

토마토 풋마름병에 대한 효율적인 저항성 검정 방법 개발

Development of an Efficient Screening System for Resistance of Tomato Cultivars to *Ralstonia solanacearum*

이지현¹ · 장경수¹ · 최용호¹ · 김진철² · 최경자^{1*}

¹한국화학연구원 친환경신물질연구센터, ²전남대학교 응용생물공학부

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

¹Center for Eco-friendly New Materials, Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon 305-600, Korea

²Division of Applied Bioscience and Biotechnology, Institute of Environmentally-Friendly Agriculture, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

***Corresponding author**

Tel : +82-42-860-7434

Fax: +82-42-861-4913

E-mail: kjchoi@kriict.re.kr

This study was conducted to establish an efficient screening system for resistant tomato to bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. Under several conditions such as inoculation methods, growth stages of tomato seedlings, inoculum concentrations, and incubating temperatures after inoculation, development of bacterial wilt on nine resistant or susceptible cultivars of tomato was investigated. To inoculate by drenching the non-cut roots with the bacterial suspension was better to distinguish resistance and susceptibility of tomato cultivars than by drenching the cut roots using scalpel. And 'Hawaii7996' a resistant tomato to *R. solanacearum* showed high resistance at all the tested conditions including growth stages (3-, 6-, 8-, 10-leaf stages), inoculum concentrations ($OD_{600}=0.1-0.4$) and incubation temperatures (25, 30, 35°C). On the other hands, susceptible cultivars represented disease index of 3.7 and 3.9 at 6- and 8-leaf stages, respectively. At 3- and 10-leaf stages, the cultivars demonstrated lower disease severity of 2.1 and 0.5, respectively, than at 6- and 8-leaf stages. When the inoculated seedlings were incubated in growth chambers of 25, 30 and 35°C, disease severity of susceptible cultivars was significantly greater at 30 and 35°C than at 25°C. In addition, the level of resistance of the tomato cultivars was not significantly affected by inoculum concentrations of $OD_{600}=0.1-0.4$. On the basis of the results, we suggest an efficient screening method to measure resistance level of tomato cultivars to bacterial wilt. The eight-leaf stage seedlings transplanted 7 days before inoculation, are inoculated with *R. solanacearum* by drenching the non-cut roots with a bacterial suspensions ($OD_{600}=0.4$) to give inoculum volume of 50 ml/soil l. The inoculated plants are incubated in a growth room at 30°C for 12-13 days with 12-hour light a day.

Keywords : Bacterial wilt, Breeding, Disease resistance, Screening, *Solanum lycopersicum*

Received October 16, 2015
Revised November 27, 2015
Accepted December 7, 2015

서 론

*Ralstonia solanacearum*은 세계적으로 다수의 주요 작물에 심각한 손실을 발생시키는 식물 병원균으로 토마토, 감자, 고

추, 가지 등 가지과 작물을 포함하여 50과 200종 이상의 작물에 치명적인 풋마름병을 일으킨다(Hayward, 1991). 이 병원균은 결뿌리가 발생하는 지점이나 근단을 통해 식물체에 침입 후 물관으로 이동하여 식물체 전체로 확산되고(Kelman과 Sequeira, 1965; Schmit, 1978; Vasse 등, 1995), 외피다당류(exopolysaccharide)와 단백질을 분비하여 물관을 막아 시들음 증상을 일으키다가 마침내 고사하게 만든다(Buddenhagen과 Kelman, 1964).

Research in Plant Disease

©The Korean Society of Plant Pathology
pISSN 1598-2262, eISSN 2233-9191

꽃마름병균은 생리·생화학 및 유전적 특성이 다양하지만 크게 기주 식물에 대한 병원성에 따라 5개의 race와 생화학적 특성에 따라 5개의 biovar로 나뉜다(Buddenhagen 등, 1962; Hayward, 1991; He 등, 1983). 현재 우리나라에는 기주 범위가 상당히 광범위하여 대부분의 가지과 작물에 침입이 가능한 race 1과 기주 범위가 제한된 race 3 그리고 biovar 1, 2, 3 및 4의 균주가 존재하며, 국내 토마토와 고추에 발생하는 꽃마름병균은 race 1과 biovar 3, 4에 속한다고 알려져 있다(Jeong 등, 2007; Park 등, 2007; Seo 등, 2007).

세균에 의해 발생하는 꽃마름병은 화학적 방제 및 생물학적 방제가 어려워 윤작이나 저항성 품종을 재배하는 것이 기본적인 방제 방법으로 알려져 있다(Han 등, 2009; Lee 등, 2011). 토마토에서는 저항성 대목을 사용하여 접목한 묘를 재배하는 방법을 사용하고 있지만 대목 품종에서도 꽃마름병이 발생하고 있어 피해를 완전히 막을 수 없는 실정이다(Han 등, 2009). 따라서 저항성 토마토 품종을 사용하여 꽃마름병 발생을 억제하는 것이 가장 효과적이며 환경 친화적인 방제 방법이다(Carmeille 등, 2006). 꽃마름병 저항성 품종 육종을 위해 노스캐롤라이나주, 하와이, 푸에르토리코, 필리핀 등에서 대규모 과제를 진행하며 연구한 바 있으나, 다양한 연구에도 일정 수준 이상의 저항성을 유지하며 상업적인 과수의 크기나 상품성을 만족시킬 수 있는 수준의 저항성 품종의 개발은 매우 어려운 현실이다(Acosta 등, 1964; Walker, 1967).

저항성 품종 육종에는 저항성의 유전 양식에 관한 정보가 매우 중요한데(Monma와 Sakata, 1993), 꽃마름병 저항성의 유전 양식에 대하여 열성과 다인자(Anon, 1975; Singh, 1961); 생육 단계의 부분 우성과 성체 열성(Acosta 등, 1964); 수직 저항성, 수평 저항성, 중간체(Mew와 Ho, 1976); 상보적 우성(Sceelathakumary와 Peter, 1984) 등이 보고되었고, race 1 균주의 저항성이 비교적 광범위한 연구에 사용되었는데 이 저항성은 다인자에 의한 것으로 알려졌다(Acosta 등, 1964; Anand 등, 1993; Monma와 Sakata, 1993). 현재 토마토의 꽃마름병에 대한 저항성은 QTL(quantitative trait loci)에 의하여 조절되는 것으로 보고되어 있으며, 각각 다른 저항성 유전자로부터 조절되는 다수의 QTL이 확인되었다(Danesh 등, 1994; Thoquet 등, 1996a; 1996b; Wang 등, 2000). 하지만 토마토 염색체의 저항성 부위의 대략적인 위치는 알려져 있지만 현재까지 유전자는 정확히 규명하지 못하고 있다(Lee 등, 2011). 이들 저항성 유전자의 규명, 분자 마커 개발 그리고 새로운 저항성 유전자원 탐색 등의 연구를 위하여는 토마토 꽃마름병에 대한 효율적인 저항성 검정법이 필요하다.

본 연구에서는 감수성 및 저항성 토마토 9개 품종을 사용하여 접종 방법, 접종 시 토마토의 생육 시기, 접종 농도 및 접종 후 재배 온도 등의 다양한 발병 조건에 따른 토마토 품종들의 꽃마름병 발생을 조사하여 저항성 품종은 저항성을 즉 낮은 발병도를 그리고 감수성 품종은 높은 꽃마름병이 발생하는 조건을 선

발하여 토마토 꽃마름병에 대한 효율적인 저항성 검정 체계를 확립하였다.

재료 및 방법

토마토 재배. 꽃마름병 저항성 순계 토마토인 'Hawaii7996'은 동아대학교에서 분양받아 증식하여 사용하였으며, 종자 회사에서 꽃마름병 저항성으로 공시한 5개 토마토 품종 '첼린지 튠틴(코레곤)', '마이로꾸(사카타코리아)', '도태랑레굴러(다끼이종묘)', '도태랑골드(다끼이종묘)' 및 '도태랑마스터(다끼이종묘)' 그리고 꽃마름병에 대한 저항성을 공시하지 않은 일반 품종 3개 '첼린지스페셜(코레곤)', '서광(문산토코리아)' 및 '도태랑챔피온(다끼이종묘)' 등 8개 품종은 시중에서 구입하여 실험에 사용하였다.

접종 시 토마토의 생육 정도에 따른 꽃마름병 발생 실험을 제외한 모든 실험은 6×12 육묘용 연결포트(40 ml/pot, 범농사)에 원예용상토 5호(부농사)를 넣고 파종하고 온실(25±5°C)에서 2-3주일 동안 재배하였다. 그리고 이 토마토 유묘를 새로운 플라스틱 포트(직경 6.5 cm, 토양 200 ml)에 원예용상토 5호(부농사)를 넣고 이식하여 재배하였으며, 접종 일주일 전에 다시 새로운 포트(직경 9 cm, 토양 400 ml)로 이식하여 재배한 8엽기의 토마토 유묘를 실험에 사용하였다.

그리고 토마토 유묘의 생육 시기에 따른 꽃마름병 발생 실험에서는 8엽기와 10엽기 유묘는 앞에서와 동일한 방법으로 재배하였으며, 3엽기와 6엽기 유묘는 6×12 육묘용 연결포트(40 ml/pot, 범농사)에 파종하여 온실에서 재배하고 접종 일주일 전에 토마토 유묘를 플라스틱 포트(직경 6.5 cm, 토양 200 ml)로 이식하여 재배한 유묘를 실험에 사용하였다.

접종원 준비 및 병원균 접종. 동아대학교로부터 분양받은 담배로부터 분리한 *R. solanacearum* SL1944 균주(race 1, biovar 4) (Lee 등, 2011)를 CPG broth(casamino acid 1 g, peptone 10 g, glucose 5 g, 증류수 1 l) 배지에 접종하고 30°C, 150 rpm에서 18-24시간 동안 전배양하였다(Schaad 등, 2001). 전배양한 병원균을 새로운 CPG broth 배지에 1%(v/v)가 되도록 접종하고 30°C, 150 rpm에서 24시간 동안 진탕배양하였다. 세균 배양액을 상온에서 8,000 rpm, 10분간 원심분리한 후, 상층액을 제거하고 회수한 세균 pellet에 멸균수를 넣고 잘 희석하여 세균 현탁액을 만들었다.

접종원 농도에 따른 토마토 꽃마름병 발생 실험을 제외한 모든 실험에서는 DU® 800 UV/Visible Spectrophotometer(Beckman Coulter Inc., Fullerton)를 사용하여 흡광도(OD, optical density)를 측정하고 멸균수로 희석하여 꽃마름병균 현탁액의 농도를 OD₆₀₀=0.4(3-4×10⁸ cfu/ml)가 되도록 조정하여 접종원을 준비하였다. 접종원 농도에 따른 토마토 꽃마름병 발생 실험을 위해서는 OD₆₀₀=0.1, 0.2 및 0.4의 세균 현탁액을 준비하였다.

모든 실험은 온실에서 재배한 토마토 유묘에 준비한 풋마름균 현탁액을 토양 리터 당 50 ml씩 관주하여 접종하였으며, 인위적인 뿌리 상처 유무에 따른 풋마름병의 발생 실험에서는 2 cm 너비의 scalpel을 사용하여 지제부에서 2 cm 떨어진 곳에서 30° 각도로 깊이 5 cm를 찢어서 뿌리에 상처를 주는 방법과 인위적인 상처없이 토양에 관주하여 접종하는 방법을 사용하였다.

발병 및 병조사. 접종 후 재배 온도에 따른 토마토 풋마름병 발생 실험을 제외한 모든 실험에서는 접종한 토마토를 30°C 항온실에서 하루 12시간 광(61 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$)을 조사하면서 12-13 일 재배한 후에 병조사를 수행하였으며, 재배 온도에 따른 병 발생 실험은 접종한 토마토를 각각 25, 30, 35°C 항온실에서 동일한 방법으로 재배하여 실험하였다.

병조사는 이병엽율에 따라 발병 정도를 0=풋마름병 증상 없음, 1=전체 잎의 1-25% 시들음 증상, 2=전체 잎의 26-50% 시들음 증상, 3=전체 잎의 51-75% 시들음 증상, 4=전체 잎의 76-100% 시들음 증상 등 5단계로 하였다(Roberts 등, 1988).

평균 발병도가 1.0 이하인 경우 저항성, 1.0 초과 2.0 이하는 중도저항성, 2.0 초과는 감수성으로 판정하였고, 모든 실험은 5 반복으로 2회 실시하였다. 통계 분석은 SAS(SAS Institute, Inc., 1989) 프로그램을 이용하여 ANOVA 분석을 하였으며, 처리 평균간 비교를 위하여 Duncan's multiple range test($P=0.05$)를 실시하였다.

결과 및 고찰

뿌리 상처 유무에 따른 토마토 풋마름병 발생. Scalpel로 토마토 뿌리에 상처를 준 후에 풋마름균 현탁액을 관주하는 방법과 인위적인 상처없이 세균 현탁액을 토양에 관주하는 방법으로 접종하여 뿌리 상처 유무에 따른 토마토의 풋마름병 발생을 조사한 결과, 인위적인 상처 없이 토양에 관주하여 접종하였을 경우에 저항성 순계 토마토인 'Hawaii7996'에서 발병도 0.5의 고도의 저항성을 보였다(Fig. 1, 2). 그리고 일반 품종인 '챌린지스페셜', '서광' 및 '도태랑챔피언' 3개 품종은 발병도 3.2 이상의 높은 감수성을 보였다(Fig. 1, 2). 하지만 종자회사에서 풋마름병 저항성으로 공시한 '챌린지틴틴', '마이로쿠', '도태랑레굴러', '도태랑골드' 및 '도태랑마스터' 5개 품종에서는 발병도 3.2 이상을 보여 이 품종들이 *R. solanacearum* SL1944에 대한 저항성을 나타내지 않음을 알 수 있었다(Fig. 1).

Scalpel로 뿌리에 인위적인 상처가 가해졌을 경우에는 토마토 풋마름병에 대한 저항성 순계 품종인 'Hawaii7996'에서도 발병도 2.0으로 무상처 접종보다 높은 풋마름병 발생을 보였다(Fig. 1). 그리고 감수성 3개 품종과 종자회사에서 저항성으로 공시한 5개 품종은 모두 scalpel 상처 접종에 의해 3.9 이상의 높은 발병도를 나타냈다(Fig. 1).

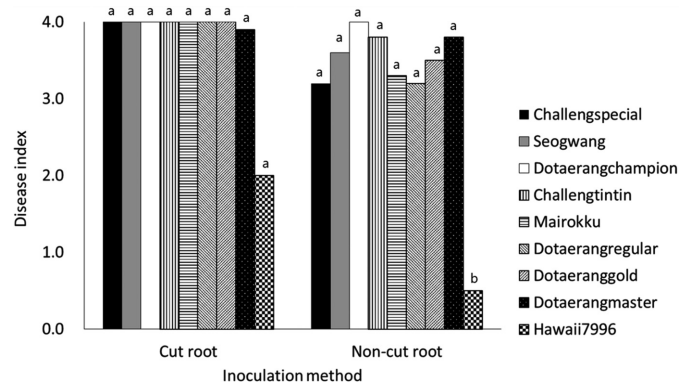


Fig. 1. Development of bacterial wilt on seedlings of nine tomato cultivars inoculated with *Ralstonia solanacearum* by drenching the cut and non-cut roots with a bacterial suspension. One week after transplanting, the potted seedlings of eight-leaf stage were inoculated with *R. solanacearum* SL1944 by drenching the cut and non-cut roots with a bacterial suspension ($\text{OD}_{600}=0.4$) to give inoculum volume of 50 ml/soil l. The plants were incubated in a growth room at 30°C with 12-hour light a day. After 12 days, disease severity of the plants was investigated. Each value represents the mean of two runs with five replicates each. Values in the labeled with the same letter within each inoculation method are not significantly different in Duncan's multiple range test at $P=0.05$.



Fig. 2. Resistance of nine tomato cultivars to bacterial wilt. A, Challengspecial; B, Seogwang; C, Dotaerangchampion; D, Challengtintin; E, Mairokku; F, Dotaerangregular; G, Dotaeranggold; H, Dotaerangmaster; I, Hawaii7996. One week after transplanting, the potted seedlings of eight-leaf stage were inoculated with *Ralstonia solanacearum* SL1944 by drenching the roots with a bacterial suspensions ($\text{OD}_{600}=0.4$) to give inoculum volume of 50 ml/soil l.

많은 연구자들이 뿌리 측면을 절단한 후에 풋마름균 현탁액을 관주하여 접종하는 방법을 사용하거나(Lee 등, 2011; Park 등, 2007), 다른 처리없이 세균 현탁액을 직접 토양에 관주하여 접종하는 방법(Grimault 등, 1994; Han 등, 2011) 등을 이용하여 토마토 풋마름병에 대한 저항성 연구를 수행하고 있다. 하지만 본 연구의 뿌리 상처 유무에 따른 토마토의 풋마름병 저항성 차이에 따르면 뿌리에 상처를 주고 관주하여 병원균을 접종하는

방법보다 상처 없이 토양에 관주하여 접종하는 방법이 토마토의 저항성을 검정하기에 더 효과적인 방법으로 생각되었다.

유묘의 생육 시기에 따른 토마토 풋마름병 발생. 토마토 풋마름병에 대한 저항성 검정에서 집종을 위한 토마토의 생육 시기를 결정하기 위하여 온실에서 재배한 3, 6, 8 및 10엽기 토마토의 풋마름병 발생을 조사한 결과, 풋마름병 저항성 토마토인 'Hawaii7996'은 실험한 모든 생육 시기에서 발병도 0.6 이하의 높은 저항성을 나타냈다(Fig. 3). 그리고 감수성 품종들(첼린

지스페셜, 서광, 도태랑챔피온)은 3, 6, 8 및 10엽기의 토마토 유묘에서의 3개 품종의 평균 발병도가 각각 2.1, 3.7, 3.9 및 0.5를 보여 6엽과 8엽에 비하여 3엽기와 10엽기의 토마토에서 풋마름병 발생이 낮음을 알 수 있었다(Fig. 3). 또한 종자회사에서 저항성으로 공시한 5개 품종에서도 3, 6, 8 및 10엽기의 토마토 유묘에서의 평균 발병도가 각각 1.8, 3.8, 3.5 및 1.2로 3엽기와 10엽기의 토마토보다 6엽과 8엽기의 토마토에서 풋마름병 발생이 높았다(Fig. 3).

풋마름병에 대한 저항성 토마토를 선발하기 위해서는 감수

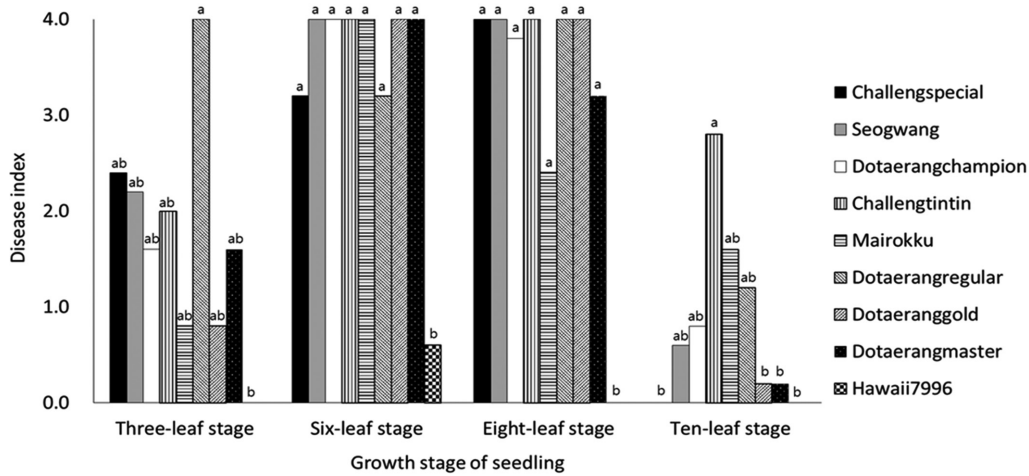


Fig. 3. Bacterial wilt development on nine tomato cultivars inoculated with *Ralstonia solanacearum* at four growth stages. One week after transplanting, the potted seedlings of three-, six-, eight-, and ten-leaf stages were inoculated with *R. solanacearum* SL1944 by drenching the roots with a bacterial suspensions ($OD_{600}=0.4$) to give inoculum volume of 50 ml/soil l. The plants were incubated in a growth room at 30°C with 12-hour light a day. After 12 days, disease severity of the plants was investigated. Each value represents the mean of two runs with five replicates each. Values in the labeled with the same letter within each growth stage of seedlings are not significantly different in Duncan's multiple range test at $P=0.05$.

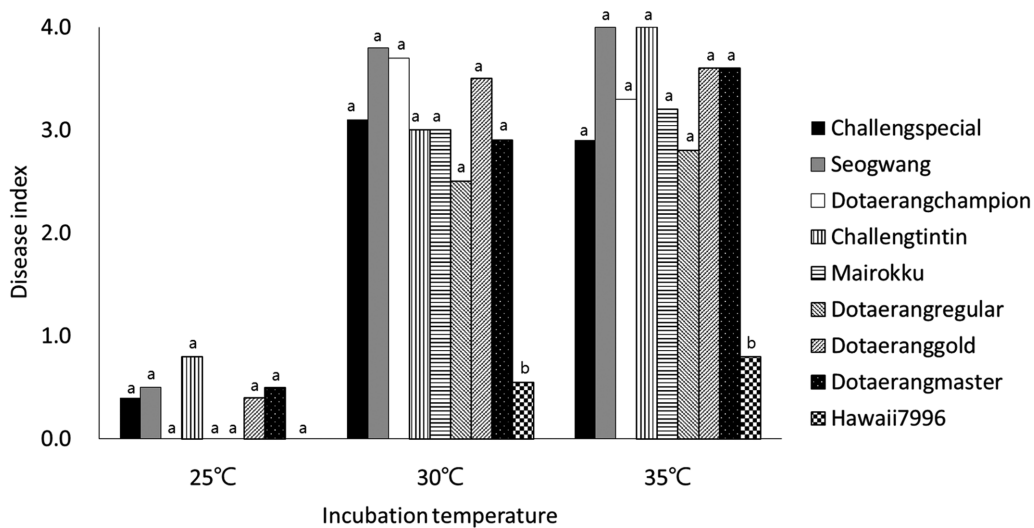


Fig. 4. Development of bacterial wilt on tomato seedlings of nine cultivars according to incubating temperature after inoculation. One week after transplanting, the eight-leaf stage seedlings were inoculated with *Ralstonia solanacearum* SL1944 by drenching the roots with a bacterial suspensions ($OD_{600}=0.4$) to give inoculum volume of 50 ml/soil l. The plants were incubated in a growth room at 25, 30, and 35°C with 12-hour light a day. After 13 days, disease severity of the plants was investigated. Each value represents the mean of two runs with five replicates each. Values in the labeled with the same letter within each incubation temperature are not significantly different in Duncan's multiple range test at $P=0.05$.

성 토마토는 높은 풋마름병 발생을 나타내고 저항성 토마토는 낮은 발병도를 나타내는 생육 시기에 접종하는 것이 필요하다. Winstead와 Kelman(1952)은 토마토에 풋마름병균을 접종할 때 어린 묘에 접종하기보다 24일 재배한 유묘에 접종하는 것이 저항성 수준을 평가하는데 유리하다고 보고하였으며, Nakaho와 Takaya(1993)은 저항성 토마토 대목의 경우 생육 시기가 어릴 수록 풋마름병 발생률이 증가한다고 하였다. 따라서 너무 어리거나 노화되지 않은 적정 생육 시기의 선발이 중요하며, 본 연구에서 저항성과 감수성 품종 간에 가장 큰 발병도 차이를 나타낸 8엽기의 토마토 식물체가 풋마름병 저항성 검정에 있어 최적의 생육 시기로 생각되었다.

재배 온도에 따른 토마토 풋마름병 발생. 접종 후의 재배 온도에 따른 9종 토마토 품종의 풋마름병 발생을 조사한 결과, 25°C에서 재배하였을 때에는 저항성뿐만 아니라 감수성 토마토에서도 풋마름병이 잘 발생하지 않아 실험한 모든 품종에서 0.8 이하의 발병도를 보였다(Fig. 4). 그러나 30°C에서 재배하였을 경우에는 ‘챌린지스페셜’, ‘서광’, ‘도태랑챔피온’, ‘챌린지틴틴’, ‘마이로꾸’, ‘도태랑레귤러’, ‘도태랑골드’ 및 ‘도태랑마스터’은 각각 3.1, 3.8, 3.7, 3.0, 3.0, 2.5, 3.5 및 2.9의 발병도를 그리고 35°C에서는 각각 2.9, 4.0, 3.3, 4.0, 3.2, 2.8, 3.6 및 3.6의 발병도를 보여 두 온도 모두에서 높은 풋마름병 발생을 나타냈다. 그리고 저항성 토마토인 ‘Hawaii7996’은 30°C와 35°C 모두에서 저항성을 보였으나 30°C에서 더 낮은 발병도를 보였다(Fig. 4).

토마토 풋마름병 저항성 계통 ‘7580’과 ‘1169’은 26.6°C에서는 안정적으로 저항성을 보이다가 32.2°C의 고온에서 저항

성의 무너진다고 보고되었다(Krausz과 Thurston, 1975). 그리고 본 연구에서 사용된 ‘Hawaii7996’을 비롯한 ‘B-blocking’, ‘Hawaii7998’의 경우에도 고온에 노출될수록 저항성이 붕괴되는 것 같다고 보고된 바 있다(Lee 등, 2011). 하지만 본 연구에서는 접종 후 30°C에서 재배하는 것이 저항성 검정에 효과적이나 35°C에서도 풋마름병에 대한 ‘Hawaii7996’의 저항성은 유지되었다.

접종원 농도에 따른 토마토 풋마름병 발생. 토마토 유묘의 지체부에 세 가지 농도(OD₆₀₀=0.1, 0.2, 0.4)의 세균 현탁액을 관주하여 접종하고 풋마름병 발생을 조사한 결과, 저항성 토마토 ‘Hawaii7996’은 접종원 농도와 상관없이 실험한 모든 농도에서 발병도 0.8 이하의 높은 저항성을 나타냈다(Fig. 4). 그리고 ‘서광’, ‘도태랑챔피온’ 및 ‘마이로꾸’는 실험한 모든 농도에서 발병도 4.0의 높은 감수성을 보였다(Fig. 4). 그리고 ‘챌린지스페셜’과 ‘도태랑마스터’는 접종 농도가 증가함에 따라 풋마름병 발생이 다소 증가하였지만, 나머지 3개 품종은 접종 농도에 관계없이 풋마름병이 발생하였다. 감수성 3개 품종의 평균 발병도는 접종 농도 0.1, 0.2, 0.4에서 각각 3.6, 3.7, 4.0이었고, 저항성으로 공시된 5개 품종의 평균 발병도는 각각 3.5, 2.9, 3.7이었다.

Nakaho와 Takaya(1993)은 저항성 토마토 대목의 경우 접종원 농도가 높아질수록 풋마름병 발생량이 높아진다고 하였으나 본 연구에서는 실험한 접종원 농도(OD₆₀₀=0.1, 0.2, 0.4) 모두에서 ‘Hawaii7996’은 저항성을 보였다. 그리고 나머지 8개 토마토 품종은 접종원 농도에 관계없이 높은 감수성을 나타내므로 토마토 풋마름병 저항성 검정에서 접종원 농도는 OD₆₀₀=0.1-

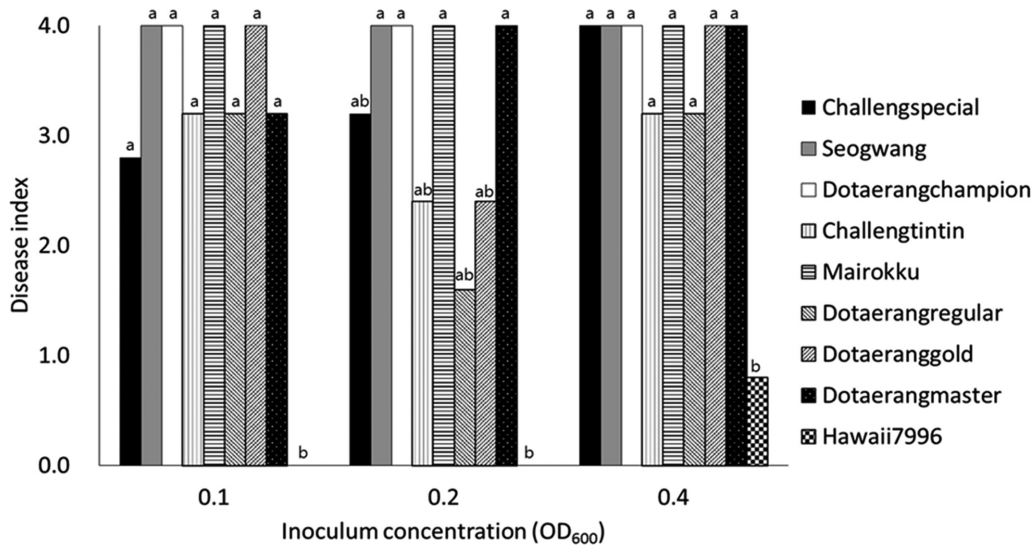


Fig. 5. Occurrence of bacterial wilt on seedlings of nine tomato cultivars according to inoculum concentration. One week after transplanting, the eight-leaf stage seedlings were inoculated with *Ralstonia solanacearum* SL1944 by drenching the roots with bacterial suspensions (OD₆₀₀=0.1, 0.2, and 0.4) to give inoculum volume of 50 ml/soil l. The plants were incubated in a growth room at 30°C with 12-hour light a day. After 12 days, disease severity of the plants was investigated. Each value represents the mean of two runs with five replicates each. Values in the labeled with the same letter within each inoculum concentration are not significantly different in Duncan’s multiple range test at P=0.05.

0.4 모두 가능한 것으로 생각되며 안정적인 풋마름병 발생을 위해 $OD_{600}=0.4$ 농도로 접종하는 것이 바람직하다고 생각되었다.

이상의 결과로부터 *R. solanacearum*에 의한 토마토 풋마름병의 저항성 검정법은 접종 1주일 전에 새로운 포트에 이식하여 온실($25 \pm 5^\circ\text{C}$)에서 재배한 8엽기 토마토 유묘에 $OD_{600}=0.4$ 농도의 세균 현탁액을 토양 리터 당 50 ml씩 관주하여 접종하고, 접종한 토마토를 30°C 생육상에서 하루 12시간씩 광을 처리하면서 12–13일 동안 재배하여 풋마름병 발생을 조사하는 것이 가장 효율적이라고 생각된다. 본 연구에서 확립한 토마토 풋마름병의 효율적인 저항성 검정 방법은 저항성 품종 육성 외에도 병 저항성관련 분자 마커 개발, 저항성 유전자 탐색 및 메커니즘 분석 등에 유용하게 활용될 수 있을 것이다.

요 약

*Ralstonia solanacearum*에 의해 발생하는 토마토 풋마름병에 대한 효율적인 저항성 검정법을 확립하고자 감수성 및 저항성 토마토 9개 품종의 접종 방법, 토마토의 생육시기, 접종 농도 및 접종 후 재배 온도에 따른 풋마름병 발생을 조사하였다. 상처없이 풋마름병균 현탁액을 관주하여 접종한 토마토는 뿌리에 scalpel로 인위적인 상처를 내고 접종한 토마토보다 감수성과 저항성 반응이 더 분명하게 나타났다. 그리고 저항성 토마토인 'Hwii7996'은 실험한 모든 조건 즉 접종하는 토마토의 생육 시기(3, 6, 8, 10엽기), 접종 농도($OD_{600}=0.1-0.4$), 접종 후 재배 온도($25, 30, 35^\circ\text{C}$)에서 고도의 저항성을 보였다. 그러나 감수성 품종들은 6엽기와 8엽기 토마토는 각각 3.7과 3.9의 높은 발병도를 보였으나, 3엽기와 10엽기 토마토는 각각 2.1과 0.5로 풋마름병 발생이 낮았다. 그리고 풋마름병균을 접종하고 25, 30, 35°C 에 재배하였을 때, 감수성 품종들은 25°C 에서는 0.5 이하의 낮은 발병도를 보였으나 30와 35°C 에서는 각각 3.1과 2.9 이상의 높은 발병도를 나타냈다. 한편, 실험한 감수성 토마토 품종들은 접종원 농도($OD_{600}=0.1-0.4$)와 관계없이 높은 감수성을 나타냈다. 이상의 결과로부터 토마토 풋마름병에 대한 효율적인 저항성 검정 방법으로 접종 1주일 전에 이식하여 재배한 8엽기 토마토 유묘를 사용하여 뿌리에 상처를 내지 않고 풋마름병균 현탁액($OD_{600}=0.4$)을 토양 리터 당 50 ml씩 관주하여 접종하고, 30°C 생육상에서 하루 12시간씩 광을 조사하면서 12–13일 동안 재배하는 것을 제안하고자 한다.

Acknowledgment

This research was supported by Golden Seed Project Horticultural Seed Center (213003-04-3-WTV11), Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs (MAFRA), Ministry of Oceans and Fisheries (MOF), Rural Development Administration (RDA) and Korea Forest Service (KFS).

References

- Acosta, J. C., Gilbert, J. C. and Quinon, V. L. 1964. Heritability of bacterial wilt resistance in tomato. *P. Am. Soc. Hortic. Sci.* 84: 455–462.
- Anand, N., Sadashiva, A. T., Tikoo, S. K., Ramkishun, M. and Reddy, K. 1993. Resistance to bacterial wilt in tomato: gene dosage effects. In: *Bacterial Wilt*, eds. by G. L. Hartman and A. C. Hayward, pp. 142–148. Hayward ACIAR Proc. 45, Kaoshiung, Taiwan.
- Anon. 1975. The Asian Vegetable Research and Development Center. Tomato Report for 1975. pp. 25–28.
- Buddenhagen, I. and Kelman, A. 1964. Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 2: 203–230.
- Buddenhagen, I., Sequeira, L. and Kelman, A. 1962. Designation of races in *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology* 52: 726.
- Carmeille, A., Caranta, C., Dintinger, J., Prior, P., Luisetti, J. and Besse, P. 2006. Identification of QTLs for *Ralstonia solanacearum* race 3-phylo-type II resistance in tomato. *Theor. Appl. Genet.* 113: 110–121.
- Danesh, D., Aarons, S., McGill, G. E. and Young, N. D. 1994. Genetic dissection of oligogenic resistance to bacterial wilt in tomato. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 7: 464–471.
- Grimault, V., Gélie, B., Lamattre, M., Prior, P. and Schimidt, J. 1994. Comparative histology of resistant and susceptible tomato cultivars infected by *Pseudomonas solanacearum*. *Physiol. Mol. Pathol.* 44: 105–123.
- Han, Y., Min, J., Park, J., Han, K., Kim, D., Lee, J. and Kim, H. 2009. Screening of tomato cultivars resistant to bacterial wilts. *Res. Plant Dis.* 15: 198–201. (In Korean)
- Han, Y.-K., Han, K.-S., Lee, S.-C. and Kim, S. 2011. Control of bacterial wilt of tomato using copper hydroxide. *Korean J. Pestic. Sci.* 15: 298–302. (In Korean)
- Hayward, A. C. 1991. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 29: 6587.
- He, L. Y., Sequeira, L. and Kelman, A. 1983. Characteristics of strains of *Pseudomonas solanacearum* from China. *Plant Dis.* 67: 1357–1361.
- Jeong, Y., Kim, J., Kang, Y., Lee, S. and Hwang, I. 2007. Genetic diversity and distribution of Korea isolates of *Ralstonia solanacearum*. *Plant Dis.* 91: 1277–1287.
- Kelman, A. and Sequeira, L. 1965. Root to root spread of *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology* 55: 304–309.
- Krausz, J. P. and Thurston, H. D. 1975. Breakdown of resistance to *Ralstonia solanacearum* in tomato. *Phytopathology* 34: 443–458.
- Lee, H. J., Jo, E. J., Kim, N. H., Chae, Y. and Lee, S. W. 2011. Disease responses of tomato pure lines against *Ralstonia solanacearum* strains from Korea and susceptibility at high temperature. *Res. Plant Dis.* 17: 326–333. (In Korean)
- Mew, T. W. and Ho, W. C. 1976. Varietal resistance to bacterial wilt in tomato. *Plant Dis. Rep.* 60: 264–268.

- Monma, S. and Sakata, Y. 1993. Inheritance of resistance to bacterial wilt in tomato. In: Bacterial Wilt, eds. by G. L. Hartman and A. C. Hayward, pp. 149–153. Hayward ACIAR Proc. 45. Kaoshiung, Taiwan.
- Nakaho, K. and Takaya, S. 1993. Resistance of tomato rootstock cultivars to *Pseudomonas solanacearum* evaluated by infection rate under different testing conditions. In: Bacterial Wilt, eds. by G. L. Hartman and A. C. Hayward, pp. 138–141. Hayward ACIAR Proc. 45, Kaoshiung, Taiwan.
- Park, E. J., Lee, S. D., Chung, E. J., Lee, M. H., Um, H. Y., Murugaiyan, S., Moon, B. J. and Lee, S.-W. 2007. MicroTom-A model plant system to study bacterial wilt by *Ralstonia solanacearum*. *Plant Pathol. J.* 23: 239–244.
- Roberts, P. D., Denny, T. P. and Schell, M. A. 1988. Cloning of the *egl* gene of *Pseudomonas solanacearum* and analysis of its role in phytopathogenicity. *J. Bacteriol.* 170: 1445–1451.
- SAS Institute Inc. 1989. SAS/STAT user' guide, version 6.4th ed. SAS Institute Inc., Gary, N. C.
- Sceelathakumary, L. A. and Peter, K. V. 1984. Inheritance of combined wilt resistance in tomato. *Tomato Genet. Coop. Rep.* 34: 16.
- Schaad, N. W., Jones, J. B. and Chun, W. 2001. Laboratory, Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. 3rd ed. APS Press, St. Paul, USA.
- Schmit, J. 1978. Microscopic study of early stages of infection by *Pseudomonas solanacearum* E. F. S. on "in vitro" grown tomato seedlings. Proc. 4th Int. Conf. Plant Pathol. Bacteriol. pp. 841–856.
- Seo, S. T., Park, J. H., Han, K. S., Cheong, S. R. and Lee, S. 2007. Genetic diversity of *Ralstonia solanacearum* strain isolated from pepper and tomato plants in Korea. *Res. Plant Dis.* 13: 24–29. (In Korean)
- Singh, K. 1961. Inheritance of North Carolina type of bacterial wilt resistance in tomato *Lycopersicon esculentum* L.M.S. Thesis. University of Hawaii, Honolulu.
- Thoquet, P., Olivier, J., Sperisen, C., Rogowsky, P., Laterrot, H. and Grimsley, N. 1996a. Quantitative trait loci determining resistance to bacterial wilt in tomato cultivar Hawaii7996. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 9: 826–836.
- Thoquet, P., Olivier, J., Sperisen, C., Rogowsky, P., Prior, P., Anaïs, G., Mangin, B., Bazin, B., Nazer, R. and Grimsley, N. 1996b. Polygenic resistance of tomato plants to bacterial wilt in the French West Indies. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 9: 837–842.
- Vasse, J., Frey, P. and Trigalet, A. 1995. Microscopic studies of intercellular infection and protoxylem invasion of tomato roots by *Pseudomonas solanacearum*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 8: 241–251.
- Walker, J. M. 1967. Hereditary resistance to disease in *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology* 42: 628–634.
- Wang, J.-F., Olivier, J., Thoquet, P., Mangin, B., Sauviac, L. and Grimsley, N. H. 2000. Resistance of tomato line Hawaii7996 to *Ralstonia solanacearum* Pss4 in Taiwan is controlled mainly by a major strain-specific locus. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 13: 6–13.
- Winstead, N. N. and Kelman, A. 1952. Inoculation techniques for evaluating resistance to *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology* 42: 628–634.