

## *Nicotiana tabacum*과 *Nicotiana africana*의 종간교배에 의한 감자바이러스 Y 저항성 유전자원 개발

금완수\*, 정운화, 최상주, 조명조, 이승철  
한국인삼연초연구원 수원시험장

### Transfer of Potato Virus Y (Necrotic strain) Resistance from *Nicotiana africana* to *Nicotiana tabacum*

Wan Soo Keum\*, Yun Hwa Chung, Sang Joo Choi, Myung Jo Cho and Seung Chul Lee  
Suwon Experiment station, Korea Ginseng and Tobacco Research  
Institute P. O. Box 59, Suwon, 440-600, Korea

**ABSTRACT** : This study was conducted to transfer the potato virus Y - necrosis strain resistance from *Nicotiana africana* to *Nicotiana tabacum* (cv. NC82)

*N. africana* was crossed with NC82. Germination of the seeds from the cross were good, and development of the plants were normal through the cotyledon stage, at which time most of the seedlings died. However, surviving seedlings continued to grow normally. Chromosomes of the these interspecific self-sterile F<sub>1</sub> hybrids were doubled by tissue culture. Amphidiploid of F<sub>1</sub> hybrid was self-fertile. Starting with amphidiploid, a systematic backcross (BC) program was set up with NC82 as recurrent parent.

In the BC<sub>5</sub>S<sub>2</sub> generation, the resistant plant was selected. This resistant line, KF8833-1, had 48 chromosome and secreting glandular trichomes. It flowered 2days later than NC82, and stalk height, leaves per plant, leaf length and leaf width were similar to those of NC82.

**KEY WORDS** : F<sub>1</sub> interspecific hybrid, Amphidiploid, Self-sterile, Backcross

---

\*연락저자 : 금완수, 445-820, 경기도 화성군 반월면 당수리 434번지 한국인삼연초연구원 수원시험장  
Corresponding Author : Wan Soo Keum, Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Suwon Experiment  
Station, 434 Dangsoo-Ri, Banwol-Myon, Whasung-Kun, Kyungki-Do 445-820,  
Korea.

## 서 론

감자 바이러스 Y는 전세계적으로 여러나라에서 연초의 주요병으로 알려져 있으며<sup>11)</sup>, 우리나라에서 감자 바이러스 Y는 1983년에 처음 보고 되었고<sup>16)</sup> 그 피해율은 연차간에 다소 차이는 있으나 증가하는 경향이다. 특히 연초 경작지 주변에 감자가 재배되는 지역에서 감자 바이러스 Y의 피해율은 더욱 높다.

감자 바이러스 Y는 자연상태에서 주로 복숭아혹진딧물에 의해 매개 됨으로<sup>2,18)</sup> 이 매개충을 농약으로 완전히 없애는 것은 매우 어려운 일이므로 감자 바이러스 Y의 피해를 방지하는데 가장 효과적인 방법은 저항성 품종 재배이다.

*N. tabacum*종 중에서 감자 바이러스 Y에 저항성 유전자원으로는 Virgin A mutant가 가장 널리 이용되었으며, 이 유전자원으로 부터 황색종에서 NC 744<sup>5)</sup> 버어리종에서 TN 86<sup>14)</sup>이 육성 되었으며 이들 저항성은 단일열성인자에 의하여 지배된다고 한다<sup>10)</sup>. 병 저항성에 있어서 단일인자에 지배될때 그 저항성이 와해될 가능성이 있다고 한다<sup>6, 22)</sup>. 이러한 경우를 대비하기 위하여 저항성의 유전양상이 다른 유전자원의 개발이 필요하다. 연초의 야생종 중에는 감자 바이러스 Y에 면역성인 몇몇종이 보고되고 있으나<sup>20)</sup>, 이들 종은 *N. tabacum*과 교배가 잘되지 않아 감자 바이러스 Y에 저항성인 유전자원 개발에 이용되지 않고 있다. 1975년 Merxmuller와 Buttler<sup>13)</sup>가 아프리카에서 발견된 *N. africana*는 *N. tabacum*과 교배도 잘되고 또 감자 바이러스 Y에 저항성을 나타낸다고 하였다<sup>12)</sup>. 따라서 본연구는 *N. africana*의 감자 바이러스 Y 저항성을 *N. tabacum*에 도입하는 과정에서 얻은 잡종식물과 새로 개발된 감자 바이러스 Y 저항성 유전자원의 특성에 대하여 보고코자 한다.

## 재료 및 방법

공시재료는 교배친인 *N. tabacum*(cv. NC 82)과 *N. africana*(2n=46)를 사용하였고 종간교배는 NC 82를 모본으로 *N. africana*를 부본으로 하였다. 종간교배로 얻은 종자는 포트(φ 12cm)에 파종하여 잡종식물을 육성하였고 10매엽때 감자 바이러스 Y(피저계통) 저항성을 검정한 후 저항성개체(F<sub>1</sub>)는 불임 이므로 조직배양법<sup>9)</sup>에 의하여 염색체를 배가 하였다.

염색체가 배가된 복이배체는 NC 82와 여교배 하였으며 이들 여교배로 얻은 종자는 다시 포트에 파종하여 감자 바이러스 Y의 저항성을 검정한 후 다시 저항성개체는 NC 82와 여교배 하였다. 위와 같은 방법으로 BC<sub>3</sub>S<sub>2</sub>세대까지 육성하였다. 감자 바이러스 Y저항성 검정은 살균된 유발에서 phosphate buffer(0.01 M, pH 7)용액을 이병엽 19당 50ml의 비율로 하여 분쇄한후 착즙법<sup>15)</sup>으로 얻은 액을 13매 묘의 최대엽과 그 상위엽에 carborundum도말 점종법<sup>11)</sup>으로 하였으며 병징의 조사는 점종후 4주까지 하였다. 감자 바이러스 Y저항성 계통의 염색체 검정은 근단을 채취하여 0.004M hydroxyquinoline용액에 4시간 처리한 후 95% ethanol과 glacial acetic acid 3:1 (v/v)액에 24시간 고정하고 물로 씻은 후 58℃의 1 N HCl용액에 8분간 가수분해 한 다음 Shiff's 시약<sup>21)</sup> 및 acetocarmine으로 염색하여 검경하였다.

TLC (thin layer chromatography)분석방법을 이용하여 감자 바이러스 Y 저항성 계통의 수지분비유무를 조사하기 위하여 감자 바이러스 Y 저항성 계통과 NC 82의 상위엽을 적심기때 채취하여 조동<sup>8)</sup>이 사용한 방법을 이용하여 분석하였다.

감자 바이러스 Y 저항성 계통 KF8833-1과 NC 82의 생육특성을 비교하기 위하여 3월 5일에 파종하여 4월 25일에 처리당 10주씩 pot에 이식하였다. 생육특성은 개화기때 간장, 엽수 및 최대엽의 장과 폭을 조사하였다.

## 결과 및 고찰

*N. africana*의 감자 바이러스 Y 저항성 인자를 *N. tabacum* (cv. NC 82)에 도입하기 위하여 종간교배한 F<sub>1</sub>, F<sub>1</sub>의 복이배체 및 복이배체에 NC82를 5회 여교배한후 2회 자식한 계통에 대해서 입성정도, 식당종자수 및 발아정도를 조사 한 결과는 표 1과 같다. F<sub>1</sub>종간잡종은 염색체수가 2n=47로 불임을 나타내었고, F<sub>1</sub>을 조직배양법<sup>9)</sup>으로 염색체를 배가한 복이배체는 식당 종자수가 34개로 매우 적었으나 발아율은 양호하였으며 BC<sub>3</sub>S<sub>2</sub>세대의 계통은 NC 82와 식당종자수 및 발아율에 차이가 없었다. 연초의 종간교배에서 F<sub>1</sub>종간잡종의 불임은 일반적인 현상이며 이들의 원인은 염색체, 유전적 및 세포질에 기인된 것으로 보고<sup>4)</sup> 되고 있으며 본 시험의 F<sub>1</sub>세대는 염

Table 1. Fertility, number of seeds per capsule and germination rate of BC<sub>5</sub>S<sub>2</sub> generation, F<sub>1</sub> interspecific hybrid, and F<sub>1</sub> amphidiploid of *N.tabacum* × *N.africana*.

Variety or hybrids	Fertility(F)	No.of seed per capsule	Germination rate(%)
(NC82 × <i>N.africana</i> )F <sub>1</sub>	Non - F	0	-
4N[(NC82 × <i>N.africana</i> )F <sub>1</sub> ]	F	34	90
4N[(NC82 × <i>N.africana</i> )F <sub>1</sub> ] × NC82S <sub>2</sub>	F	2938	91
NC82	F	3042	93

색체수가 2n=47로서 염색체수의 unbalance에 기인되어 불임으로 나타났을 것으로 생각되며 F<sub>1</sub>의 복이배체는 F<sub>1</sub>세대보다 염색체의 보다 안정적인 상태였기 때문에<sup>4)</sup> 소량의 종자를 얻을수 있었다. 종간



Fig.1 Three weeks old seedlings after germination of seeds obtained from the cross of *N.tabacum* (cv. NC82) × *N.africana*.

교배에 있어서 세대가 진전됨에 따라 삭당 종자량의 증가는 염색체의 안정성 및 동질성 회복등에 기인된 것으로 생각된다. 그림 1은 종간교배하여 얻은 F<sub>1</sub> 잡종 종자를 꺾듯(φ12cm)에 파종하여 발아후 3주일 된 유묘상태이다. 파종된 종자는 90% 이상 발아가 되었으나 본엽이 나오기전 자엽기에 대부분의 유묘가 치사한다. 이러한 원인은 치사인자가 관여했기 때문이고<sup>3)</sup> 일부 살아남은 개체중에는 반수체와 잡종식물이 혼재해 있다. 이들 잡종식물이 13매엽에 달했을때 감자 바이러스 Y 저항성을 검정한 결과 (표 2) F<sub>1</sub>잡종과 F<sub>1</sub>의 복이배체는 저항성으로 나타났고, 이들 저항성은 우성에 의하여 지배되었으며 현재까지 보고된 감자 바이러스 Y의 저항성은 단일열성인자에 의하여 지배된다는 보고<sup>10)</sup>와 상이하게 나타났다. 잡종식물(그림 2)은 양친의 중간형태를 나타내었으며 염색체수는 47개 였다. BC<sub>5</sub>S<sub>2</sub>세대에서 선발된 감자 바이러스 Y 저항성 계통 KF8833-1은 그림 3에서와 같이 NC 82의 초형과 유사하며 염색체수(그림 4)도 2n=48로 나타났다. 그림 5는 TLC 방법에 의하여 감자 바이러스 Y 저항성 육성계통 KF8833-1의 생

Table 2. Screening for resistance to potato virus Y - necrotic strain of parents, F<sub>1</sub> hybrids and F<sub>1</sub> amphidiploids of *N.tabacum* × *N.africana*<sup>1)</sup>.

Varieties or hybrids	Resistant	Susceptible	Total
NC 82	0	5	5
<i>N.africana</i>	5	0	5
(NC82 × <i>N.africana</i> )F <sub>1</sub>	5	0	5
4N[(NC82 × <i>N.africana</i> )F <sub>1</sub> ]	5	0	5

<sup>1)</sup> : Two leaves on each of 5 plants about 13 leaf-stage were inoculated using cotton swab that had been dipped in 600 mesh carborandum and then on PVY extract prepared from an infested plant (1g tissue : 50ml 0.01M phosphate buffer pH7).

Plants were examined for PVY symptom for 4 weeks.

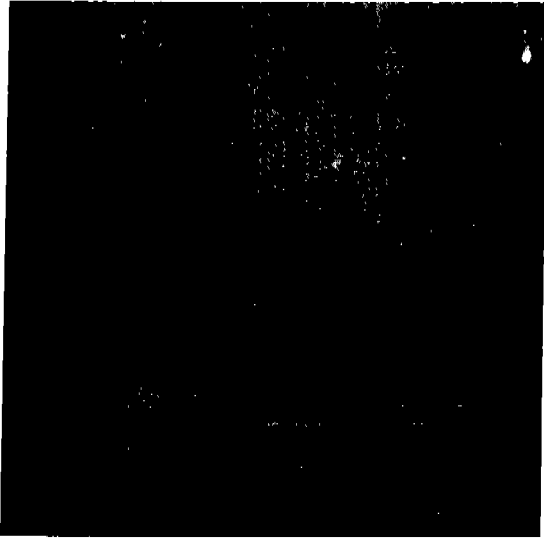


Fig.2 A plant of parents and F<sub>1</sub> interspecific hybrid at flowering stage.



Fig.3 A plant of recurrent parent "NC82" (left) and PVY resistant line "KF8833-1" (right) at topping stage.



Fig.4 Chromosome number ( $2n=48$ ) of PVY resistant line, KF8833-1, developed from the cross of *N.tabacum* and *N.africana*.

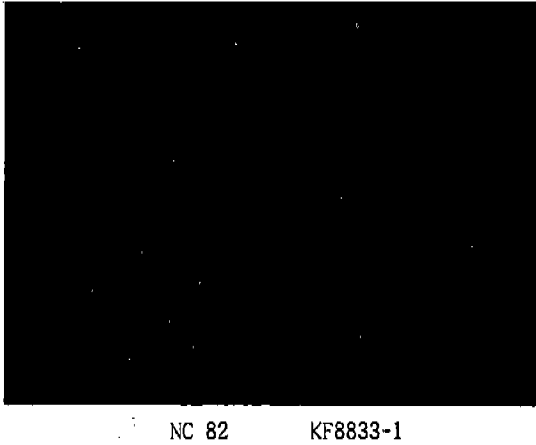


Fig.5 Thin layer chromatograms of diterpenoids from fresh tobacco leaves

엽으로 부터 수지분비 유무를 조사한 결과이다. KF 8833-1은 NC 82와 같이 모용에서 *duvatiendiol*등이 분비되는 수지분비형으로 앞으로 KF8833-1은 품질이 양호한 감자 바이러스 Y 저항성 품종육성을 위하여 기존에 많이 이용되어온 수지비분비형인 *Virgin A mutant*에서 유래된 저항성 유전자원<sup>5)</sup> 보다 더 효과적으로 이용될 수 있을 것으로 생각된다. 연초에 있어서 생엽의 모용에서 수지분비 유무는 잎 담배의 향기와 매우 큰 관련이 있는 것으로 보고되고 있다<sup>7,19)</sup>. 표 3은 감자 바이러스 Y 저항성 계통 KF8833-1과 NC82와의 생육특성을 비교 한 결과이다. KF8833-1은 NC 82에 비하여 개화기가 2일 늦고 간장, 엽수, 엽장, 엽폭등은 거의 같았다. 앞으로 KF8833-1은 감자 바이러스 Y 저항성 품종육성의 주요 유전자원으로 이용될수 있을 뿐아니라 이 계통은 앞으로 화

Table 3. Comparison of agronomical characteristics between KF8833-1 and NC 82

Variety or line	Stalk height (cm)	Leaves per (no)	Largest leaf		Days to flower
			plant (cm)	Width (cm)	
KF8833-1	76	23.2	47	22	136
NC 82	75	23.4	46	23	134

학적 특성 및 건조엽등의 평가로 재배품종으로 이용 가치를 검토코자 한다.

### 결 론

*Nicotiana africana*의 감자바이러스 Y 저항성을 *Nicotiana tabacum* (cv. NC82)에 도입하기 위하여 이들 종을 교배하여 얻은 F<sub>1</sub> 중간잡종, F<sub>1</sub>의 복이배체 및 F<sub>1</sub>의 복이배체에 NC82를 5회 여교배하여 얻은 감자바이러스 Y 저항성 계통 “KF8833-1”의 특성을 조사한 결과는 다음과 같다. *N.tabacum*(cv. NC82)과 *N.africana*를 교배한 F<sub>1</sub> 중간잡종은 불임이었고, F<sub>1</sub>의 복이배체는 임성이었으며 발아도 양호하였다. 감자 바이러스 Y 저항성 육성계통 KF8833-1은 염색체 수가 2n=48 이었으며 생엽을 이용한 TLC분석 결과 수지분비형으로 나타났다. 생육특성에 있어서 KF 8833-1은 NC 82에 비하여 개화일수가 2일 길었고 엽수, 최대엽장 및 최대엽폭은 거의 같았다.

### 참고문헌

1. Agrios, G.N. (1978) Plant pathology, 2nd ed. pp. 567 - 569, Academic Press, New York, U.S.A.
2. Broadbent, L. (1969) In Virus, Vectors, and Vegetation (K.Maramorosch, ed) pp. 593 - 630. Wiley (Interscience), New York, U.S.A.
3. Burk, L.G., D.U. Gestel and E.A. Wernsman (1979) Science 206 : 585.
4. Chaplin J.F. and L.G. Burk. (1970) Proceedings of the 5th international Tobacco Scientific Congress, Hambrug. pp 59 - 64.
5. Chaplin J.F., L.G. Burk, G.V. Gooding, Jr. and N.T. Powell (1980) Crop Sci. 20 : 677.
6. Edgington, L.V., R.A. Martin, G.C.Bruin and I.M. Parsons (1980) Plant Dis. 64 : 19 - 23.
7. Enzell, C.R. (1976) Recent. Adv. Tob. Sci. 6 : 32 - 60.

8. 조천준, 김대송, 정석훈, 최상주, 조명조 (1993) 한국연초학회지 15 : 111 - 114.
9. Kasperbauer, M.J. and G.B.Collins (1972) Crop Sci. 12 : 98 - 101.
10. Koelle, G. (1961) Zuechter 31 : 71 - 72.
11. Lucas, G.B. (1975) Disease of Tobacco 3rd ed. pp.457 - 469, Biological Consulting Associates, Raleigh, N.C. U.S.A.
12. Lucas, G.B., G.V.Gooding, Jr., J.N.Sasser and D.V. Gerstel (1980) Tob. Sci. 24 : 141 - 142.
13. Merxmuller, H. and K.P.Buttler (1975) Mitt. Bot. Munchen 12 : 91 - 104.
14. Miller, R.D. (1987) Crop Sci. 27 : 365 - 366.
15. Noordam, D. (1973) Identification of plant viruses, Methods and experiments P.21, Center for Agricultural and Documentation, Wagenigen, the Netherland.
16. 박은경 (1983) 한국연초학회지 5 : 101 - 105.
17. Reagen, E.E., G.V.Gooding, Jr. and G.G. Kennedy (1979) J.Econ. Entomol. 72 : 538 - 540.
18. Reed, T.D. and P.M. Semtner (1982) J. Econ. Entmol. 85 : 1963 - 1971.
19. Severson, R.F. (1990) CORESTA Symp. Infor. Bull. pp.34 - 54.
20. Sievert, R.C. (1972) Tob. Sci. 16 : 92 - 94.
21. Thorpe, T.A. (1981) Plant tissue culture. P249 Academic Press, New York, U.S.A.
22. Van der Plank, J.E. (1975) Principles of plant infection, p.216, Academic press, New York, U.S. A.