

## 세균성마름병에 대한 담배의 저항성검정 방법

이 영 근

안동대학교 생명자원과학부 농생물전공  
(2002년 5월 27일 접수)

## A Screening Method on Resistance of Tobacco Plants to Bacterial Wilt

Young-Keun Yi

Major in Agricultural Biology, School of bioresource science  
Andong National University, Andong 760-749, Korea  
(Received May 27, 2002)

**ABSTRACT :** Three kinds of inoculation methods, capillary, root cutting and dipping were compared for an efficient way to screening the resistant tobacco variety against bacterial wilt, *Ralstonia solanacearum*. The pricking a capillary tube contained the pathogenic bacterial suspension( $10^7$  cfu/ml) to an axillary bud of each tobacco plant showed different resistance well between varieties. The less period was required in inoculating work and in disease development for the inoculation method used with capillary tube than for two other inoculation methods tested also.

**Key words :** inoculation method, capillary tube, inoculum density, *Ralstonia solanacearum*

담배 세균성마름병은 이미 1910년 이전부터 우리나라 담배산지의 주요 병으로 기록되었으며 (度支部, 1910), 최근 다시 피해가 증가하여 우리나라 황색종 담배산지에서 중요한 병으로 대두되고 있다 (이, 2001). 이 병은 발 흙 속에 있던 병원세균 *Ralstonia solanacearum*이 담배의 뿌리나 땅가 부분의 줄기에 생긴 상처로 침입하여 발생된다. 식물체 내로 침입한 세균은 물관 속에서 급속히 증식하여 큰 덩어리를 형성하고, 수분의 이동을 차단하여 식물전체가 시들어 죽게 된다. 대부분의 토양전염성 세균병과 마찬가지로, 이 병에 대해서

도 아직 효과적인 약제방제가 보급되지 못하였다. 따라서 이 병의 방제를 위해서는 주로 저항성품종 보급에 주력하고 있는 실정이다 (이, 1991). 이 병원세균은 담배 외에도 토마토, 고추, 가지, 참깨, 바나나 등 약 200종의 식물에 시들음병을 일으키는 것으로 보고되어 있다 (Lucas, 1975).

세균성마름병(*Ralstonia solanacearum*)에 대한 식물의 저항성검정은 연구자에 따라 여러 가지 방법으로 수행되어 왔다 (Chen, 1981; Daub, 1987; 김과 이, 1979; 임과 김, 1994; 박 등, 1988). 이 실험은 기존에 사용되어 왔던 몇 가지 세균성마름

\*연락처 : 760-749, 경북 안동시 송천동 388번지, 안동대학교 자연과학대학 생명자원과학부

\*Corresponding author : Major in Agricultural Biology, School of bioresource science, Andong National University, 388 Songcheon-dong, Andong 760-749, Korea

병에 대한 저항성검정방법을 비교하여, 효과적인 검정방법을 제시할 목적으로 수행되었다.

## 재료 및 방법

### 담배종자 및 세균성마름병균

세균성마름병에 대하여 각각 감수성, 중도저항성, 저항성 품종으로 알려져 있는 BY4, KF109, NC82품종의 담배종자 (이, 1991)를 한국인삼연초 연구원에서 분양받아 파종하였다. 위 종자를 파종하여 발아 후 5주된 유묘로 직경 13cm의 비닐포트에 심겨진 것을 사용하였다.

세균성마름병균은 경북 안동시 석동의 병든 담배로부터 Kelamn의 방법 (1954)에 따라 분리하여 사용하였다. 즉 병든 담배조직으로부터 TZC한천 평판배지 (bacto peptone 10g, casein hydrolysate 1g, glucose 0.5g, bacto agar 20g, 0.5% 1,3,5-tetrazolium Cl sol. 10ml)를 사용하여 중앙이 핑크색이고 주변이 흰 single colony를 분리하였다. 분리된 세균은 nutrient한천평판배지 (bacto beef extract 3g, bacto peptone 5g, agar 15g, glucose 5g)를 사용하여 30°C에서 2일간 배양한 후, 병원세균의 현탁액 (10<sup>9</sup>cfu/ml)을 흡수시킨 모세관 (Chase, 직경 1~1.2mm)으로 담배의 액아부위에 상처접종하여 병원성을 확인하였다.

### 접종방법 별 저항성검정 효과 조사

1)뿌리 절단법, 2)뿌리침지법, 3)모세관 접종법의 3가지 방법으로 병원세균을 접종하였다. 뿌리절단법은 김과 이 (1979)의 방법을 사용하였다. 즉 담배의 뿌리를 칼로 절단한 후, 병원세균의 현탁액을 포트 당 15ml 씩 토양관주하였다. 뿌리침지법은 Chen의 방법 (1981)을 사용하였다. 즉 담배뿌리를 세균현탁액에 30분간 담근 후, 비닐포트에 이식하였다. 모세관 접종법으로는 Daub (1987)의 방법에 따라서 위 병원성검정을 위한 접종법을 사용하였다. 병원세균의 현탁액은 위 병원성검정을 위해 사용한 세균의 현탁액과 같은 방법으로 조제하여 사용하였다. 접종 방법별로 20주씩 완전입의배치법 3반복으로 하였다.

접종이 끝난 담배는 30°C의 항온실에 보존하면

서 경시적인 세균성마름병 발병상황을 조사하였다. 발병정도는 다음 지수로 조사하여 발병율을 환산하였다. 0:건전, 1:1/3 이내 잎 시들음, 2:1/3~2/3 잎 시들음, 3:2/3 이상 잎 시들음. 발병율(%)=Σ(발병지수×주수)÷(최고발병지수×총 조사주수).

또한 세균현탁액을 만들기 시작하면서부터 접종이 끝날 때까지 소요되는 시간과 접종원으로 소비되는 병원세균 현탁액의 양을 접종방법 별로 측정하였다.

### 병원균의 농도 별 저항성검정 효과 조사

모세관접종법으로 세 농도수준 (10<sup>5</sup>~10<sup>9</sup>cfu/ml)의 병원세균을 접종하고 위 접종방법별로 저항성검정 효과 조사와 같은 방법으로 병 발생정도를 경시적으로 조사하였다. 접종농도별로 20주씩 완전입의배치법으로 3반복씩 접종하였다.

## 결과 및 고찰

### 접종방법 별 저항성검정 효과

세가지 접종방법에 의해 세균성마름병균을 접종하고 경시적인 발병정도를 조사한 결과, 담배품종의 저항성 정도에 관계없이 모세관으로 접종된 담배에서 병 진전이 가장 빨랐다 (표 1).

저항성 품종 NC82와 감수성 품종 BY4 사이의 발병정도 차이가 접종 6~8일 후에 약 50%에 달하여 가장 큰 차이를 나타내었다. 감수성 품종과 중도저항성 품종, 저항성 품종과 중도저항성 품종 사이에서도 접종 6~8일 후에 20~30%의 발병율 차이를 보였다. 그러나 발병율의 표준편차를 감안할 때 병원균의 접종방법에 따른 품종간 발병율의 차이는 인정되지 않았다 (표 2).

접종방법 별로 총 180포기의 담배에 세균성마름병균을 접종하기 위하여 소요되는 시간은 모세관으로 접종하는 방법이 30분으로 가장 짧았으며, 담배뿌리를 세균현탁액에 담그는 방법으로 가장 길었다. 저항성검정에 사용된 접종원의 량도 모세관으로 접종하는 방법이 10ml로 가장 적었으며 담배뿌리를 절단한 후 토양관주한 세균현탁액이 약 3ℓ로 가장 많이 소비되었다 (표 3).

위 결과를 종합하여 볼 때, 모세관을 이용하여

세균성마름병에 대한 담배의 저항성검정 방법

Table 1. Disease developments on three tobacco cultivars infected with *Ralstonia solanacearum* by three inoculation methods

Days after inoculation	Disease severity (%) <sup>a</sup>								
	Capillary			Root cutting			Root dipping		
	BY4 <sup>b</sup>	KF109	NC82	BY4	KF109	NC82	BY4	KF109	NC82
3	34±4	16±8	0	16±9	1±1	0	25±6	0	0
5	71±13	46±10	25±3	40±16	8±1	0	49±15	27±4	12±3
7	93±3	72±9	46±3	75±8	43±3	23±1	84±6	58±5	37±0
9	98±1	92±4	68±2	92±2	63±1	47±2	96±3	76±5	57±1

<sup>a</sup> The tobacco plants were inoculated by following three methods. 1)An axillary bud of each tobacco plant was pricked with a capillary tube (1~1.2mm of inner diameter) containing wilt pathogenic bacterial suspension ( $10^9$ cfu/ml) (Capillary). 2)Rootlets of tobacco plants were cut with knife and the bacterial suspension (15ml/plant) were poured onto the rhizosphere soil (Root cutting). 3)Tobacco roots were immersed in the bacterial suspension for half hour and were transplanted to pots containing soil (Root dipping). Disease severity were calculated by following formula. The severity (%) =  $\Sigma$ (disease index  $\times$  No. of the plants)  $\div$  (3 $\times$ No. of total tobacco plants). Disease index ranged from 0=no visible symptom to 3=more than 3/4 leaves wilted. Values are means  $\pm$  standard deviations of three replicates. Each replicate consists of twenty plants.

<sup>b</sup> Tobacco cultivars.

Table 2. The gulf of disease severities between susceptible and resistant tobacco variety

Days after inoculation	Gulf of disease severity (%) <sup>a</sup>								
	Capillary			Root cutting			Root dipping		
	B-N	B-K	K-N	B-N	B-K	K-N	B-N	B-K	K-N
5	45.5	24.9	20.6	39.5	31.2	8.3	36.7	21.7	15.0
6	52.8	28.9	23.9	52.2	31.6	20.6	43.4	32.8	10.6
7	46.7	21.1	25.6	52.2	32.2	20.0	47.2	26.1	21.1
8	36.0	9.3	26.7	47.8	35.0	12.8	47.3	25.6	21.7
9	30.5	6.6	23.9	45.0	28.9	16.1	39.4	20.0	19.4

<sup>a</sup> The gulfs were calculated from table 1. B-N means the gulf subtracted disease severity of tobacco cultivar NC82 from one of BY4, B-K means the gulf subtracted the severity of KF109 from one of BY4 and K-N means the gulf subtracted of the severity of NC82 from one of KF109.

병원세균을 접종한 담배가 다른 두 방법으로 접종한 담배에 비하여 병징 발현이 가장 빨랐다. 저항성 정도가 다른 담배품종 사이의 발병정도 차이도 다른 두 방법으로 접종한 담배에 비하여 결코 작

지 않았다. 또한 병원균 접종에 필요한 접종원의 양도 가장 적게 들었고 접종에 소요되는 시간도 짧았다. 따라서 세균성마름병에 대한 담배의 저항성을 검정하기 위한 접종방법으로는 모세관을 이

Table 3. The time and inoculum required for the inoculation

Inoculation method <sup>a</sup>	Time (hr.)	inoculum (ℓ)
Capillary	0.5	0.01
Root cutting	2.0	2.00
Root dipping	1.7	3.00

<sup>a</sup> An axillary bud of each tobacco plant was pricked with a capillary tube (1~1.2mm of inner diameter) containing wilt pathogenic bacterial suspension ( $10^9$ cfu/ml) (Capillary). Rootlets of tobacco plants were cut with knife and the bacterial suspension (15ml/plant) were poured onto the rhizosphere soil (Root cutting). Tobacco roots were immersed in the bacterial suspension for half hour and were transplanted to pots containing soil (Root dipping).

용하는 것이 효과적이라고 생각되었다.

**접종원의 농도 별 저항성검정 효과**

접종원의 농도를 세 수준으로 조제하여 담배에 접종하고 경시적인 발병정도를 조사하였다. 그 결과, BY4 품종의 담배에  $10^7$ cfu/ml와  $10^9$ cfu/ml의

병원세균을 접종하였을 경우에 접종농도에 따른 병 진전의 차이가 인정되지 않았다 (표 4). 그러나 KF109품종과 NC82품종의 담배에  $10^7$ cfu/ml의 병원세균을 접종하였을 경우에는,  $10^9$ cfu/ml로 접종하였을 경우에 비해 접종 6일 후부터 훨씬 병이 늦게 진전된 것으로 조사되었다. 반면에 BY4품종에  $10^5$ cfu/ml의 병원세균을 접종하였을 경우에는,  $10^7$ cfu/ml로 접종하였을 경우에 비하여 접종 6일 후부터 훨씬 병 진전이 늦어지는 것으로 조사되었다. 그러나 KF109와 NC82에  $10^5$ cfu/ml와  $10^7$ cfu/ml의 병원세균을 접종하였을 경우에는 접종농도에 따른 병 진전의 차이가 인정되지 않았다. 따라서 접종원의 농도를  $10^7$ cfu/ml로 하고 접종 6일 후에 조사하였을 때 세 품종 사이의 발병정도의 차이가 가장 크게 나타났다.

김과 이 (1979)는 담배 세균성마름병 저항성검정을 위해 화분에 심겨진 담배의 뿌리를 절단하고 병원세균의 현탁액을 토양관주하는 방법을 사용하였으며, Chen (1981)은 담배뿌리를 병원세균의 현탁액에 침지시킨 후 화분에 이식하는 방법으로 접종하였다. 한편 Daub (1987)는 담배의 액아부위에 병원세균의 현탁액이 들어있는 모세관을 꽂아서 접종하였다. 임과 김 (1994)은 고추의 꽃마름병에

Table 4. Disease developments on three tobacco cultivars inoculated with three levels of *Ralstonia solanacearum* in inoculum density

Days after inoculation	Disease severity (%) <sup>a</sup>								
	$10^9$ cfu/ml <sup>b</sup>			$10^7$ cfu/ml			$10^5$ cfu/ml		
	BY4 <sup>c</sup>	KF109	NC82	BY4	KF109	NC82	BY4	KF109	NC82
3	6±2	4±2	7±2	4±2	3±1	2±0	4±2	3±2	2±1
6	36±10	28±3	16±2	37±4	18±5	6±3	16±3	11±3	6±3
9	57±8	43±4	34±6	56±2	32±3	15±1	49±6	30±4	17±5
12	76±8	54±3	47±4	76±4	44±2	24±0	63±7	39±2	25±7

<sup>a</sup> An axillary bud of each tobacco plant was pricked with a capillary tube (1~1.2mm of inner diameter) containing the pathogenic bacterial suspension. Disease severity were calculated by following formula. The severity(%) =  $\Sigma$ (disease index × No. of the plants) ÷ (3 × No. of total tobacco plants). Disease index ranged from 0=no visible symptom to 3= more than 2/3 leaves wilted. Values are means ± standard deviations of three replicates. Each replicate consists of twenty plants.

<sup>b</sup> Inoculum density.

<sup>c</sup> Tobacco cultivars.

대한 저항성을 검정하기 위해 줄기에 세균현탁액을 주사하는 방법으로 모세관접종법을 대신하고 다른 두 가지 방법과 비교하였다. 그러나 그 결과에 차이가 없다고 하였다. 다만, 주사로 접종하는 방법은 강제로 병원세균을 식물체 내에 주입하기 때문에 표피조직에서 유래한 저항성은 검정하기 곤란하다는 것이 단점이라고 하였다. 그러나 뿌리절단법이나 뿌리침지법도 일종의 상처접종법이기 때문에 표피조직의 경도에 따른 저항성 차이는 검정하기 어렵다고 생각된다.

Sequeira는 세균성마름병균의 농도가  $10^4$ cfu/ml 이상의 농도일 때 감수성 담배품종의 뿌리를 통한 침입이 가능하다고 하였으며, Lucas 등은 세균성마름병균을  $10^7$ cfu/ml의 농도로 담배에 접종하였을 때  $10^6$ cfu/ml로 접종한 경우보다 병 발생이 훨씬 빨랐다고 하였다 (Lucas, 1975). 임과 김 (1994)도 풋마름병에 대한 고추의 저항성을 검정하기 위한 접종원의 농도로  $10^{7-8}$ cfu/ml가 적당하다고 보고하였고 이 실험결과도 같은 경향임을 알 수 있었다.

이상의 결과를 종합할 때, 세균성마름병에 대한 담배의 저항성을 실내에서 유묘를 사용하여 검정하기 위해서는 모세관을 사용하는 것이 결과를 쉽고 빨리 얻을 수 있는 방법으로 생각되었다. 이때, 접종원의 농도는  $10^7$ cfu/ml로 하는 것이 가장 효과적이라고 판단되었다. 그러나 식물마다 조직의 경도 (hardness)를 포함한 저항성기작이 다를 수 있기 때문에, 모세관을 이용한 접종방법을 다른 식물의 세균성 시들음병에 대한 저항성 검정을 위하여 사용할 수 있을지는 더 검토해보아야 할 것이다.

## 결 론

세균성마름병(*Ralstonia solanacearum*)에 대한 담배의 저항성 검정을 위하여 세가지 접종방법을 비교하였다. 병원세균의 현탁액 ( $10^7$ cfu/ml)이 들어있는 모세관을 담배의 액아부위에 꽂아 접종한 결과, 품종간 저항성 정도에 따른 발병정도의 차이가 크게 나타났다. 또한 이 방법을 사용할 경우, 접종에 소요되는 시간과 병 진전에 소요되는 기간이 가장 짧은 것으로 나타났다.

## 감사의 글

이 논문은 2001학년도 안동대학교 학술연구조성비 지원에 의하여 연구되었음.

## 참 고 문 헌

- Chen, W. Y. (1981) Ph.D.Thesis, Biological control of bacterial wilt of tobacco with avirulent bacteriocin-producing strains of *Pseudomonas solanacearum*. Dept. of plant pathology, NCSU, Raleigh. N.C., U.S.A. 68pp.
- Daub, M. E. (1987) Cell culture techniques for the development of disease resistance in tobacco. p.60-61. Annual summary of activities. Dept. plant pathology, NCSU. Raleigh. N.C., U.S.A., 157pp.
- Kelman, A (1954) The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. Phytopathology 44 : 693-695.
- 김정화, 이영근 (1979) 입고병에 대한 담배 품종별 저항성검정. p.193-198. 담배연구보고서. 한국연초연구소. 314pp.
- 임양숙, 김병수 (1994) 고추의 풋마름병(靑枯病)에 대한 저항성. 한국식물병리학회지 10 : 73-77.
- Lucas, G. B (1975) Disease of tobacco. 3rd ed. Biological consulting associate, N.C., U.S.A., 621pp.
- 박은경, 김정화, 손준수, 이영근, 오명희, 강여규 (1988) 연초병해충 발생기작 및 방제연구. p.161-263. 담배연구보고서(경작분야 육종 및 환경편). 한국인삼연초연구소. 263pp.
- 이영근 (1991) 비병원성 bacteriocin생성 *Pseudomonas solanacearum*을 이용한 담배 세균성마름병 방제. 한국연초학회지 13 : 42-47.
- 이영근 (2001) 최근 우리나라 담배산지의 주요 병해. p.16-22. 계간 성보화학. 성보화학주식회사. 42pp.
- 度支部 臨時財源調査局 (1910) 韓國煙草調査書. pp.11-29.