*Xylella fastidiosa*의 배양여액을 이용한 포도나무 피어스병 품종 저항성 검정

박명수 · Jiang Lu · 윤해근

Evaluation of resistance to Pierce's disease among grapevine cultivars by using the culture filtrates produced from *Xylella fastidiosa*

Myung Soo Park · Jiang Lu · Hae Keun Yun

Received: 3 November 2017 / Revised: 29 November 2017 / Accepted: 29 November 2017
© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract This study investigated whether culture filtrates produced by *Xylella fastidiosa* can be used to determine the varietal susceptibility to Pierce's disease in grapevines (*Vitis* spp.) as a substitute for pathogen inoculation or field screening. A bioassay of grape leaves with culture filtrates from the pathogen showed that their phytotoxicities were active and host-selective. Ethyl acetate extracts from them also showed toxicities and host selectivity in both bunches of grapes and muscadine grapes. The sensitive range of plants to the culture filtrates and their ethyl acetate extracts was consistent with the host range of the Pierce's disease pathogen. Susceptible cultivars are sensitive to even highly diluted culture filtrates, while resistant cultivars were not affected even at their original culture filtrates. Susceptible cultivars were more sensitive to the undiluted culture filtrate than were highly diluted culture filtrates, and the younger leaves were the most sensitive to the culture filtrates in grapes. Although some European grape cultivars showed moderately susceptibility in this study, the determination of varietal

resistance to Pierce's disease by the treatment of culture filtrates of pathogens could provide valuable information for the preliminary selection of genetic resources and seedlings from hybridization in a disease resistant grape breeding program.

Keywords Disease resistance, Genetic resources, Phytotoxicity, Screening, *Vitis*

서론

포도(*Vitis* spp.)는 전세계적으로 가장 중요한 온대과수 중의 하나이지만 포도나무는 사상균, 세균, 바이러스 등의 병원체의 감염에 의해 피해를 입는다(Pearson and Goheen, 1988). 여러 종류의 병해 중에서 포도나무 피어스(Pierce)병은 세균인 *Xylella fastidiosa*에 의해 발병되는 병해로서, 유럽종포도(*Vitis vinifera*)와 미국종포도(*V. labrusca*)등을 가해하여 큰 피해를 유발한다. 병원균은 물관에서만 생존하고 증식하며, 기주식물의 물관에서 흡즙하는 매미충과 거품벌레에 의해 매개된다(Kitajima, 1989; Pearson and Goheen, 1988). 특별한 방제법이 개발되어 있지 않으며 매개곤충을 방제하거나 저항성 품종의 식재가 유일한 효과적인 방법이다(Purcell, 1981). 일반적으로 많은 포도 품종이 피어스병에 감수성이지만 머스카딘포도아속과 진정포도아속에 속하는 일부 품종이 저항성으로 보고되어 있다(Hopkins, 1992; Hopkins et al., 1974; Mortensen et al., 1977; Raju et al., 1971). 따라서, 저항성 품종의 선발과 육성이 매우 중요하며, 품종육성에서는 저항성 육종소재와 유전자원의 선발이 매우 중요한 과정이다.

병저항성을 검정하고자 주로 포장에서의 자연적인 병해 발생을 조사하거나 온실에서 인위적인 병원균 접종에 의

†Contributed equally

M. S. Park
서울대학교 생명과학부
(School of Biological Sciences and Institute of Microbiology,
Seoul National University, Seoul 08826, Korea)

J. Lu
(School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiao Tong
University, Shanghai, China, and Viticulture Center, Florida
A&M University, FL32308, USA)

H. K. Yun (✉)
영남대학교 원예생명과학과
(Department of Horticulture and Life Science, Yeungnam
University, Kyeongsan 38541, Korea)
e-mail: haekyun@ynu.ac.kr

해 형성된 병징을 조사하는 방법이 이용되고 있으나, 대면적의 포장과 노동력, 높은 비용 등이 소요된다. 따라서 포도 신품종 육성과정에 있어서 병해에 저항성인 육종소재와 교배실생을 선발하기 위한 효율적인 방법의 개발과 적용이 중요하며, 효율적인 방법을 도입하여 육종포장이용효율 증진 및 노동력 절감 등의 효과를 가져올 수 있다(Hopkins et al. 1974; Jayasankar et al. 2000; Mortensen 1981; Yun et al. 2003). 포도나무 피어스병에 저항성인 품종육성에는 유전자원과 교배실생을 선발하기 위한 효율적이고 체계적인 시스템을 개발하는 것도 매우 중요한 과정이다.

식물을 감염하는 병원성 사상균과 세균은 다양한 이차대사산물을 생산하며, 이차대사산물 중에 식물독소를 생산한다. 그 중에서 기주특이적 독소는 병원균의 병원성을 결정하는 결정인자로 작용하며 식물에 대해 선택적으로 반응하기 때문에(Buiatti and Ingram 1991; Grausgruber et al. 1998; Lemmens et al. 1994) 다양한 식물에서 병해 저항성을 검정하는데 사용되고 있다(Gracen et al. 1971; Kohmoto et al. 1977; Schertz and Tai 1969; Steiner and Byther 1971; Wheeler and Luke 1963; Yun and Yu 1992).

본 연구에서는 포도나무 피어스병을 일으키는 *X. fastidiosa*의 배양여액 내에 독성물질이 존재하는 것을 확인하였고, 배양여액과 이차대사산물을 이용하여 포장 병해발생과 병원균의 접종에 의한 병징 발생을 조사하는 방법을 대체할 수 있는 효율적인 병저항성 검정법을 개발하고자 하였다.

재료 및 방법

식물체

본 시험에서 사용된 포도 품종은 ‘African Queen’, ‘Alachua’, ‘Albermale’, ‘Black Beauty’ 등의 머스카딘 포도 51품종과 ‘Cabernet Sauvignon’, ‘Chardonnay’ 등의 유럽종 양조용 포도 39품종 등이다. 각 품종의 포도나무 잎을 채취하여 병원균 배양여액의 독성검정에 사용하였다.

병원균

포도나무 피어스병에 감염된 ‘Chardonnay’ 품종의 포도나무 잎에서 분리한 병원성의 PD-2(*X. fastidiosa*) 균주를 사용하였다.

병원균 배양

고체배지에서 유지되는 병원성 세균을 PD3 액체배지(4.0 g tryptone, 2.0 g soytone, 1.0 g trisodium citrate, 1.0 g disodium succinate, 0.01 g hemin chloride, 2.0 g soluble potato starch, 1.0 g magnesium sulfate, 1.5 g potassium phosphate monobasic, 1.0 g

potassium phosphate dibasic/L, pH 7.0)에 접종하여 28°C에서 6일간 진탕배양(140 rpm)하였다.

배양여액 획득 및 포도나무 잎 생물검정

병원균의 배양여액을 원심분리(11,000 rpm, 5분)로 순수분리하고 여과(여과지 간극 0.2 µm)를 통해 살균하였다. 병원체가 완전히 제거된 배양여액은 포도 품종간의 저항성 판별을 위해 사용되었으며 여러 단계로 희석하여 포도나무 잎에 처리하였다. 포도나무의 선단 부위로부터 3~4번째의 잎을 채취하여 이면에 연필끝으로 상처를 가한 후에 상처부위에 배양여액을 처리하였으며, 대조구로는 순수한 배지(PD3)를 처리하였다. 배양여액을 처리한 식물체 잎은 25°C에서 3일이 경과한 후에 상처부위의 괴저병반 크기를 측정하여 품종간 저항성을 판별하였다.

병원균 배양여액 에틸아세테이트 추출물의 독성 검정

순수분리한 병원균의 배양여액을 1.5배 용량의 에틸아세테이트로 24시간동안 추출하여 분리한 후, 회전감압농축기를 이용하여 완전히 건조시켰다. 건조한 에틸아세테이트 추출물을 소량의 아세톤에 녹인 후 멸균된 증류수로 희석하여 배양여액을 이용한 생물검정법과 동일하게 검정에 사용하였다.

배양여액을 이용한 포도 품종간 저항성 검정

병원균의 배양여액과 에틸아세테이트 추출물을 포도나무 잎에 처리하여 다양한 포도 품종을 대상으로 저항성을 판별하였다. 위에서 준비된 배양여액과 에틸아세테이트 추출물을 각각 30 µl를 채취한 식물체 잎에 처리하고 25°C에서 72시간이 경과한 후, 형성되는 병반의 크기를 기준으로 저항성을 검정하였다. 괴사 반점의 크기에 따라 0(형성없음), 1(상처부위 변색), 2(상처부위가 합쳐짐), 3(상처부위에 괴저병반이 형성), 4(상처부위 외부에 2~3 mm 괴저병반 형성), 5(상처부위 외부에 3 mm이상의 괴저병반 형성) 등으로 구분하였다(Fig. 1). 병원균 배양여액의 독성 검정 시험은 포도 품종당 3매의 잎을 공시하여 3회 실시하였다. 처리간의 유의성 검정은 SAS 9.2 프로그램(SAS Inc., Cary, NC, USA)을 사용하여 Duncan의 다중검정을 $p=0.05$ 수준에서 분석하였다.

결과 및 고찰

병원균 배양여액 및 에틸아세테이트 추출물의 기주특이성

다양한 포도 품종을 대상으로 병원균(*X. fastidiosa*)의 배양여액 및 에틸아세테이트 추출물에 대한 독성반응을 조사하

Fig. 1 Necrosis symptoms induced by treating culture filtrates from *Xylella fastidiosa*. Necrotic rating scale; 0 = no necrosis, 1 = slight necrosis around wounded dot, 2 = slight coalescent necrosis among wounded dot, 3 = necrosis in wounded spot, 4 = necrosis of 2–3 mm over wounded spot, and 5 = necrosis of over 3 mm from wounded spot. The size of lesions on the grapevine leaves was tested 5 days after treatment of culture filtrates

Table 1 Comparison of responses to culture filtrates and their ethyl acetate extracts from *Xylella fastidiosa* in bunch grapes

Cultivar	Lesions by treating ^z		Cultivar	Lesions by treating	
	CFCF ^y	EtoAc extract ^x		CFCF	EtoAc extract
Barbera	3.5 a	2.33 ab	M4-83	0 e	0 d
Blanc du Bois	3.75 a	2.67 a	Merlot	1.25 c	1.33 bc
Blue Lake	1 cd	1 c	Mid South	2.25 bc	2 ab
BN8C	0 e	0 d	Miss Blanc	0.25 d	0 d
Cabernet Sauvignon	1.75 c	1.67 bc	Napa Garry	1 cd	1 c
Champanelle	0 e	0 d	Orlando Seedless	1.75 c	1.67 bc
Chardonnay	2.67 b	2.67 a	Petit Sirah	2.75 a	2.67 a
Chenin Blanc	1.25 cd	1.0 c	Pinot Noir	2.75 a	2 ab
Conquistador	0 e	0 d	Ruby Cabernet	2.33 bc	2.33 ab
Cyntiana	3 b	2.33 ab	Sauvignon Blanc	1.17 cd	2 bc
Daytona	0 e	0 d	Stover	0.25 d	0 d
Dog Ridge	2 bc	1.67 bc	Swanee	0.75 cd	1 c
Fiesta	2 bc	2 b	Tampa	0 e	0 d
Flame Seedless	2.75 a	2.33 ab	Thompson Seedless	2.67 b	1.5 c
Florilush	0 e	0 d	Vitis shuttleworri	0 e	0 d
Lake Emerald	0 e	0 d	Zinfandel	2.25 bc	2 ab

^zThe lesions on the grapevine leaves were scored in 3 grapevine leaves per variety. Necrotic rating scale; 0 = no necrosis, 1 = slight necrosis around wounded dot, 2 = slight coalescent necrosis among wounded dot, 3 = necrosis in wounded spot, 4 = necrosis of 2–3 mm over wounded spot, and 5 = necrosis of over 3 mm from wounded spot.

^yCell free culture filtrates from pathogen.

^xEthyl acetate extract of culture filtrates from pathogen.

였다(Table 1, Fig. 1). 배양여액에 대한 독성 반응은 품종간에 저항성 또는 감수성의 차이를 나타내었다. 진정포도아속의 포도 품종 중에서 병원균의 배양여액에 대해 ‘Barbera’, ‘Chardonnay’, ‘Flame Seedless’, ‘Petit Sirah’ 등의 품종은 감수성이었으며, ‘Cabernet Sauvignon’, ‘Napa Garry’, ‘Sauvignon Blanc’ 등의 품종은 중도감수성을, ‘Conquistador’, ‘Daytona’, ‘Lake Emerald’ 등의 품종은 저항성이었다.

병원균을 접종한 포도나무 앞에서의 병원균 밀도 조사를 통해 저항성을 판별한 선행의 연구에서 ‘Chenin Blanc’ 등은 중도 감수성이었으나(Raja and Goheen 1981), 본연구에서는 감수성으로 판별되었다. 이는 병원균의 다양성에 의한 병원성 분화와 기주와의 친화성 차이 때문인 것으로 여겨진다. 포도나무 피어스병해에 저항성검정의 결과 다양한 품종에서 병원균 배양여액의 에틸아세테이트 추출물에 대한 독성

Table 2 Comparison of responses to culture filtrates and their ethyl acetate extracts from *Xyllela fastidiosa* in Muscadine grapes

Cultivar	Symptomes by treating ^z		Cultivar	Symptomes by treating	
	CFCF ^y	EtoAc extract ^x		CFCF	EtoAc extract
African Queen	1.75 b	1 c	Jumbo	0 d	0 e
Alachua	0.25 d	1 c	Late Fry	1 c	0.67 c
Albermale	0.25 d	0 e	Loomis	0 e	0 e
Black Beauty	0.5 d	0.67 c	Nesbit	1.5 b	0.67 c
Black Fry	1 c	0.67 c	Noble	0 e	0 e
Carlos	1.5 b	1 c	PAM	1.75 b	2 b
Cowart	0.5 d	0.33 d	Pineapple	0 e	0 e
Darlene	0.75 cd	0.33 d	Pride	0 e	0 e
Digby	0 d	0 e	Regale	0 d	0 e
Dixie	0 e	0 e	Rosa	0.5 d	0.33 d
Dixie Land	1.5 b	1.67 b	Scarlett	0 d	0 e
Dixie red	0 e	0 e	Scuppernong	0.75 cd	0.67 c
Doreen	3.25 a	4 a	Senoia	1 c	0.33 d
Early Fry	0 d	0 e	Southern Home	0 e	0 e
Farrer	0 e	0 e	Southland	0.5 d	0.33 d
Florida Fry	0.5 d	0 e	Sterling	1 c	0.33 d
Fry	0.5 d	1.33 bc	Sugar Pop	0 e	0 e
Fry Seedless	0.75 cd	0.33 d	Sugargate	0 e	0 e
Golden Isle	1.25 bc	1.67 b	Summit	0.5 d	0.33 d
Granny Val	1.25 bc	0.67 c	Supreme	0 d	0 e
Higgins	1.75 b	1.67 b	Sweet Jenny	0.5 d	0 e
Hunt	0.5 dd	0.67 c	Tara	0 e	0 e
Ison	1.25 bc	0 e	Triumph	0 d	0 e
Janebell	0 d	0 e	Watergate	0 d	0 e
Janet	1.25 bc	0.67 c	Welder	0.5 d	0 e

^zNecrotic rating scale; 0 = no necrosis, 1 = slight necrosis around wounded dot, 2 = slight coalescent necrosis among wounded dot, 3 = necrosis in wounded spot, 4 = necrosis of 2–3 mm over wounded spot, and 5 = necrosis of over 3 mm from wounded spot.

^yCell free culture filtrates from pathogen.

^xEthyl acetate extract of culture filtrates from pathogen.

반응의 정도는 병원균 배양여액에 대한 반응의 정도와 일치하였다. 이러한 배양여액과 에틸아세테이트 추출물에 대한 품종간의 저항성 정도는 포도나무 피어스병에 대한 저항성 정도와 일치하였다(Hopkins et al. 1974; Mortensen et al. 1977, Purcell 1981, Raju and Goheen 1981).

원엽포도아속의 포도 품종 중에서 ‘Doreen’은 감수성이고, ‘Carlos’, ‘Golden Isle’, ‘Late Fry’ 등은 병원균 배양여액과 에틸아세테이트 추출물에 대해 중도저항성을 나타내었고, ‘Noble’, ‘Pride’, ‘Tara’ 등은 저항성을 나타내었다. 진정포도아속의 포도 품종에서와 마찬가지로 수 많은 머스카딘 품종에서도 병원균 배양여액의 에틸아세테이트 추출물에 대한 독성반응의 정도는 병원균 배양여액에 대한 반응의 정도와 일치하였다.

희석농도에 따른 독성차이 검정

포도나무 피어스병에 감수성인 ‘Chardonay’ 품종의 포도나무 앞에서 병원균 배양여액의 원액은 물론 1/8로 희석된 용액에서도 독성을 나타내었다. 그러나, 대조적으로 저항성 품종인 ‘Noble’ 품종의 포도나무 앞에서는 원액의 배양여액을 처리하여도 독성이 나타나지 않았다(Table 3).

포도나무 잎의 성숙에 따른 감수성 차이

포도나무 피어스병에 감수성인 포도품종을 대상으로 포도나무 잎의 성숙에 따른 배양여액에 대한 감수성차이를 비교한 결과, 포도나무 신초의 선단부로부터 1~4번째의 잎은 5

Table 3 Response of grapevine leaves to several diluted culture filtrates from *Xyllela fastidiosa*

Cultivars	Symptoms by treating diluted culture filtrates ^z			
	1	1/2	1/4	1/8
Chardonnay	3.5	3.5	2	1.25
Cabernet Sauvignon	1.5	1.5	0.5	0
Blanc du Bois	1.5	1.5	0.5	0
Orlando Seedless	1.5	1	1.25	0.5
Noble	0	0	0	0

^zNecrotic rating scale; 0 = no necrosis, 1 = slight necrosis around wounded dot, 2 = slight coalescent necrosis among wounded dot, 3 = necrosis in wounded spot, 4 = necrosis of 2–3 mm over wounded spot, and 5 = necrosis of over 3 mm from wounded spot.

Table 4 Pattern of susceptibility changes in grapevine leaves with different growth stages.

Cultivars	Symptoms in grapevines leaves ^z			
	1st	2nd	3rd	4th
Chardonnay	3.5	3.5	2	1.25
Cabernet Sauvignon	1.5	1.5	0.5	0
Blanc du Bois	1.5	1.5	0.5	0
Orlando Seedless	1.5	1	1.25	0.5
Noble	0	0	0	0

^zNecrotic rating scale; 0 = no necrosis, 1 = slight necrosis around wounded dot, 2 = slight coalescent necrosis among wounded dot, 3 = necrosis in wounded spot, 4 = necrosis of 2–3 mm over wounded spot, and 5 = necrosis of over 3 mm from wounded spot.

번째와 그 이상의 성숙된 잎에 비해 감수성이었다. 피어스 병에 감수성인 품종의 포도나무의 유엽은 성엽에 비해 고도의 감수성을 나타내었다. 그러나, 병해에 저항성인 품종의 포도나무 잎은 성숙도와 무관하게 저항성을 나타내었다 (Table 4).

식물을 감염하는 병원성인 사상균과 세균은 이차대사산물로서 다양한 식물독소를 생산하며, 이러한 독소는 기주특이적 독소(기주선택적 독소, HST)와 비특이적 독소(NST) 등이 있으며, 감염된 식물조직과 배양용 인공배지에서 생산된다(Agrios 2005). 식물병의 발생과정에서 독소는 식물조직에 치명적인 손상을 유도하여 병의 발병과 감염과정에 필수적인 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

기주특이적 독소는 기주식물에 선택적으로 독성을 나타내는 물질로서 저항성 식물에는 독성을 발휘하지 않거나 매우 약하게 발휘함으로써 병원균이 기주를 감염하는 데에 필요한 결정인자로 작용한다(Pringle and Scheffer 1964). 기주특이적 독소의 생산량은 병원균의 기주내에서의 병원성과 밀접한 연관이 있어서 생산량이 많을수록 감염력은 증가하며, 다양한 식물병에서의 병원성 결정인자로 알려져 있다(Pringle and Scheffer 1964). 기주특이적 독소의 독성범위는 병원균의 기주범위와 일치하기 때문에(Buiatti and Ingram 1991; Grausgruber et al. 1998; Lemmens et al. 1994), 식물병원균의 감염생리 연구(Durbin 1988, Friesen et al. 2008, Johal and Briggs 1992; Markham and Hille 2001; Tanaka et al. 1999)와 내병성 품

종육성에 있어서 매우 중요하게 이용되고 있다(Gracen et al. 1971, Jayasankar et al. 2000; Kohmoto et al. 1977; Mayama et al. 1990; Saito et al. 2001; Schertz and Tai 1969; Steiner and Byther 1971; Yun et al. 2003).

내병성 포도 품종의 육성에 있어서 병해에 저항성인 유전 자원 및 교배실생의 선발은 매우 중요한 과정이다. 병저항성 검정에는 병원균 접종 검정, 포장 저항성 검정, 식물체 내의 병원체 밀도검정, 매개체밀도 및 발생빈도 조사 등의 다양한 방법이 활용되고 있으나, 많은 노동력, 설비, 포장 등이 요구되며 장시간이 소요되는 단점이 있다. 또한 육안에 의한 검정으로는 중도 저항성 및 감수성에 대한 정확한 검정 결과를 얻기가 어렵다. 기주 특이적 독소는 병원균의 병원성과 관련이 있고 병원균의 기주범위와 같은 독성을 나타내기 때문에 이러한 단점을 보완하는 유용한 병해 저항성 판별 수단으로 이용되고 있다(Buiatti and Ingram 1991). 최초로 victorin이 옥수수 유묘검정을 위해 활용되기 시작하여(Wheeler and Luke 1963), 수수의 PC-toxin(Schertz and Tai 1969), 사탕수수의 helminthosporide(Steiner and Byther 1971), 옥수수의 T toxin(Gracen et al. 1971), 사과나무의 AM-toxin(Kohmoto et al. 1977; Yun and Yu 1992), 배나무AK-toxin(Otani et al. 1985; Park and Yu 1988) 등과 같이 다양한 식물체에서 많은 기주특이적 독소가 이용되고 있다.

본 연구에서는 포도나무의 피어스병에 대한 품종간 저항성 차이를 검정하는데 사용되는 병원균 접종방법이나 포장

저항성 검정 방법을 대체할 수 있는 방법으로 병원균인 *X. fastidiosa* 이 생산하는 배양여액의 사용 가능성을 확인하였다. 포도나무 피어스병원균이 생성하는 배양여액은 병해에 감수성인 포도나무 잎에 독성을 나타내었으며, 기주 특이적인 특성을 나타내었다. 병원균 배양여액의 에틸아세테이트 추출물도 배양여액과 같은 독성과 기주특이성을 나타내었다. 배양여액 및 추출물에 대한 감수성은 병원균에 대한 감수성 차이와 일치하였다. 또한 병해에 감수성인 포도나무 잎은 낮은 농도로 희석된 배양여액에서도 감수성을 나타내는 반면에 저항성 품종에서는 전혀 반응이 나타나지 않았다. 이는 기존에 잘 알려진 기주특이적 독소인 사과나무의 AM-독소와 배나무 AK-독소 등에서 나타나는 특성과 일치하는 것이다(Kohmoto et al. 1977; Otani et al. 1985; Park and Yu 1988; Yun and Yu 1992). 대부분의 품종이 피어스병해에 저항성으로 여겨지고 있는 원엽포도아속에 속하는 유전자원 내에서의 품종간 저항성 차이가 있는 것으로 나타났다. 병해 저항성 육종 프로그램 및 저항성 관련 유전자를 개발하기 위해서는 보다 심도 있는 저항성 검정이 필요할 것으로 사료된다.

병해에 저항성인 육종소재와 교배실생을 선발하는 것은 매우 중요하며 기주특이적소를 이용하거나, 기주특이적독소를 함유하는 배양여액을 활용한 병해 저항성 검정은 다양한 병해 검정법을 대체할 수 있는 유용한 수단이다. 본 연구에서 사용한 포도나무 피어스병원균의 배양여액을 이용한 포도나무 품종간 저항성 검정 방법은 병원균을 접종하지 않고 저항성을 판별할 수 있는 매우 유용하면서도 정확성이 높은 방법으로서, 새로운 저항성 육종소재의 탐색 및 개발과 교잡을 통해 육성된 수많은 교배실생의 병해저항성 검정에 유용하게 활용되어 내병성 포도품종육성에 크게 기여할 것으로 기대된다. 향후 배양여액에 존재하는 독성 물질의 순수 분리를 통해 품종저항성 판별 정확도 및 활용 효율을 높일 수 있을 것이다.

적 요

포도나무 피어스병에 대한 품종간 저항성을 검정하는 데에 이용되는 병원균 접종법이나 포장저항성 검정법을 대체할 수 있는 방법으로 병원균(*Xylella fastidiosa*)이 생산하는 배양여액을 이용할 수 있는 검정법을 개발하고자 하였다. 상처를 가한 포도나무 잎에 병원균의 배양여액을 처리한 결과 독성이 발현되었으며 품종간에 차이가 나타났다. 병원균 배양여액의 에틸아세테이트 추출물은 공시한 포도나무에서 배양여액 처리와 동일한 반응을 유도하였다. 병원균 배양여액의 독성과 감수성은 에틸아세테이트 추출물과 동일하였다. 감수성 품종은 높은 비율로 희석된 배양여액에도 감수성을 나타내었으며, 저항성 품종은 원액에서도 반응하지 않았다. 감수성 품종은 희석된 배양여액보다 원액에서 감수성이었

으나 저항성 품종은 원액에도 저항성을 나타내었다. 본 연구에서 유럽종 포도 품종이 중도 감수성이었으나, 배양여액을 이용한 피어스병해 저항성 검정은 병해에 저항성인 유전자원 선별과, 교배조합의 저항성 실생의 초기에 선별에 중요한 기술로서, 향후 병해에 저항성인 포도품종 육성에 크게 기여할 것으로 여겨진다.

사 사

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ01017407)의 지원에 의해 수행되었음.

References

- Agrios, GN. 2005. Plant Pathology. Elsevier Pte., Ltd, Singapore. pp 190-196
- Briggs, SP and GS Johal. 1994. Genetic patterns of plant-host-parasite interactions. *Trend Genetics* 10:12-16
- Buiatti, M and DS Ingram. 1991. Phytotoxins as tools in breeding and selection of disease-resistant plants. *Experientia* 47: 811-819
- Durbin, RD. 1988. The mechanism for self-protection against bacterial phytotoxins. *Ann Rev Phytopathol* 26:313-329
- Friesen, TL, JD Faris, PS Solomon, and RP Oliver. 2008. The toxins produced by microorganisms in plant disease development. *Cellular Microbiol* 10:1421-1428
- Gracen, VE, MJ Forster, KD Sayr, and CO Grogan. 1971. Rapid method for screening resistance plants for control of southern corn leaf blight. *Plant Dis Repr* 55:469-470
- Grausgruber, H, M Lemmens, H Burstmayr, and P Ruckebauer. 1998. Chromosomal location of *Fusarium* head blight resistance and *in vitro* toxin tolerance in wheat using the Hobbit 'sib' (*Triticum macha*) chromosome substitution lines. *J Gen Breeding* 52:173-180
- Hopkins, DL. 1992. Induced resistance to Pierce's disease of grapevine by weakly virulent strains of *Xylella fastidiosa*. *Proc. Int. Conf. Plant Pathol. Bacteria*, 8th. pp 951-956
- Hopkins, DL, HH Mollenhauer, and JA Mortensen. 1974. Tolerance to Pierce disease and the associated rickettsia-like bacterium in muscadine grape. *J Amer Soc Hort Sci* 99:436-449
- Jayasankar, S, Z Li, and DJ Gray. 2000. In-vitro selection of *Vitis vinifera* Chardonnay with *Elsinoe ampelina* culture filtrate is accompanied by fungal resistance and enhanced secretion of chitinase. *Planta* 211:200-208
- Johal, GS and SP Briggs. 1992. Reductase activity encoded by the *HMI* disease resistance gene in maize. *Science* 258:985-987
- Kitajima, H. 1989. Diseases in grapes, p. 396-453. In: H. Kitajima, (ed.). Diseases in fruit trees. Youkendo Press, Tokyo, Japan
- Kohmoto, K, T Taniguchi, and S Nishimura. 1977. Correlation between the susceptibility of apple cultivars to *Alternaria mali* and their sensitivity to AM-toxin I. *Ann Phytopathol Soc Japan* 43:65-68

- Lemmens, M, A Reisinger, H Burstmayr, and P Ruckenbaur. 1994. Breeding for head blight (*Fusarium* spp.) resistance in wheat: Development of a mycotoxin-based selection method of seedlings. *Acta Horticulturae* 355:223–232
- Magarey, RD, BE Coffey, and RW Emmett. 1933. Anthracnose of grapevines. *Plant Prot Quart* 8:106–110
- Markham, JE and J Hille. 2001. Host-selective toxins as agents of cell death in plant-fungus interactions. *Mol Plant Pathol* 2:229–239
- Mayama, S, APA Bordin, Y Sasabe, Y Oishi, and T Tani. 1990. Selection of somaclonal variants of oats resistant to *Helminthosporium victoriae* which produces a host specific toxin, victorin. *Plant Tissue Culture Letters* 7:64–68
- Mortensen, J.A. 1971. Breeding grapes for central Florida. *Hort-Science* 6:149–153
- Mortensen, JA, LH Stover, and CF Balerdi. 1977. Sources of resistance to Pierce's disease in *Vitis*. *J Am Soc Hortic Sci* 102:695–697
- Otani, H, K Kohmoto, S Nishimura, T Nakashima, T Ueno, and H Fukami. 1985. Biological activities of AK-toxins I and II, Host-specific toxins from *Alternaria alternata* Japanese pear pathotype. *Ann Phytopath Soc Japan* 51:285–293
- Park, JS and SH Yu. 1988. evaluation of pear cultivar susceptibility to AK-toxin produced by *Alternaria kikuchiana*. *Res Rep Agri Sci Tech CNU, Korea* 15:1–8
- Pearson, RC and AC Goheen. 1988. Compendium of grape diseases. Amer. Phytopathol Soc Press, St. Paul, MN, USA. p 41
- Pringle, PB and RP Scheffer. 1964. Host-specific plant toxins. *Ann Rev Phytopathol* 2:133–156
- Purcell, AH. 1981. Vector preference and inoculation efficiency as components of resistance to Pierce's disease in European grape cultivars. *Phytopathology* 71:429–435
- Raju, BC and AC Goheen. 1981. Relative sensitivity of selected grapevine cultivars to Pierce's disease bacterial inoculations. *Amer J Enol Vitic* 32:155–158
- Saito, A, N Nakazawa, and M Suzuki. 2001. Selection of mutants resistant to *Alternaria* blotch from in vitro-cultured apple shoots irradiated with X- and -rays. *J Plant Physiol* 158:391–400
- Schertz, KF and YP Tai. 1969. Inheritance of reaction of *Sorghum bicolor* to toxin produced by *Periconia circinata*. *Crop Sci* 9:621–624
- Steiner, GW and RS Byther. 1971. Partial characterization and use of a host-specific toxin from *Helminthosporium sacchari* on sugarcane. *Phytopathology* 61:691–695
- Tanaka, A, H Shiotani, M Yamamoto, and T Tsuge. 1999. Insertional mutagenesis and cloning of the genes required for biosynthesis of the host-specific AK-Toxin in the Japanese pear pathotype of *Alternaria alternata*. *Mol. Plant-Microbe Interac.* 112: 691–702
- Wheeler, H and HH Luke. 1963. Mass screening for disease resistant mutant in oats. *Science* 122:1229
- Yun, HK, KS Park, JH Rho, BO Kwon, and SB Jeong. 2003. Development of an efficient screening system for anthracnose resistance in grapes. *J Korean Soc Hortic Sci* 44:809–812
- Yun, HK and SH Yu. 1992. Use of host-specific toxins from *Alternaria* pathogens for determining disease susceptibility of crops. I. Evaluation of apple cultivar to *Alternaria* blotch. *Korean J Plant Pathol* 8:185–189