodds@korea.kr

※ Received 7 November 2012; Revised 7 January 2013; Accepted 23 January 2013.

및 출하 시기인 6월부터 8월 사이에 발병이 급격히 증가하여 재배농가의 피해는 더욱 심각하다.

칼라의 무름병 방제는 주로 경종적 방제와 화학적 방제로 이루어지고 있다. 경종적 방제로는 축성재배나 억제재배 등과 같이 무름병의 주 발생 시기를 회피하는 작형과 토양 내 습도조절 및 이병주에 2차 전염 방지가 가능한 격리상(상자) 재배 등이 대표적이거나 고기술과 고비용이 요구되는 문제가 있다. 화학적 방제로는 정식 전 토양소독이나 약제 살포 등이 관행적으로 실시되고 있으나, 현재까지 고시된 약제가 없어 그 효과가 안정적이지 못할 뿐만 아니라 방제 비용 또한 높다. 따라서 가장 효과적이고 친환경적인 무름병 방제 대책은 저항성 품종을 재배하는 것이다.

칼라의 무름병 저항성 품종 개발을 위한 연구는 아직 미진한 실정이나, Snijder and van Tuyl(2002)이 칼라의 잎절편을 균주 현탁액에 침지하여 병 저항성 정도를 평가하는 잎절편 검정법을 개발하였고, Snijder et al.(2004)와 Cho(2010)는 이를 이용하여 무름병 저항성 품종 및 계통을 선발한 바 있다. 그러나 잎절편 검정법은 균주 현탁액에 잎절편을 침지한 후 병 저항성 평가까지 최소 4일에서 10일까지 많은 시간이 소요되어 노화로 인한 잎절편의 황화현상과 부생세균에 의한 무름증상으로 인하여 저항성 평가가 어렵다. 따라서 칼라의 무름병 저항성을 안정적으로 평가할 수 있는 간편하면서도 신속한 검정 방법을 개발하고, 이를 이용하여 칼라 재배품종에 대한 무름병 저항성 정도를 평가하고 칼라 내병성 신품종 육성에 활용하고자 본 연구를 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 식물재료

국내외에서 수집된 *Z. aethiopica* 재배품종 10종과 야생종 4종 등 총 14종의 개화 가능한 구근을 2011년 10월 14일 수원시의 국립원예특작과학원 탐동 유리온실에 20cm × 25cm 간격으로 정식하였다. 정식된 칼라는 농촌진흥청 표준영농재배기술에 준하여 재배되었고, 재배온도는 주간 18-25°C, 야간 12-18°C 범위를 유지하였다(RDA, 1996).

### 병원균 준비

칼라 무름병을 일으키는 *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* 병원균은 칼라 주산지인 경기도 여주에서 발병된 이병주의 엽병 및 구근으로부터 분리하였다. 순수분리된 병원균은 전자현미경 검정 및 16S rRNA 염기서열 분석 등을 이용하여 동정하였고, *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* strain Ka10 (NCBI GenBank no. JF460763.1)과 99.1%의 상동성을 가

지는 EccNHRI-21 균주를 선발하여 저항성 검정 실험에 사용하였다. EccNHRI-21 균주의 병원성은 칼라뿐 아니라 기주 식물로 보고된 순무 및 배추에도 접종하여 확인하였으며, 접종된 모든 식물체에서 잎이 짓무르고 부패되는 증상이 발생하였다. 분리된 병원균은 LB 배지(Luria-Bertani media)에 48시간 배양한 후 20% glycerol에 현탁하여 -70°C에 보관 후 접종에 사용하였다.

### 저항성 검정

칼라 이병주로부터 분리된 EccNHRI-21 균주를 LB 배지에서 48시간 배양하였다. 배양된 균총 가운데 하나를 분리하여 LB 액체배지에서 다시 2일간 배양한 후, 접종원의 농도에 따라 멸균수로  $1 \times 10^7$ cfu/mL,  $1 \times 10^8$ cfu/mL,  $1 \times 10^9$ cfu/mL 농도로 희석하여 접종에 사용하였다. 온실에서 재배된 칼라는 성주의 완전히 전개된 잎을 채취하여 70% 에탄올로 세척하고 잎과 엽병을 분리하였다. 잎은 주맥의 오른쪽 잎몸 가운데 부분을 가로 4cm × 세로 4cm 정도의 크기로 잘라 사용하였고, 엽병 역시 가운데 부분을 길이 4cm 정도의 크기로 잘라 사용하였다. 접종방법은 절단된 잎과 엽병의 정가운데 부위에 핀으로 상처를 낸 후, 병원균 현탁액 20μL를 상처 부위에 접종하는 상처접종법을 이용하였다. 접종된 칼라 잎과 엽병은 플라스틱 용기에 넣어 28°C 항온기에서 배양하였으며, 플라스틱 용기는 2겹의 WypAll™ 타월을 깔고 증류수를 부어 포화습도를 유지하였다.

### 저항성 평가

접종 후 4, 18, 26시간 후에 병반의 장축과 단축의 길이를 조사하였다. 발병지수는 장축의 길이(mm) × 단축의 길이(mm)를 기준으로 산출하였으며, 0 = 무병징, 1 = 1-25mm<sup>2</sup>, 2 = 2-50mm<sup>2</sup>, 3 = 51-150mm<sup>2</sup>, 4 = 151-250mm<sup>2</sup>, 5 = 250mm<sup>2</sup> 이상 등 6단계로 구분하였다. 저항성 평가는 평균 발병지수 2.0 이하인 경우에는 저항성, 2.0-3.5는 중도저항성, 3.5 이상은 감수성으로 평가하였다.

## 결과 및 고찰

칼라의 무름병 저항성 검정에 적합한 접종 농도 및 접종 부위, 저항성 평가 시기를 구명하기 위해 Snijder et al.(2004)와 Cho(2010)에 의해 저항성으로 보고된 'White Cutie'와 'Wedding March', 중도저항성인 'Kiwi Blush'와 감수성인 'Childsiana' 등 4품종에 대하여  $1 \times 10^7$ cfu/mL,  $1 \times 10^8$ cfu/mL,  $1 \times 10^9$ cfu/mL 농도의 EccNHRI-21 균주 현탁액을 잎과 엽병에 접종하고, 접종 후 4, 18, 26시간 후에 무름병

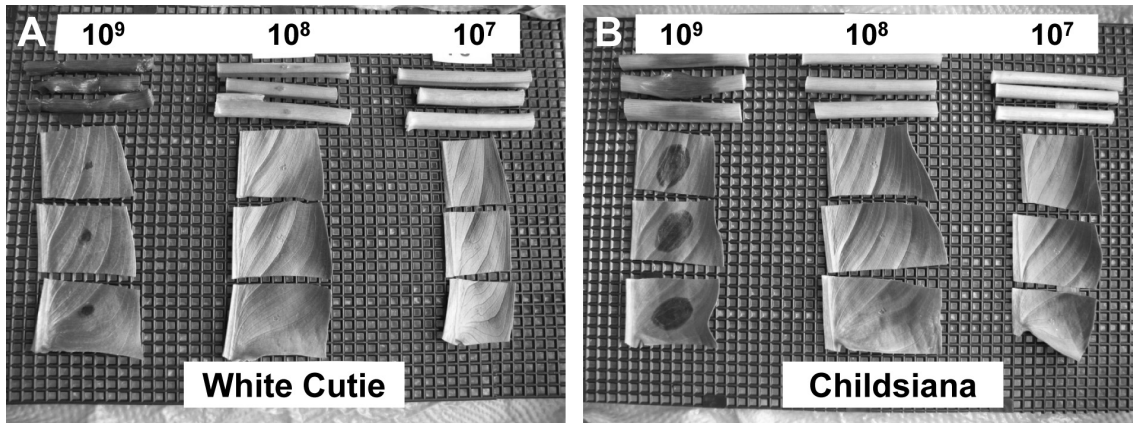


Fig. 1. Differences of maceration between 'White cutie', resistant (A) and 'Childsiana', susceptible (B), depending on the inoculum concentrations and the inoculated tissues in 18 hours after inoculation.

발생 정도를 조사하였다. 접종 농도 및 접종 부위에 따른 병 반응은  $1 \times 10^7$  cfu/mL 농도로 접종된 잎과 엽병에서는 아무런 병징도 나타나지 않았고,  $1 \times 10^8$  cfu/mL 농도로 접종된 잎과 엽병에서는 접종 후 4시간 후부터 병이 발생되기 시작하였다. 그러나 최초 병 발생 이후 병이 더 이상 진전되지 않거나 진전속도가 매우 느렸으며, 품종 간의 병 반응도 유의한 차이를 보이지 않았다.  $1 \times 10^9$  cfu/mL 농도로 접종된 잎과 엽병에서도 접종 후 4시간 후부터 병이 발생되기 시작하였으나, 병의 발생이 다른 처리구보다 빠르게 진전되었고 품종간의 병 반응도 유의한 차이를 보였다(Figs. 1 and 2). 그러나 엽병에서는 반복 간에 병 발생 정도의 차이가 심할 뿐 아니라 저항성 품종인 'White Cutie' 품종에서도 병이 발생하는 등 병 반응의 편차가 심해 칼라 무름병 저항성 품종 선발을 위한 상처접종법으로  $1 \times 10^9$  cfu/mL 농도의 균주 현탁액을 잎에 접종하는 것이 적합한 것으로 나타났다(Figs. 1 and 3).

안정적인 저항성 평가 시기를 구명하기 위해  $1 \times 10^9$  cfu/mL 농도로 접종된 잎에서 접종 후 경과 시간에 따른 병 반응을 조사한 결과, 접종 후 4시간에서는 저항성과 감수성 품종 간의 유의한 차이가 없었으나, 접종 후 18시간에서는 품종 간의 유의한 차이가 인정되었을 뿐만 아니라 기 보고된 품종별 무름병 저항성 정도와도 일치하는 경향을 나타냈다. 접종 후 26시간에도 품종 간의 유의한 차이는 인정되었으나, 각각 저항성과 중도저항성으로 보고되었던 'Wedding March'와 'Kiwi Blush'의 평균발병지수가 3.5 이상으로 높게 나타나 저항성과 감수성 품종을 구분하기 어려웠다(Fig. 4). 따라서 칼라 무름병 저항성 품종 선발을 위한 저항성 평가는 접종 후 18시간 후에 조사하는 것이 적합한 것으로 나타났다.

상처접종법은 다른 무름병 접종방법과 다르게  $1 \times 10^9$

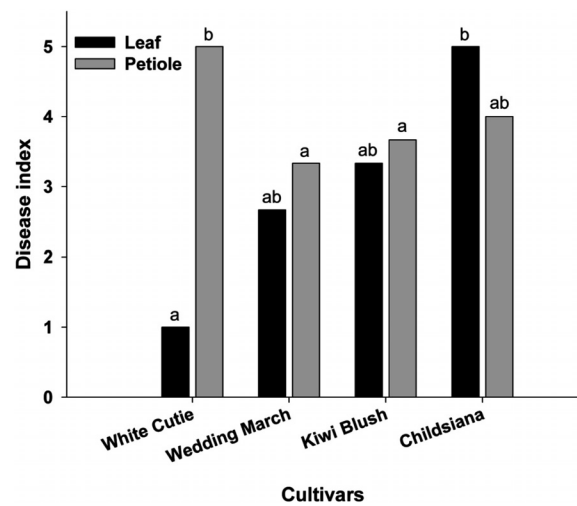


Fig. 2. Disease reactions of four *Z. aethiopicum* cultivars to *P. carotovorum* subsp. *carotobvorum* EccNHRI-21 depending on the inoculum concentrations inoculated on leaf tissues. Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at  $P = 0.05$ .

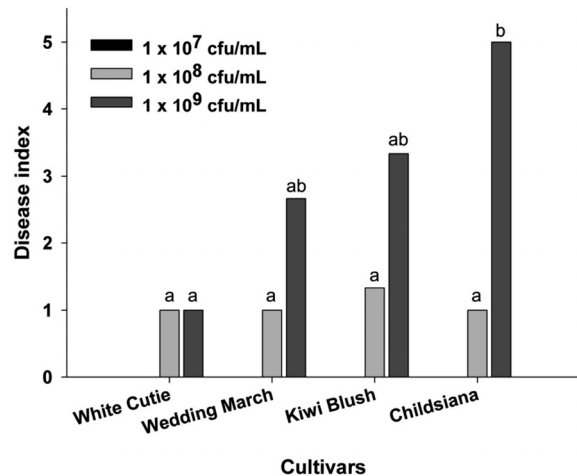


Fig. 3. Disease reactions of four *Z. aethiopicum* cultivars to *P. carotovorum* subsp. *carotobvorum* EccNHRI-21 depending on the tissues inoculated with  $1 \times 10^9$  cfu/mL. Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at  $P = 0.05$ .

cfu/mL의 더 높은 농도의 균주 현탁액을 접종해 주어야만 병이 발생하였으나, 병의 진전속도는 더 빨랐다. Snijder and van Tuyl(2002)는 칼라의 잎절편과 엽병을 각각  $1 \times 10^7$  cfu/mL과  $1 \times 10^5$ cfu/mL의 균주 현탁액 5mL에 침지하고, 접종 후 6일에서 8일 후의 이병율을 기준으로 저항성을 평가하였다. 배추의 경우에도 유묘 절취엽의 기부를  $1.4 \times 10^7$  cfu/mL의 균주 현탁액에 침지한 후 24시간에서 36시간 사이에 병반의 길이를 측정하여 저항성을 평가하였다(Lee et

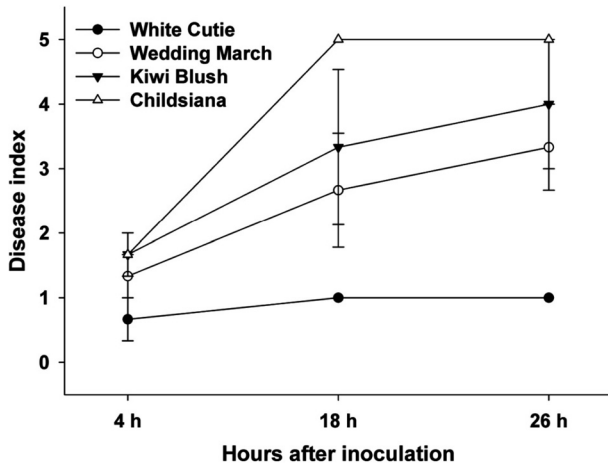


Fig. 4. Disease reactions of four *Z. aethiopic* cultivars of which leaf tissues inoculated with  $1 \times 10^9$  cfu/mL of *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* EccNHRI-21 depending on the hours after inoculation (n = 9).

al., 2001). 이는 상처접종법이 침지법에 비해 감염부위가 제한되어 있고 균주 현탁액의 접종량도 적어 발병을 위해 더 고농도의 접종원을 필요로 하나, 이로 인해 감염 이후의 무름병균 증식속도는 매우 빠르기 때문인 것으로 생각된다.

국내외에서 수집된 *Z. aethiopic* 재배품종 10종과 야생종 4종 등 총 14종의 무름병 저항성을 평가하기 위해  $1 \times 10^9$ cfu/mL의 Ecc-NHRI-21 균주 현탁액을 잎에 접종한 후, 18시간 후의 병 반응을 조사하였다. 재배품종의 경우 ‘Crowbrough’, ‘White Cutie’, ‘Mont Blanc’, ‘Silky White’ 품종에서 접종 4시간에 병반이 형성된 이후부터 병이 더 이상 진전되지 않아 저항성 품종으로 평가되었다. ‘Wedding March’와 ‘Kiwi blush’는 병의 진전 속도가 느려 중도저항성 품종으로 평가되었고, ‘Childsiana’, ‘Pink Mist’, ‘Speckled’, ‘White Dream’ 품종은 평균발병지수가 4.0 이상으로 굉장히 높아 감수성 품종으로 평가되었다. 야생종의 경우 ‘*Z. aethiopic* wildtype 11’이 저항성을 보이는 등 모두 중도저항성 이상의 무름병 저항성을 가지고 있었다(Table 1).

Cho(2010)는 잎절편 검정을 통한 무름병 저항성 검정에서 ‘Wedding March’ 품종을 저항성 품종으로 선발하였고, ‘Pink Mist’는 중도저항성 품종으로 선발하였다. 그러나 상처접종법을 통한 저항성 검정 결과, ‘Wedding March’ 품종이 중도저항성으로, ‘Pink Mist’ 품종이 감수성으로 평가되어 상처접종법의 선발 강도가 잎절편 검정법에 비해 높은

Table 1. Disease index of ten *Z. aethiopic* cultivars and four wild types inoculated with *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* EccNHRI-21.

Species	Cultivar or line	Disease index <sup>z</sup>	Source	Resistance level <sup>y</sup>
<i>Z. aethiopic</i>	Crowbrough	1.0 a <sup>x</sup>	Netherlands	R
	White Cutie	1.0 a	Korea NIHHR <sup>w</sup>	R
	Mont Blanc	1.3 ab	Korea NIHHR	R
	Silky white	1.7 abc	Korea NIHHR	R
	Wedding March	2.7 bcde	Netherlands	MR
	Kiwi Blush	3.3 de	Netherlands	MR
	Pink Mist	4.0 ef	Netherlands	S
	Speckled	4.0 ef	New Zealand	S
	White dream	4.0 ef	Netherlands	S
	Childsiana	5.0 a	Netherlands	S
<i>Z. aethiopic</i> wild type	Za 11	1.7 abc	New Zealand	R
	Za 1	2.7 bcde	New Zealand	MR
	Za Namaqua	2.3 abcd	South Africa	MR
	Za 16	3.0 cde	New Zealand	MR

<sup>z</sup>Disease index: 0, symptomless; 1, symptoms developed less than 25 mm<sup>2</sup>; 2, symptoms with 26-50 mm<sup>2</sup> developed; 3, symptoms with 51-150 mm<sup>2</sup> developed; 4, symptoms with 151-250 mm<sup>2</sup> developed; 5, symptoms developed over 250 mm<sup>2</sup>.

<sup>y</sup>Resistance level: R = Resistant, 0-2.0; MR = Moderate resistant, 2.0-3.5; S = Susceptible, 3.5-5.0.

<sup>x</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at *P* = 0.05.

<sup>w</sup>National Institute of Horticultural & Herbal Science, Rural Development Administration.

수준임을 알 수 있었다. 또한 발병률을 기준으로 저항성을 평가하는 잎절편 검정법과 달리, 상처접종법은 발병도를 기준으로 한 양적 평가가 가능하여 품종간 저항성 정도의 차이를 명확하게 구분할 수 있었다.

칼라 무름병은 토양에 남아 있던 병원성 세균들에 의해 재배 중이나 구근 저장 중에 발병하는 토양 전염성 세균병이다. 이는 급배수 조절 및 토양 환기, 구근의 수확시기 조절 등 경종적 방법으로 병 발생을 경감시킬 수 있고(Wright and Burge, 2000; Wright et al., 2002), 칼슘과 규소의 사용으로 생육을 왕성하게 하고 엽병과 화경 조직을 경화시켜 병 발생 및 2차 전염을 억제시킬 수 있다고 보고된 바 있다(Cho, 2010). 그러나 그 효과가 안정적이지 못할 뿐만 아니라 방제 비용 또한 높아 보다 근본적인 대책이 필요한 실정이다. 따라서 국내 도입 품종에 대한 지속적인 내병성 품종 선발 및 이를 활용한 내병성 품종 육성이 이루어져야 할 것으로 사료된다.

## 초 록

본 연구는 *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*에 의해 발생하는 칼라의 무름병 저항성 품종 선발을 위한 효율적인 검정 방법을 구명하기 위해 수행되었다. *Z. aethiopica* 4품종에 대하여  $1 \times 10^7$ cfu/mL,  $1 \times 10^8$ cfu/mL,  $1 \times 10^9$ cfu/mL 농도의 EccNHRI-21 균주 현탁액을 잎과 엽병에 상처접종하고, 접종 후 4, 18, 26시간 후에 무름병 발생 정도를 조사하였다. 그 결과,  $1 \times 10^9$ cfu/mL 농도의 균주 현탁액을 잎에 접종한 후 18시간 이후에 저항성 정도를 평가하는 것이 칼라 무름병 저항성 검정 및 품종 선발을 위해 가장 적합한 것으로 나타났다. 상처접종법을 이용하여 *Z. aethiopica* 재배품종 10종과 야생종 4종 등 총 14종에 대하여 무름병 저항성 정도를 평가한 결과, 재배품종의 경우 ‘Crowbrough’와 ‘White Cutie’가 가장 강한 저항성을 보였으며, ‘Mont Blanc’과 ‘Silky White’도 저항성 품종으로 선발되었다. 또한 ‘Wedding March’와 ‘Kiwi blush’는 중도저항성 품종으로 평가되었고, ‘Childsiana’ 등 4품종은 감수성 품종으로 평가되었다. 야생종의 경우 ‘*Z. aethiopica* wildtype 11’이 저항성을 보이는 등 4종 모두 중도저항성 이상의 무름병 저항성을 가지는 것으로 평가되었다. 지금까지 경종적 방제 및 생물학적 방제,

화학적 방제 등 여러 가지 방제 방법이 시도되었으나, 무름병 발생 피해를 최소화하기 위해서는 내병성 품종을 재배하는 것이 가장 효율적이다. 따라서 상처접종법을 이용한 무름병 저항성 검정 기술이 칼라의 무름병 저항성 품종 개발에 유용하게 쓰일 것으로 기대된다.

**추가 주요어 :** 병해방제, 접종방법, *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*, 저항성 육종

## 인용문헌

- Cho, H.R., J.H. Lim, K.J. Yun, R.C. Snijder, D.H. Goo, H.K. Rhee, K.S. Kim, H.Y. Joung, and Y.J. Kim. 2004. Virulence variation of 20 isolates of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* on the *Zantedeschia* cultivars in Korea. *Acta Hort.* 671:653-659.
- Cho, H.R. 2010. Development of resistant cultivars and control methods by fertilization against *Erwinia* soft rot in *Zantedeschia* spp. PhD Diss., Seoul Natl Univ., Seoul, Korea.
- Lee, S.S., J.K. Kim, W. Jun, and W.J. Choi. 2001. Development of dihaploid lines resistant to *Erwinia carotovora* in Chinese cabbage. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 42:682-684.
- Snijder, R.C., H.R. Cho, M.M.W.B. Hendriks, P. Lindhout, and J.M. van Tuyl. 2004. Genetic variation in *Zantedeschia* spp. (Araceae) for resistance to doft rot caused by *Erwinia carotovora* subsp. *Carotovora*. *Euphytica* 135:119-128.
- Snijder, R.C. and J.M. van Tuyl. 2002. Evaluation of tests to determine resistance in *Zantedeschia* spp. (Araceae) to soft rot caused by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. *European J. Plant Pathol.* 108:565-571.
- Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries (MFAFF). 2012. Statistics for floricultural industry in 2011. MFAFF, Gwacheon, Korea p. 43.
- Rural Development Administration (RDA). 1996. ‘Bulbous floriculture cultivation technology’ standard agricultural cultivation book. RDA, Suwon, Korea. p. 319-328.
- Wright, P.J. 1998. A soft rot of calla (*Zantedeschia* spp.) caused by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. *New Zealand J. Crop Hort.* 26:331-334.
- Wright, P.J. and G.K. Burge. 2000. Irrigation, sawdust mulch, and Enhance biocide® affects soft rot incidence, and flower and tuber production of calla. *New Zealand J. Crop. Hort.* 28:225-231.
- Wright, P.J., G.K. Burge, and C.M. Triggs. 2002. Effects of cessation of irrigation and time of lifting of tubers on bacterial soft rot of calla (*Zantedeschia* spp.) tubers. *New Zealand J. Crop. Hort.* 30:265-272.