발간등록번호

11-1543000-001431-01

# 종자수출 확대를 위한 해외 맞춤형 작물품종육성

(Development of Customized Varieties for Increase Export of Pepper Seed)

에코씨드 육종연구소

농림축산식품부.해양수산부.농촌진흥청.산림청

# 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 "종자수출 확대를 위한 해외 맞춤형 작물품종육성"(개발기간: 2011. 8. 19. ~ 2016. 8. 18.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2016 . 9 . .

(2)

주관연구기관명: 에코씨드 (대표자) 안정환

협동연구기관명: ㈜하나종묘 (대표자) 이용직

협동연구기관명: (주)에스제이그린 (대표자) 양규승

협동연구기관명: ㈜에프앤피 (대표자) 김신제

협동연구기관명: 충북대학교산학협력단(대표자)

주관연구책임자 : 안정환

협동연구책임자 : 이용적

협동연구책임자 : 박용주

협동연구책임자 : 이순봉

협동연구책임자 : 김흥태

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의 합니다.

# 보고서 요약서

과제고유번호	311015-05	해 당 단 계 연 구 기 간	2011.8.19.~ 2016.8.18	단계구분	2 / 2	
여구기 어떤	중 사 업 명 농식품기술개발(R&D) 연 구 사 업 명					
원구사합병	세부 사업명	Golden Seed				
	대과제명	종자수출 확대	를 위한 해외 맞	춤형 작물품종육	-성	
		제1세부 : 인도	부 : 인도남동부(Guntur)및 북서부지역(Rajasthan)수출용품종개발			
어구리케버		제2세부 : 중국	수출용 선초품	종개발		
연 구 과 제 명	세부 과제명	제3세부 : 중국	수출용 하늘초	형(upright type)	품종개발	
		제4세부 : 바이러스저항성 마커개발 및 기 개발마커(역병,GMS,회복인자등)분석지원				
		제5세부 : 중국	, 인도 주요병원	균 병리분석및 2	검정지원	
	الإسام	해당단계 참 여 연구원 수	총: 31 명 내부: 13 명 외부: 18 명	해당단계 연구개발비	정부:400,000천원 민간:121,000천원 계:521,000천원	
연 구 책 임 자	안정환	총 연구기간 참 여 연구원 수	총: 151 명 내부: 67 명 외부: 84 명	총 연구개발비	정부:2,000,000천원 민간: 605,000천원 계:2,605,000천원	
연구기관명 및 에코씨드 소 속 부 서 명 친환경품종육종연구소			참여기업명 에코씨드, ㈜하나종묘, ㈜에스제이그린 ㈜에프앤피			
위 탁 연 구	연구기관명:			연구책임자:		
의 탁 연 구  ○ 품종보호출원 : 총 16품종 출원 완료->2품종 등록완료  ○ 수출목표65만불: 67만불 달성(+13.5만불수주 생산진행 중)  ○ CMV-Co, TMV, Bs2(세균성반점병), 역병, GMS, 회복인자, 매운맛 총 7가지 형질관련 분자마커 18,020점 분석지원함  ○ 역병 저항성 분자마커 : 1개 마커를 선발,특허출원 완료  ○ 흰가루병 저항성 분자마커 : 특허출원을 완료  ○ 고추 주요 병해에 대한 병리검정 표준화  -탄저병, 역병, 세균점무늬병, 풋마름병과 CMV  ○ 주요 병해에 대한 저항성 검정 지원  -역병 5,093점, 탄저병 267점, 풋마름병 71점 유묘검정  -바이러스 100계통, 탄저병 237계통을 포장검정 실시함.  ○ 병원균 포장 집단의 분석  -고추를 침입하는 집단은 Colletotrichum acutatum A2-1 과 A2-2 그룹이 있음을 규명하였다.				보고서 면수 :	411	

# 국문 요약문

		코드번호	D-01
연구의 목적 및 내용	○제1세부: 인도수출용 복합내병성 인도 종자수출 1단계까 ○제2세부: 중국 수출용 복합내병성 중국 종자수출 1단계까지 ○제3세부: 중국 수출용 하늘초형(u 중국 종자수출 1단계까지 ○제4세부: 내병성 분자마커개발과 ○제5세부: 중국, 인도 주요병원균	지 10만US달러 달/ 線椒(Rope type)   40만US달러 달성 (pright type)고추 6   15만US달러 달성 개량 및 개발마커녕	고추 5 품종육성 품종육성 <sup>른</sup> 석지원
연구개발성과	<ul> <li>○ 품종보호출원: 총 16품종 출원원 -인도용: ECO1208, ECO205, E -선초: 하나에스-1호, 2호, 3호, -하늘초: SJSKY-6334, SJSKY SJSKY-4229, SJSKY SJSKY-4229, SJSKY SJSKY-4229, SJSKY -4229, SJSKY -72</li></ul>	CO871, ECO870, E 4호, 5호 Y-7, SJSKY-111, S Y-6360 +13.5만불 수주 생신 1병), 역병, GMS, 회 18,020점 분석지원 항성 QTL 분석으로 항성 QTL 분석으로 항성 QTL 분석으로 안을 이용하여 유용 여 특허출원 완료 알된 마커의 유용성- 표준화 마름병과 CMV에 대 1원 093계통, 267계통, 7 0계통과 237계통을	JSKY-2402,  나 진행 중)  의복인자, 매운맛 총함  나 이미 개발된 분자 성을 검정하였으며, 을 검정하여 특허출  대한 검정법 표준화  1계통을 유묘검정 포장 검정 실시함.

연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	종을 수출함 수 품환 수 품환 수 등 ECO-871등 10ha에 이를 자 함이 다 보고를 이 보고를 이 보고를 이 보고를 하는 다 보고를 이 보고를 하는 다 하는 등의	나으로써 고부가 등은 현지 판매/등은 현지 판매/등을 하는 방법을 출 하는 방법을 전고추 대시 성과 내서성 부 Rajasthan 기획임. 온대용 기반된 하나에 주지 발된 하나에 주지 발된 하다 이 등을 중인 이 이 이 이 이 이 이 이 이 이 이 이 이 이 이 이 이 이	가치 산업인 종 사와 협조하여 는 통해 단시간 은 VIRUS병에 격을 집중적으로 이 강하고 다 지역에 집중 보 조, 하나에스4호 당하 대한에 보급이 성능 검정을 및 회정 종에 대하여는 여정 목을 증내한 의정 인 하나이는 역정 등을 중에 대하여는 수 일을 정감함 및 비용을 절감함 및 비용을 통해 기	자산업의 국제 선발함으로써 를 내에 수출 실적 기 강하여 건고 로 공략하여 수 보급하면서 점진 스1호와 하나에 그리호와 하나에 그리호와 하나에 하나 자배시험을 임. 출지역 다변화를 임. 역 있기 때문에 위한 육종 과정 등에 바보된 역정 등에	품종화 즉시 상을 달성. 추 재배면적이 출확대를 하고 208은 풋고추로 적으로 시장을 스2호는 중국의 에스5호는 아열 사료된다. 남 Segment 별로 적합한 맞춤형 실시하고 우수한 등에 지원되는 기 에 현재 그 활용 루병 및 TSWV
중심어 (5개 이내)	복합 내병성	고신미	분자마커	선초(線椒)	하늘초

# < SUMMARY >

		코드번호	D-02
Purpose& Contents	<ul> <li>Breeding 5 pepper cultivars with exporting to Indian market and Exposer of Exporting to Indian market and Exposer of Exporting to Chinese market and Export US\$15</li> <li>Development and improvement of disease resistance and Molecular modes of Analysis of field pathogen populations.</li> </ul>	port US\$100,000 tivars with multi- narket and Export cultivars suitable 50,000 molecular marker narker analysis sup	disease resistance US\$400,000 for exporting to es associated with port
Results	<ul> <li>Application for PVP: Total 16 var</li> <li>The goal of export: US\$650,000 -</li> <li>Molecular marker analysis suppor analized by CMV-Co, TMV, Bs2 markers</li> <li>Have confirmed 1 QTL marker (fl QTL) using commercial F1 hybrids useful in resistant cultivars selected</li> <li>We collected molecular markers a pepper. We selected 2 marker resistant and susceptible plant. V mildew in greenhouse. Selected plants and susceptible plants. We between selected marker and powd</li> <li>Standardization of the assay meth pepper line.</li> <li>Assistance for the disease resistance</li> <li>Analysis of field pathogen population</li> </ul>	Have exported to to Total 18,020 and Parking markers to a result, this descripted with possible showed polymous performed bioa markers confirmed we are constantly lery mildew resistated ods for evaluating the ce test of pepper between the constant of the performed when the constant of	samples had been MS, Rf, pungency of detect the major marker was very owdery mildew of horphism between assay of powdery dousing resistant of cross checking nce

O Expext to enhance the global competitiveness in seed industry by the exporting suitable pepper varieties to India and China. O Expect to achieve the goal of export by the cooperative selection of suitable varieties with a local seed company in India and China. O Expect to extend the market through concentrative extention ECO-871 to Southeast India, Guntur, where has 100,000 ha of dry chili cultivating area. O Expect to extend the market through concentrative extention ECO1208 to Northwest India (Rajasthan), which is resistant to virus, heat and high vield. O Expext to enhance the global competitiveness in seed industry by the exporting suitable pepper varieties to India and Southwest Asia. O Expect to achieve the goal of export by the cooperative selection of suitable varieties with a Indian seed company O HanaS1 and HanaS2 will be able to be commercialized to mid-north Expected China. Contribution O HanaS3 and HanaS4, HanaS5 will be able be commercialized to south China. O Have plan to develop varieties suitable in each of nations through lines and F1 combinations developed in this research project. O Have plan to try field cultivation test for selected F1 combinations on each of regions in nations and to apply for variety protection. Have plan to intensify diversifications of export market for developed three varieties(SJSKY-7, SJSKY-111, SJSKY-4229). A requirement of molecular markers has been dramatically increased in any breeding program. It is important in pepper breeding program to select lines with multiple disease resistance. O Using the developed markers in this study, we can help to select resistance plant. O It was kept to assist the resitance test for evaluating pepper breeding lines. Farmers training • Writing research papper multi-disease upright type molecular rope type Keywords high pungency resistance marker pepper pepper

# < Contents >

Chapter 1. Introduction of the research project
Chapter 2. The current status of the research in domestic and overseas14
Chapter 3. The scope and result of the research project
Chapter 4. Appraisal of research project and effect to relevant fields387
Chapter 5. The utilization plan of the result
Chapter 6. Acquired scientific and technical informations in the process of project
Chapter 7. The security level of the result395
Chapter 8. The status of research facilities and equipment registered in NTIS
Chapter 9. The implementation performance of safety measures of laboratory according to the project
Chapter 10. The representative research results of the project395
Chapter 11. Others395
Chapter 12 Reference 397

# 〈 목 차 >

1. 연구개발과제의개요9
2. 국내외 기술개발 현황14
3. 연구수행 내용 및 결과36
4. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도387
5. 연구결과의 활용계획 등392
6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보395
7. 연구개발성과의 보안등급395
8. 국가과학기술종합정보시스템에 등록한 연구시설·장비현황 ·······395
9. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적395
10. 연구개발과제의 대표적 연구실적395
11. 기타사항396
12. 참고문헌397
<별첨> 자체평가의견서

# 1장. 연구개발과제의 개요

코드번호 D-03

## 1절. 연구개발의 목적

가. 연구개발의 최종목표 및 주요내용

본 과제는 총성없는 전쟁으로 일컬어지는 세계 종자전쟁에서 우리가 가진 육종기술과 유전 자원을 바탕으로 전세계 고추재배면적의 70~80%가 집중된 인도와 중국시장에 대하여 수출 경쟁력이 있는 해외 맞춤형 품종을 육성하여 해외시장을 확보하고 우리나라 종자산업의 경쟁력을 확보하기 위하여 다음과같이 인도용 품종육성(제1세부프로젝트), 중국 수출용 선초품종육성(제2세부프로젝트), 중국수출용 하늘초품종육성(제3세부프로젝트) 등 3개의 품종육성과제 연구팀과 분자마커지원(제4세부프로젝트), 식물병리지원(제5세부프로젝트)등 2개의 지원팀으로 구성하였으며 각 과제별 최종목표 및 주요내용은 다음과 같다.

#### 1. 최종목표

- 수출용 고추 16품종 개발 및 종자수출 65만불 달성

#### 2. 주요내용

- O 제1세부프로젝트: 인도 수출용 복합내병성 고추 5 품종육성 및 10만불수출
  - o 과피가 얇아 건조가 잘되며 CMV, 흰가루병, 청고병, GBNV, LCV 등병해에 대하여 복합저항성을 가지는 Guntur지역용 고신미, 고색소 건고추 3품종 육성하고
  - o CMV, 흰가루병, 청고병, GBNV, LCV 등 병해에 대하여 복합저항성을 가지는 고신미 풋고추 1품종 육성하며.
  - o Rajasthan 지역을 목표로한 CMV, 흰가루병, 청고병 복합내병성 고색소 다수성 대과종 품종 1 품종육성하여 인도 현지회사를 통하여 조합성능검정, 지역적응성 검정을 실시하고, 현지 맞춤형 마케팅을 통하여 종자수출을 확대하고자 함.
- O 제2세부프로젝트: 중국 수출용 복합내병성 線椒 type 5 품종육성 및 40만불 수출
  - o 중국 지역별, 작형별 품종 특성 탐색, 정보 및 유전자원 수집
  - 0 기존 하나종묘에서 육성하여 보유하고 있는 우량 계통의 현지 성능 재확인 및 개량
  - o 이들 우량 계통을 이용한 중국 지역별, 작형별 수출용 선초 품종 개발
  - o 우량 F1 품종 단기 육종체계 확립 및 적응연구
  - o 정량적인 목표는 다음과 같다.
    - 저온착과 신장성이 좋으면서 포장 바이러스 내병성을 가진 온대용 선초 3품종 육성
    - 고온착과 신장성이 좋으면서 포장 바이러스 내병성을 가진 열대용 선초 2품종 육성
- O 제3세부프로젝트: 중국 수출용 복합내병성 하늘초 고추 6 품종육성 및 15만불수출
  - o 바이러스 및 청고병에 강하고 내서성 및 수송성이 좋으며 과 품질(과면과 과의 광택)이 우수한 단화방 남방계 하늘초 1 품종 개발:
  - o 역병과 바이러스에 강한 고품질 다수성 단화방 건고추형 하늘 초 3 품종 개발
  - o 바이러스에 강하고 건과품질이 우수한 다수성 복화방 하늘초 2 품종 개발

- O 제4세부프로젝트: 각 지역별 고추의 유용형질관련 분자마커 개발 및 마커분석지원
  - o 고추의 형질관련 분자마커 분석을 통한 육종지원: CMV, TMV, Bs2, 역병, GMS, 회복인자, 매운맛 마커를 이용하여 각 연구기관별로 년간 최소 3,000점 이상의 분자마커를 분석지원함
  - o 신규한 형질관련 분자마커 및 순도검정 분자마커 개발로 육종지원: 각 연구기관에서 요구하는 순도검정용 분자마커 및 형질관련 분자마커 (TSWV, CMV-P1 저항성)를 개발하여 분석지원함
  - o MAB 시스템 구축을 통한 육종지원: 각 육종회사의 보유계통에 대한 specific marker를 선발 후 MAB 시스템을 활용함으로써 육종지원
- O 제5세부프로젝트: 주요병의 균주수집, 분석, 검정방법확립 및 내병성 생물검정지원
  - 0 수출 주요 대상국에서 발생하는 고추 주요 병해의 발생 현황 조사
  - o 주요 병원균의 동정과 병원균 집단의 다양성 분석
  - o 각 주요 병해(곰팡이병; 2종, 세균병; 2종, 바이러스병; 1종)의 대표 균주의 확보
  - o 대표 균주를 이용한 저항성 검정 방법 확립
  - o 저항성 고추 라인의 선발 및 실용성 검정 지원

## 2절. 연구개발의 필요성

- 다국적 종자 기업이 M&A를 통해 세계 종자시장에서의 지배력을 강화하는 동시에 유전 자원의 확보 및 연구결과물의 효율적인 활용을 꾀하고 있는 추세임.
- 우리나라 고추 육종 기술의 경쟁력은 웅성불임계통의 육성 및 활용측면에서 세계최고 수 준으로 국제경쟁력을 가지고 있음.
- 우리나라는 전 세계 채소 재배 면적의 68%를 차지하고 있는 아시아권 채소시장의 중심적 위치에 있으며, 고추 주 재배 지역인 인도, 중국, 인도네시아 등의 국가에서 전세계 고추의 70~80%가 재배되고 있다. 또한 고추 주 재배국가들에서 한국의 고추품종 육종기술에 대한 인지도가 매우 높기 때문에 지속적인 연구를 진행할 경우 종자 강국으로 부상할 가능성이 아주 큼.
- 인도의 경우 약 90만 ha의 면적에서 고추가 재배되고 있으며, 이 중에서 교배종 보급률이 약 35% 수준으로 교배종으로 전환 가능한 시장잠재력이 매우 크며, 고신미, 고색소품종으로 건조가 잘 되면서 CMV, LCV, GBNV 등에 대한 내병성을 가지는 품종의 경우진출 가능한 시장은 인도 남동부 Guntur 지역에만 약 10만 ha이상으로 이는 우리나라전체 고추재배면적의 세 배에 가까운 규모임. 특히 과피가 얇아 단시일에 건조가 가능하고색소함량이 높은 품종(ASTA180이상)에 대한 요구도는 매우 높다고 할 수 있음. 또한 Fresh market용으로 virus복합 내병성으로 청과색이 담록색이며 심미도가 강한 풋고추용품종과, Rajasthan지역을 목표로 내서성이 좋고 고색소 다수성의 대과종을 육성하여 현지맞춤식 marketing을 통하여 종자수출 확대 필요성이 큼

- 중국의 고추재배 면적은 업계 추산으로 100만ha 이상 되는 세계 최대의 시장이다.
  - 고추 재배 면적에 관해서는 여러 가지의 통계가 있지만 중국의 특성상 통계 수치를 정확히 믿을 수는 없으나, 대체로 100만 ha 이상으로 보는 것이 업계의 정설이다.
  - 종자 시장의 규모도 현재로서는 정확한 추정이 어려운 실정인데, 이는 시장의 주류가 고정종 혹은 저가의 F1 시장이기 때문이다. (소요 종자량이 고정종은 면적당 국내의 5 ~ 10배, 저가 F1도 국내의 2배 정도 됨)
  - 우리나라 수준의 F1이 보급되었을 때를 가정하여 면적을 기준으로 환산하면, 중국 고추 종자 시장의 규모는 한국의 20배 이상인 약 400 ton정도가 될 것으로 추정된다. (한국은 재배면적 4만ha에 15 ton 시장임)
  - 중국에서 고정종 혹은 저가 F1이 주류를 이루는 이유는 아직 이들과 확실한 차별화가 되는 양질의 교배종이 보급되지 않았기 때문으로 파악된다.
  - 중국에는 다양한 종류의 고추 종자시장이 있으나, 전체적으로 교배종화 되어 가고 있으며, 교배종의 성능이 고정종과 차이가 많이 날수록 종자의 가격도 다양하게 차이가 난다.
  - 중국에 보급되고 있는 유럽종 파프리카 종자는 중국산 저가 고정종에 비해 1,000배이상의 가격으로 팔리고 있고, 현재 kg당 2,000불정도의 흙벽하우스高溫棚용 (SGH:Sunny Green House) 양각초 품종 (일본 사카다의 長劍)도 불과 10년 전에는 가격이 현재의 1/10 정도 밖에 되지 않았으나 우수한 품종의 보급으로 종자의 가격이수직 상승한 예이다.
  - 현재의 중국시장은 비록 저가 시장이지만 우수한 종자만 공급이 된다면 그 시장 규모는 수천 억 원대에 이를 수 있을 것으로 예상된다.
  - 중국에는 다양한 형태의 고추가 재배되고 있으며, 그 각각의 현재 상황은 붙임의 표1 과 같다.
  - 현재 중국에서 보급되고 있는 품종은 웅성불임성을 사용하지 않은 제웅교배에 의한 품종이 대부분이다. 한국이 세포질-유전자적 웅성불임성(CGMS:Cytoplasmic Genic Male Sterility)의 이용에 관한 한 전 세계에서 독보적인 기술을 보유하고 있는 점은 자타가 공인하는 바이다. 이러한 고난도 기술과 육성자의 풍부한 육종 경험, 한국인 특유의 고추에 대한 감각 등이 더해지면 중국시장을 석권할 수 있는 품종의 육성이 틀림없이 가능하리라고 예상한다.
  - 국내 종자시장의 규모가 점차 축소되는 추세는 부정할 수 없는 대세이고, 기술집약적 인 고부가가치 산업인 종자 산업의 발전을 위하여 중국시장의 개척은 필수적이다. 현재 전 세계의 거의 모든 종자회사들이 중국시장 진출을 모색하고 있는 마당에 명실상부한 고추의 종주국이라고 할 수 있는 한국의 중국진출 또한 필연적이라 할 수 있으나, 육종 사업의 특성상 품종 육종에 장기간이 소요되는 만큼 민간에서 투자여력이 부족한 것 또한 현실이라 할 수 있다. 한국회사들의 수출기반인 동남아시아 시장이 대부분 다국적 기업으로 넘어간 마당에 한국의 종자 수출 산업의 발전을 위하여 중국 고추시장의 선점은 아주 중요한 과제라 할 수 있다.

- 중국 고추재배 면적 중 하늘초 고추재배면적이 약50%(54만ha)로 많음.
- 현재 중국 고추종자시장은 일반종 중심으로 저가이지만 F1종자시장 규모가 급속히 증대 되고 있음.
- 하늘초 고추는 중국 뿐만 아니라 동남아(베트남, 인도네시아, 태국 등)에서도 많이 재배되고 있어 이들 시장 진출을 위해서도 중국용 하늘초 품종 개발이 필요함.
- 국내외적으로 분자마커를 활용하여 원예작물을 육종하는 것은 일반화되어 있음. 전통 육종의 방법에 분자마커를 이용한 Marker Assisted Selection, Marker Assisted Backcross 등의 방법을 접목하여 신품종 개발비를 절감시킬 수 있음
- 국외의 경우 가지과 채소는 미국 Cornell 대학, 프랑스 INRA, 이스라엘 국립연구소 등에서 연구를 주도하고 있으며 민간 육종회사와 다국적 종자회사들이 기업차원의 연구팀을 구성하여 분자표지를 개발하고 전세계 육종가가 이용할 수 있는 분석 및 육종 시스템을 구축하는 연구를 수행하고 있음
- 국내 민간종자회사나 개인육종가의 경우 분자마커 요구도는 높으나 개발을 위한 연구비의 규모가 크고 위험성이 높기 때문에 투자에 어려움이 있음. 따라서 분자마커 개발은 주로 대학이나 농촌진흥청 등의 공공기관과 소수의 민간기업에서 수행하고 있으나 개인육종가에 의한 활용이 활발하지 못함
- 현재 국내 고추 육종기술은 우수한 전통육종기술을 바탕으로 세계적인 위치에 자리매김 하였으나 국내 기업과 흡수합병을 이룬 다국적기업의 발빠른 분자육종기술도입으로 인해 상대적으로 경쟁력이 열악한 상태에 이름
- 본 연구의 목적은 당사의 축적된 마커개발기술과 마커분석기술을 활용하여 종자회사의 신품종 육성을 적극 지원하고, 품종 순도검정마커 등을 개발하여 분석지원함. 또한 원활 한 분석지원이 이루어질 수 있도록 분자마커 및 분석기술의 개선을 지속적으로 수행함
- 우수한 종자의 개발을 통하여 병 방제에 대한 국내 농업인의 부담을 줄이고, 해외로 수출하기 위해서는 저항성을 정확하고 재현성 있게 검정할 수 있는 표준화된 검정법의 확립과 이를 통한 병리검정의 지원이 절대적으로 필요함

### 3절. 연구개발범위

#### [1세부]

- 시장정보 수집
- 유전자원수집 및 평가 : 인도 지역 재래종 및 우점 교배종 확보
- 복합내병성 고신미, 고색소 재료육성
- 셔틀육종을 통한 재료육성세대촉진 : 동남아 농장에서 동절기에 세대진전
- 국내성능검정 1차선발 : 과형질,신미,바이러스내병성,한여름 착과력으로 내서성 유추
- 인도 현지 적응성시험 : 선발조합 인도 동남부 군투르지역에서 재배시험

매년 1~2 월 출장 조사 선발

#### [2, 3세부]

- 저온착과 신장성이 좋으면서 포장 바이러스 내병성을 가진 온대용 선초 품종 육성
- 고온착과 신장성이 좋으면서 포장 바이러스 내병성을 가진 열대용 선초 품종 육성
- 바이러스, 역병, 청고병에 저항성이며 과형, 내서성과 수송성이 우수한 고품질 다수성 하늘초 품종 육성
  - 기 보유 계통과 도입종에 대한 특성 조사
  - 기 보유 계통과 도입종에 대한 내병성 검정
  - 기 보유 계통에 대한 A line 육성을 위한 Backcross
  - 신규 도입종에 대한 원예적 특성 조사 및 병리 검정
  - 신규 도입종에 대한 임성검정 및 육성 방향 결정
  - 새로운 계통 육성을 위한 분리용 조합작성 및 분리
  - 중국 주요 산지에 육성용 포장 준비
  - 세대진전 system의 확립
  - 계통육성 지역 (한국), 세대진전 지역(태국)과 현지시험 지역(중국)간의 효율적인 사업 system 구축

#### [4세부]

- 형질관련 기개발 분자마커인 CMV, 역병, Bs2, 신미마커 분석지원
- 현지 주요병 중 청고병, TSWV, 흰가루병 저항성 분자마커의 개발 및 분석지원
- 세부프로젝트기관에서 요구하는 순도검정 마커의 개발 및 분석지원
- 논문에 발표되었으나 실용화에 어려운 마커들을 세부프로젝트와 연계하여 보다 유전인자 에 가까운 유용한 마커로 개선하여 육종에 활용 가능하도록 함
- 개발완료 되었거나 개발중인 마커에 대하여 세부프로젝트기관과 cross checking을 통한 지속적인 검증

#### [5세부]

- 고추 주요 수출 대상국의 주요 고추 병해 발생 현황 조사
- 주요 고추 병해(탄저병, 역병, 풋마름병, 세균점무늬병, CMV)의 균주확보
- 각 국가별 주요 병에 대한 저항성 검정 방법 확립
- 수출용 고추 품종 개발을 위한 저항성 검정 지원

# 2장. 국내외 기술 개발 현황

코드번호 D-04

## 제 1절 인도현황

○ 인도의 총 고추 재배면적은 년도 별로 고추가격, 타 작물과의 경합, 기후 등에 따라 다소 변동이 있으나 약 97만ha로 추정되며 풋고추가 약 35%, 건고추가 약 65% 정도 재배되고 있음. 건고추의 경우 Andhra Pradesh, Karnataka, Maharashtra 지역이 주 재배지역이고 풋고추는 Rajasthan, Gujarat, Haryana, UP, MP 등 전국에서 재배되고 있음. 이 중 Andhra Pradesh, Karnataka, Maharashtra 지역이 전체 재배면적의 55%를 차지하는 주 재배지역이며 특히 Andhra Pradesh는 전체 214,000ha로 가장 많이 재배하고 있고 생산량도 766,000톤으로 전체의 절반이 넘음. 종자 소요량은 교배종 85톤, 재래종 400톤 정도로 추정되며 이중 AP지역에만 교배종 25톤의 시장이 형성되어있음. 교배종의 보급률은 지역에 따라 20-35%정도에 그치고 있어 향후 교배종으로 전환 가능한 시장잠재력이 매우 크다고 할 수 있음. 최근에는 품종 형태가 다양화 되고 있으며 과실 크기가 큰 쪽으로 기호성이 늘어나고 있다. 주요 종자회사로는 Nunhems, Bejo, IAHS, Seminis, Syngenta, US Agri, Namdhari, Mahyco 등이 있으며, 주요 재배 품종으로는 INDAM-5, BSS-273, Wonder Hot, Teja swini 등이 있음. (사진1참조)



[사진1]인도 고추종자 시장현황

○ 인도는 일년을 계절적으로 우기가 시작되는 6월부터 9월을 Kharif season(여름재배), 10월부터 2월 까지를 Rabi season(겨울재배), 3월부터 5월까지를 Zaid Rabi season 등 3가지로 나누어 짐. 건고추는 주로 우기가 시작된 후에 파종하여 이듬해 3월에 대부분 수확을 끝냄.

코드먼오   D-04
-------------

#### [표] 지역별 주 파종기

지역	주 파종기	풋고추 파종기
South India	171f	AP/Karnataka : 11-1월
(AP, Taminadu, Karnataka)	Kharif	Kerala:5-6월,9-10월
West India	Kharif	12-1월
(Maharashtra, Gujarat,MP)	IXIIaIII	12 1 년
East India	Kharif	Orissa : 5-8월
(Oriss, WB , Bihar)	13114111	West Bengal : 5-9월
North India	Kharif	Rabi(10-3월)/Kharif(8-10월
(Rajasthan,UP,Pujab,Haryana)	IXIIdIII	)

○ 건고추용 품종은 과피가 얇아서 잘 마르면서도 매운맛이 강하고 고색소의 특성을 가지며, CMV, LCV, GBNV등의 바이러스 병해에 대한 내병성 품종의 진출가능 시장은 인도남동부 Guntur 지역에만 약 10만 ha 이상으로 이는 우리나라 전체 고추 재배 면적의 세배에 달하는 규모임. 특히 단순히 땅위에 펼쳐서 20일 이상을 말리는 인도의 고추 건조방법은 야간의 결로현상이나 간혹 내리는 소량의 비에도 매우 취약해 30-40 % 이상의회아리고추가 발생하는 등 상품성에 치명적인 악영향을 주고 있다. 따라서 과피가 얇아단시일에 건조가 가능하고 색소함량이 높은 품종을 육성 보급하면 시장진입 가능성이 매우 높다고 할 수 있다. 또한 과 크기를 Tejaswini나 Indam 5 보다 약간 크면서 건조가잘되는 복합내병성 품종에 대한 요구도가 매우 높다.



[사진2]인도 건고추용고추



[사진4] 희아리과



[사진3] 인도 건고추 건조 및 선별모습



[사진5]탄저병 *C. capsici*피해

○ 고추를 노지에 그냥 펼쳐서 건조하기 때문에 강우나 야간의 이슬 맺힘 등으로 건과품질이 나빠지고 희아리와 탄저병 피해과의 발생으로 손실률이 30%에 이르기도 한다(사진 3,4 참조). 따라서 건조가 빠르게 잘되고 색소함량이 높은 품종을 육성하면 현지 시장 진출 가능성이 높음.







[사진7]GBNV



[사진8]ChVMV

- 내병성의 경우 바이러스 내병성이 중요한데 인도 현지에서 피해가 심한 바이러스는 대표 적으로 CMV, Leaf curl virus, GBNV(Ground nut Bud Necrosis Virus)등이 피해가 크 며, 이 중에서도 CMV가 가장 중요한 병림. CMV는 우리나라에서 일명 CMV-c1 strain이라고 부르는 병원성이 강한 종류와 같은 종류로 추정됨. 탄저병도 많은 피해를 주는데 특히 이병된 상태에서 수확 후 건조하는 과정에서 많은 피해를 발생시키는데 인 도의 탄저병은 *C. capsici*. 인 것으로 보고되어있음.(사진 5~8참조)
  - 또 다른 주요 병해로 저온 건조한 기후에서 발병이 심한 흰가루병에 대한 저항성이 요구되며 또한 1~2월의 저온 신장성과 더불어 건기 막바지인 4월~6월의 40℃를 넘는 고온 건조한 기후에서도 버틸 수 있는 내서성이 요구됨.
- ○인도에서 고추는 [사진 9]에서 보는바와 같이 각종 커리 요리나 튀김 등 다양한 형태로 요리되어 식용으로 소비되고 있다. 종교적으로 채식주의자가 많아 채소류의 소비가 많다. 고춧가루로 가공하거나 각종 피클형태로 가공되어 시판되기도 함.



[사진9]고추를 이용한 다양한 인도요리 [자료출처 : 유용희, 인도시장정보]

코드번호

D-04



[사진10]고추 가공산업 [자료출처:유용희,인도시장정보]



[사진11]건고추 건조, 유통모습



Byadagi, G4, Jwala,

[사진12]인도 건고추 품종들 [자료출처:유용희,인도시장정보]



Green Chilli in India, fruit color,length,shape [사진13]인도 풋고추 품종들

## 제 2절 중국현황

#### 2-1. 국내의 관련기술

- 우리나라 고추 육종기술, 특히 웅성불임성을 이용한 일대잡종 품종 육종기술이나 역병과 포장 바이러스 복합내병성 (FVT:Field Virus Tolerance)등 일부 내병성 품종 육종에 있어 서는 전 세계적으로 최고의 기술을 보유하고 있음
- 이미 하나종묘에서는 중국시장을 겨냥한 계통의 육성을 5년 전부터 시작하여 많은 우량 계통을 보유하고 있다.



그림 7. 하나종묘에서 보유하고 있는 다양한 과형의 선초



그림 8. 하나종묘에서 보유하고 있는 다양한 초형의 선초

- 또한 우리나라의 육종기술은 유럽에 비해 광지역 적응성 (Wide Adaptability)에 대하여 확실한 우위에 있는 것으로 파악이 되며, 중국에서는 광지역 적응성이 품종에서 가장 중요한 형질 중의 하나이다.
- 현재 국내 고추 시장은 100% 교배종 시장으로서 우리나라는 좁은 의미의 고추 육종뿐만 이 아니고 종자 생산, 가공, 기획, 마케팅, 영업 등 넓은 의미에서의 육종에서도 오랜 기간 축적된 know-how를 가지고 있다.
- 현재 중국시장에서 중요한 육성 목표인 내병성 분야에 있어서도 국내의 병리 연구자들이 아주 풍부한 경험을 가지고 있다. 특히 역병 내병성 분야에서는 세계 최초로 상용화된 노지 역병 저항성 품종을 출시할 만큼 높은 수준의 기술을 가지고 있고, 포장 바이러스 복합내병성 (FVT:Field Virus Tolerance) 육종 부분에서도 상용품종 거의 모두가 FVT를 가지고 있을 정도로 축적된 기술이 있다.
- 현재 중국에 시판되고 있는 한국 수출용 고추 품종의 거의 대부분이 국내에서 육성 된 것인 것을 보면 한국의 육종가들의 육종 능력은 이미 중국에서 높은 평가를 받은 것으로 볼 수가 있다. 이에 따라 종자 시장에서의 한국 국가 brand 이미지는 상당히 높은 수준으로 형성이 되어있고, 이는 중국에 진출한 다른 다국적 기업이 가지지 못한 우리만의 선점효과라 할 수가 있다.
- 육종 지원 부분에 있어서도 병리나 약배양, 마커 등의 기술은 상당한 경쟁력을 갖추고 있는 것으로 평가받고 있음.

#### 2-2. 외국 관련기술

- 웅성불임성을 이용한 고추의 일대잡종 종자의 생산 체계는 대부분 우리나라의 기술이 외국으로 전파되고 있는 실정이며, 우리의 관심밖에 있던 피만이나 중국용 풋고추 품종에 있어서는 아직 완벽한 웅성불임성이 사용되고 있지 못한 실정이다.
- 대부분의 선진국의 경우에는 특정한 목표에 맞추어 육종을 함으로써 재배지가 한정되어 있고, 재배 기술이 뒷받침 되어야 하는 고급 피만에 관해서는 경쟁력이 있으나, 매운 고추, 특히 노지용 고추에 대해서는 육종의 기술이 우리나라를 따라오지 못하고 있다. 노지용 고추에서 가장 중요한 형질인 광지역 적응성 (Wide Adaptability)과 역병, FVT에 대해서는 우리나라에 비해 아직은 기술력이 떨어지는 것으로 판단된다.
- 고급 피만의 경우 다양한 품종을 보급하고 있으나 적응성이 아주 좁은 유리 온실용 혹은 하우스용 품종에 한정되어 있는 실정이다.
- 중국의 회사들은 현재 많은 업체에서 많은 품종을 보급하고 있으나, 아직은 성능이나 순 도면에서 소비자를 만족시키지 못하고 있는 실정이다.
- 반면 분자유전학을 이용한 육종 기술의 개발은 국내에 비하여 앞서 있음. 특히 일부 바이러스, 박테리아 및 곰팡이 병원균에 대한 저항성 유전자와 연관된 분자표지를 개발하고이를 육종에 이용하여 실제 품종을 만드는 체계를 확립하려 하고 있으나 아직 상용화 되지는 않고 있다.
- 또한 내병성 및 일부 품질에 관련된 유전자들을 cloning하여 직접 형질전환으로 새로운 품종을 육성하려는 시도가 있으나 아직은 상용품종의 육성은 되지 않고 있는 실정이다

#### 2-3 중국의 하늘초 재배 및 종자시장 현황

- ○중국 고추재배면적은 총 1,235,000ha이며 이중 하늘초 재배 면적은 542,300ha로서 전체 고추 재배면적의 43.9%로서 종자소요량은 272,500kg으로 추정된다. 중국 내 하늘초 재배면적은 귀주성이 160,000ha, 하남성 100,000ha, 산동성 35,000ha, 해남도 24,000ha, 광서성 20,000ha로서 귀주성은 주로 건고추 하늘초 재배지역이며 F1품종 재배비율은 90% 이상으로 계속 증가 추세에 있다. 하남성과 산동성은 복화방 하늘초 주재배지로서 F1 상업품종 재배율은 30%미만으로 추정되며 아직까지 대부분이 고정종 품종을 재배하고 있음. 하이난도, 운남성, 광서성은 남방계 하늘초 주 재배지역으로서 F1재배 비율이 95%이상이며 종자가격도 높으며(5\$/5g:소매가격) 고부가가치 품종시장이다.
- ○남방계 하늘초 품종은 2008년까지는 몬산토(구 흥농)의 천승(sky rocket)품종이 F1품종시 장의 90%정도 재배되었으나 지금은 내병성이 강하고 품질과 수송성이 좋은 염홍과 염미 품종이 대부분 재배되고 있고 재배지역이 월동재배(남방지역)에서 봄 재배(중부지역)로 재 배면적이 확대되고 있다.
- ○건고추 하늘초 주 재배지역은 귀주성 준위 지역에서 재배되며 하늘초 시장은 현지 품종 (중국 종자회사 품종)과 단상이상 등이 재배되고 있었으나 당사가 개발한 k7 및 화전111, 소아1호 등의 품종에 대한 반응이 좋고 현재 재배면적이 증가되고 있어 향후 건고추 하늘 초 시장 변화가 기대된다.

코드번호	D-04

○ 복화방 하늘초 시장은 하남성 및 산동성 지역이 주 재배지역이며 대부분 일반종을 재배 하고있으며 일부 F1품종으로는 중국 현지품종으로 화랄랄 등이 재배되고 있다.



#### 그림 1) 중국 하늘초 주요 재배 지역

붉은 선 : 건고추 하늘초 지역(귀주성, 중경, 사천)

푸른 선 : 복화방 하늘초 지역(산동, 하남성)

노랑 선 : 남방계하늘초(하이난도, 광서성, 운남성)

## 표) 중국 하늘초 주요 재배면적 및 종자시장 규모

중국	재배면적	종자	종자시장	출 처	ען ד
재배지역	(ha)	소요량(kg)	(천\$)	물 세	비 고
귀주성	160,000	156,000	29,640	귀주성고추연구소	건고추,탄두
하남성	100,000	61,500	11,685	하남성농과원원예연구소	복화방
산동성	35,000	21,525	7,964	산동시 교주 종자관리소	복화방
하이난도	24,000	8,280	8,282	해남도 농과학원	남방계
광서성	20,000	6,900	6,900	광서성 농과학원	남방계
계	339,000	267,305	64,471		

- op지역은 1ha당 종자 소요량 750g, F1재배지역은 300g 기준 산출
- 각 지역별 F1 재배 비율별 소요량 산출
- F1은 평균 10g당 10\$, 일반종 1\$ 기준으로 종자 가격 산출

#### ○ 하늘초 품종의 문제점과 육종방향

현재 주로 재배되고 있는 남방계 하늘초 품종(염홍)은 수송성과 내병성이 좋으며 중만생종으로 후기까지 생육이 좋아 재배기간이 길은 남방계품종 특성에 잘 맞으며 수량성도 높아 시장에서 선호하는 품종이나 과에 요철이 많고 초기 수량이 떨어지는 단점이 있다. 따라서 이를 보완한 복합내병성(바이러스, 청고병)이며 초기생육이 빠르며 후기까지 수량이 높고 수송성이 우수하면서 과 품질이 좋은 품종 육성이 요구된다.

건고추 하늘초 재배지역은 산간지역으로 토양이 점질토로 우기 시 토양에 수분이 많아 역병 발생이 많은 지역이나, 아직까지 역병저항성 품종이 적어 역병저항성이면서 건과품 질이 우수하고 다수성인 품종 개발이 요구된다.

복화방 하늘초의 재배지역은 하남과 산동으로 밀 후작으로 많이 재배되어 숙기가 빠른 조 생종 품종을 선호하며 건과가 우수하고 바이러스가 강하여 수량이 높은 다수성 품종 개발 이 요구된다.

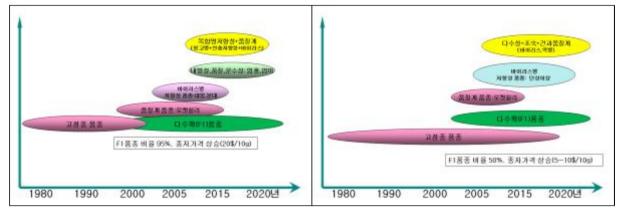


그림 2) 남방계 하늘초 신품종 육성 방향 그림 3) 건고추 하늘초 신품종 육성 방향

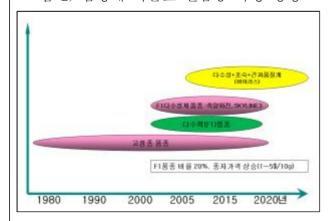


그림 4) 복화방 하늘초 신품종 육성 방향

#### ○ 하늘초 소비 현황

남방계 하늘초는 동절기에 주로 하이난도, 광서성, 운남성을 중심으로 재배되며 청과 및 홍과 형태로 소비되어(그림5,6) 가격이 높으며 동절기 북부지역 까지 수송하여야 하기 때문에 운수성이 좋아야 한다.

건고추용 하늘초는 재배수확 초기에는 청(홍)과 형태로 소비되다 재배 중. 후기에는 홍과로 수확하여 건조(그림7)한 후에 건과형태(그림8)로 유통된다.



그림 5) 하늘초 홍과 사진

그림 6) 하늘초 청과 및 홍과를 이용한 요리



그림 7) 하늘초 건고추

그림 8) 건고추 요리

## 제 3절 분자마커 국내외 기술개발 현황

- 전통 육종의 방법에 분자마커를 이용한 Marker Assisted Selection, Marker Assisted Backcross 등의 방법을 접목하여 신품종 개발비를 절감시킬 수 있음
- 고추의 분자마커 개발은 유전체연구와 더불어 급속히 발전하고 있는 추세임. 고추의 유전 연관지도 작성 및 NGS는 기존 분자육종에서 marker assisted selection에만 국한되었던 범주를 marker assisted breeding으로 확대해 가고 있으며 토마토의 유전체를 기반으로 그 속도가 가속화되고 있음
- 고추 유전체 연구의 대표적 프로젝트인 Sol Genetic Network는 고추 뿐 아니라 토마토, 커피, 감자 등에 대한 분자표지 지도를 제공하고 Map viewer와 마커에 대한 정보, 제한 된 분자마커 염기서열 정보, gel screening image 등에 대한 정보를 제공함
- 국외의 경우 가지과 채소는 미국 Cornell 대학, 프랑스 INRA, 이스라엘 국립연구소 등에서 연구를 주도하고 있으며 민간 육종회사와 다국적 종자회사들이 기업차원의 연구팀을 구성하여 분자표지를 개발하고 전세계 육종가가 이용할 수 있는 분석 및 육종 시스템을 구축하는 연구를 수행하고 있음
- 국내 민간종자회사나 개인육종가의 경우 분자마커 요구도는 높으나 개발을 위한 연구비의 규모가 크고 위험성이 높기 때문에 투자에 어려움이 있음. 따라서 분자마커 개발은 주로 대학이나 농촌진흥청 등의 공공기관과 소수의 민간기업에서 수행하고 있으며 GSP(골든씨드프로젝트)를 통해서 분자마커를 포함한 형질분석 지원이 수행되고 있음
- 2011년 유전체 결과활용 기반조사·분석·기획보고서에 따르면 Potyvirus, TMV, CMV, 세 균성점무늬병, 선충저항성 등 내병성 연관분자마커와 웅성불임성, 신미, 과색 및 과형과 관련된 형질관련 분자마커가 개발되어 상용화되고 있음. 또한 흰가루병, 탄저병, 청고병, 시들음병 등의 내병성 분자마커 개발이 진행되었음
- 병저항성과 관련된 유전양상은 주로 양적형질유전양상을 보이므로 발표되는 논문 대부분 이 형질관련 QTL 분석 논문임. 이러한 QTL 연관 분자마커들은 육종재료 및 연구자에 따라 변이가 있으므로 직접 육종에 활용하는 것은 어려운 실정임
- 분자마커 분야의 논문 및 특허 분석 결과 최근 발표되는 고추분자마커는 웅성불임 및 회복인자와 관련된 분자마커 개발보고가 주를 이루었으며 SNP, SSR, AFLP 등을 이용하여다양한 계통을 이용한 유전연관지도에 대한 보고가 많음. 또한 국내외적으로 여러 작물에서 SNP, SSR, RAPD 등의 마커를 이용한 F1 순도검정에 관한 보고가 많음

# 제 4절 식물병리관련 국내외 기술개발 현황

#### 가. 국내 기술 개발 현황

고추의 국내 생산량은 약 1조4천억원로, 수도를 제외하고 단일작물로서는 가장 큰 생산량을 보이고 있는 작물이다. 이러한 고추는 중요한 환금작물이기 때문에 대부분 단지화와 연작화되어 있어, 동일한 지역에 수년간 연작되고, 또한 작물의 재배 작기가 긴 관계로 곰팡이, 세균, 바이러스 등이 여러 가지의 병해를 유발하고, 그로 인하여 생산량 등에 큰 피해를 받고 있다. 이런 생산량에 대한 피해를 가장 효과적으로 방제할 수 있는 방법 중에 하나가 저항성 품종의 개발이다.

고추는 넓은 면적에 재배하고 재배기간이 길어 병해충의 피해가 지속되며, 기후에 따라 빠른 속도로 병해충이 크게 발생하는 경우도 있다. 특히 기후가 변화하면서 병의 발생 양상이 변화하고 있어, 병을 방제하는 새로운 방법을 개발하고 적용하지 않으면 큰 피해를 입을 수 있다. 고추를 재배하는 기간 중에 발생하는 병으로는 지금까지 32종 이상이 알려져 있다(한국식물병병목록, 2004). 특히 진균(곰팡이)이 일으키는 병 때문에 큰 피해를 당해 왔다. 곰팡이에 의한 병에는 탄저병과 역병이 있는데, 역병은 저항성 품종이 보급되면서 발생이 급격하게 줄었지만, 탄저병에 대한 피해는 아직까지도 해마다 계속해서 발생하고 있다. 최근에는 기온이 상승하면서 세균병과 바이러스병의 피해가 날로 증가하고 있다.

2004년부터 2006년까지 3년 동안 병충해에 의한 고추의 피해는 약 30% 수준이었으며 조사한 3년 동안 가장 피해가 컸던 병충해는 역병으로 3년 동안 평균 15.7%의 생산량 감소의 피해를 보았다. 역병 다음으로 많은 피해를 주었던 고추의 병은 탄저병으로, 생산량이 3년 평균 7.7% 감소하였다. 하지만 최근 역병 저항성 품종이 실용화되어 보급되면서 역병에 대한 피해는 줄고 있지만, 탄저병에 대해서는 저항성 품종의 개발이 이루어지지 않았기 때문에 매년 피해를 보고 있는 실정이다. 과거 가장 큰 손실의 원인이었던 역병에 대한 저항성 품종이 보급되면서 생산량의 증가를 가져올 수 있었던 것처럼, 다양한 병을 방제하고 생산량과소득을 증가시키기 위해서는 저항성 품종의 개발은 필수적이다.

최근 국내에서는 여러 주요 작물에서 다양한 성질을 지닌 품종을 개발하여 종자를 수출하고자 하는 연구가 진행되고 있으며, 그 연구의 많은 수가 병원균에 대한 저항성 품종 개발을 목표로 하고 있다. 병리검정이 뒷받침되어 저항성 품종이 개발되기 시작하면서 병리 검정법을 표준화하기 시작하였고, 표준화한 방법을 기준으로 다양한 품종에 대한 병원성을 검정하여 육종가들이 이용할 수 있는 많은 정보를 제공하고 있다. 만약 검정법의 표준화가 없다면실험하는 연구자에 따라서 다양한 결과가 도출될 수 있으며, 이 때문에 새로운 저항성 품종을 개발하거나, 작물보호제를 개발하는 과정에서 방향이 혼란스러워질 수도 있다. 하지만 최근 저항성 품종 개발을 목표로 하는 여러 가지 프로그램들이 운영되면서 다양한 병에 대한검정법의 표준화가 이루어지고 있다.

이 등(2015)은 멜론 덩굴쪼김병에 대한 효율적인 저항성 검정법을 개발하였는데, 병원균의 접종원 준비를 위하야 가장 적합한 배지의 선발, 멜론 유묘의 시기가 병원균의 병원성에 미치는 영향, 접종 방법과 침지 접종시 가장 효율적인 침지 시간, 접종원 농도와 발병 온도 등에 대한 표준화와 이를 기초로 다양한 품종에 대한 병원균의 병원성을 조사하여 각 품종의 저항성 정도를 판정하였다. 멜론 덩굴쪼김병 이외에도 토마토 잎곰팡이병, 박과작물 탄저병, 무 시들음병 등에 대한 병리검정법이 표준화되었으며, 표준화된 검정법을 가지고서 각 품종의 저항성 정도를 조사하였다(이 등, 2013; 심 등, 2013a; 2013; 심 등, 2013b).

국내의 검정법에 대한 표준화 실적은 앞으로 새로운 품종개발과 신규 작물보호제 개발 등다양한 분야에 유용하게 사용될 수 있을 것으로 생각한다.

#### 나. 국외 기술 개발 현황

#### 1. 고추 재배 국가의 주요 병해

고추의 주요 소비국이며, 우리의 수출 대상국이 될 수 있는 인도, 인도네시아, 태국, 중국 남부 등의 지역 역시 장마기나 우기가 존재하는 몬순 기후대에 위치하는 나라이기 때문에, 탄저병을 비롯한 다양한 병이 많이 발생하고 있다. 실제 국내의 경우 탄저병 한 종류에 의 한 피해액은 총 생산액의 약 10% 정도인 1,000억원 정도이며, 중국의 경우도 전체 생산량의 약 18% 정도의 손실이 발생하고, 심한 경우에는 50-80%의 손실을 가져오기도 한다(윤재복, 한국 고추의 분자 유전과 육종(2004)).

고추 역병 역시 큰 피해를 일으키고 있는데, 1985년과 1988년 사이와 1998년과 2000년 사이의 전국 발병주율은 8-25%와 2-20%로 조사되었음. 이러한 피해는 평균 수량 감소를 5%로 생각한다고 하더라도 10,000톤이 넘는 양이 손실되고 있으며, 피해액 자체도 700억원을 상회할 것으로 본다(지형진, 한국 고추의 분자 유전과 육종(2004)).

하지만 고추에서 주요한 병을 일으키는 원인균들은 지역에 따라서 많이 다를 수가 있다. 인도의 경우 전 세계 고추 생산량의 25%를 차지하고 있지만(http://www.dshc.life.ku.dk), 우리와 병 발생 상황은 비슷하여, 탄저병에 의한 생산량의 손실이 84%에 달한다(Thind와 Jhooty, Indian journal of Mycology and Plant Pathology(1985)). 더 중요한 것은 인도의주된 탄저병균은 Colletotrichum capcici로 보고되어 있다는 것이다(http://www.dshc.life.ku.dk). 국내의 탄저병균은 1990년대에는 C. gloeosporioides로 보고되었지만, 최근에는 주된 병원균이 C. acutatum으로 변화되어 있다(Kim 등, Plant Pathology Journal(2008)). 이처럼 포장에서의 병원균 집단은 시기와 지역 등에 따라서 크게 변화할 수가 있다. 하지만 중국과한국의 탄저병균 사이에는 큰 차이가 없다(Shin 등, Plant Pathology Journal(1999)).

탄저병뿐만 아니라 역병의 경우에도 지역에 따라서 그 병원균의 종류가 다를 수가 있다.

국내의 고추 역병균은 Phytophthora capsici로 알려져 있지만(지형진, 한국 고추의 분자 유전과 육종(2004)), 베트남의 경우에는 P. capsici와 P. dreschsleri로 보고되어 있다 (http://www.rbgsyd.nsw.gov.au). 각 국가에 따라서 고추 주요 병의 원인균이 조금씩 다른 것은 곰팡이, 세균, 바이러스 모두에서 나타나는 현상이기 때문에, 작물에 대한 내병성 계통의 품종을 육성하기 위해서는 사전에 주요 병원균 집단에 대한 분석과 동정이 반드시 규명되어야하는 사항이다.

고추를 수출하는데 있어서 무엇보다도 중요한 사항은 내병성 품종의 요구도가 높아지고 있다는 사실이다. 따라서 수출 대상 국가별 주요 병해 발생 현황 및 병원균주의 확보와 병원균 집단에 대한 분석, 조사가 필요하며, 아울러 각 병에 대한 저항성 생물검정 방법 연구와 육종팀에 대한 생물검정의 지원이 절실하다.

- 2. 병 저항성 검정과 품종의 개발
- 3, 고추 주요 병해에 대한 방제 전략
- A. 고추 탄저병
- (1). Colletotrichum acutatum의 중요성

C. acutatum은 세계적으로 다양한 기주를 침해하는 식물병원균으로 잘 알려져 있으며 (Sutton, 1992), 유럽의 경우 딸기, 체리 등에 경제적으로 중요한 병으로서 유럽 검역 미생물 (EPPO)의 list에 등록되어 있다(de los Santos Gracía de Paredes 등, 2002; Børve 등, 2008). C. acutatum은 1891년 미국에서 포도 열매에 병을 일으키는 병원균으로 처음 보고 되었으 며, 1965년 Simmonds에 의해 포도와 파파야 등 여러 가지 열매를 가해하는 병원균이라고 발표하였다. 이 전까지는 포도, 사과 등 과수에서 발생하는 탄저병균은 C. gloeosporioides라 고 알려져 있었으나, 북유럽의 경우 이전 C. gloeosporioides와 관련된 탄저병은 근래에 들 어 C. acutatum이 우점균이라고 보고되었고(Vinnere 등, 2002), 미국 서부의 경우 사과 과수 원에서 부패와 관련된 병 역시 *C. acutatum*이 우점하고 있는 것으로 나타났다(Shi 등, 1996). 국내에서도 고추열매를 침입하여 가해하는 주된 병원균은 C. gloeosporioides라고 알 려져 있었으나(Kim 등, 1986; Park 등, 1989; 박과 김, 1992), 최근에는 우점 병원균이 *C.* gloeosporioides가 아닌 C. acutatum이라고 수정되어 보고되었고(강 등, 2005; 김 등, 2008), 고추 탄저병에서 C. acutatum의 비율이 95%를 차지한다고 보고하였다(김와 김, 2004). 사과 탄저병의 경우 1856년 Berkeley에 의해서 영국에서 최초로 보고가 되었다. 국내는 뚝섬과 수 원 등지에서 발생이 처음 보고된 후 점차 증가하였고, 사과 탄저병에 의해 1960년대까지 전 국적으로 과실의 손실이 컸다. 1986년부터 1988년까지 이(1994)는 사과 탄저병균을 형태적인 분류로 Glomerella cingulata가 65.4%, C. gloeosporioides가 26.9%이었고, C. acutatum은 7.7%로 가장 낮게 분리 되었다. 근래에 들어 전 등(2010)은 benzimidazole계 살균제에 대한 반응으로 병원균의 종을 동정하여 C. gloeosporioides가 57.8%, C. acutatum은 42.2%라고

D-04

보고하였는데, 2006년 *C. acutatum* 비율은 17.7%, 2008년 비율은 18.7%로 *C. acutatum* 비율이 급격히 낮아지고 *C. gloeosporioides* 분리 비율이 높아졌음을 보고하였다. 이러한 감소에전(2010)은 2003년경부터 국내 농가에서 benzimidazole계 살균제의 사용을 자제했기 때문이라고 추정하였다.

#### (2). Colletotrichum속 병원균의 동정

Colletotrichum속의 전통적인 분류는 분생포자의 형태적인 부분과, 강모의 형성, 균핵 형성, 부착기의 형태, 기타 배양적 특성, 기주범위 그리고 병원성 등의 차이를 가지고 이루어졌으며, 38종 이상이 보고되어 있다(Freeman 등, 1998). 하지만, 같은 종 내에서와 종간에서도 분생포자와 부착기의 형태적 특징에서 겹치는 부분이 있으며, 배지나 기질에 따라 포자의 크기와 모양이 다르게 형성되고, 강모의 차이도 일관성이 없어 분류의 정확한 기준이 될 수 없다고 보고하였다(Adaskaveg와 Hartin, 1997; Than 등, 2008). 또한 Colletotrichum속은 기주식물에 대한 병원성이 다양하여(정 등, 1992; Freeman 등, 1998), 병원성을 가지고 종을 정확하게 분류・동정하기가 어렵다. 그래서 최근에는 탄저병균을 분자생물학적 방법인 RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA)법, RFLP(Restriction Fragment Length Polymorphisms)법, AFLP(Amplified Fragment Length Polymorphism)법을 통해 분류하고 (Braithwaite 등, 1990; Sreenivasaprasad 등, 1992; Wang 등, 1993; Sherriff 등, 1994; Mackill 등, 1996; Noli 등, 1997; Rusell 등, 1997; Vos 등, 1995; Mesquita 등, 1998; Dresler-Nurmi 등, 2000), rDNA(ribosomal DNA)과 같은 표식 유전자의 염기서열을 분석하여 종을 동정하고 있다.

최근에는 여러 개의 표식 유전자를 이용한 종 수준의 계통 발생 분석이 이루어지고 있는데, Lee 등(2007)은 ITS, TUB2를 이용하여 사과 탄저병균을 분류·동정하였고, Talhinhas(2002)는 ITS, TUB2, HIS4를 이용하여 다양한 탄저병균을 분류하였다. 그 외에도 CHS-1(chitin synthase I), CAL(calmodulin), ACT(actin), EF1a(elongation factor 1-a), APN2(DNA lyase), SOD2(manganese superoxide dismutase) 등의 염기서열을 이용하여 동정한다(Cannon, 2012). 또한 성공적으로 이루어지는 유전자 분석은 분자생물학적 분석에 그치지 않고, 형태적, 생리적, 병원성 등과 같은 특징을 결합시켜 그룹을 나누는데 사용되고 있다. 특히 *C. acutatum*의 ITS 영역과 TUB2의 염기서열을 분석하고, *C. acutatum*의 기주와 병원성 관계에 따라 A1부터 A9까지 그룹지어 보고하였다(Sreenivasaprasad와 Talhinhas, 2005; Whitelaw-Weckert 등, 2007).

#### (3). 작물 재배 구조와 병원균 집단과의 관계

C. acutatum과 C. gloeosporioides는 기주 범위가 넓어 다양한 기주를 침입하는 것으로 알려져 있는데, 구기자와 고추, 감과 고추 등 동일한 지역의 주작물에 발생하는 탄저병이 C. acutatum과 C. gloeosporioides에 의한 것으로 보고되어 있다. 특히, 사과와 고추의 경우 국내 생산의 높은 부분을 차지하고 있는 농작물인데, 두 기주의 경우 모두 C. acutatum과 C. gloeosporioides이 탄저병의 병원균으로 보고되어 있다(한국식물병명목록, 2009). 특히두 가지의 병원균은 각 기주에 대해 집단 밀도가 시기에 따라 변화해 왔으며, 경제적으로 큰 피해를 주고 있다. 또한 C. acutatum과 C. gloeosporioides은 비바람에 의해 전반되며 상처를 통해서 쉽게 침입하는 병원균이기 때문에 중요한 두 가지 농작물이 근접한 지역에서 재배되거나 혼작하는 지역에서는 병원균의 교차 감염 가능성에 대한 연구가 필요하다.

#### B. 고추 역병

고추 역병균에 대한 연구는 생태, 약제저항성 및 품종저항성 등 다양한 분야에서 진행되어 왔다. 생태에 관한 연구는 역병균의 생장, 교배형 등에 관한 연구가 보고되어 있는데, Kim 등(1989)은 유주포자낭의 직접발아, 유주포자 발아 및 균사생장은 25℃, 유주포자 유출은 20℃에서 가장 좋은 것으로 조사하였으며, 유주포자의 활동성은 15℃에서 3시간까지 활동성을 가지지만 25℃에서는 현저히 저하된다고 하였다. 온도와 광 노출시간에 따른 유주포자낭의 형성은 대다수의 역병균주들이 25℃에서 광 조건에 노출된 지 72시간 이후에 많은 것으로 나타났다(이, 2010). 난포자의 형성은 서로 다른 A1과 A2 교배형의 교배를 통해 이루어지는 것으로 보고되었는데, 국내에서는 2005년부터 2007년까지 분리한 역병균의 교배형이 A1 56.6%, A2 39.2%, S형 4.2%로 조사되었으며, 1998년 스페인 북서지역 고추 재배지에서 분리한 고추 역병균은 교배형이 모두 A1으로 나타났다(Savage, 1968; Kamjaipai 1978; Silvar et al., 2006; 이 등, 2010).

고추 역병균의 살균제 저항성 연구는 대표적인 역병 방제용 살균제인 metalaxyl을 사용하여 검정되어 왔다. Metalaxyl은 1977년 처음 사용하게 되면서 난균류에 선택적으로 우수한 약효를 보였다.(Schwinn and Staub, 1995). 하지만, metalaxyl의 집중적인 사용으로 유럽에서 단시간 내에 metalaxyl에 저항성인 Phytophthora infestans가 분리되었다(Davidse et al., 1981; Dowley and O'Sullivan, 1981). 이후 전 세계적으로 Phytophthora spp.에 대한 저항성균의 출현이 보고되고 있다(Erwin and Ribeiro, 1996; Lamour and hausbeck, 2000). 국내에서는 1987년과 1988년에 전국 노지고추 재배지에서 분리한 역병균 중에서 약 13%가 metalaxyl에 저항성을 보이는 것으로 나타났다(Oh and Kim, 1992). Metalaxyl이 고추 역병균의 생육단계에 미치는 영향을 조사한 결과, metalaxyl은 역병균의 균사생장을 억제하였지만, 유주포자 유출과 유주포자 발아 억제에 대해서는 효과가 없는 것으로 나타났다(Sung and Hwang, 1988; Ham et al., 1991).

지금까지 고추 역병에 대한 고추 저항성 유전자원은 AC2258, CM334, PI201234, PI201232 및 PI163192 등이 보고되어 있으며, 국내에서는 고추 역병에 의한 피해를 줄이기 위해서 2005년부터 역병 저항성 품종이 상업적으로 시판되기 시작했다(Kimble and Grogan, 1960; Bosland and Lindsey, 1991; Gil Ortega et al., 1991; Bosland, 1993; Ares et al., 2005; Kim

D-04

et al .,2010). Kim et al.(2010)은 영양, 밀양, 괴산에서 분리한 역병균주에 국내에 시판하는 고추품종의 저항성을 평가하였는데, 일부 품종에서 균주에 따른 저항성 정도에 차이가 있는 것으로 조사하였으며, Jo et al.(2014)은 우리나라 고추 품종들의 역병저항성은 고추 역병균의 병원성 정도에 영향을 받는다고 하였다. 또한, Foster and Hausbeck(2010)도 고추의 역병 저항성은 고추 역병균주 간의 병원력에 영향을 받는다고 보고하였다.

고추의 역병 저항성은 질적 저항성보다는 Chromosome 4,5,6,11 및 12에 존재하는 6개 영역이 저항성을 책임지는 QTL 저항성으로 인식하고 있다(Lefebvre and Palloix, 1996; Pflieger et al., 2001; Lefebvre et al., 2002; Thabuis et al., 2003, 2004). 이에 같은 역병균주를 사용하더라도 접종원 농도 및 온도 등에 따라 저항성 정도가 다를 수 있다고 하였다(Barksdale et al., 1984; Hwang 2002).

#### C. 세균점무늬병

국내에서 고추 세균점무늬병에 대한 연구는 타 병해에 비하여 연구가 많지 않은 편이다. 국내 고추에 발생하는 세균병으로 장마기부터 9월초까지 주로 발생하며 국내시판 품종에 대해서는 모두 감수적이다. 이 병원균은 국내에는 racel, 3이 존재하는 것으로 보고 된 바 있다(이, 1999), 병발생과 기상의 변화와 상호관련성을 분석하여 발병 변화와 예측을 하기 위하여상승된  $CO_2$  와 온도의 조건을 분석한 결과 고추 세균점무늬병은 기상조건에 따라 병발생의 변화가 있음을 제시 한 바 있다(신 등, 2011). 국외에서는 고추세균점무늬병은 종자전염이 주된전염원으로 발생하면 경제적 손실을 초래하고 방제가 어려운 병해로 예방적 관리가 중요한병해로 알려져 있다(Ronald, 2007).

세균점무늬병의 감염을 최소화하기 위한 방법으로는 포장위생, 윤작, 포장주변의 잡초제거 등 예방적인 방법이 우선이나 현재까지 방제에 효과적인 방법은 화학적인 방제방법으로 1950년대에는 세균성점무늬병을 일으키는 Xanthomonas campestris pv. vesicatoria가 낮은 밀도에서는 스트렙토마이신이 효과적이나 저항성이 출현하여 방제효과가 저조해지는 반면 구리를 함유한 화합물은 효과적인 것으로 알려져 있어(Jones와 Jones, 1985) 감염종자의 종자소독과 구리제 등의 화합물을 주기적으로 살포하는 것이 가장 효과적인 것으로 알려져 있다(Obradovic 등, 2004). 국내에도 많은 품목들이 사용가능한 약제로 등록되어 있어서 (한국작물보호협회, 2015) 선택하여 사용할 수 있으며, 최근 타저병에 등록됨 아시벤졸라-에스-메틸·만코제브수화제를 온실에서 6엽기까지 재배한 고추 유묘(품종: 왕대박)에 병원균을 접종하기 7일 전에 아시벤졸라-에스-메틸·만코제브수화제를 농도별로 무처리구에서는 토양 관주 처리하였을 때 75%의 발병도를 보였으며, 아시벤졸라-에스-메틸·만코제브수화제를 20 μg mL<sup>-1</sup>의 농도로 관주처리한 처리구에서는 19%의 발병도를 보여 75%의 효과를 보였으며 포장에서 방제효과를 조사하기 위하여 아시벤졸라-에스-메틸·만코제브수화제를 7일 간격으로 3회 경엽 및 토양관주 처리하고 병발생 정도를 조사한 결과 9%와 71%로 나타나서 아시벤졸라-에스-메틸・만코제브수화제를 토양

에 관주처리하면 고추 세균점무늬병에 대하여 방제 효과가 있는 것으로 조사되어(김 등, 2012) 앞으로 농약 적용확대 시험을 통해서 등록이 된다면 효과적인 약제로 사용할 수 있을 것으로 판단된다. 그러나 동일 계통 약제를 지속적으로 사용 할 경우에는 약제저항성이 출현하여 문제가 되고 있다(Pernezny와 Collins, 1997, Gore와 Garro, 1999). 현재 농가에서는세균 점무늬병 방제를 하기 위해서 약제 살포를 하고 있으나 다른 세균병들과 마찬가지로 약제효과가 그다지 높지 않으며(Lee와 Hwang, 1994) 약제 살포 적기를 놓치면 방제효과가 저조하므로 방제효과를 높이기 위해서 사용량과 횟수를 증가시켜 기준량을 초과하여 농약을 살포하고 있는 실정이다.

한편 친환경농산물을 생산하는 농가에서는 방제적기에도 약제를 사용할 수 없는 어려움이 있으나 소 등(2014)에 의하면 파인 오일과 수산화동의 혼용에 의한 고추의 세균점무늬병에 대한 방제 효과를 구명하고자 수행한 결과, 파인 오일만 단독 처리한 경우 발병엽률 59.6%와 방제 효과 28.9%로 나타났지만 파인 오일과 수산화동을 4:1로 혼용 처리하였을 때 발병엽률 20.0%와 방제효과 76.1%로 가장 효과적인 것으로 조사되었다. 따라서 파인 오일과 수산화동을 4:1로 혼용 처리함으로서 고추 세균점무늬병 발생 피해를 경감시키는 친환경적인 방제기술로 사용할 수 있을 것으로 기대된다. 또한 고추 세균점무늬병에 대한 저항성 유전자원을 찾아 보다 효율적으로 병발생을 예방하고자 변 등(2015)은 고추 세균성 점무늬병에 대한 저항성 유전자원을 찾고자 국내외에서 수집 검정하여 보고한 저항성 유전자원과 새로 찾은 자원을 포함한 총 53점에 전국 각지에서 수집한 Xcv 균 race 1, race 3, race 7, race 8을 각각 접종하여 세균점무늬병에 대한 과민반응형 저항성의 유무를 판별하고, 보유하고 있는 저항성 유전자의 유형을 확인하였으며 race 3을 이용하여 일반저항성을 검정한 결과 이미 알려진 칠복 2호와 함께 과민반응형 저항성 유전자 Bs2를 가지고 있는 것으로 확인된 바 있다. 고추 세균점무늬병 방제를 위하여 저항성품종 육성을 위한 저항성 유전자 Bs3 연관 AFLP 표지 동정(윤 등, 2001), 고추 세균점무늬병에 대한 수직저항성과 이병성으로부터 수평저항성 선발방법을 제시(배 등, 1997), 국외에서 도입한 저항성 인자 CMS-Rf를 이용하였으며(안 등, 2011), 육종적 이용을 위해 저항성인자와 저항성연관 SCAR마커 개발, 표지인자를 선발하였다(조 등, 1998). 고추세균점무늬병 방제약제로 사용하는 약제들의 저항성이 출현 등의 문제로 구리제에 대한 저항성 발현인자를 탐색하였고(Marco, 1983), Xanthomonas campestris pv. vesicatoria의 Ohio strain에 대한 병원학적 특성 약제저항성 균주 등을 선발한 바 있다(Sahin, 1996). 고추를 재배하는 미국에서는 세균점무늬병에 대한 레이스가 racel-5, 6이 존재하며 지역에 따라 race분포가 다르므로 이에 대한 저항성품종을 육종한 바 있다(Cook 등, 1984). 또한 고추에 유묘 침지처리, 토양관주처리, 지상부 경엽처리 등으로 세균점무늬병과 탄저병을 친환경적으로 발생을 억제할 수 있는 바실러스 메가테리움 22-5 균주을 선발 한 바 있다(연 등, 2009). 또한 농약사용을 절감하면서 고추 세균점무늬병의 발생을 효과적으로 방제하기 위해서는 발생호조건이 아닌 기상에서는 노지고추에 발생하는 세균점무늬병은 발병엽률 16.3%이하일

때 방제하는 것이 효과적인 것으로 보고된 바 있다(김 등, 2007).

#### D. 풋마름병

국내에서 고추에 발생하는 시들음증상을 일으키는 병해로 풋마름병, 뿌리썩음병, 역병, 흰비단병, 잘록병이 보고되어 있다(한국식물병학회, 2009). 2000년과 2001년에는 Phytophthora capsici에 의한 고추 역병이 고추 주산지에서 각각 43.1%, 20.6%의 피해가 발생하였으나(김 등, 2002), 2010년 8월 충북지역 역병 발생율은 0.9%에 불과하였으며, 오히려 풋마름병이 3.3% 발생하여 풋마름병에 의한 시들음발생이 더 높은 것으로 나타났으며, 고추 생육 초기에는 시들음 증상을 보이는 고추의 75%에서 풋마름병균이 분리되었다(이 등, 2011). 이러한 풋마름병 발생의 증가는 공기 중의 CO<sub>2</sub> 농도와 기온이 높아지는 데 원인이 있다고 보고하였다(신 등, 2010).

R. solanacearum는 세계 전역의 열대나 아열대지방에서 발생하며 다수의 작물생산에 커다란 문제가 되며(Hayward, 1964), 고추, 토마토, 참깨, 감자, 땅콩, 가지, 담배, 가지과 잡초 등 33과 250여종이 넘는 넓은 기주 범위를 가지고 있다(이, 2009). 최적생육온도는 30~32℃로 알려져 있으며, 토양온도가 15℃이하일 경우에도 드물게 존재한다고 한다(Hooker, 1981). 5 가지의 레이스(race)와 5 가지 생리형(biovar)으로 나뉘며(이, 1999), 그 중 국내에서는 race 1, 3과 biovar 1, 2, 3, 4가 존재한다고 보고되었다(Jeong 등, 2007). 국내 고추에서 분리된 R. solancearum은 모두 race 1계통이고, biovar 3과 biovar 4로 구분되며, biovar 4가 우점계통이라 보고되었다(이 등, 2013; 임 등, 2008; Yun 등, 2004).

R. solanacearum에 감염된 식물체는 처음에 어린 잎, 다음으로 한 쪽이 시들고 왜화되며, 결국 완전히 고사하고, 줄기, 뿌리 등의 유관속 조직이 갈변하게 된다(그림 1). 병원세균은 병든 식물체나 식물 잔재, 영양 번식 기관, 종자, 야생 기주, 토양 등에서 월동하며(Agrios, 2005), 월동한 병원세균은 주로 뿌리나 땅 가 부분의 줄기에 생긴 상처를 통해 침입한다. 땅속 75 cm까지 병원세균이 분포되어 있다고 하지만 호기성균이기 때문에 보통 땅속 30 cm이내의 흙속에 섞여 있는 병든 식물의 찌꺼기 속에서 생존하며, 수분 함량이 높은 심층토양에서 5년 이상의 장기 생존이 가능한 것으로 알려져 있다(Brian 등, 2001). 토양중의 물, 감염된 종자, 근경 또는 괴경을 자르는데 사용되었던 칼 등에 의해 주로 전반되나, 간혹 곤충에 의해서도 전반된다. 경작기구, 선충, 곤충, 또는 2차 뿌리가 나오면서 생긴 상처를 통해침입하며(Agrios, 2005), 뿌리의 피질에서 집락을 형성하고, 도관을 통하여 내부의 양분과 수분의 이동통로에서 번식함으로써 이를 막아 식물이 고사하거나(Vasses 등, 1995; Hikichi 등, 2007), cellulase, pectinase 등의 효소와 glycoprotein으로 구성된 독소에 의해 식물의 도관세포 및 조직이 죽게 되어 발병되는 것으로 알려져 있다(조 등, 1999). 이러한 병정의 발현은 식물체의 나이와 풋마르병균 균주에 따라 달라진다(Melanie, 2012)

풋마름병 방제를 위해 저항성 품종의 선발(한 등, 2009), Bacillus amyloliquefaciens strains, Actinobacteria 등을 이용한 생물적 방제(Tan 등, 2011; Park 등, 2007; 서 등, 2008; Wei 등, 2011), acibenzolar-S-methyl, copper compounds, antibiotics, essential oils, Silicon와 Chitosan 등의 물질을 이용한 방제 (Anith 등, 2004; 한 등, 2011; Lee 등, 2012; Kiirika 등, 2013), Soil Amendment (Anith 등, 2004) 방법 등 다방면에서 검토되고 있다. 국내에서는 방제 약제로 토양소독제인 Dazomet 입제가 등록되어 있으며(한국작물보호협회, 2014), 일부 시판 종자회사에서는 고추 풋마름병 내병성 종자를 출시하고 있다.

#### 4. 포장에서 탄저병균의 유전적 다양성 및 기주 선호도

사과(Malus pumila)는 국내에서 100여 년 전부터 재배하기 시작한 것으로 추정되고 있으며(이, 1981), 2013년 현재 재배 면적이 30,449 ha로 전체 노지 과수 재배면적의 약 20%를 차지하는 가장 넓은 면적에서 재배되는 과수이다(통계청, 2013). 국내에 재배되는 품종은 선홍, 쓰가루, 홍로, 감홍, 양광, 후지, 추광, 홍옥, 홍월, 화홍 등이 있으며 이중 홍옥과 후지가혼식되어 많이 재배되고 있다. 국내 사과나무에 발생하는 병해는 1928년에 32종으로 기록되었다가 1986년에 41종(한국식물병해충잡초명감, 1986)으로 증가되었고 최근 2009년 한국식물병명록에 따르면 49종이 보고되어 있다. 그 중 사과에 발생하는 탄저병은 갈색무늬병 및 겹무늬썩음병과 함께 사과 생산량에 직접적으로 영향을 미치는 중요한 병이다.

현재 탄저병균은 유성세대는 Glomerella, 무성세대가 Colletotrichum 속으로 세계적으로 가 장 파괴적인 식물 병원균 중 하나이며(Bailey 등, 1992), 세계에서 경제적인 부분으로 여덟 번째로 중요하게 여겨지는 식물병원균이다(Dean 등, 2012). 주로 온대, 아열대 그리고 열대 지역에서 병을 일으키는 주요병원균으로, 곡류, 두류, 채소류, 과수 등 넓은 기주에 탄저병을 일으키며 감염 결과 수량, 품질에 심각한 손실을 초래한다(Holliday 등, 1980; Naqvi 등, 1996; Pletz, 2003). 현재 국내에는 Colletotrichum gloeosporioides, Colletotrichum dematium, Colletotrichum coccodes, Colletotrichum acutatum, Glomerella cingulata 등 5종의 고추 탄 저병균이 알려져 있으며(박과 김, 1992), 포장에서 방제는 주로 살균제를 사용하는 화학적 방 법이 사용되고 있으나, 최근 경종적 방제 방법으로 비 가림 재배와 저항성 품종의 개발이 시 도되고 있다. 국내 사과 탄저병균으로는 C. gloeosporioides, C. acutatum, G. cingulata 등 3 종이 보고되어 있으며, 사과 품종에 따라 발병률이 크게 차이를 보인다(이, 1994; 유, 2008). C. acutatum은 세계적으로 다양한 기주를 침해하는 식물병원균으로 잘 알려져 있으며 (Sutton, 1992), 유럽의 경우 딸기, 체리 등에서 경제적으로 큰 피해를 입히는 중요한 병원균 으로 유럽에서는 검역 미생물(EPPO)로 등록되어 관리되고 있다(de los Santos Gracía de Paredes 등, 2002; Børve 등, 2008). C. acutatum은 1891년 미국에서 포도 열매에 병을 일으 키는 병원균으로 처음 보고되었으며, Simmonds(1965)는 포도와 파파야 등의 열매를 가해하 는 병원균이라고 발표하였다. 이전까지는 포도, 사과 등 과수에서 발생하는 탄저병균은 주로

C. gloeosporioides라고 알려져 있었으나, 근래에 들어 북유럽에서 우점 탄저병균이 C. gloeosporioides를 대신하여 C. acutatum으로 보고되고 있다(Vinnere 등, 2002). 미국 서부의 경우에도 사과에 부패를 일으키는 주된 병원균으로 C. acutatum이 많이 보고되고 있다(Shi 등, 1996). 국내에서도 고추를 침입하여 가해하는 주된 병원균이 C. gloeosporioides라고 알려 져 있었으나(Kim 등, 1986; Park 등, 1989; 박과 김, 1992), 최근에는 우점한 병원균이 C. gloeosporioides가 아닌 C. acutatum이라고 수정되어 보고되었다(김와 김, 2004; 강 등, 2005; 김 등, 2008). 2006년도에 분리한 고추 탄저병균의 98.8%가, 최근 2010년에는 100%가 C. acutatum으로 동정되었다(김, 2013). 사과 탄저병의 경우 1856년 Berkelev에 의해서 영국에 서 최초로 보고가 되었다. 국내는 뚝섬과 수원 등지에서 발생이 처음 보고한 후 점차 증가하 였고, 1960년대까지 사과 탄저병에 의한 과실의 손실이 전국적으로 컸다. 1986년부터 1988년 까지 이(1994)는 사과 탄저병균을 형태적인 분류로 Glomerella cingulata가 65.4%, C. gloeosporioides가 26.9%이었고, C. acutatum은 7.7%로 가장 낮게 분리 되었다고 보고했고, 근래에 들어 2002년 전(2010)은 benzimidazole계 살균제를 이용한 종 동정법으로 동정하여 C. gloeosporioides가 57.8%, C. acutatum은 42.2%로, 2006년 C. acutatum 비율은 17.7%, 2008년 비율은 18.7%로 C. acutatum 비율이 낮아지고 C. gloeosporioides 분리 비율이 높아 졌음을 보고하였다. 이러한 C. acutatum 비율의 감소는 2003년경부터 국내 농가에서 benzimidazole계 살균제의 사용을 자제했기 때문이라고 추정하고 있다(전, 2010).

Colletotrichum속의 곰팡이를 전통적으로 분류하는 기준으로는 분생포자의 형태와, 강모와 균핵 형성 유무, 부착기의 형태, 배양적 특성, 기주범위와 병원성 등의 차이를 들 수 있으며, 이런 기준을 가지고 Colletotrichum속에 속하는 38종의 곰팡이가 보고되어 있다(Freeman 등, 1998). 하지만, 같은 종 내에서와 종간에서도 분생포자와 부착기의 형태적 특징에서 겹치는 부분이 있으며, 계통발생적으로 나누는 그룹 간을 비교해 봐도 기주에 따른 병원성의 차이가 계통발생적으로 나뉘는 그룹과 연관 짖기 어렵고, 배지에 따라 분생포자의 크기와 모양이 다르고, 강모의 차이도 일관성이 없어, 이런 형태적인 특징이 분류의 정확한 기준이 될 수 없다(Adaskaveg와 Hartin, 1997; Than 등, 2008). 또한 Colletotrichum속은 기주 식물에 대한 병원성이 매우 다양하기 때문에 병원성이 분류의 기준이 되기는 어려움이 있다(정 등, 1992; Freeman 등, 1998). 이런 이유 때문에 탄저병균의 분류 동정은 표식 유전자의 염기서열을 분석해서 결정하거나, 분자생물학적 방법인 RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA)법, RFLP(Restriction Fragment Length Polymorphisms)법, AFLP(Amplified Fragment Length Polymorphism)법 등을 이용해서 분류하고 있다(Braithwaite 등, 1990; Sreenivasaprasad 등, 1992; Wang 등, 1993; Sherriff 등, 1994; Mackill 등, 1996; Noli 등, 1997; Rusell 등, 1997; Vos 등, 1995; Mesquita 등, 1998; Dresler-Nurmi 등, 2000).

최근에는 여러 개의 표식 유전자를 이용한 종 수준에서 계통 발생 분석이 이루어지고 있는데, Lee 등(2007)은 ITS, TUB2를 이용하여 사과의 탄저병균을 동정하였고, Talhinhas

(2002)의경우 ITS, TUB2, HIS4를 이용하여 병원균을 분류 동정하였다. 그 외에도 CHS-1(chitin synthase I), CAL(calmodulin), ACT(actin), EF1a(elongation factor 1-a), APN2(DNA lyase), SOD2(manganese superoxide dismutase) 유전자 등의 염기서열이 병원균의 분류 동정에 이용되고 있다(Cannon, 2012). 또한 성공적으로 이루어지는 유전자 분석은 분자생물학적 분석에 그치지 않고, 형태적, 생리적, 병원성 등과 같은 특징을 결합시켜 그룹을 나누는데 사용되고 있다. RAPD와 형태적, 생리적 특징을 조합하여 C. acutatum을 7개의그룹으로 구분하거나(Lardner 등, 1999), ITS 영역과 TUB2의 염기서열 분석 결과와 기주와병원성 등을 고려하여 A1부터 A9까지의 그룹으로 보고하였다(Sreenivasaprasad와 Talhinhas, 2005; Whitelaw-Weckert 등, 2007).

Colletotrichum속의 일부 종은 살균제에 대한 반응이 다르다. 특히 대부분의 곰팡이 생육 을 억제하는 benzimidazole계 살균제에 대한 반응은 매우 달라서, C. acutatum은 C. gloeosporioides와 다르게 비감수성 반응을 보인다. 일반적으로 곰팡이에서 benzimidazole계 살균제에 대해서 보이는 저항성 반응의 기작은 β-tubulin 유전자에서 점 돌연변이가 발생하 여 198번째와 200번째의 아미노산이 치환될 경우 저항성 균이 나타나게 된다(Yaden과 Kartan, 1993). Botrytis cinerea의 경우 198번째와 200번 코돈의 변이가 benzimidazole계 살 균제에 대한 감수성 차이와 높은 상관관계가 있다(Yaden과 Kartan, 1993; Peres, 2004; 김, 2008; 김, 2012). β-Tubulin 유전자의 점 돌연변이가 살균제의 저항성과 관련된 경우는 Tapesia yallundae와 T. acuformis에서도 볼 수 있는데 benzimidazole계 살균제에 대해서 저 항성인 균주는 198, 200, 240번째의 아미노산이 치환되어 있다(Albertini 등, 1999). 최근 Peres 등(2004)에 따르면 일반적인 곰팡이와 다르게 감귤에서 분리한 C. acutatum은 198, 200번째 아미노산의 염기가 치환되어 있지 않고, 저항성인 C. gloeosporioides에서는 198번째 아미노산만이 점 돌연변이에 의해서 glutamic acid가 alanine으로 치환되어 있다고 보고하였 다. Kongtragoul 등(2009)도 망고 탄저병에서 분리한 C. gloeosporioides의 β-tubulin 유전자 를 분석한 결과, 198번째 codon이 감수성 균주의 경우 GAG이었으며, 높은 저항성 균주의 경우 GCG로 DNA 염기 하나가 치환되어 있다고 보고하였다. 하지만 benzimidazole계 살균 제에 대한 저항성과 β-tubulin 유전자의 염기 변이가 무관하다는 보고도 있다(박 등, 1996; Adaskaveg와 Hartin, 1997; Ishii 등, 1998; 김 등, 2006).

우리나라에서 중요한 탄저병균인 C. acutatum과 C. gloeosporioides는 부착기 크기나, 분생 포자의 형태적 구별이 어렵고, 종간에도 일부 살균제에 대한 반응이 다르며, 포장에서 집단의 밀도 변화도 감지된다. 그런데 두 가지의 식물병원균은 기주 범위가 넓어 다양한 기주를 침입하는 것으로 알려져 있으며, 특히 구기자와 고추, 감과 고추 등과 같이 동일한 지역에서 혼작하거나 근접한 거리에서 동시에 재배하는 여러 작물에서는 C. acutatum과 C. gloeosporioides가 동시에 탄저병을 일으키는 것으로 보고되어 있다.

사과와 고추는 국내에서 높은 생산액을 보이는 중요한 과수와 채소작물인데, 두 작물 모두

코드번호 D-04

탄저병에 의한 피해가 큰 것으로 보고되어 있으며, 탄저병균으로 C. acutatum과 C. gloeosporioides가 보고되어 있고(한국식물병명목록, 2009), 지금까지의 보고에 의하면 동일한 기주 내에서 포장 병원균 집단의 밀도의 변화가 예상되어 왔다. 포장에서 병원균 집단의 특징과 변화 양상을 조사하는 것은 병원균의 방제 전략을 수립하는데 매우 중요한 정보를 제공할 수 있기 때문에, 중요한 작물의 주 병원균 집단의 변화를 조사할 필요가 있다. 고추와 사과에서도 탄저병을 일으키는 병원균으로 C. acutatum과 C. gloeosporioides가 보고되어 있는데, 앞에서 기술한 것과 같이 두 종류의 병원균은 균학적인 특징과 살균제에 대한 반응이서로 다르며, 포장에서 집단의 밀도 변화가 진행되고 있거나 된 것으로 보고되어 있음에도 불구하고 동일한 지역의 근접한 거리에서 또는 동일한 지역에서 혼작하는 두 기주식물 사이에 교차 감염 발생할 수 있는 가능성이 존재하기 때문에 포장에서 병원균 집단에 대한 연구가 필요하다.

경상북도 청송군의 경우 고추와 사과가 주산물이며, 두 작물의 재배지가 매우 근접하거나 혼작재배를 많이 하고 있다. 더불어 청송군은 태백산맥과 보현산맥에 의해 산악지형으로 둘러싸여 타 지역과 이동이 어려운 환경조건을 가지고 있다. 이러한 특이적 재배지인 청송에서 고추와 사과 탄저병균의 분류적인 특징과 기주식물에 대한 병원성, 그리고 병원균의 균학적, 생리적 특징과 살균제에 대한 반응 양상을 조사하여 비교함으로써 포장에서 병 방제의 전략을 세우는데 필요한 정보를 제공할 필요가 있다. 본 연구는 청송에서 분리한 고추와 사과 탄저병균과 경북대학교에서 분양받은 사과에서 분리한 탄저병균을 표식 유전자의 염기서열 분석을 통하여 정확하게 동정하고, 각 병원균 집단의 균학적 특징과 유전적 다양성, 기주식물에 대한 병원성과 병원성에 영향을 미치는 요인의 조사를 수행하여 고추와 사과 탄저병균 집단의 특성을 조사하고, 그 결과를 고추 저항성 품종 개발과, 각 기주식물에서 탄저병을 방제하는 전략을 수립하는데 이용하고자 하였다.

# 3장. 연구수행 내용 및 결과

## PART 1. 인도수출용품종개발

코드번호 D-05

### 1절. 유전자원 수집 및 평가.

- 수출용 품종의 육성을 위해서는 현지의 환경에서 살아남은 현지 재래종이나 그 재래종을 이용해서 육성한 시판종의 수집이 무엇보다 중요함.
- 재래종은 특정 그 지역에서 오랜 세월동안 재배되면서 그 지역의 토양, 기후 등 자연환경 에 잘 적응한 재료들이어서 수출용 품종 육성을 위해서는 그 가치가 매우 큼.
- 현지의 상업적 우점품종의 경우 역시 우량형질이 집적되어 있을 뿐만 아니라 그 지역의 환경에도 잘 적응하는 유전적 우수성을 지닌 품종이므로 육종에 아주 소중한 자원임.
- 본 연구에서는 시장정보수집과 유전자원의 수집을 위하여 매년 우수품종 전시포를 만들어 비교 재배시험을 하고 있는 중국 광저우 종자 박람회 참관과 더불어 인근 농장 등지에서 우량품종의  $F_2(OP)$ 를 수집하함.
- 인도 현지 출장 중에 시장이나 주변 포장 등에서 현지 재배종 수집함
- ○이렇게 수집된  $F_2$ 종자들은 특성별로 분류하여 재료육성에 공시하여 특성조사 및 선발개체 의 세대진전을 실시함.



[사진14]인도수집 유전자원(2013.4)



[사진15] 중국수집 유전자원(광저우박람회.2012.12.)



[사진16]선초-35cm이상

[사진17] 사이클론

2011년도 수집한 유전자원 중에서 중국 선초품종 분리후대에서 과장 35cm내외의 장과형 재료들이 선발되었는데 2차년도 당시에는 조합후대 임성조사결과 임성관련 유전자가 아직 고정되지 않아 임성이 분리되었던 분리계의 임성관련 인자를 3차년도(2013년)에 Nrfirf 2계통 과 ?RfRf 4계통을 고정시켰으며 Nrfrf 계통을 이용한 MS line 육성을 위한 Backcross가 진행 되었고 RfRf계통들을 이용하여 세장과형 품종육성을 위한 재료로 활용하고 있는 중이 다. 이 세장과 재료들은 인도용 풋고추 뿐만 아니라 향후 중국용 선초 품종개발에도 유용하 게 쓸 수 있을 것으로 생각된다(사진16참조), 또한 2012년도에 수집되었던 사이클론 분리계 의 경우는 초세가 강하고 청과색이 담록색인 대과계통의 재료로서 3차 년도에 임성관련 인 자 분석결과 RfRf형인 것으로 판명되어 인도용 대과계 풋고추용으로 활용하기위한 재료육성 및 조합작성이 진행 되었으며 5차년도 조합능력 검정결과 대장과계 우수조합으로 다수 선발 되어이 재료들 또한 인도 수출용 풋고추 품종 육성에 유용하게 사용될 것으로 생각된다.(사 진 17참조). 인도 수집종 중에서 Lam206은 G-4형 재료로서 초세 및 바이러스 내병성이 강 하고 고온기 착과가 잘되는 내서성 재료로 판단되어 건고추 품종육성에 활용할 예정이다. 하 늘초 품종의 F2 집단들은 과형, 화방형, 임성 등이 다양하게 분리하였으며 이들 중 염홍 분 리계들이 초세가 강하고 바이러스내병성이 우수하며 매운맛이 강하고 역병에 강한 특성을 보이며 임성관련 인자가 RfRf type으로 인도 수출용 재료로 활용 가능성이 있어 다수의 조 합을 작성해서 2014년도 이후 성능검정에 공시하여 생육 조사 중이다. 이를 포함한 다양한 수집재료들은 화방형, 과형별로 선발하여 세대진전 시키면서 원예적 형질을 고정시키고 있 다. 또한 필리핀에서 세대촉진 후 세대를 진전시킨 재료들은 현재 포장에 재식되어 특성 조 사가 진행 중인데 색소계인 D.Delux 분리계와 US341등의 분리 후대를 활용하여 고색소 건 고추 및 풋고추 겸용 품종육성에 활용할 예정이다.

또한 매년 중국광저우교역회 수집재료들과 인도 시교 작황조사 출장에서 우수 품종의 F2종 자와 고정종으로 선발한 계통도 수집하여 현재 세대 진전과 더불어 특성조사 및 선발을 거 쳐 육종재료로 활용 중에 있다.



[사진18] 2013. 12월 중국수집 유전자원

[사진19] 2014. 1월 인도수집 유전자원

2014년 12월 중국 광저우 종자교역회에서 수집한 우각초형 및 하늘초, 구형 고추재료들과 2015년 2월에 인도 현지 적응성 작황조사시에 수집한 현지 우수재배 품종들의 F2 종자들을 수집하여 올해 국내에서 훤예적 형질의 조사와 더불어 형질고정 및 임성관련 인자 분석을 위한 조사를 실시할 예정이다.[사진20,21참조]

코드번호 D-05



[사진20]2014.12. 중국 수집 유전자원

[사진21] 2015. 2월 인도수집 유전자원

## [표A]2013년~2014.1수집 유전자원 특성별 분류

E 469         201304327         S-1(선초,황)         상연연구소 수집           E 470         201304328         S-2(나선초)         상연연구소 수집           E 471         201304329         S-3(나선초)         상연연구소 수집           E 472         201304330         S-4(선초)         상연연구소 수집           E 473         201304331         S-5(선초,수분합량소)         상연연구소 수집           E 474         201304332         S-6(선초,수분합량소)         상연연구소 수집           E 475         201304333         S-7(선초,수분합량소)         상연연구소 수집           E 476         201304334         S-8(선초)         상연연구소 수집           E 477         201304335         S-9(선초)         상연연구소 수집           E 478         201304336         S-10(선초,수분합량소)         상연연구소 수집           E 480         201304337         S-11(선초,수분합량소)         상연연구소 수집           E 481         201304333         S-12(선초,수분합량소)         상연연구소 수집           E 482         201304334         색소-1         역병포장           E 483         201304343         색소-1         역병포장           E 484         201304345         색소-3         역병포장           E 485         201304347         생소-5         역병포장           E 487         201304348         PR선초-1         역병포장	No.	SN	BN	주요특성	비고
E 471         201304329         S-3(나선초)         상연연구소 수집           E 472         201304330         S-4(선초)         상연연구소 수집           E 473         201304331         S-5(선초,수분합량소)         상연연구소 수집           E 474         201304332         S-6(선초,수분합량소)         상연연구소 수집           E 475         201304333         S-7(선초,수분합량소)         상연연구소 수집           E 476         201304334         S-8(선초)         상연연구소 수집           E 477         201304335         S-9(선초)         상연연구소 수집           E 478         201304336         S-10(선초,수분합량소)         상연연구소 수집           E 480         201304337         S-11(선초)         상연연구소 수집           E 481         201304343         メ소-1         역병포장에서 선발, 색소우수           E 482         201304343         색소-1         역병포장           E 483         201304344         색소-2         역병포장           E 484         201304345         색소-3         역병포장           E 485         201304346         색소-4         역병포장           E 486         201304347         색소-5         역병포장           E 487         201304350         PR선초-2         역병포장           E 489         201304351         PR선초-3         역병포장	E 469	201304327	S-1(선초,황)	상연연구소 수집	
E 472         201304330         S-4(선호)         상연연구소 수집           E 473         201304331         S-5(선호,수분함량소)         상연연구소 수집           E 474         201304332         S-6(선호,수분함량소)         상연연구소 수집           E 475         201304333         S-7(선호,수분함량소)         상연연구소 수집           E 476         201304334         S-8(선호)         상연연구소 수집           E 477         201304335         S-9(선호)         상연연구소 수집           E 478         201304335         S-10(선호,수분함량소)         상연연구소 수집           E 479         201304337         S-11(선호)         상연연구소 수집           E 480         201304338         S-12(선호,수분함량소)         상연연구소 수집           E 481         201304338         S-12(선호,수분함량소)         상연연구소 수집           E 482         201304343         색소-1         역병포장에서 선발, 색소우수           E 483         201304343         색소-2         역병포장           E 484         201304345         색소-3         역병포장           E 485         201304346         색소-4         역병포장           E 486         201304347         색소-5         역병포장           E 487         201304351         PR선호-2         역병포장           E 489         201304351         PR선호-5         역병포장 <td>E 470</td> <td>201304328</td> <td>S-2(나선초)</td> <td>상연연구소 수집</td> <td></td>	E 470	201304328	S-2(나선초)	상연연구소 수집	
E 473201304331S-5(선초,수분함량소)상연연구소 수집E 474201304332S-6(선초,수분함량소)상연연구소 수집E 475201304333S-7(선초,수분함량소)상연연구소 수집E 476201304334S-8(선초)상연연구소 수집E 477201304335S-9(선초)상연연구소 수집E 478201304335S-10(선초,수분함량소)상연연구소 수집E 479201304337S-11(선초)상연연구소 수집E 480201304338S-12(선초,수분함량소)상연연구소 수집E 481201304339S-13(선초,수분함량소)상연연구소 수집E 482201304343색소-1역병포장에서 선발, 색소우수E 483201304344색소-2역병포장E 484201304345색소-3역병포장E 485201304346색소-4역병포장E 486201304347색소-5역병포장E 487201304348PR선초-1여병포장E 489201304350PR선초-2역병포장E 490201304351PR선초-4역병포장E 491201304353PR선초-5역병포장E 492201304353PR선초-6역병포장E 493201304355PR선초-7역병포장E 494201304355PR선초-7역병포장E 49520130438613KE1국내용typeE 49620130438713KE3이서 색소용1E 49720130438713KE3이서 색소용2	E 471	201304329	S-3(나선초)	상연연구소 수집	
E 474       201304332       S-6(선초,수분함량소)       상연연구소 수집         E 475       201304333       S-7(선초,수분함량소)       상연연구소 수집         E 476       201304334       S-8(선초)       상연연구소 수집         E 477       201304335       S-9(선초)       상연연구소 수집         E 478       201304336       S-10(선초,수분함량소)       상연연구소 수집         E 479       201304337       S-11(선초)       상연연구소 수집         E 480       201304338       S-12(선초,수분함량소)       상연연구소 수집         E 481       201304343       색소-1       역병포장에서 선발, 색소우수         E 482       201304344       색소-2       역병포장         E 484       201304346       색소-3       역병포장         E 485       201304346       색소-4       역병포장         E 486       201304349       PR선초-1       역병포장         E 487       201304349       PR선초-2       역병포장         E 489       201304350       PR선초-2       역병포장         E 490       201304351       PR선초-4       역병포장         E 491       201304352       PR선초-5       역병포장         E 492       201304353       PR선초-6       역병포장         E 493       201304355       PR선초-8       역병포장         E 495       20	E 472	201304330	S-4(선초)	상연연구소 수집	
E 475         201304333         S-7(선초,수분함량소)         상연연구소 수집           E 476         201304334         S-8(선초)         상연연구소 수집           E 477         201304335         S-9(선초)         상연연구소 수집           E 478         201304336         S-10(선초,수분함량소)         상연연구소 수집           E 479         201304337         S-11(선초)         상연연구소 수집           E 480         201304338         S-12(선초,수분함량소)         상연연구소 수집           E 481         201304339         S-13(선초,수분함량소)         상연연구소 수집           E 482         201304343         색소-1         역병포장에서 선발, 색소우수           E 483         201304344         색소-2         역병포장           E 484         201304345         색소-3         역병포장           E 485         201304346         색소-4         역병포장           E 486         201304347         색소-5         역병포장           E 487         201304349         PR선초-1         역병포장           E 489         201304350         PR선초-2         역병포장           E 490         201304351         PR선초-4         역병포장           E 491         201304352         PR선초-6         역병포장           E 492         201304353         PR선초-6         역병포장           E	E 473	201304331	S-5(선초,수분함량소)	상연연구소 수집	
E 476       201304334       S-8(선초)       상연연구소 수집         E 477       201304335       S-9(선초)       상연연구소 수집         E 478       201304336       S-10(선초,수분함량소)       상연연구소 수집         E 479       201304337       S-11(선초)       상연연구소 수집         E 480       201304338       S-12(선초,수분함량소)       상연연구소 수집         E 481       201304339       S-13(선초,수분함량소)       상연연구소 수집         E 482       201304343       색소-1       역병포장에서 선발, 색소우수         E 483       201304344       색소-2       역병포장         E 484       201304345       색소-3       역병포장         E 485       201304346       색소-4       역병포장         E 486       201304347       색소-5       역병포장         E 487       201304349       PR선초-1       역병포장         E 489       201304350       PR선초-2       역병포장         E 490       201304351       PR선초-4       역병포장         E 491       201304352       PR선초-5       역병포장         E 492       201304353       PR선초-6       역병포장         E 493       201304355       PR선초-8       역병포장         E 494       201304385       13KE1       국내용type         E 496       201304386 <td>E 474</td> <td>201304332</td> <td>S-6(선초,수분함량소)</td> <td>상연연구소 수집</td> <td></td>	E 474	201304332	S-6(선초,수분함량소)	상연연구소 수집	
E 477201304335S-9(선초)상연연구소 수집E 478201304336S-10(선초,수분함량소)상연연구소 수집E 479201304337S-11(선초)상연연구소 수집E 480201304338S-12(선초,수분함량소)상연연구소 수집E 481201304339S-13(선초,수분함량소)상연연구소 수집E 482201304343색소-1역병포장에서 선발, 색소우수E 483201304344색소-2역병포장E 484201304345색소-3역병포장E 485201304346색소-4역병포장E 486201304347색소-5역병포장E 487201304348PR선초-1역병포장E 489201304350PR선초-2역병포장E 490201304351PR선초-3역병포장E 491201304352PR선초-4역병포장E 492201304353PR선초-5역병포장E 493201304354PR선초-6역병포장E 494201304355PR선초-8역병포장E 49520130438513KE1국내용typeE 49620130438613KE2이서 색소용1E 49720130438713KE3이서 색소용2	E 475	201304333	S-7(선초,수분함량소)		
E 478201304336S-10(선초,수분함량소)상연연구소 수집E 479201304337S-11(선초)상연연구소 수집E 480201304338S-12(선초,수분함량소)상연연구소 수집E 481201304339S-13(선초,수분함량소)상연연구소 수집E 482201304343색소-1역병포장에서 선발, 색소우수E 483201304344색소-2역병포장E 484201304345색소-3역병포장E 485201304346색소-4역병포장E 486201304347색소-5역병포장E 487201304348PR선초-1역병포장E 488201304349PR선초-2역병포장E 489201304350PR선초-3역병포장E 490201304351PR선초-4역병포장E 491201304352PR선초-5역병포장E 492201304353PR선초-6역병포장E 493201304354PR선초-7역병포장E 494201304355PR선초-8역병포장E 49520130438513KE1국내용typeE 49620130438613KE2이서 색소용1E 49720130438713KE3이서 색소용2					
E 479201304337S-11(선초)상연연구소 수집E 480201304338S-12(선초,수분함량소)상연연구소 수집E 481201304339S-13(선초,수분함량소)상연연구소 수집E 482201304343색소-1역병포장에서 선발, 색소우수E 483201304344색소-2역병포장E 484201304345색소-3역병포장E 485201304346색소-4역병포장E 486201304347색소-5역병포장E 487201304348PR선초-1역병포장E 488201304349PR선초-2역병포장E 489201304350PR선초-3역병포장E 490201304351PR선초-4역병포장E 491201304352PR선초-5역병포장E 492201304353PR선초-6역병포장E 493201304354PR선초-7역병포장E 494201304355PR선초-8역병포장E 49520130438513KE1국내용typeE 49620130438613KE2이서 색소용1E 49720130438713KE3이서 색소용2					
E 480201304338S-12(선호,수분함량소)상연연구소 수집E 481201304339S-13(선호,수분함량소)상연연구소 수집E 482201304343색소-1역병포장에서 선발, 색소우수E 483201304344색소-2역병포장E 484201304345색소-3역병포장E 485201304346색소-4역병포장E 486201304347색소-5역병포장E 487201304348PR선호-1역병포장E 488201304349PR선호-2역병포장E 489201304350PR선호-3역병포장E 490201304351PR선호-4역병포장E 491201304352PR선호-5역병포장E 492201304353PR선호-6역병포장E 493201304354PR선호-7역병포장E 494201304355PR선호-8역병포장E 49520130438513KE1국내용typeE 49620130438613KE2이서 색소용1E 49720130438713KE3이서 색소용2			S-10(선초,수분함량소)		
E 481201304339S-13(선호,수분함량소)상연연구소 수집E 482201304343색소-1역병포장에서 선발, 색소우수E 483201304344색소-2역병포장E 484201304345색소-3역병포장E 485201304346색소-4역병포장E 486201304347색소-5역병포장E 487201304348PR선초-1역병포장E 488201304349PR선초-2역병포장E 489201304350PR선초-3역병포장E 490201304351PR선초-4역병포장E 491201304352PR선초-5역병포장E 492201304353PR선초-6역병포장E 493201304354PR선초-7역병포장E 494201304355PR선초-8역병포장E 49520130438513KE1국내용typeE 49620130438613KE2이서 색소용1E 49720130438713KE3이서 색소용2	E 479	201304337			
E 482201304343색소-1역병포장에서 선발, 색소우수E 483201304344색소-2역병포장E 484201304345색소-3역병포장E 485201304346색소-4역병포장E 486201304347색소-5역병포장E 487201304348PR선초-1역병포장E 488201304349PR선초-2역병포장E 489201304350PR선초-3역병포장E 490201304351PR선초-4역병포장E 491201304352PR선초-5역병포장E 492201304353PR선초-6역병포장E 493201304354PR선초-7역병포장E 494201304355PR선초-8역병포장E 49520130438513KE1국내용typeE 49620130438613KE2이서 색소용1E 49720130438713KE3이서 색소용2					
E 483201304344색소-2역병포장E 484201304345색소-3역병포장E 485201304346색소-4역병포장E 486201304347색소-5역병포장E 487201304348PR선초-1역병포장E 488201304349PR선초-2역병포장E 489201304350PR선초-3역병포장E 490201304351PR선초-4역병포장E 491201304352PR선초-5역병포장E 492201304353PR선초-6역병포장E 493201304354PR선초-7역병포장E 494201304355PR선초-8역병포장E 49520130438513KE1국내용typeE 49620130438613KE2이서 색소용1E 49720130438713KE3이서 색소용2					
E 484201304345색소-3역병포장E 485201304346색소-4역병포장E 486201304347색소-5역병포장E 487201304348PR선초-1역병포장E 488201304349PR선초-2역병포장E 489201304350PR선초-3역병포장E 490201304351PR선초-4역병포장E 491201304352PR선초-5역병포장E 492201304353PR선초-6역병포장E 493201304354PR선초-7역병포장E 494201304355PR선초-8역병포장E 49520130438513KE1국내용typeE 49620130438613KE2이서 색소용1E 49720130438713KE3이서 색소용2			-		
E 485201304346색소-4역병포장E 486201304347색소-5역병포장E 487201304348PR선초-1역병포장E 488201304349PR선초-2역병포장E 489201304350PR선초-3역병포장E 490201304351PR선초-4역병포장E 491201304352PR선초-5역병포장E 492201304353PR선초-6역병포장E 493201304354PR선초-7역병포장E 494201304355PR선초-8역병포장E 49520130438513KE1국내용typeE 49620130438613KE2이서 색소용1E 49720130438713KE3이서 색소용2					
E 486201304347색소-5역병포장E 487201304348PR선초-1역병포장E 488201304349PR선초-2역병포장E 489201304350PR선초-3역병포장E 490201304351PR선초-4역병포장E 491201304352PR선초-5역병포장E 492201304353PR선초-6역병포장E 493201304354PR선초-7역병포장E 494201304355PR선초-8역병포장E 49520130438513KE1국내용typeE 49620130438613KE2이서 색소용1E 49720130438713KE3이서 색소용2			1	' = =	
E 487201304348PR선초-1역병포장E 488201304349PR선초-2역병포장E 489201304350PR선초-3역병포장E 490201304351PR선초-4역병포장E 491201304352PR선초-5역병포장E 492201304353PR선초-6역병포장E 493201304354PR선초-7역병포장E 494201304355PR선초-8역병포장E 49520130438513KE1국내용typeE 49620130438613KE2이서 색소용1E 49720130438713KE3이서 색소용2			1	,	
E 488201304349PR선초-2역병포장E 489201304350PR선초-3역병포장E 490201304351PR선초-4역병포장E 491201304352PR선초-5역병포장E 492201304353PR선초-6역병포장E 493201304354PR선초-7역병포장E 494201304355PR선초-8역병포장E 49520130438513KE1국내용typeE 49620130438613KE2이서 색소용1E 49720130438713KE3이서 색소용2					
E 489201304350PR선초-3역병포장E 490201304351PR선초-4역병포장E 491201304352PR선초-5역병포장E 492201304353PR선초-6역병포장E 493201304354PR선초-7역병포장E 494201304355PR선초-8역병포장E 49520130438513KE1국내용typeE 49620130438613KE2이서 색소용1E 49720130438713KE3이서 색소용2	E 487				
E 490201304351PR선초-4역병포장E 491201304352PR선초-5역병포장E 492201304353PR선초-6역병포장E 493201304354PR선초-7역병포장E 494201304355PR선초-8역병포장E 49520130438513KE1국내용typeE 49620130438613KE2이서 색소용1E 49720130438713KE3이서 색소용2			_		
E 491201304352PR선초-5역병포장E 492201304353PR선초-6역병포장E 493201304354PR선초-7역병포장E 494201304355PR선초-8역병포장E 49520130438513KE1국내용typeE 49620130438613KE2이서 색소용1E 49720130438713KE3이서 색소용2				The state of the s	
E 492201304353PR선초-6역병포장E 493201304354PR선초-7역병포장E 494201304355PR선초-8역병포장E 49520130438513KE1국내용typeE 49620130438613KE2이서 색소용1E 49720130438713KE3이서 색소용2					
E 493201304354PR선초-7역병포장E 494201304355PR선초-8역병포장E 49520130438513KE1국내용typeE 49620130438613KE2이서 색소용1E 49720130438713KE3이서 색소용2					
E 494201304355PR선초-8역병포장E 49520130438513KE1국내용typeE 49620130438613KE2이서 색소용1E 49720130438713KE3이서 색소용2					
E 49520130438513KE1국내용typeE 49620130438613KE2이서 색소용1E 49720130438713KE3이서 색소용2					
E 496     201304386     13KE2     이서 색소용1       E 497     201304387     13KE3     이서 색소용2					
E 497 201304387 13KE3 이서 색소용2					
E 498   201304388   13KE4   HOT CHILLI형					
E 499 201304389 13KE5 HOT CHILLI형				_	
E 500     201304390     13KE6     항주초형					
E 501   201304391   13KE7   국내형 F1	E 501	201304391	13KE7	국내형 F1	

No.   SN   BN   주요특성   비교				코드번호 D-05	
E 502 201304393 13KE8	No.	SN	BN	주요특성	비고
변 504 201304394 13KE10 선초 E 505 201304396 13KE11 선초 E 507 201304397 13KE13 선초 E 508 201304399 13KE14 선초 E 509 201304399 13KE15 선초 E 510 201304401 13KE16 선초 E 511 201304401 13KE17 선초 E 512 201304401 13KE17 선초 E 512 20130445 SC-25C 선초부계 E 513 20130445 SC-25C 선초부계 E 514 20130447 GUN-1-1 군부르수집 E 515 20130448 GUN-1-2 군투르수집 E 516 20130449 GUN-2 군투르수집 E 517 201304450 GUN-3 군투르수집 E 518 201304451 GUN-5 군투르수집 E 519 201304451 GUN-6 군투르수집 E 519 201304452 GUN-7 군투르수집 E 521 201304453 GUN-6 군투르수집 E 521 201304454 GUN-7 군투르수집 E 521 201304451 GUN-7 군투르수집 E 521 20130451 GUN-7 군투르수집 E 521 20130452 GUN-8 군투르수집 E 521 20130453 GUN-9 군투르수집 E 521 20130454 GUN-7 군투르수집 E 521 20130451 GUN-7 군투르수집 E 624 R2 SEEDS Gujarat720 OP E 625 R2 SEEDS VNR 5577 F2 E 626 R2 SEEDS HPH 5331 F2 E 627 R2 SEEDS HPH 5331 F2 E 629 R2 SEEDS PM 25 F2 E 631 의도공소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소	E 502	201304392	13KE8		
변 504 201304394 13KE10 선초 E 505 201304396 13KE11 선초 E 507 201304397 13KE13 선초 E 508 201304399 13KE14 선초 E 509 201304399 13KE15 선초 E 510 201304401 13KE16 선초 E 511 201304401 13KE17 선초 E 512 201304401 13KE17 선초 E 512 20130445 SC-25C 선초부계 E 513 20130445 SC-25C 선초부계 E 514 20130447 GUN-1-1 군부르수집 E 515 20130448 GUN-1-2 군투르수집 E 516 20130449 GUN-2 군투르수집 E 517 201304450 GUN-3 군투르수집 E 518 201304451 GUN-5 군투르수집 E 519 201304451 GUN-6 군투르수집 E 519 201304452 GUN-7 군투르수집 E 521 201304453 GUN-6 군투르수집 E 521 201304454 GUN-7 군투르수집 E 521 201304451 GUN-7 군투르수집 E 521 20130451 GUN-7 군투르수집 E 521 20130452 GUN-8 군투르수집 E 521 20130453 GUN-9 군투르수집 E 521 20130454 GUN-7 군투르수집 E 521 20130451 GUN-7 군투르수집 E 624 R2 SEEDS Gujarat720 OP E 625 R2 SEEDS VNR 5577 F2 E 626 R2 SEEDS HPH 5331 F2 E 627 R2 SEEDS HPH 5331 F2 E 629 R2 SEEDS PM 25 F2 E 631 의도공소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소소	E 503	201304393	13KE9	곡과선초	
E 505 201304395 13KE11 선호 E 506 201304397 13KE13 선호 E 507 201304397 13KE13 선호 E 509 201304398 13KE14 선호, 학안11호 E 509 201304400 13KE15 선호 E 510 201304401 13KE16 선호 E 511 201304401 13KE17 선호 E 512 201304402 13KE18 선호, 세파형 E 513 201304447 GUN-1-1 군투르수집 E 514 201304447 GUN-1-2 군투르수집 E 515 201304448 GUN-1-2 군투르수집 E 516 20130449 GUN-2 군투르수집 E 517 20130448 GUN-3 군투르수집 E 518 20130445 GUN-3 군투르수집 E 519 20130443 GUN-4 군투르수집 E 519 20130443 GUN-5 군투르수집 E 520 20130443 GUN-7 군투르수집 E 520 20130443 GUN-7 군투르수집 E 521 20130444 GUN-7 군투르수집 E 521 20130444 GUN-7 군투르수집 E 521 20130445 GUN-7 군투르수집 E 521 20130445 GUN-7 군투르수집 E 625 R2 SEEDS Gujarat720 OP E 625 R2 SEEDS WNR 5577 F2 E 626 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 627 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 628 R2 SEEDS HPM 57 F2 E 630 특선우가호 우각조 E 631 의도홍간호 의도홍보 의도홍보 의로홍보 의로홍보 의로홍보 의로홍보 의로홍보 의로홍보 의로홍보 의로		201304394			
E 506 201304396 13KE12 선초 E 507 201304397 13KE13 선초 E 509 201304399 13KE15 선초 E 510 201304400 13KE16 선초 E 511 201304401 13KE17 선초 E 512 201304402 13KE18 선초, 세과형 E 513 201304445 SC-25C 선초부계 E 514 201304447 GUN-1-1 군투르수집 E 515 201304448 GUN-1-2 군투르수집 E 516 201304449 GUN-2 군투르수집 E 517 201304450 GUN-3 군투르수집 E 518 201304451 GUN-4 군투르수집 E 519 201304452 GUN-5 군투르수집 E 519 201304453 GUN-6 군투르수집 E 519 201304453 GUN-7 군투르수집 E 519 201304454 GUN-7 군투르수집 E 519 201304451 GUN-7 군투르수집 E 519 201304452 GUN-7 군투르수집 E 520 201304453 GUN-6 군투르수집 E 521 201304454 GUN-7 군투르수집 E 521 201304454 GUN-7 군투르수집 E 521 201304452 GUN-7 군투르수집 E 521 201304452 GUN-7 군투르수집 E 625 R2 SEEDS Gujarat720 OP E 625 R2 SEEDS HIPH 5531 F2 E 626 R2 SEEDS HIPH 5531 F2 E 627 R2 SEEDS HOPH 5531 F2 E 628 R2 SEEDS PM 42 F2 E 631 억도용관초 억도용 E 633 전용관2 성무관초 무관초 E 634 또초 E 635 정산우관초 무관초 E 636 정통원호 파울조월 E 637 업본원용호 파울조월 E 638 후안매 자괴조주 E 639 다개조원호 파울조월 E 639 다개조원호 파울조월 E 639 다개조원호 파울조월 E 630 다개조원호 파울조이FF F 641 Bhut Jolokia 100만 SHU E 642 NH4-4 VNR303 F2, Good Heat tolerance E 644 IN14-3 매울-7 8cm, thrips'3, 착과우수 VNR303 F2, Good Heat tolerance E 646 IN14-5 OP, Teja 행 F2 E 647 IN14-6 S-16 F2					
E 507 201304397 13KE13 선초 E 508 201304398 13KE14 선초, 학량11호 E 500 201304398 13KE15 선초 E 510 201304400 13KE16 선초 E 511 201304401 13KE17 선초 E 512 201304401 13KE18 선초, 세과형 E 513 201304445 SC-25C 선초부계 E 514 201304447 GUN-1-1 군투르수집 E 516 201304448 GUN-1-2 군투르수집 E 516 201304448 GUN-2 군투르수집 E 517 201304450 GUN-3 군투르수집 E 518 201304451 GUN-4 군투르수집 E 519 201304452 GUN-5 군투르수집 E 519 201304453 GUN-6 군투르수집 E 520 201304453 GUN-7 군투르수집 E 520 201304454 GUN-7 군투르수집 E 520 201304451 GUN-7 군투르수집 E 520 201304451 GUN-7 군투르수집 E 520 201304452 GUN-7 군투르수집 E 520 201304454 GUN-7 군투르수집 E 520 201304453 GUN-7 군투르수집 E 520 201304454 GUN-7 군투르수집 E 520 201304454 GUN-7 군투르수집 E 624 R2 SEEDS Gujarat720 OP E 625 R2 SEEDS WNR 5577 F2 E 626 R2 SEEDS WNR 5577 F2 E 626 R2 SEEDS WNR 5577 F2 E 627 R2 SEEDS WNR 5577 F2 E 628 R2 SEEDS WNR 5577 F2 E 629 R2 SEEDS WORD F2 E 630 목원우각호 우각호 우각호 오픈 500 목원우각호 우각호 오픈 500 목원우각호 우각호 오픈 500 목권우각호 우각호 오픈 500 목권후 전후 주관후 무구한건강 사과주우 등 644 IN14-1 Teja 등가 하늘조OFF 모두 648 IN14-5 OP, Teja 등 648 IN14-7 HPH4884 F2					
E 508 201304398 13KE14 선초,향달11호 E 509 201304390 13KE15 선초 E 510 201304401 13KE16 선초 E 511 201304401 13KE17 선초 E 512 201304402 13KE18 선초, 세과형 E 513 201304445 SC-25C 선초부계 E 514 201304447 GUN-1-1 군투로수집 E 515 20130448 GUN-2 군투로수집 E 516 20130449 GUN-2 군투로수집 E 517 20130445 GUN-3 군투로수집 E 518 201304451 GUN-4 군투로수집 E 519 201304452 GUN-5 군투로수집 E 520 201304453 GUN-6 군투로수집 E 520 201304454 GUN-7 군투로수집 E 521 201304454 GUN-7 군투로수집 E 624 R2 SEEDS Cujara(720 OP E 625 R2 SEEDS VNR 5377 F2 E 624 R2 SEEDS WNR 5377 F2 E 628 R2 SEEDS WORD F2 E 629 R2 SEEDS WORD F2 E 630 투선우각초 우각초 E 631 역도홍각초 역도홍 역도홍 보안간초 기량왕819 포홍소 도움 도움 도움 모홍					
E 509 201304439 13KE15 선초 E 510 201304400 13KE16 선초 E 511 201304401 13KE17 선초 E 512 201304402 13KE18 선초, 세과형 E 513 201304445 SC-25C 선초부계 GUN-1-1 군투르수집 E 514 201304448 GUN-1-2 군투르수집 E 515 201304449 GUN-2 군투르수집 E 517 201304450 GUN-3 군투르수집 E 518 201304451 GUN-4 군투르수집 E 519 201304451 GUN-5 군투르수집 E 520 201304453 GUN-5 군투르수집 E 520 201304453 GUN-6 군투르수집 E 521 201304454 GUN-7 군투르수집 E 521 201304454 GUN-7 군투르수집 E 624 R2 SEEDS Gujarat720 OP E 625 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 626 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 627 R2 SEEDS Korea Unknown F2 E 628 R2 SEEDS Yellow F2 E 630 특선우각초 우각초 E 631 의도홍산후 원산후 원조 의도홍 E 631 의도홍산후 원산후 원조 의로홍산 원산후 원조 등 631 의도홍산후 원산후 원조 의로홍산 원산후 원조 등 632 임산후 원산후 원조 의로홍산 원산후 원조 등 633 개광8819 개광8819 개광8819 개광8819 개광8819 개광8819 조초 E 634 포초 포초 포초					
E 510 201304400 13KE16 선초 E 511 201304401 13KE17 선초 E 512 201304402 13KE18 선초, 세과형 E 513 201304445 SC-25C 선초부계 E 514 201304447 GUN-1-1 군투르수집 E 516 201304449 GUN-2 군투르수집 E 517 201304449 GUN-2 군투르수집 E 517 201304450 GUN-3 군투르수집 E 518 201304451 GUN-4 군투르수집 E 519 201304452 GUN-5 군투르수집 E 520 201304453 GUN-6 군투르수집 E 520 201304453 GUN-7 군투르수집 E 520 201304454 GUN-7 군투르수집 E 624 R2 SEEDS Gujarat720 OP E 625 R2 SEEDS WNR 5577 F2 E 626 R2 SEEDS WNR 5577 F2 E 627 R2 SEEDS WNR 5577 F2 E 628 R2 SEEDS WNR 5577 F2 E 629 R2 SEEDS Worea Unknown F2 E 631 의도흥간호 의도흥 E 632 남한간호 무석호 의도흥 E 633 기량8819 개량8819 E 634 포초 E 635 정선우각호 우각호 보존조 E 637 정선우각호 우각호 보안간 호 보존조 E 637 정선우각호 우각호 보존조 E 638 후탈매 자색교후 E 639 다계조천호 하늘호 용 E 640 Carolina Reaper 세계최교신미 150만SHU E 641 Bhut Jolokia 100만 SHU E 642 IN14-1 Teja ≽r 하늘호OFF E 643 IN14-2 대과종,Tall,thrips 장, 작과우수 E 644 IN14-3 대용고추 7-8cm, thrips 장, 작과우수 E 645 IN14-6 S-16 F2					
E 511 201304401 13KE17 선초 E 512 201304402 13KE18 선초, 세과형 E 513 201304445 SC-25C 선초부계 E 514 201304447 GUN-1-1 군투르수집 E 515 201304448 GUN-1-2 군투르수집 E 516 201304449 GUN-2 군투르수집 E 517 201304450 GUN-3 군투르수집 E 518 201304451 GUN-4 군투르수집 E 519 201304452 GUN-5 군투르수집 E 520 201304453 GUN-6 군투르수집 E 520 201304454 GUN-7 군투르수집 E 521 201304454 GUN-7 군투르수집 E 626 R2 SEEDS Gujarat720 OP E 625 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 626 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 627 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 628 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 630 특선우각초 우각초 E 631 의도홍간초 의도홍 E 631 의도홍간초 의도홍 E 632 남한간호 남한간호 E 633 개당8819 개당8819 포초 E 634 포초 E 635 정선우각초 우각초 E 636 청품전조 청품전조 E 637 일본천호초 남한간호 E 638 후탈매 자색고추 E 639 다개조천초 하늘초 E 639 다개조천초 하늘초 E 639 다개조천초 하늘초 E 641 Bhut Jolokia 100만 SHU E 642 IN14-1 Teja 농가 하늘호OFF E 644 IN14-3 대과조, 라마우수, 단적강 E 645 IN14-1 Teja 농가 하늘오OFF E 646 IN14-3 대과조, 다바ips장, 착과우수 E 647 IN14-6 S-16 F2					
E 512 201304402 13KE18 선초, 세과형 E 513 201304445 SC-25C 선초부계 E 514 201304445 GUN-1-1 군투르수집 E 515 201304448 GUN-1-2 군투르수집 E 516 201304449 GUN-2 군투르수집 E 517 201304450 GUN-3 군투르수집 E 518 201304451 GUN-4 군투르수집 E 519 201304452 GUN-5 군투르수집 E 519 201304453 GUN-6 군투르수집 E 521 201304454 GUN-7 군투르수집 E 521 201304454 GUN-7 군투르수집 E 521 201304454 GUN-7 군투르수집 E 624 R2 SEEDS Gujarat720 OP E 625 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 626 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 627 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 628 R2 SEEDS Yellow F2 E 630 투선우각초 우각초 E 631 역도홍간초 역도홍 E 631 역도홍간초 역도홍 E 633 개량8819 개량8819 E 634 포초 포초 E 635 정선우각초 우각초 연공 중 중 중 중 중 중 중 중 중 중 중 중 중 중 중 중 중 중					
E 513 201304445 SC-25C 선초부계 E 514 201304447 GUN-1-1 군투르수집 E 515 201304448 GUN-1-2 군투르수집 E 516 201304449 GUN-2 군투르수집 E 517 201304450 GUN-3 군투르수집 E 518 201304451 GUN-4 군투르수집 E 519 201304452 GUN-5 군투르수집 E 519 201304453 GUN-6 군투르수집 E 520 201304454 GUN-7 군투르수집 E 521 201304454 GUN-7 군투르수집 E 521 201304454 GUN-7 군투르수집 E 522 201304454 GUN-7 군투르수집 E 523 201304454 GUN-7 군투르수집 E 624 R2 SEEDS Gujarat(720 OP) E 625 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 626 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 627 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 628 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 629 R2 SEEDS PM 43 F2 E 630 특선우각초 우각초 E 631 역도홍간초 역도홍 E 631 역도홍간초 역도홍 E 632 남한간초 남한간초 E 633 개량8819 개량8819 E 634 포초 포초 E 635 청선우각초 우각초 E 636 청품전초 청품전초 청품전초 E 637 일본천홍초 하늘초형 E 638 후압에 자세고추 등 640 Carolina Reaper 세계최고신미 150만SHU E 641 Bhut Jolokia 100만 SHU E 642 IN14-1 Teja 's가' 하늘초OFF E 643 IN14-2 대화종, Tall, trips' 강, 착과우수 E 645 IN14-6 S-16 F2 IN14-7 HPH4884 F2					
E 514 201304447 GUN-1-1 군투르수집 E 515 201304448 GUN-1-2 군투르수집 E 516 201304449 GUN-2 군투르수집 E 517 201304450 GUN-3 군투르수집 E 518 201304451 GUN-4 군투르수집 E 519 201304451 GUN-5 군투르수집 E 519 201304452 GUN-5 군투르수집 E 520 201304453 GUN-6 군투르수집 E 521 201304454 GUN-7 군투르수집 E 622 R2 SEEDS Gujarat720 OP E 625 R2 SEEDS WNR 5577 F2 E 626 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 627 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 628 R2 SEEDS Korea Unknown F2 E 629 R2 SEEDS Yellow F2 E 630 특선우각호 약호호 약보호호 역보호호 약보호호 약보호호 약보호호 약보호호 약보호호				, , , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	
E 515 201304448 GUN-1-2 군투르수집 E 516 201304449 GUN-2 군투르수집 E 517 201304450 GUN-3 군투르수집 E 518 201304451 GUN-4 군투르수집 E 519 201304452 GUN-5 군투르수집 E 519 201304453 GUN-6 군투르수집 E 520 201304453 GUN-6 군투르수집 E 521 201304454 GUN-7 군투르수집 E 624 R2 SEEDS Gujarat720 OP E 625 R2 SEEDS WNR 5577 F2 E 626 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 627 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 628 R2 SEEDS PM 43 F2 E 629 R2 SEEDS PM 43 F2 E 630 투선우각조 우각조 E 631 의도홍건초 의도홍건초 의도홍 보한간초 남한간초 E 632 남한간초 남한간초 남한간초 가량8819 개량8819 개량8819 개량8819 개량8819 개량8819 문 634 포초 포초 존 635 경선우각초 우각초 영본전송조 하늘조형 등 638 후랄매 자색고추 하늘조형 다개조천초 하늘조형 E 639 다개조천초 하늘조형 E 639 다개조천초 하늘조형 E 639 다개조천초 하늘조형 E 640 Carolina Reaper 세개최고신미 150만SHU E 641 Bhut Jolokia 100만 SHU F2 대과종.Tall,thrips강,색우수,탄저강 마운고후 7-8cm, thrips강, 작과우수 E 645 IN14-2 대과종.Tall,thrips강, 작과우수 E 646 IN14-5 OP, Tcja형 E 647 IN14-6 S-16 F2					
E 516 201304449 GUN-2 군투르수집 E 517 201304450 GUN-3 군투르수집 E 518 201304451 GUN-4 군투르수집 E 519 201304452 GUN-5 군투르수집 E 519 201304453 GUN-6 군투르수집 E 520 201304453 GUN-6 군투르수집 E 521 201304454 GUN-7 군투르수집 E 624 R2 SEEDS Gujarat720 OP E 625 R2 SEEDS VNR 5577 F2 E 626 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 627 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 628 R2 SEEDS PM 25 F2 E 629 R2 SEEDS PM 25 F2 E 630 투선우각초 우각초 E 631 억도홍간초 억도홍산초 남한간초 F 631 억도홍간초 남한간초 F 633 개량819 개량819 E 634 포초 E 635 정선우각초 우각초 E 635 정선우각초 우각초 E 636 정품전초 정품전초 정품전초 E 637 일반천홍초 하늘초형 E 639 다재조천호 하늘초형 E 639 다재조천호 하늘초형 E 639 다재조천호 하늘초형 E 640 Carolina Reaper 세계최고신미 150만SHU E 641 Bhut Jolokia 100만 SHU E 642 IN14-1 Teja 농가 하늘초OFF E 644 IN14-2 대광홍.7-8cm, thrips·강, 착과우수 E 645 IN14-6 S-16 F2 E 646 IN14-5 OP, Teja형 E 647 IN14-6 S-16 F2 I HPH4884 F2					
E 517 201304450 GUN-3 군투르수집 E 518 201304451 GUN-4 군투르수집 E 519 201304452 GUN-5 군투르수집 E 520 201304453 GUN-6 군투르수집 E 521 201304454 GUN-7 군투르수집 E 624 R2 SEEDS Gujarat720 OP E 625 R2 SEEDS VNR 5577 F2 E 626 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 627 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 628 R2 SEEDS Yellow F2 E 630 부산우각호 약보호 약보호 약보호 부산호호 등 1 보호간호 등					
E 518 201304451 GUN-4 군투르수집 E 519 201304452 GUN-5 군투르수집 E 520 201304453 GUN-6 군투르수집 E 521 201304454 GUN-7 군투르수집 E 624 R2 SEEDS Gujarat720 OP E 625 R2 SEEDS VNR 5577 F2 E 626 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 627 R2 SEEDS Korea Unknown F2 E 628 R2 SEEDS PM신강 F2 E 630 투선우각조 우각조 E 631 의도홍간조 의도홍 E 631 의도홍간조 의도홍 E 632 남한간초 남한간초 남한간초 E 633 개량819 개량8819 E 634 포초 포초 E 635 정선우각초 우각초 E 636 정품진초 의본초 의도홍 E 637 일본천응초 하늘조형 E 638 흑탈매 자색고추 E 639 다체조천초 하늘초 E 639 다체조천초 하늘초 E 640 Carolina Reaper 세계최고신미 150만SHU E 641 Bhut Jolokia 100만 SHU E 642 IN14-1 Teja 농가 하늘초OFF E 643 IN14-2 대과종,Tall,thrips강, 착과우수 E 644 IN14-5 OP, Teja형 E 647 IN14-6 S-16 F2					
E 519 201304452 GUN-5 군투르수집 E 520 201304453 GUN-6 군투르수집 E 521 201304454 GUN-7 군투르수집 E 624 R2 SEEDS Gujarat720 OP E 625 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 626 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 627 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 628 R2 SEEDS PM 2 F2 E 629 R2 SEEDS PM 2 F2 E 630 투산우각호 우각호 우각호 우각호 당한 도 631 역도홍간호 역도홍 역도홍 부산우각호 부한간호 부한간호 부한간호 부한간호 부한간호 보안간호 보안간호 무각호 등 632 보안간호 우각호 영토홍 도 633 개량819 개량819 개량819 E 634 포초 포초 포초 도 635 정산우각호 우각호 우각호 등 636 정품전호 정품전호 우각호 우각호 우각호 등 637 일본원용호 하늘호형 두 639 다채조천호 하늘호형 두 639 다채조천호 아날호 하늘호형 도 639 다채조천호 아날호 아날호 당반 다채조천호 다채조선 다채조선 등 644 당반 다채조선 다채조전 다채조전 다채조전 다래조전다 다파종, Tall, thrips강, 색우수, 탄저강 반으로 644 당반 다채조선 VNR303 F2, Good Heat tolerance E 647 당 1814-4 VNR303 F2, Good Heat tolerance E 647 IN14-6 S-16 F2	E 517		GUN-3	군투르수집	
E 520 201304453 GUN-6 군투르수집 E 521 201304454 GUN-7 군투르수집 E 624 R2 SEEDS Gujarat720 OP E 625 R2 SEEDS VNR 5577 F2 E 626 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 627 R2 SEEDS Korea Unknown F2 E 628 R2 SEEDS PM신강 F2 E 629 R2 SEEDS Yellow F2 E 630 투선우각초 우각초 E 631 의도홍간초 의도홍 E 632 남한간초 남한간초 E 633 개량8819 개량8819 E 634 포초 포초 E 635 정선우각초 우각초 E 636 정품전초 경품전초 E 637 일본천웅초 하늘초형 E 638 흥탈매 자색고추 E 639 다채조천초 하늘초 E 639 다채조천초 하늘초 E 639 다채조천초 대상기관 하는 조선 대체 전비 150만SHU E 641 Bhut Jolokia 100만 SHU E 642 IN14-1 Teja 농가 하늘초OFF E 643 IN14-2 대과종,Tall,thrips강,색우수,탄저강 E 646 IN14-5 OP, Teja형 E 647 IN14-6 S-16 F2 E 648 IN14-6 S-16 F2 IN14-1 Teja 형 IN14-1 Teja 등 T- Good Heat tolerance E 647 IN14-6 S-16 F2 IN14-6 S-16 F2 IN14-6 S-16 F2 IN14-1 HPH4884 F2	E 518	201304451	GUN-4	군투르수집	
E 521 201304454 GUN-7 군투르수집 E 624 R2 SEEDS Gujarat720 OP E 625 R2 SEEDS VNR 5577 F2 E 626 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 627 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 628 R2 SEEDS PM신강 F2 E 629 R2 SEEDS Yellow F2 E 630 특선우각초 우각초 E 631 의도홍간초 의도홍 E 631 의도홍간초 남한간초 E 632 남한간초 남한간초 E 633 개량8819 개량8819 E 634 포초 포초 E 635 정선우각초 우각초 E 636 정품전초 정품전초 E 637 일본천응초 하늘초형 E 638 흑탈매 자색고추 E 639 다채조천초 하늘초 E 639 다채조천초 하늘초 E 630 대최조천초 하늘초 E 631 Bhut Jolokia 100만 SHU E 641 Bhut Jolokia 100만 SHU E 642 IN14-1 Teja 농가 하늘초OFF E 643 IN14-2 대과종,Tall,thrips강,색우수,탄저강 E 644 IN14-3 매운고추 7-8cm, thrips강, 착과우수 E 645 IN14-1 VNR303 F2, Good Heat tolerance E 646 IN14-5 OP, Teja형 E 647 IN14-6 S-16 F2 E 648 IN14-7 HPH4884 F2	E 519	201304452	GUN-5	군투르수집	
E 624 R2 SEEDS Gujarat720 OP E 625 R2 SEEDS VNR 5577 F2 E 626 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 627 R2 SEEDS Korea Unknown F2 E 628 R2 SEEDS PM신강 F2 E 629 R2 SEEDS Yellow F2 E 630 특선우각초 우각초 E 631 의도홍간초 의도홍 E 632 남한간초 남한간초 E 633 개량8819 개량8819 E 634 포초 포초 E 635 정선우각초 우각초 E 636 정품진초 정품진초 영품진초 E 637 일본천응초 하늘초형 E 638 흑탈매 자색고추 E 639 다재조천초 하늘초 E 639 다재조천초 하늘초 등 등 640 Carolina Reaper 세계최고신미 150만SHU E 641 Bhut Jolokia 100만 SHU E 642 IN14-1 Teja 농가 하늘조OFF E 643 IN14-2 대과종,Tall,thrips 강, 색우수,탄저강 E 644 IN14-3 매운고추 7-8cm, thrips 강, 착과우수 E 645 IN14-6 S-16 F2 E 647 IN14-6 S-16 F2 E 648 IN14-7	E 520	201304453	GUN-6	군투르수집	
E 624 R2 SEEDS Gujarat720 OP E 625 R2 SEEDS VNR 5577 F2 E 626 R2 SEEDS HPH 5531 F2 E 627 R2 SEEDS Korea Unknown F2 E 628 R2 SEEDS PM신강 F2 E 629 R2 SEEDS Yellow F2 E 630 특선우각초 우각초 E 631 의도홍간초 의도홍 E 632 남한간초 남한간초 E 633 개량8819 개량8819 E 634 포초 포초 E 635 정선우각초 우각초 E 636 정품진초 정품진초 영품진초 E 637 일본천응초 하늘초형 E 638 흑탈매 자색고추 E 639 다재조천초 하늘초 E 639 다재조천초 하늘초 등 등 640 Carolina Reaper 세계최고신미 150만SHU E 641 Bhut Jolokia 100만 SHU E 642 IN14-1 Teja 농가 하늘조OFF E 643 IN14-2 대과종,Tall,thrips 강, 색우수,탄저강 E 644 IN14-3 매운고추 7-8cm, thrips 강, 착과우수 E 645 IN14-6 S-16 F2 E 647 IN14-6 S-16 F2 E 648 IN14-7	E 521	201304454	GUN-7	군투르수집	
E 625					
E 626       R2 SEEDS       HPH 5531 F2         E 627       R2 SEEDS       Korea Unknown F2         E 628       R2 SEEDS       PM 27 F2         E 629       R2 SEEDS       Yellow F2         E 630       특선우각초       우각초         E 631       의도홍산초       의도홍         E 632       남한간초       남한간초         E 633       개량819       개량8819         E 634       포초       포초         E 635       정선우각초       우각초         E 636       정품전초       정품전초         E 637       일본천용초       하늘초형         E 638       흑랄매       자색고추         E 639       다채조천초       하늘초         E 640       Carolina Reaper       세계최고신미 150만SHU         E 641       Bhut Jolokia       100만 SHU         E 642       IN14-1       Teja 's가' 하늘초OFF         E 643       IN14-2       대과종,Tall,thrips 강, 색우수,탄저강         E 644       IN14-3       대우고추 7-8cm, thrips 강, 착과우수         E 645       IN14-4       VNR303 F2, Good Heat tolerance         E 646       IN14-5       OP, Teja형         E 647       IN14-6       S-16 F2         E 648       IN14-7       HPH4884 F2 <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td>					
E 627         R2 SEEDS         Korea Unknown F2           E 628         R2 SEEDS         PM신강 F2           E 629         R2 SEEDS         Yellow F2           E 630         특선우각초         우각초           E 631         의도홍간초         의도홍           E 632         남한간초         남한간초           E 633         개량8819         개량8819           E 634         포초         포초           E 635         정선우각초         우각초           E 636         정품전초         정품전초           E 637         일본천응초         하늘초형           E 638         흑랄매         자색고추           E 639         다채조천초         하늘초           E 640         Carolina Reaper         세계최고신미 150만SHU           E 641         Bhut Jolokia         100만 SHU           E 642         IN14-1         Teja '87 ' 하늘초OFF           E 643         IN14-2         대과종,Tall,thrips'장, 색우수,탄저강           E 644         IN14-3         대운고수 7-8cm, thrips'장, 착과우수           E 645         IN14-4         VNR303 F2, Good Heat tolerance           E 646         IN14-5         OP, Teja '8           E 647         IN14-6         S-16 F2           E 648         IN14-7 <td< td=""><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></td<>					
E 629       R2 SEEDS       Yellow F2         E 630       특선우각초       우각초         E 631       의도홍간초       의도홍         E 632       남한간초       남한간초         E 633       개량8819       개량8819         E 634       포초       포초         E 635       정선우각초       우각초         E 636       정품전초       정품전초         E 637       일본천응초       하늘초형         E 638       흑랄매       자색고추         E 639       다채조천초       하늘초         E 640       Carolina Reaper       세계최고신미 150만SHU         E 641       Bhut Jolokia       100만 SHU         E 642       IN14-1       Teja 'S가' 하늘초OFF         E 643       IN14-2       대과종,Tall,thrips'장,색우수,탄저장         E 644       IN14-3       대운고추 7-8cm, thrips'장, 착과우수         E 645       IN14-4       VNR303 F2, Good Heat tolerance         E 646       IN14-5       OP, Teja형         E 647       IN14-6       S-16 F2         E 648       IN14-7       HPH4884 F2			R2 SEEDS	Korea Unknown F2	
E 630       특선우각초       우각초         E 631       익도홍간초       익도홍         E 632       남한간초       남한간초         E 633       개량8819       개량8819         E 634       포초       포초         E 635       정선우각초       우각초         E 636       정품전초       정품전초         E 637       일본천용초       하늘초형         E 638       흑랄매       자색고추         E 639       다채조천초       하늘초         E 640       Carolina Reaper       세계최고신미 150만SHU         E 641       Bhut Jolokia       100만 SHU         E 642       IN14-1       Teja 농가 하늘초OFF         E 643       IN14-2       대과종,Tall,thrips 강, 색우수,탄저강         E 644       IN14-3       대윤고추 7-8cm, thrips 강, 착과우수         E 645       IN14-4       VNR303 F2, Good Heat tolerance         E 646       IN14-5       OP, Teja형         E 647       IN14-6       S-16 F2         E 648       IN14-7       HPH4884 F2	E 628		R2 SEEDS	PM신강 F2	
E 631       의도홍간초       의도홍         E 632       남한간초       남한간초         E 633       개량8819       개량8819         E 634       포초       포초         E 635       정선우각초       우각초         E 636       정품전초       정품전초         E 637       일본천응초       하늘초형         E 638       흑랄매       자색고추         E 639       다채조천초       하늘초         E 640       Carolina Reaper       세계최고신미 150만SHU         E 641       Bhut Jolokia       100만 SHU         E 642       IN14-1       Teja 농가 하늘초OFF         E 643       IN14-2       대과종,Tall,thrips강,색우수,탄저강         E 644       IN14-3       대운고추 7-8cm, thrips강, 착과우수         E 645       IN14-4       VNR303 F2, Good Heat tolerance         E 646       IN14-5       OP, Teja형         E 647       IN14-6       S-16 F2         E 648       IN14-7       HPH4884 F2	E 629		R2 SEEDS	Yellow F2	
E 632       남한간초       남한간초         E 633       개량8819       개량8819         E 634       포초       포초         E 635       정선우각초       우각초         E 636       정품전초       정품전초         E 637       일본천응초       하늘초형         E 638       흑랄메       자색고추         E 639       다채조천초       하늘초         E 640       Carolina Reaper       세계최고신미 150만SHU         E 641       Bhut Jolokia       100만 SHU         E 642       IN14-1       Teja 농가 하늘초OFF         E 643       IN14-2       대과종,Tall,thrips강,색우수,탄저강         E 644       IN14-3       대운고추 7-8cm, thrips강, 착과우수         E 645       IN14-4       VNR303 F2, Good Heat tolerance         E 646       IN14-5       OP, Teja형         E 647       IN14-6       S-16 F2         E 648       IN14-7       HPH4884 F2	E 630		특선우각초	우각초	
E 633       개량8819       개량8819         E 634       포초       포초         E 635       정선우각초       우각초         E 636       정품전초       정품전초         E 637       일본천응초       하늘초형         E 638       흑랄매       자색고추         E 639       다채조천초       하늘초         E 640       Carolina Reaper       세계최고신미 150만SHU         E 641       Bhut Jolokia       100만 SHU         E 642       IN14-1       Teja 농가 하늘초OFF         E 643       IN14-2       대과종,Tall,thrips강,색우수,탄저강         E 644       IN14-3       대운고추 7-8cm, thrips강, 착과우수         E 645       IN14-4       VNR303 F2, Good Heat tolerance         E 646       IN14-5       OP, Teja형         E 647       IN14-6       S-16 F2         E 648       IN14-7       HPH4884 F2	E 631		익도홍간초	익도홍	
E 634       포초       포초         E 635       정선우각초       우각초         E 636       정품전초       정품전초         E 637       일본천응초       하늘초형         E 638       흑랄매       자색고추         E 639       다채조천초       하늘초         E 640       Carolina Reaper       세계최고신미 150만SHU         E 641       Bhut Jolokia       100만 SHU         E 642       IN14-1       Teja 농가 하늘초OFF         E 643       IN14-2       대과종,Tall,thrips장,색우수,탄저장         E 644       IN14-3       대운고추 7-8cm, thrips장, 착과우수         E 645       IN14-4       VNR303 F2, Good Heat tolerance         E 646       IN14-5       OP, Teja형         E 647       IN14-6       S-16 F2         E 648       IN14-7       HPH4884 F2			남한간초	남한간초	
E 635       정선우각초       우각초         E 636       정품전초       정품전초         E 637       일본천응초       하늘초형         E 638       흑랄매       자색고추         E 639       다채조천초       하늘초         E 640       Carolina Reaper       세계최고신미 150만SHU         E 641       Bhut Jolokia       100만 SHU         E 642       IN14-1       Teja 농가 하늘초OFF         E 643       IN14-2       대과종,Tall,thrips강,색우수,탄저강         E 644       IN14-3       때운고추 7-8cm, thrips강, 착과우수         E 645       IN14-4       VNR303 F2, Good Heat tolerance         E 646       IN14-5       OP, Teja형         E 647       IN14-6       S-16 F2         E 648       IN14-7       HPH4884 F2			개량8819		
E 636정품전초정품전초E 637일본천응초하늘초형E 638흑랄매자색고추E 639다채조천초하늘초E 640Carolina Reaper세계최고신미 150만SHUE 641Bhut Jolokia100만 SHUE 642IN14-1Teja 농가 하늘초OFFE 643IN14-2대과종,Tall,thrips강,색우수,탄저강E 644IN14-3매운고추 7-8cm, thrips강, 착과우수E 645IN14-4VNR303 F2, Good Heat toleranceE 646IN14-5OP, Teja형E 647IN14-6S-16 F2E 648IN14-7HPH4884 F2	E 634		포초	포초	
E 637일본천응초하늘초형E 638흑랄매자색고추E 639다채조천초하늘초E 640Carolina Reaper세계최고신미 150만SHUE 641Bhut Jolokia100만 SHUE 642IN14-1Teja 농가 하늘초OFFE 643IN14-2대과종,Tall,thrips강,색우수,탄저강E 644IN14-3대운고추 7-8cm, thrips강, 착과우수E 645IN14-4VNR303 F2, Good Heat toleranceE 646IN14-5OP, Teja형E 647IN14-6S-16 F2E 648IN14-7HPH4884 F2					
E 638       흑랄매       자색고추         E 639       다채조천초       하늘초         E 640       Carolina Reaper       세계최고신미 150만SHU         E 641       Bhut Jolokia       100만 SHU         E 642       IN14-1       Teja 농가 하늘초OFF         E 643       IN14-2       대과종,Tall,thrips 강,색우수,탄저강         E 644       IN14-3       대운고추 7-8cm, thrips 강, 착과우수         E 645       IN14-4       VNR303 F2, Good Heat tolerance         E 646       IN14-5       OP, Teja형         E 647       IN14-6       S-16 F2         E 648       IN14-7       HPH4884 F2					
E 639다채조천초하늘초E 640Carolina Reaper세계최고신미 150만SHUE 641Bhut Jolokia100만 SHUE 642IN14-1Teja 농가 하늘초OFFE 643IN14-2대과종,Tall,thrips강,색우수,탄저강E 644IN14-3매운고추 7-8cm, thrips강, 착과우수E 645IN14-4VNR303 F2, Good Heat toleranceE 646IN14-5OP, Teja형E 647IN14-6S-16 F2E 648IN14-7HPH4884 F2					
E 640       Carolina Reaper       세계최고신미 150만SHU         E 641       Bhut Jolokia       100만 SHU         E 642       IN14-1       Teja 농가 하늘초OFF         E 643       IN14-2       대과종,Tall,thrips 강,색우수,탄저강         E 644       IN14-3       매운고추 7-8cm, thrips 강, 착과우수         E 645       IN14-4       VNR303 F2, Good Heat tolerance         E 646       IN14-5       OP, Teja형         E 647       IN14-6       S-16 F2         E 648       IN14-7       HPH4884 F2					
E 641       Bhut Jolokia       100만 SHU         E 642       IN14-1       Teja 농가 하늘초OFF         E 643       IN14-2       대과종,Tall,thrips강,색우수,탄저강         E 644       IN14-3       매운고추 7-8cm, thrips강, 착과우수         E 645       IN14-4       VNR303 F2, Good Heat tolerance         E 646       IN14-5       OP, Teja형         E 647       IN14-6       S-16 F2         E 648       IN14-7       HPH4884 F2				· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	
E 642       IN14-1       Teja 농가 하늘초OFF         E 643       IN14-2       대과종,Tall,thrips강,색우수,탄저강         E 644       IN14-3       대운고추 7-8cm, thrips강, 착과우수         E 645       IN14-4       VNR303 F2, Good Heat tolerance         E 646       IN14-5       OP, Teja형         E 647       IN14-6       S-16 F2         E 648       IN14-7       HPH4884 F2			_		
E 643       IN14-2       대과종,Tall,thrips강,색우수,탄저강         E 644       IN14-3       매운고추 7-8cm, thrips강, 착과우수         E 645       IN14-4       VNR303 F2, Good Heat tolerance         E 646       IN14-5       OP, Teja형         E 647       IN14-6       S-16 F2         E 648       IN14-7       HPH4884 F2			·		
E 644       IN14-3       매운고추 7-8cm, thrips강, 착과우수         E 645       IN14-4       VNR303 F2, Good Heat tolerance         E 646       IN14-5       OP, Teja형         E 647       IN14-6       S-16 F2         E 648       IN14-7       HPH4884 F2					
E 645       IN14-4       VNR303 F2, Good Heat tolerance         E 646       IN14-5       OP, Teja형         E 647       IN14-6       S-16 F2         E 648       IN14-7       HPH4884 F2					
E 646       IN14-5       OP, Teja형         E 647       IN14-6       S-16 F2         E 648       IN14-7       HPH4884 F2					
E 647 IN14-6 S-16 F2 E 648 IN14-7 HPH4884 F2				· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	
E 648 IN14-7 HPH4884 F2					
F, D49					
2 0 10 Tongton 10	上 649		IN14-8	rengieu ra	

## 2절. 고신미 고색소 복합 내병성 재료육성

인도의 건고추 재배관행은 수확 후 건조과정에서 논에다 그냥 펴서 말림으로써 야간 결로 현상이나 강우 등으로 탄저병과 희아리 발생으로 손실이 30%에 이를 정도로 많은 피해를 발생시킨다. 따라서 건과용 품종은 색소함량이 높고 과피가 얇아 건조가 빨리되는 품종이어야 한다. 과피가 두꺼우면 건조에 많은 시간이 소요되고 그 과정에서 탄저병에 이병되거나희아리 발생이 많아진다. 그래서 본 과제에서는 신미가 높고 색소함량이 높으며 건조가 잘되는 품종 육성을 위하여 고신미 복합 내병성 계통과 고색소 내병성 계통의 육성을 목표로신미계통인 하늘초와 바이러스 내병성 계통간의 분리 후대에서 고신미 바이러스 내병성 계통을 육성하고, 고색소 계통인 중국 철판초와 역병, CMV 복합 내병계인 DK-4간의 교배 분리후대에서 역병, CMV내병성인 개체를 선발하여 색소계를 Backcross하여 복합내병계 고색소 6 계통을 선발하였다. 또한 고색소 품종으로 인도에서 재배되고 있는 D. Delux(사진22참조)의 분리 후대에서 색소함량이 높은 계통을 선발 중이다. 고신미 품종인 NITYA DEVI, VNR-277, F-741등의 분리 후대에 대하여 필리핀에서 세대촉진 시킨 후 특성조사결과 초세가 강하고 내서성이 강한 것으로 나타나 개체선발 및 세대진전을 통하여 형질을 고정시키고인도 수출용 조합을 작성하여 2016년도에 조합능력 검정에 공시하였다



[사진22] 색소함량이 높은 Devnur Delux,(Nunhems) 색소함량이 ASTA 200이상의 고색소 품종의 육성이 필요함.

또한 CMV내병성 계통인 MSA13B와 색소계 B-line간의 교배 분리후대에서 CMV포장저항성이 강한 계통을 선발하여 현재 MS계통 육성을 위한 backcross BC3F1세대가 포장저항성검정을 병행하여 진행되고 있는데 이 계통의 육성이 완료되면 색소계 품종의 개발이 본격적으로 진행될 것으로 기대된다.

### 3절. 분자마커를 활용한 복합내병성 계통육성

본 과제는 품종개발 3개 세부프로젝트와 분자마커지원, 병리지원 각각 1개 세부프로젝트로 구성되어 있어 전통육종 뿐만아니라 분자마커를 이용한 선발(MAS)이 가능하도록 연구팀이 짜여져 있다. 고추에서 실용적으로 사용되는 분자마커는 CMV, TMV-p3, 역병, 신미, *BS2*, GMS, Rf, 흰가루병 등이 있으며 최근 탄저병 저항성 마커도 개발되어있다.

본 연구에서는 CMV, 역병, 세반병 등과 관련된 분자마커검정은 제4세부프로젝트 연구팀의 지원을 받아 수행하였는데, 인도 지역에서 피해가 심한 CMV 내병성과 관련된 분자마커와 역병, BS2등의 마커를 이용하여 선발을 실시하였다. CMV의 경우 CMV-c0는 마커를 활용한 선발이유효하지만 CMV-c1은 아직 유효한 마커가 개발되지 않았기 때문에 포장저항성으로 선발하였다.

[표6]분자마커 검정

			마 커 종 휴	7			계
구분	CMV	BS2	탄저	역병		TMV	741
1차년도	1531	199		542		674	1,731
2차년도	914	11		327		196	1,448
3차년도	340	342	256	542		342	1,822
4차년도	828	12		960			844
5차년도	620	_		680		_	1,300
계	4,233	564	256	3,051	0	1,212	7,145

분자마커를 이용한 MAS는 시간과 비용을 절감하는 경제적이고 효율적인 육종방법으로 생각되지만 마커의 정확성에 대한 신뢰의 문제가 항상 존재하므로 실제 생물검정이나 포장저항성을 확인할 필요가 있다.

# 4절. 탄저병 내병성 재료육성

고추 탄저병 저항성은 Capsicum baccatum 에 저항성 유전자가 있는 것으로 알려져 있지만 저항성을 Capsicum annuum으로 도입하기위한 교배가 되지 않아 교배 후 미숙배 배양을 통하여 F1식물체를 얻을 수 있는 것으로 알려져 있다. 그러나 당사의 연구에 의하면 PI594137 (C. bacctum)과 교배가 되는 C. annuum 계통을 찾아냈으며 이 조합의 BC<sub>1</sub>F<sub>4</sub> 계통인 T-17을 PBC-81에 제웅교배하여 F1종자를 획득하는데 성공하였다. AVRDC에서 탄저병 저항성 계통으로 육성한 PBC-81 은 C. annuum과 교배가 되지 않지만 같은 PI594137(C. baccatum)을 브릿지로 활용한 방법으로 교배에 성공한 것이다. 이 F1조합은 화분의 흔적은 있지만 자식임성이없어 불임이었다.(사진 63, 64 참조) 이 F1에 다양한 type의 C. annuum 계통들을 교배하여 종자를 확보해서 2013년도 동절기에 필리핀 세대촉진 농장에서 BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> 및 T50-5, T51-5 (BC<sub>1</sub>F<sub>5</sub>)후대세대 진전을 실시하였다.사진 T50-5와 T51-5는 PI594137에서 탄저병 저항성을 도입한 계통으로서 2013년도 포장에서 높은수준의 저항성을 확인하였으며 (주)고추와 육종에 탄저병 분자마커 검정을 의뢰한 결과 탄저병 저항성 분자마커를 가진 것으로 조사되었다. 올해는 T50-5 및 T51-5를 활용하여 다양한 계통에 Backcross를 실시할 예정이며 특히 인도에서 문제가되는 C. capsici 에 대해서도 내병성 검정을 실시하여 저항성 계통을 육성할 예정이다.



[사진66] PBC-81 x T-17



[사진 67] F1식물체에 *C. annuum*을 교배하여 과실을 착과시킨 후 탄저병 이병 여부를 조사



[사진68]PI594137(좌), 일반이병성계통(우)

[사진69]PBC81 x T17(F1)저항성 (2013.9.24촬영)



[사진70]탄저병저항성T50-5

[사진71] 탄저병 저항성계통 T51-5 (2013.9.17일 촬영)

## 5절 인도수출용 F<sub>1</sub> 품종육성

#### 1. 성능검정용 F<sub>1</sub> 조합작성

Virus 내병계 웅성불임계통인 MS13A, MS205A, T99A, RP404A 등 4계통과 인도 수집종으로 새로이 육성한 웅성불임계통 MS-Gun334와 신미계 건고추 조합작성을 위하여 ROCA, 그리고 대과계 풋고추 육성을 위하여 SYLA등 우각계 웅성불임계통을 모계로 이용하였다.

화분친으로는 INDAM-5 분리계와 염홍 분리계 등 남방계 Rf친들을 이용하여 매년 500여 조합을 작성하여 차년도 조합능력 검정에 공시하였다.

[표 1] 교배조합 작성에 사용된 계통 내역

구	. 분	계통유지	및 조합 수	비 고
		남방계 A-line	70	
	A-line	중국계 A-line	6	
		고신미계	4	
		남방계 B-line	84	
공시재료	공시재료 B-line	중국계 B-line	6	
		고신미계	4	
		남방계 C-line	380	
	C-line	중국계 C-line	32	
		고신미계 C-line	8	
E1 ス하	작성내역	남방계조합	1,542	매년 500여 조합작성
11五月	~ ~ ~ 네 ㅋ	풋고추용대과조합	1,250	메인 500억 조엽걱정
	계		3,386	

### 2. 수출용 F<sub>1</sub> 조합성능검정(국내시험)

#### 가. 재료 및 방법

○ 공시재료

Indam-5, Tejsswini 등을 대비품종으로 매년 300~500 조합 및 대비종

○ 72구 tray에 시판 상토를 채워 직파 육묘하여 평택소재 당사 연구소 포장에서 매년 2월 10일경 파종, 5월 상순 5주씩 2반복으로 재식거리 100cm x 35cm의 외줄로 정식하여 통상 재배 관행에 준하여 재배하면서 조합 특성조사를 실시 하였다. 시비는 기비로 완효성 고추전용 복합비료를 사용하였으며 별도 추비는 실시하지 않고 살충제 및 살균제 약제 방제시 칼슘비료를 같이 혼용 살포함.

#### 나. 주요결과 (1차년도부터 5차년도까지 총괄)

#### (1) 풋고추용 조합선발



[사진 23]2012년 F-2566조합의 착과모습

[사진24]2013년도 인도시교사업(F-2566)

인도의 풋고추는 재래종인 Pusa Jwala형이 많이 재배되는데 근래에는 이 재래종을 개량하여 청과색이 light green이고 과면 요철이 적고 광택이 우수하면서 40℃가 넘는 고온에서도 잘 견디는 내서성이 강한 신미계 품종을 선호하는데 과실크기는 13-15cm x 0.8~1.2 cm의 세장과형부터 15-18cm x 1.5-2.0의 대과종 까지 다양한 품종이 재배되고 있다. 또한 US-341과 같이 청과색이 light green이면서 건과의 색소 함량이 높아서 풋고추 및 건고추 겸용품종도 많이 재배 되고 있다.

본 연구의 1년차 시험에서 청과색이 담록으로 과형이 세장과인 U-66 를 풋고추 예비 조합으로 선발하여 2차년도에 인도에서 재배시험을 실시한 결과 U-66은 과장이 13-14cm, 과경 1.2cm 내외의 세장형으로 착과력이 좋고 풋고추의 색깔이 light green으로 수량성도 양호하였다. 3차 년도에도 시교사업을 실시한 결과 초기 생육은 다소 부족하나 후기 착과력이 좋은 것으로 선발되었다. 따라서 이 조합은 지속적으로 품종화를 위하여 재료를 개량할 필요가 있어 아계 조합군 중에서 바이러스 내병성이 우수하고 수량성이 좋으며 초기부터 생육이 양호한 F-2566을 선발하였는데 이 조합은 과장 15~16cm, 과경 1cm내외의 세장과형 조합으로 청과색이 light green으로 좋으며 과면 광택이 좋고 바이러스에도 강한 특성을 보였으며 2012년도 하반기 인도 Kadapa 지역에서 실시된 지역 적응성 시험에서도 성능이 우수한 것으로 조사되어 풋고추 품종으로 최종 선발하고 < ECO1208>이라고 품종코드를 부여하였다. 이 조합은 2013년에도 인도에서 재배시험을 실시한 결과 청과의 품질이 우수하고 신미가 적당하고 향이 좋은 것으로 평가 받았으며 2014년도부터 2016년까지 거래처로부터 총 300kg 주문이 있어 소정의 로열티를 받고 해당량의 원종을 수출하였으며 또 다른 거래처의 요청으로 2016년도에 인도 및 태국에서 300kg 채종이 진행 중이다.



[사진25]ECO1208착과사진 및 과실사진

2차년도 국내 조합검정에서 풋고추용으로는 F-2516, F-2533, F-2534, F-2535, F-2537등을 선발하였는데 이중 F-2516은 과장 14-16cm, 과경 1cm내외의 청과색이 짙은편으로 초세가 강하고 내서성이 좋아서 선발하였는데 3차년도에 인도 현지에 재배시험 결과 초기 착과력 및 수량성은 우수하였으나 후기 초세가 떨어지는 문제가 있어 선발되지 못하였다. 같은 모계에 서로 아계 계통의 부계로 만들어진 조합인 F-2533, F-2534, F-2535 등은 과장이 16-18cm의 다소 짧은 세장 과형 조합으로 중국 선초시장에서 2014~2015년도에 시교사업 결과 F-2533이 향과 신미도 등이 중국에서 가공용으로 적합한 것으로 평가되어 2015년도에 확대 시교사업이 진행되었는데 바이러스에 강하고 절간이 짧으며 착과력이 우수한 것으로 평가되어서 중국 선초시장에 보급할 예정이며 인도에서도 시험결과 숙기가 빠르고 건과의 품질도 양호하여 풋고추 건고추 겸용 극조생계 품종으로 진입가능성을 타진 중이다.(아래 사진26, D88참조)





[사진26]F-2533, 건과(F-4289=F2533)

2013년도 국내 재배시험에서는 신규로 F-3672, F-3674, F-3684 등이 선발되었다. 이 조합들은 바이러스에 매우 강하고 착과력이 우수하며 청과색이 light green으로 인도의 풋고추 기호에 적합하여 선발하였다. 여러 면에서 우수한 특성을 보였으며 과장이 다소짧은 점이 아쉽기는 하였으나 인도 현지 재배시험을 통하여 현지 적응성 및 현지 반응을

보고자 시험을 실시한 결과 현지에서도 그 성능이 양호하였다. 특히 숙기가 빠른 품종임에도 불구하고 생육 후반기까지 바이러스 피해는 없었으며 과실에 대한 건조시험 결과건고추로서의 가능성도 있는 것으로 평가되었다. 이 조합들은 2014년에 소량 시교 종자를생산하여 2015년 현재 인도현지 농가 확대시험을 실시한 결과 F3674가 과 품질 및 수랼성, 내병성 등에서 우수하여 최종 선발하였으며 현재 인도, 파키스탄에서 시교사업 중이다. (사진27, 사진27 참조)





[사진27] F-3672(2013)

[사진28] F-3674(2016-D-52)

\*재식번호앞의 3은 2013년을 의미함.(F-3672는 2013년도 F-672를 의미함)

2014년도에 국내에서 실시된 조합 성능검정에서 ECO1208보다 착과력이 더 우수하고 초세가 강하며 내병성이 우수한 조합으로 F-4335, F-4337, F-4338등이 선발 되었으며 또한 대과계 풋고추 조합으로 중국계 우각초와 남방계 재료간의 조합인 F-4392이 선발 되었으며 이들 조합은 인도 현지 거래처를 통한 적응성 시험을 실시한 결과 품종화 가능성이 있다는 평가를 받아 이 중에 F-4337과 F-4392는 2015년도에 각각 100kg, 50kg씩 로열티베이스로 원종을 수출하였으며 2016년도에도 F-4337을 100KG, F-4392 25KG을 수출하였다. (사진29, 사진30, 표2 참조)



[사진29] F-4337

[사진30] F-4392

그리고 과 크기가 12-14cm로 ECO1208보다 과가 작고 착과성이 좋은 ECO205도 선발하여 현지 적응성 시험을 실시하였는데 지역에 따라 호불호 편차가 있었으나 선발하여 계속 지역 적응성 시험을 실시하고 있다. (사진31참조)



[사진31] 풋고추 선발품종 비교사진 및 ECO205착과사진(2016-D58)

### [표2]풋고추용 선발조합 주요특성표

조합번호	과크기(cm)		청 - 과	바이	신미	내 서	숙기	비고
	과장	과경	색	러스	도	성	7/1	11 22
ECO1208	15-17	1.0	LG	4	강	4	중조	풋고추용, 인도 전지역
F-4337	15-17	1.0	LG	4	강	4	중조	"
ECO205	12-14	0.8	LG	4	강	3	중조	ш
F-4289	18-20	1.2	G	4	강	3.5	조	겸용, 절간짧고 집중착과우수
F-3674	12-14	1.5-1.8	LG	4	중	3	극조	극조생, 과품질우수
Ujala	13-15	0.8	LG	4	강	4	중	Nunhems

#### [신규선발조합]

5차년도에는 다양한 풋고추용 신규재료들을 이용한 조합들이 국내 조합능력검정에 공시되었는데 기존 경쟁품종들에 비하여 숙기가 빠르고 바이러스 내병성이 우수하며 수량성과 상품성이 우수한 조합들이 예비로 선발 되었다.

F-6592는 대과계 풋고추 예비조합으로 선발되었는데 과장 17-18cm, 과경 1.8-2.0cm로 숙기가 빠르고 착과력이 우수하였으며 매운맛과 향이 우수하고 바이러스에도 비교적 강한 특성을 보였다.(사진32참조) F-6790은 과장 16-18 cm, 과경 1.5-1.8cm의 light green 계로 숙기가 빠르고 착과력이 우수하며 바이러스에도 강한 특성을 보였다. (사진33 참조)



[사진32] F-6592

[사진33] F-6790

F-6775는 과장이 18-20cm, 과경 1.5cm 내외의 세장과형 풋고추로서 역시 청과색이 light

green이고 조생으로 착과력이 우수한 조합으로 선발하였으며(사진34참조), F-6845는 청과색이 약간 진한 녹색을 띠고 과장 13-15cm, 과경 0.8-1.0cm의 세장과형으로 매운맛이 강하고 청고병 내병계 재료가 사용된 조합으로 청고병 내병성이 기대되는 조합으로 선발하였다.(사진35 참조)



[사진34] F-6775

[사진35] F-6845

이상의 신규조합들은 현재 인도에서 현지 적응성 시험이 진행 되고 있는데 인도 북서부에서 중남부에 이르기까지 기호성에 적합할 것으로 생각된다.

### (2) 건고추용 조합선발(국내시험).



인도 건고추는 내서성과 가뭄 등 불량환경에 대한 적응력이 좋은 품종들이 재배 되고있다. CMV에 대한 내병성은 필수적으로 갖추어야 되고 온실가루이나 담배가루이에 의한 LCV(Leaf Curl Virus)에 대한 저항성이 요구되며 아울러 저온 건조에서 많이발생하는 흰가루병에 대한 저항성과 과피가 얇아서건조가 잘되는 품종에 대한 선호도가 높다.(사진36참조)

[사진36]인도 건고추 재배/건조/유통

인도에서 건고추용으로 재배되는 품종은 Teja Swini(Mahyco), Indam-5 (Indo-America), BSS-273(Bejo sheetal), US-341(US Agri)등이 많이 재배되고 있는데 US-341은 근래 착과불량 및 순도 불량으로 클레임이 제기되어 문제가 되고 있기도 하다.

본 연구에서는 그동안 CMV에 강한 내병성을 지닌 남방계 웅성불임계통인 MS13A와 S-NS101, MSGun334등을 활용해서 본격적으로 조합을 작성하여 공시하였다.

국내에서 진행되는 시험에서는 과형질과 바이러스에 대한 내병성, 숙기 등 주요 형질들에 대한 성능을 조사하고, 선발된 조합에 대해서는 인도 현지에서 적응력 등을 조사하는 방법으로 연구를 진행하였다.

2012년도 국내에서 진행된 조합성능검정에서 건고추용 예비조합으로는 F-2741, F-2751,

F-2752, F-2753, F-2754등이 선발되었는데 이들은 모두 MS13A를 모계로 이용된 조합이었다. MS13A는 인도에서 수집된 유전자원을 웅성불임계통으로 육성한 계통인데 바이러스 내병성이 탁월하고 청고병에 강하며 내서성이 우수한 계통으로서 유용하게 쓰이고 있다.

F-2741은 신미도가 높은 Suharita542를 부계로 사용한 조합으로 캡사이신 함량이 362mg/100g으로서 매운맛이 아주 강하며 건과품질도 우수한 G4형 건고추 조합으로 선발하였다. 2013년도에 이 조합을 국내에서 재시험(F-3870) 및 인도에서 적응성 시험을 실시한 결과바이러스에 강하며 매운맛이 강하고 향이 우수하며 수량성이 좋은 것으로 평가되었다. 이 조합은 2013년도 하반기에 태국에서 시교종자를 생산하였으며 2014년도에 거래처를 통하여 농가확대시험을 실시하였다.(사진37, 38참조) 이 조합은 ECO-870으로 국내에 품종보호등록을 완료하였으며 현재 인도에서 풋고추 및 건고추 겸용품종으로 시교사업이 진행 중이다.



[사진37] F-3870

[사진38]건고추용 선발조합 비교사진

F-2751은 MS13A를 모계, 부계로는 Indam-5분리계통인 ID-53을 사용하여 작성된 조합으로서 착과력이 좋고 초형이 bush형으로 우수하며 절간이 짧고 건과품질이 우수한 조합으로서 2011년에 이어 2012년에도 선발되었다. 그런데 이 조합을 인도에 적응성 시험을 실시한 결과 바이러스에 대한 내병성이 우수하고 착과력과 건과품질은 우수하였으나 매운 맛이 다소 부족한 문제점이 있는 것으로 평가되었다. 따라서 매운맛을 보완하고자 대체조합으로 F-3871을 선발하였는데 이 조합은 인도 현지 적응성 시험에서 매운맛도 중상으로 평가되었으며 착과력이 매우 좋아 수량성이 높고 바이러스 내병성이 강하며 뿌리가 튼튼하여 초세가 강한 것으로 평가되었다. 따라서 이 조합을 ECO-871로 품종 code를 부여하고 2014년도에 인도 현지에서 시험채종을 실시하여 초기 시장 진입을 위한 충분한 종자를 확보하였으며 2015년 ~ 2016년도에 거래처를 통하여 인도 각 지역에서 시장 진입을 위한 마케팅을 실시하였다. 그 결과 건고추 재배지역에서 작황이 큰 편차없이 양호한 결과를 보였다. 또한 2015년도 시험채종한 종자는 38kg 전량 판매하였으며 2016년도에 인도 및 태국에서 100kg이 채종 중임.(사진39참조)



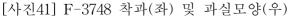


[사진39] F-3871착과사진

[사진40] F-3474(=F-3803)

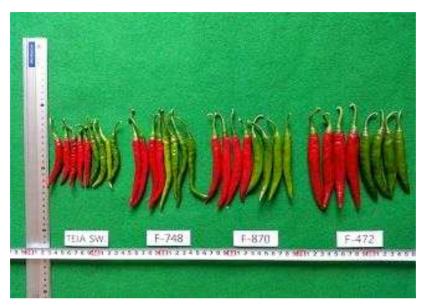
F-2753(=3474)은 MS13A에 역병내병계통을 교배한 조합으로 역병과 바이러스에 복합내병성을 가진 품종으로 선발하였다. 절간이 비교적 짧고 착과력이 우수하며 과실 건조가 잘되고 건과의색택이 진하여 색소 함량이 높을것으로 생각되어 선발하였다. 2012년도 8월~2013년도 2월 까지인도 군투르지역에서 실시된 인도현지 적응성 시험에서도 바이러스에 강하고 과실 크기도Inda-5보다 약간 크며 건과품질이 우수하다는 평가를 받았다. 이 조합은 2013년도에 F3474로 재식되어 재검 결과 매운맛이 떨어지는 단점은 있으나 건과품질이 우수하고 내병성이 강한 조합으로 다시 선발되었으며 인도 거래처에 시교사업 결과 그 성능이 양호하여 2014년도에 50kg 주문이 있어 소정의 로열티를 받고  $F_1$  생산용 원종을 수출하였다.(사진40)







그밖에 Jawala type의 F-3748은 Teja swini보다 과장이 3 cm 정도 더길어 과장 10-12cm이고 과경 0.8cm 내외의 세장과형으로 착과력이 우수하고 신미도는 Tejaswini 보다는 떨어지지만 INDAM-5와 유사하였다. 또한 색소함량도 ASTA 132로서 D.Delux의 140과 유사하고 매운 맛은 더 높아서 D. Delux형의 고색소, 고신미 품종으로 가능성이 있을 것으로 사료되어 지속적으로 인도 현지 적응성 시험을 실시할 예정이며 시교용 종자를 소량 생산하여 인도에서 확대시험을 실시할 예정이다.(사진41, 42 참조)



[사진42] 선발조합 과실 비교사진

그리고 세장과형 건고추 및 풋고추 겸용조합으로 F-3519가 선발되었는데 이 조합은 바이러스 내병성이 강하고 숙기는 중생종으로 착과력이 우수하였다. 그러나 재고 종자가 없어 이 조합은 2014년도에 시교종자를 생산하여 2015년도에 국내 조합성능검정에서 재 검정을 실시하였는데 2015년에도 숙기가 비교적 빠르며 바이러스에대하여 포장저항성이 강하고 착과력이 좋으며 신미도도 양호한 편으로 풋고추 및 건고추 겸용품종으로 가능성이 있을 것으로 예상되나 임성이 아직 고정되지 않은 문제점이 있어 지속적으로 임성고정 작업을 진행하여 임성이 안정되면 본격적인 해외 시교사업을 추진할 계획이다.



[사진43] F3519 2013년도 착과모습



[사진44] F-3519 2016년도 착과모습

2014년도 국내 조합성능검정에서는 신미가 강하고 바이러스에 강하며 착과력이 우수한 건고 추 조합으로 F4286, F4307, F4310, F4320, F4322, F4324, F4506, F4512 등이 선발되었다. 이들 조합은 건고추용으로 건조가 잘되며 착과력이 좋고 바이러스에 대한 포장 저항성이 우수하여 후기까지 초세유지가 잘되는 특성을 보였다. 이들 중 F4286, F4307, F4310 은 INDAM-5(ID-5) 형과 Teja Swini의 중간형의 조합으로 ID-5 보다 초형이 약간 큰 특성을 보였으며 바이러스에 대한 포장저항성은 더 우수하였다(사진36,37,38). F4322와 F2324는 엽색이 약간 진한편이고 포장에서 역병과 바이러스에 대해서도 견디는 힘이 강하였으며 매운맛도 강했다. F4506과 F4512은 Teja swini type의 조합으로 청과색이 진하고 매운맛이 강하며 착과력이 우수한 조합으로 선발 되었다.

이 조합들은 2014년 하반기에 인도 현지에서 지역 적응성 시험을 실시하였는데 인도에서도 유사한 성능을 나타내었다. F4286은 바이러스에 강하고 착과력이 매우 우수하였으며 과실의 균일도가 매우 좋은 특성을 보였다. F4307과 F4310역시 바이러스에 강하고 착과력이 우수하였으나 ECO871과 비교해서 다소 부족하여 최종선발에서는 제외하였다. F4320, F4324는 인도 현지 적응성 시험에서도 역시 신미도가 강하고 바이러스에 강하며 건과의 색깔과 품질이 우수한 건고추용 조합으로 선발되었는데 이중 F4320과 F4324는 2016년도에 소량 시험채종이 진행 중인데 종자가 확보되면 2017년도에 광범위한 시교사업을 실시할 계획이다.

[표3] 국내 재배시험 선발조합 특성 (2014. 국내시험)

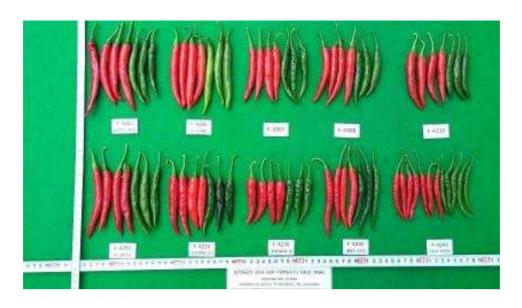
No.	과장 (cm)	과경 (cm)	용도	청과색	Virus	색도 (ASTA )	신미 (SHU)	착과력	건과	비고
F-4286	9.5	1.2	dry	G	4	119	13,500	4	4	
F-4307	9.2	1.4	dry	G	4	119	15,500	4	4	
F-4310	9.0	1.5	dry	G	4	115	16,800	3.5	4	
F-4322	9.0	1.3	dry	G+	4.5	123	18,300	4	3.5	
F-4320	9.0	1.2	dry	DG	4	130	18,400	4	3.5	
F-4322	9.0	1.3	dry	G+	4.5	123	18,300	4	3.5	
F-4324	9.5	1.2	dry	DG	4	120	18,400	4	3	
F-4512	8.5	1.3	dry	G	4	132	23,200	4	3.5	
Teja S.	8.0	0.6	dual	DG	4	145	29,400	4	4	
Indam5	9.7	1.5	dry	G	4	128	23,500	3.5	3.5	

\*범례 : 내병성 5강---1약

착과 5양호---1불량

신미도 5강---1약

건과품질 5양호---1불량



[사진45] 과실 비교사진(F4307, F4310)



[사진46] F4307 [사진47] F4310





[사진49] F4322

[사진50] F4324



[사진51] F4506

[사진52] F4512



[사진53] F4286(2015년, 국내)



[사진54] F4286(2016,국내)

#### [2016신규조합]

본 과제연구결과로 선발된 재료들을 이용한 조합들이 2016년도에 본격적으로 공시가 되기 시작하였는데 대부분 바이러스 내병성과 착과성이 우수하고 신미도가 강하며 수량성이 좋은 특성들을 보였다. 그 중에 F6967은 숙기가 빠르고 착과력이 좋으며 신미도도 중상 이상으로 우수하였다(사진55참조). F6989는 과면의 광택이 매우 우수하고 과면이 매끈한 특성과 더불어 신미도가 아주 강하여 유망조합으로 선발하였다.(사진56참조)





[사진55] F6967

[사진56] F6989

F6884는 Teja swini 유래 선발계통을 이용한 조합으로 Teja swini와 제반 특성이 유사하였으나 과실의 순도는 좀더 개선할 필요가 있었다. 한편 F6972는 Teja swini type의 과형이면서 복화방을 형성하여 착과하는 습성을 가진 조합으로 한 cluster당 8-10개의 과실이 착과되고 또한 착과 등숙 후 식물체에 착과된 상태로 건조가 되면서 상당기간 품질의 변화가 없어 향후수확노동력 절감형의 품종으로 현지에서 재배시험을 실시하여 품종의 적응성 및 현지 기호도 부합여부를 점검할 계획이다. F6972는 기존 품종들과는 차별화가 가능하므로 시장에서 받아들여진다면 파급효과는 클것으로 예상된다.

[사진57] F6884

[사진58] F6972

#### (3) 인도 현지 적응성시험

가. 건고추 지역적응성 시험

-장소 : 인도 군투르 -파종 : 매년 7 ~ 9월 -정식 : 매년 8 ~ 10월

[표 4] 인도 군투르 시험 건고추용 조합 특성 조사표

Group	Variety	charateristics					
	ECO870	Pungent, Vigorous, high yield potential					
	4322	HPH-12, high pungent, excellent					
D = C1 + 8	4504	**8x1cm,4.2g, MG ,short, ,heavy fruit setting,,MP/AP/MS(?), uniform fruits, easy to dry, Selected					
Dry Short &	4580	11.5~12 x 1.0cm, 4.8g, LG, need to check the dried fruit quality					
Thin	4582	11~12x1.0cm, 5.2g, longer, 쭈글거림 약간, 풋고추 신미강 Selected for re-positioning					
	4867	Teja, high pungent, early, heavy fruit setting,					
	4890	Erect single type, easy to pick ,6.5~7.5x0.8cm,2.5g ,high pungent & quality, DUAL					
	ECO871	Vigorous, high yielder, strong to suction & diseases, 다수성 품종, 내병, 내충성 품종					
	4286	12~12.5cm x 1.2~1.3cm / 7.2 g of green fruit, New G4 type, heavy fruit setting, Pungent, smooth skin, stable plant shape and virus					
	4307	G4 slot ,10x1.3cm ,6.2g, shiny ,little wrinkle, very heav yfruit setting, uniform, 잘마를듯, 건과품질체크(Selected)					
Dry	4308	G4 slot, 9~10x1.2cm, 5.2g, DR, excellent, shiny, healthy plant, dull skin(?), Yellowish red(?) 건과품질 체크					
Short-Medium	4325	*** 9 x 1.5 or 1.4cm, 5.3 or 6.2 g, G4/ID-5 slot, fruit variation(two types),tall, healthy plant, Selected					
	4311	9~10x1.3~1.4cm, 6.5g, Too big frame, all, oliage, difficult to manage(?), need more space, good fruit setting,					
	3865	10~2.~2.1cm, 13~13.5g, high dried fruit quality					
	3866	Pungent G4 fruit shape, good to virus, heavy fruit setting, good plant stand					
	3869	Shiny, excellent fruit color, takes more time to dry, HIGH QUALITY					
DUAL	4583	10~11x1.1~1.2cm, Light Green Pungent (매운Shiny & 어깨Wrinkle, easy to pick (DUAL, Selected )					

인도 군투르지역 지역적응성 시험에서는 건고추용 조합으로 F-3870, F-3871, F-3865, F-3869등이 선발되었는데 F-3870은 착과력이 좋고 향이 좋으며 매운맛이 강하고 바이러스 내병성이 강한 것으로 평가되어 2016년도에 ECO-870으로 품종보호등록을 완료하였으며, 시교종자를 채종하여 인도 현지 확대시험이 실시되고 있으나 건과 색깔과 광택이 다소 부족하고 절간이 다소 길어지는 단점이 있으나 향이 우수하고 매운맛이 강하여 풋고추용으로 시장 개발을진행 중이다. (사진59~63 참조)



[사진59]F-3870 착과모습 [사진60]F-3870숙과착과



[사진61]품종보호등록증



[사진62] F870 과실사진

[사진63] 선발조합 건고추 비교사진

F-3871은 INDAM-5형 조합으로 착과력이 우수하고 뿌리가 강하여 후기까지 초세가 좋고 INDAM-5 보다 착과수가 40~50% 더 많았다. 과실의 건조가 약간 늦고 매운맛이 다소 부족한 단점이 있으나 건고추로서 수량성이 좋아 가능성이 있을 것으로 판단되어 선발하였으며 2014~2015년차에 시교용 종자를 16kg 채종하여 현재 확대 시교사업을 진행 중이다.(사진 64~69참조)

F-3866도 INDAM-5형 조합으로 분지발생이 좋고 소엽으로 착과력이 우수하며 매운맛도 비교적 강하고 바이러스 내병성도 비교적 양호하였으며 숙기는 중생이고 과실 크기는 유사하였다. 단점은 말렸을때 건과가 다소 납작한 경향이 있었다(사진63). F-3869는 INDAM-5보다 과가 1cm정도 짧았다(사진50).



[사진64] F-3871 청과 착과모습

[사진65] F-3871 과형질 사진



[사진66]후기 착과모습

[사진67] F-3871과 INDAM-5 비교사진



[사진68] F-3871 착과모습

[사진69] F-3871 식물체 모습

F-3871 : 5887 | /plant, INDAM-5 : 2607 | /plant

2014~2015년도 현지 적응성 시험에서 F4286이 착과수가 뛰어나고 초세가 강하였으나 건조속 도가 늦어서 건고추용으로는 부적합한 것으로 생각되어 풋고추용으로 가능성 여부를 확인예정이다(사진70 참조)



[사진70] F-4286착과

또 F4322는 과장8-9cm, 과경1.0cm 의 G4 type으로 매운맛이 강하고 착과력이 매우 우수하며 건조도 비교적 빠른 특성을 나타내어 2016년도에 확대 시교사업을 실시할 계획이다.



[사진71] F4322 [사진72] LCV피해

2015년 군투르지역 적응성 시험은 극심한 가뭄으로 생육이 전반적으로 불량하고 각종 충해가 심하였으며 특히 LCV(Leaf Curl Virus) 피해가 심각하였는데(사진72참조) 그런 상황 중에서도 ECO871은 비 교적 양호한 작황을 보여 현지 재배농가는 만족하였다 (사진73참조)

[사진73] ECO871

2014년에 선발되었던 F4289는 인도 현지에서도 숙기가 빠르고 절간이 짧으며 매운맛이 강한 특성을 보였으며, F5519는 바이러스에 강하고 매운맛이 강하며 숙기가 TEJA보다 1주일 이상 빠른 특성을 보였다. F5523도 바이러스에 강하고 과장이 10-11cm로 TEJA보다 길고 착과력이 극히 우수하여 건고추 및 풋고추 겸용 품종의 가능성이 있었다.(사진73참조) 이들 조합들은 2016년도에 시교종자 생산을 하였으며 2016~2017년도에 현지 확대 시험을 실시할 계획이다.



[사진73]2016년 현지적응성시험 선발조합

### 나. 풋고추 지역적응성 시험

2차년도 인도 현지 적응성 시험에서 선발되었던 세장과형 조합인 KA-04(ECO1206), KA-05(ECO1207), KA-06(ECO1208) 중에서 ECO1208이 풋고추 재배지역에서 바이러스 내병성과 착과력이 우수하고 청과색이 light green으로 현지 기호에 잘 맞는 것으로 평가되었는데 3차년도 시험에서도 Golden Hot 등 대조품종들과 비교해서 바이러스내병성, 착과력, 내서성 등에서 우수하고 매운맛도 강한 것으로 평가되었다. 이 품종은 2014년도부터 매년 100kg이상 수출이 이루어진 품종으로서 향후 수요가 증가할 것으로 기대되는 품종이다.(사진74, 75참조)



- 60 -

2013년도 국내 조합성능검정에서 선발되었던 F-3672, F-3674, F-3684 조합들을 2013년 8월에 군투르 지역에 파종하여 재배한 결과 세 조합 모두 바이러스에 강하고 착과력이 우수하며 과 실의 품질이 좋은 평가를 받았다. 특히 숙기가 모두 빠른 품종들 임에도 불구하고 바이러스 내 병성이 매우 안정적이고 착과가 잘되며 청과의 색깔과 품질이 우수한 것으로 조사되어 풋고 추용으로 유망한 조합들이었으나 과장이 12-14cm로 다소 짧은 것이 단점으로 지적되었다. 이 중에서 가장 유망하다고 판단되는 F-3674는 2014년도 10kg 계획으로 생산에 들어갔으나 채종에 실패하여 2015년도에 시교생산이 진행 중인데 연말쯤 종자가 생산되면 인도 주요 풋고 추 생산 단지를 중심으로 확대 시교사업을 실시할 예정이다.



[사진76] F-3674 착과모습

[사진77] F-3674 과실모양

2012년부터 선발되어 지속적으로 확대시교사업을 진행해온 ECO205는 과장 13-14cm. 과경 0.8~1.0cm의 풋고추로 환경적응성이 우수하고 바이러스에 비교적 강하며 착과력이 우수한 것 으로 평가받았고 이품종의 생산을 요청하는 회사가있어 올해 50kg 채종계획으로 현재 진행 중 이다. 이 품종의 시교사업이 올해까지 무난히 진행되면 내년부터 본격적인 상업화가 가능할 것 으로 기대된다.(사진78~80참조)



진78] ECO205

[사진97] ECO205과실



[사진80] ECO205 현지 적응성시험

그리고 2014년도에 진행된 현지 적응성 시험에서 ECO730이 숙기가 빠르고 바이러스 저항성이 강하며 과실이 크고 균일도가 좋은 것으로 평가되어 선발 되었는데 이 품종은 2015년도 북서부 지역을 중심으로 확대시교사업을 진행할 계획이다.(사진81참조)



[자전01] ECO730 개세 옷 작물자전

[표 5] 인도 군투르 시험 풋고추용 조합 특성 조사표

Group	Variety	charateristics
NEW DUAL	ECO730	early, good bearing, excellent for Pakoda, Bhaji
	4473	8 x 1.1~1.2cm, 4-4.2g, Ideal size(G4) for LG fresh, fully seeded, pungent, highbearing,
LG-small	4471	8 x 0.9~1cm, 3.4g, Ideal size(G4) for LG fresh, fully seeded, pungent, highbearing,
	4329	10 x 1.4cm, 7.5g, m.pungent, LG-Pale uniform fruit, tall, skin-not smooth, Rao ( RT )
	4569	small table lightgreen chilli, vigorous, heavy fruit setting
	3672	11~12 cm, LG, Fresh, Very early fruit setting, , Low pungent
	3674	13cm, LG, Fresh, Very early, plastic shiny, Excellent fruit setting,
	3684	13~14cm, LG, Fresh, flavor(AROMA), crispy,
LG-Medium	206	13 x 2.0cm 20 g, color & shape very good
	4143	CMV, m-pungent,.13~15 x 2~2.2cm, 20g ,color,size excellent,( 2nd selection )
	4188	15-16x2cm,CMV,m-pungent,Omegagroup,extraearly
	ECO205	13~14cm x 1cm, 7~8 g per green fruit
	KA-04	15~16cm, Shiny, High Pungent, Heat tolerance, long shelf life(ECO1206)
	ECO1208	16-18 x 1.0cm, m-pungent, Pencil, shiny light green,
	4335	16~17x1~1.1cm, 10.4 g, Shiny uniform fruit, LG, EXCELLENT Pencil
	4344	17~18x1.4 cm, 13.85g, EXCELLENT, ECO1208 group ,LG, Extra early, shiny Selected for wide trial
	4345	15~16x1.3cm, 11g ,LG, Pencil size, shiny and smooth skin, good fruit quality Selected for wide trial
	4364	16~18cm,lightgreenmediumlong,
	4346	16~17x1.5cm, 15.37g, THE BEST FRUIT QUALITY, no curved fruits, uniform fruit, shiny, smooth and good shape ,LG, selected for wide trial
	4347	16~17 x 1.4~1.5cm, 15g
	4535	LG, 16.5 x 2cm, 19 g, curved fruits more, less fruit quality RE-Trial,
	4348	17~18x2.0cm, 23 g, LG-Pale, Big-long-bhaji, SelectedforRT
	4443	16x2.5cm, LG,,very early excellent
	4412	17~18x2.0cm ,26g, very good, shiny, RAO
	4414	18~2.5cm, 30g, RTextraearly, RAO
	4435	16-18 x 2.5~3cm, Cripping RT North
	4441	16 x 2.7cm,32 g RT
	4443	17 x 2.4~2.5cm, 32 g, LG big Bhaji RT
	4372	19~20cmx1.2~1.3cm,16~17g,(2nd selection) Rao ,Green-darkgreen ,bigsize, heavy fruit setting, easy to harvest
	4386	LG,20~22cm, extraearly, Fengle long, North re-trial
	4519	M-LG,20~22x1.7cm,18~20g, Mathania long type, Early for local market of Gujarat, Rajas, MPS elected for northern area trial

## 6절 품종보호출원 및 등록실적

그ㅂ	구분 품종명칭		출원					기타	
7 世	(건별각각기재)	국명	출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	74
품종보호 등록	ECO870	한국	에코씨드	2014.1.7	2014-11	에코씨드	2016-03- 21	5963	건고추
품종보호 출원	ECO1208	한국	에코씨드	2015.8.19	출원 2015-499				풋고추
품종보호 출원	ECO871	한국	에코씨드	2016.1.20	출원 2016-70				건고추
품종보호 출원	ECO205	한국	에코씨드	2016.1.20	출원 2016-69				풋고추
품종보호 출원	ECO4286	한국	에코씨드	2016.1.20	출원 2016-68				겸용



병원인을 가축간이, 병원을 내일같이 보기로 바타다 회문에 있어서만 있었어때에 본프리지가 매립니다. 방향에 경면이 위해 MGR ME-CELS (FXX ME-FR ME-FRED URING REPORT (MER MEREAUX)

#### 품종보호출원번호 통지사

李条增於 表明實施:楊榮 2015 - 1100

8 8 8 1 4 21338 8 8 8 1 4 21338

A 371 HINN WAS HARR IT - 4914

품종보호출원번호 통지서

香州以外 2014 1,30 常安水北 各州収水 - 年月 3000 - 70 市を交送 大井町上 1 可変 2005 - 1,30

88 98 (48A1) 2 4 9 (494)

P 3 - 81 944 468 464 (7-884)

국 립 총 자 원

국립 중 자 원

변원인을 가득감이, 민원을 내일감이 문제로 대한 전도하여 할아버트를 위해하기 때문에서 당하는 인원을 'NE 'REL OCE-OLD 'PAL MULTER-OUTS 단점 환경인 - 'REL OLD OCE-OLD 'PAL MULTER-OUTS 단점 환경인 - 'REL OLD '로봇보로 전혀이 적용보고' 18

품종보호출원번호 통지서

8844 5847 - 88 900 - 80 8844 5847 - 88 900 - 80 8994: 300.120

\* 6 % 26 5 79 (425) 5 11 (424) 7 2: 54 064 855 044 11 -664

국 립 총 자 원 및

인원인은 가족같이, 변경을 내일같이 용기를 하는 것으로 보고하게 불가지 하는 것 있다는 점에 등을 가장하는 있는 다음 보다는 있다 인데를 취하는 가능하는 하는 지수는 있다. [1]○[□-□2]② 있으므로 보다 비용하는 110

공중보호졸원번호 봉지사

##UN: 8(18:18) ##XX ##RX ##XX/--0 ##XX ##RX ##XX/--0

0 T: 91 644 6/7444 11-444 8 6 4 4014 8 8 4 1 T4

국 림 중 자 인 6

# 7절 사업화성과 및 매출실적

## 1. 사업화 성과

항목		세부	항목	성 과
		개발제품	개발후 현재까지	1억원
	매출액	개발제품	향후 3년간 매출	10억원
	배출节 	관련제품	개발후 현재까지	억원
		선년제품	향후 3년간 매출	억원
		개발제품	개발후 현재까지	국내: % 국외: 0.1 %
사업화 성과	시장		향후 3년간 매출	국내: % 국외: 1%
	점유율		개발후 현재까지	국내: % 국외: %
		관련제품	향후 3년간 매출	국내: % 국외: 1%
	세계시장	현재 제품	푹 세계시장 경쟁력 순위	위
	경쟁력 순위	3년 후 제	네품 세계 시장경쟁력 순위	위

## 2. 사업화 계획 및 매출 실적

항 목	세부	항목	성 과				
	사업화 소	:요기간(년)	5				
	소요예신	난(백만원)		500			
	예상 매출규모		현재까지	3년후	5년후		
	(∘	[원]	1	10	20		
사업화 계획		단위(%)	현재까지	3년후	5년후		
	시장 점유율	국내	_	_	_		
		국외	0	1	3		
	응용한 타	기술, 제품을 모델, 제품 !계획	현재 품종에 내병성과	품질 및 수량성 개선한	품종 지속 육성		
	(단위	: 억원)	현재	3년후	5년후		
무역 수지 개선 효과	수입대	체(내수)	-	-	-		
	수	尧	1	10	20		



수출신고필증(적재전, 갑지) **BNI-PASS** ※ 처리기간 : 즉시 ® 신고변호 ® 신고일자 ⑦ 신고구분 H ® C/S구분 040-15-16-07030100 2016/04/08 일반P/L신고 P ①신 고 자 구경관세사무소 하대국 ③ 수 출 대 행 자 예코씨드 (종관고유부호) 예코씨드-6-09-1-01-2 수 출 화 주 예코씨드 (동관교유부호) 애코씨드-6-06-1-01-2 (주소) 경기 점역시 행성을 안정로 284(격사리17-8번지) (대표자) 안정본 (소재지) 1 (소재지) 17999 ◎ 물품소재지 업자등목번호) 125-91-10294 (자전사이 전보기 1279-114089)

③제 조 자 에코씨드
(종건고유부호) 애코씨드-6-06-1-01-2
제조정소 17999 산업단지부호 999

④구 애 자 R2 SEEDS PRILATE LINITESD ②景器公印 N ② 小型の「対象を自び置す」 क्षणक प्रव 변설로 산업로 (구매자부호) IMPGSEED00012 ●물리·규제 (단면로/충분수: 001/0011) 용품 및 HOT PEPPER SEED 항 기관품명 HOT PEPPER SEED 양 기관품명 HOT PEPPER SEED 양 기관품명 HOT PEPPER SEED 영환급신형인 (1:수출대행자/수출화주, 2:제조자) 자동간이정액환급 (AD **영상표명 NO** () 수광(단위) ② (원가(USD)) 60 금액(USD) (NO. 01)
YEGATABLE SEEDS FOR SOWING F1 HYBRIDHOT PEPPER
P-910FREIGHT CGARBE USDGO.-@순중량 @ 송품장부호 CI-1601-R2S 용수임신고변호 9) 현산지 KR──N 40) 포장갯수(종류 수출요건확인
 (발급서류명) 8888 \$1,050 W1,206,240 (F06) 0 왕 결제금액 ※ 운임(₩) ● 수입화물 관리번호※신고민기재란 쓰적기간 : 2016-04-08 - 2016-05-08 정비이너번호 세관 

발 텍 넨 호 : 2016431686571(2016,04,05)
(1) 수확인스크림토부터 3명입대 격립하기 어느는 회사는 수확인스크기 계속하고 이름한 과제로가 부계를 수 없으므로 관계사업을 확인하시기 반당니다 (근에된 제한점: 자꾸기의 분후 요마면을 환하세는 반드시 중국에서(부드,요는요란) 차관공문원자 개위적인 확인을 받으시기 당당니다. (2) 수축신교육점인 전에대부는 소문원공관권보시스템적 조립적인 확인하시기 반당니다.(아당/(Norlal.costem.ph/))





#### PURCHASE AGREEMENT

No. : Date :

ECO20140307-1 7-Mar-2014

Messrs. : Crystal Crop Sciences Ltd Attn. to : Raman Uppal

Item No.	Q'ty of Parents lines (g)	Q'ty-hyb. (kg)	Unit price (USD/kg-hyb.)	Amount (USD)	Remarks
No.697	15grs of Male 50grs of Female	100.0	80.00	8,000.00	May 2014
	Grand Total	100.0		8,000.00	

Very truly yours,

ECOSEED CEO JEONG HWAN A

ECOSEED

#### PURCHASE AGREEMENT

No. : Date :

ECO20150523-1 23-May-2015

Messrs. : Crystal Crop Sciences Ltd. Attn. to : Raman Uppal

Item No.	Q'ty of Parents lines (g)	Q'ty-hyb. (kg)	Unit price (USD/kg-hyb.)	Amount (USD)	Remarks
No.337	40grs of Male 80grs of Female	100.0	80.00	8,000.00	Payment : USD4000/- in Advance an
No.392 15grs of Male 30grs of Female Grand Total		50.0	80.00	4.000.00	balance on harvest in Apr 2016 - actual harvested (
		150.0		12,000.00	ty .

Very truly yours

ECOSEED CEO, JEONG HWAN AHN

36

CRYSTAL CROP SCIENCE LAND Lawar /al

ECOSEED ECOSEED

Tel:+82-10 4105 6007 © E-mail: ajseeds@hanma

Add::17-8.Gaeksa-ri,Paengseong-eup,Pyeongtaek-si,Gyv

#### PURCHASE AGREEMENT

ECO20160513-1 13-May-2016 No. : Date :

Messrs. : Crystal Crop Sciences Ltd. Attn. to : Raman Uppal

Item No.	Q'ty of Parents lines (g)	Q'ty-hyb. (kg)	Unit price (USD/kg+hyb.)	Amount (USD)	Remarks
No.337	40grs of Male 80grs of Female	100.0	80.00	8,000.00	Payment : USD5,000/- in Advance
No.392	10grs of Male 20grs of Female	25.0	80.00	2,000.00	
SK-2	60grs of Male 120grs of Female	200.0	40.00	8,000.00	USD 5,000/- Within June 2016, and balance on
WH	WH 10grs of Male 30grs of Female		80.00	4,000.00	harvest in April 2017 - actual harvested Q'ty
Grand Total		375.0		22,000.00	

ECOSEED CEO, JEONG HWAN AHN

ERYSTAL CROP SCIENCE PVT. Ltd.

#### Purchase Contract

Ref.No.: ESPC-160327-B

Date : 27-03-2016

Variety	Q'ty (Kg)	Unit Price (USS)	Amount (USS)	Remarks
P-4324	25	200	5,000	
P-5519	25	200	5,000	
P-871	100	200	20,000	
P-205	100	150	15,000	
P-1208	300	200	60,000	
P-4730	50	180	9,000	
SKY-2	50	250	12,500	
P-4289	50	180	9,000	
TOTAL	700 1/-	10000	TICC125 500	

- TOTAL 700 Kg US\$135,500.
   Final Destination : Hyderabad, India

R2 Seeds Private Limited
Flat No.; 504, Trendset Hill Top Apartments
A.C.Guards, Hyderabad 500004(Telangana)
India(Tel.: +91-9848033411) Chloreyour las

17-8 Gacksa-Ri, Paengscong-Eup. Pyeongtaek-Si, Gyeonggi-Do, 451-801, KOREA(TEL: +82-1041056007)

## PART 2. 중국수출용 선초품종개발

# 1절. 육종 system

#### 1. 시험개요

해외용 품종의 개발은 현지의 적응력 여부가 품종의 성패를 좌우하는 결정적인 요인이다. 본 과제에서는 시험의 효율을 높이기 위하여 현지 시험 선발 체계를 구축하는데 주력하였다. 시험은 1년 2세대 진전을 기본으로 하였고, 1작형은 주작형으로서 현지에서 시험을 수행하였고, 2 작형은 부작형으로서 세대진전을 위주로 사업을 진행하였다. (표1)

표1. 시험사업 요약

용도	작형	지역	파종기	시험사업내용
북방용	주작형	안성,산동	3. 1	계통선발 조합검정
T 88	부작형	태국	9.20	세대진전 조합작성
남방용	주작형	태국, 해남도	9.20	계통선발 조합검정
<u>н 3 8</u>	부작형	산동	3. 1	세대진전 조합작성

북방용은 주로 산둥山東 허난河南 싼시山西 시장을 목표로 하는 작형으로서 산동성山東 칭조우靑州에서 주작형 시험을 수행하였다.



그림 100 북방용 선초 주요 산지와 육종 기지

주작형의 선발 항목으로서는 포장 바이러스 내병성(FVT), 저온착과성, 과품질, 수량등으로 품종의 구성에 직접적으로 영향을 주는 핵심 형질을 위주로 계통육성 사업을 진행하였다. 세대진전은 태국 콘깬과 海南省 동팡시東方市에서 수행을 하였고, 단순 세대진전 및 backcross, F1 시험용 교배조합 작성 등이 주 시험 사업이었다.

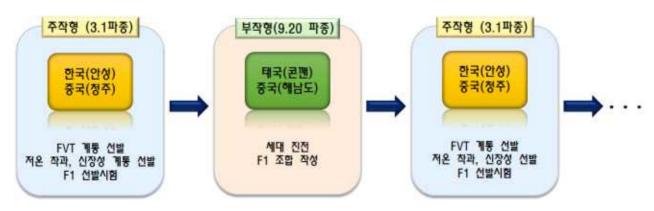


그림 101 북방용 육성도

남방용은 주로 구이저우貴州 윈난云南 꽝시廣西 시장을 목표로 하는 작형으로서 해남성海南省 동광東方에서 주작형 시험을 수행하였다.



그림 102 남방용 선초 주요 산지와 육종 기지

주작형의 선발 항목으로서는 포장 바이러스 내병성(FVT), 고온착과비대성, 과품질, 수량등으로 품종의 구성에 직접적으로 영향을 주는 핵심 형질을 위주로 계통육성 사업을 진행하였다. 세대진전은 한국 안성과 중국 산동에서 수행을 하였고, 단순 세대진전 및 backcross, F1 시험용 교배조합 작성 등이 주 시험 사업이었다.

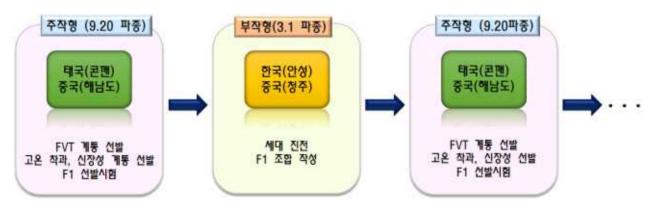


그림 103 남방용 육성도

# 2절. 북방용 계통의 선발

북방용 선초는 주재배지가 산동山東 허난河南 산시山西등이며, 파종은 2월 중하순 ~ 3월 초순이고, 정식기는 4월 중하순 ~ 5월 초순이다. 주요 목표 형질은 저온착과·신장성과 바이러스 포장내병성 (FVT: Field Virus Tolerance)이다.

북방용 선초는 저온기인 5월이 주 착과기 이므로 이시기에 착과성이 좋은 개체를 선발하는 것이 아주 중요하다. 착과 신장성 평가를 위해서는 별다른 처리는 하지 않고 하우스에서 4월 중하순에 정식하여 착과정도, 과비대속도 등을 고려하여 선발을 수행하였다.



그림 104 산동 하우스 저온 착과 신장성 선발 시험 광경



그림 105 안성 하우스 저온 착과 신장성 선발 시험 광경

중국의 선초시장에서 바이러스 내병성이 가장 중요한 형질 중 하나임은 틀림이 없으나 아직 바이러스에 대한 분리 동정의 결과가 충분히 있지 못한 상태이다. 본 연구에서도 가장 중요한 육종 목표는 바이러스 내병성임에도 불구하고, 특정 바이러스에 대한 선발을 본격적으로 진행 하지 못하는 안타까운 현실에 직면해 있다. 본 연구자의 경험으로 볼 때 남방과 북방 공히 CMV가 가장 중요한 바이러스임에는 틀림이 없는 것 같으나 CMV 저항성 유전자 단독으로는 포장에서 전혀 바이러스 내병성을 보이지 못하는 것이 현실이다.

따라서 본 연구에서도 특정 바이러스에 대한 접종 시험보다는 포장에서 계통과 조합을 공시 하여 생육 후기까지 바이러스의 자연 발병 상태를 관찰하고 선발하는 현실적인 방법을 선택하 였다.



그림 106 산동 노지 FVT 선발 광경



그림 107 안성 노지 FVT 선발 광경

한국 안성과 중국 산동의 대표적인 바이러스 병징을 분석한 결과 바이러스의 종류는 다음과 같은 것으로 나타났다.

표2. 안성의 대표적인 바이러스 병징별 진단결과

	시료번호				진단결과			
	시표인모	CMV	BBWV2	BWYV	PVY	PepMoV	PMMoV	TSWV
1	1002-1	0	0	×	×	×	0	×
2		0	×	×	×	×	0	×
3	1602:2	0	×	×	×	×	0	×
4	12001-1	0	×	×	×	×	0	×
5		0	0	×	×	×	Ο	×

	시료번호				진단결과			
	시뇨빈오	CMV	BBWV2	BWYV	PVY	PepMoV	PMMoV	TSWV
6	(B217)	×	×	×	×	×	0	×
7		0	0	×	×	×	0	×
8	1555-7	0	0	×	×	×	0	×
9	7056-2	0	0	×	×	×	0	×

(○; 양성반응, ×; 음성반응)

표3. 중국의 대표적인 바이러스 병징별 진단결과

NO.	채집 장 소	PCR결과	Tylcv	TMGM	PepMov	CMV	TSWV	BBWV	PY	PMMo
1	칭다오, 청주	TMGM, BBWV		++				++		
2	칭다오, 청주	TMGM, CMV		++		+				
3	칭다오, 청주	TMGM, CMV		++		++				
4	칭다오, 청주	TMGM, CMV		++		++				
5	칭다오, 청주	TMGM, CMV		++		++				
6	칭다오, 청주	TMGM, CMV		++		++				
7	칭다오, 청주	TMGM, CMV		++		++				
8	칭다오, 청주	TMGM, CMV		++		++				
9	칭다오, 청주	TMGM, CMV		++		++				
10	칭다오, 청주	TMGM, CMV		++		++				
11	칭다오, 청주	-								
12	칭다오, 청주	-								
13	칭다오, 청주	CMV,PMMo				+				++
14	칭다오, 청주	CMV,PMMo				+				+
15	칭다오, 청주	TMGM, CMV		+		+				
16	칭다오, 청주	TMGM, CMV, BBWV		++		++		++		
17	칭다오, 청주	TMGM, CMV		++		++				
18	칭다오, 청주	TMGM, CMV		++		++				
19	칭다오, 청주	TMGM, CMV		++		++				
20	칭다오, 청주	TMGM, CMV		++		++				
21	칭다오, 청주	TMGM, CMV		++		++				
22	칭다오, 청주	-								
23	칭다오, 청주	CMV				++				
24	칭다오, 청주	CMV				+				
25	칭다오, 청주	TMGM, CMV, PMMo		+		++				++
26	칭다오, 청주	CMV				++				
27	칭다오, 청주	CMV				++				
28	칭다오,	CMV				++				

1	청주		I		l		
29	칭다오, 청주	CMV		++			
30	칭다오, 청주	CMV,PMMo		++			++
31	칭다오, 청주	CMV		++			
32	칭다오, 청주	TMGM, CMV	+	++			
33	칭다오, 청주	TMGM, CMV	++	++			
34	칭다오, 청주	CMV		++			
35	칭다오, 청주	TMGM, CMV	++	++			
36	칭다오, 청주	TMGM, CMV	++	++			
37	칭다오, 청주	CMV		++			
38	칭다오, 청주	CMV,PMMo		++			+
39	칭다오, 청주	TMGM, CMV	+	++			
40	칭다오, 청주	CMV,PMMo		+			++
41	칭다오, 청주	CMV,PMMo		++			++
42	칭다오, 청주	TMGM,CMV,PMMo	++	++			++
43	칭다오, 청주	CMV,PMMo		++			++
44	칭다오, 청주	TMGM,CMV,PMMo	++	++			++
45	청다오, 청주	TMGM,CMV,PMMo	++	++			++
46	청다오, 청주	TMGM,CMV,PMMo	++	+			+
47	칭다오, 청주	TMGM,CMV,PMMo	+	+			++
48	칭다오, 청주	TMGM,CMV,PMMo	+	+			++
49	칭다오, 청주	TMGM,TSWV	++		++		
50	청다오, 청주	TSWV			++		
51	청다오, 청주	TSWV			++		
52	청다오, 청주	TSWV,PY			++	++	
53	청다오, 청주	TSWV			++		
54	청다오, 청주	TSWV			++		
55	청다오, 청주	TSWV			++		
56	청다오, 청주	TSWV			++		
57	칭다오, 청주	TSWV,PY			++	+	

NO.	채집 장 소	PCR결과	Tylcv	TMGM	PepMov	CMV	TSWV	BBWV	PY	PMMo
58	칭다오, 청주	TSWV,PY					++		++	
59	칭다오, 청주	TSWV					+			
60	칭다오, 청주	PY							++	
61	칭다오, 청주	CMV, BBWV				++		++		
62	칭다오, 청주	CMV,BBWV,PMMo				++		++		+
63	칭다오, 청주	CMV				++				
64	칭다오, 청주	CMV, PMMo				++				++
65	칭다오, 청주	TMGM, CMV, PMMo		+		++				+
66	대련	CMV, PMMo				++				+
67	대련	TMGM, CMV, PMMo		++		++				++
68	대련	TMGM, CMV, PMMo		++		++				++
69	대련	TMGM, CMV, PMMo		++		+				+
70	대련	CMV,PMMo				++				++
71	대련	CMV,PMMo				+				++
72	대련	CMV,PMMo				++				++
73	대련	PMMo								++
74	대련	PMMo								++
75	대련	PMMo								++
76	대련	PMMo								++
77	대련	PMMo								++
78	대련	PMMo								++
79	대련	PMMo								++
80	대련	PMMo								++
81	대련	PMMo								++
82	대련	PMMo								++
83	대련	PMMo								++
84	대련	PMMo								++
85	대련	PMMo								++
86	대련	PMMo								++

NO.	채집 장소	PCR결과	Tylcv	TMGM	PepMov	CMV	TSWV	BBWV	PY	PMMo
87	대련	CMV,PMMo				+				++
88	대련	CMV,PMMo				+				++
89	대련	PMMo								++
90	대련	CMV,PMMo				+				++
91	대련	CMV,PMMo				+				++
92	대련	CMV				++				
93	대련	CMV,PMMo				++				++
94	대련	CMV,PMMo				+				++
95	대련	CMV,PMMo				++				++
96	대련	CMV,BBWV,PMMo				+		+		++
97	대련	PMMo								++
98	대련	PMMo								++
99	대련	PMMo								++
100	대련	_								
101	대련	PMMo								++
102	대련	_								
103	대련	PMMo								++
104	대련	PMMo								++
105	대련	PMMo								+
106	대련	PMMo								++
107	대련	PMMo		_						++
108	대련	PMMo								++
109	대련	PMMo								++
110	대련	PMMo								++
111	대련	PMMo								++

참고) + : 밴드가 흐릿하게 확인되는 것, ++ : 밴드가 진하게 확인되는 것

바이러스 진단 결과 한국과 중국 공히 CMV와 PMMoV가 우점 바이러스로 나타났으나 한국은 BBWV, 중국은 TMGM과 복합감염도 많이 나타났다. 바이러스의 특성상 이들 바이러스의 개별 접종으로는 복합 감염에 대비가 되지 않을 소지가 많으므로 접종 시험보다는 포장 선발이 효과적인 것으로 사료되었다.

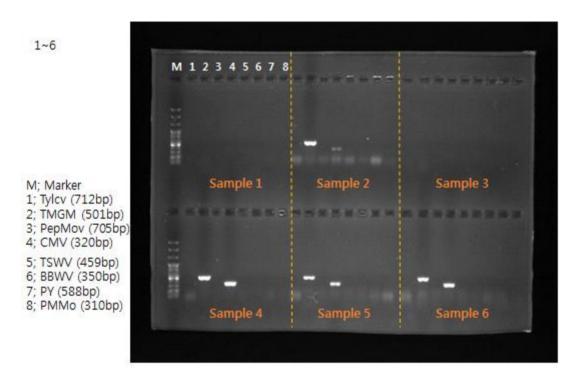


그림 108 한국 및 중국의 바이러스 샘플 검정 결과(전기영동 사진)

# 3절. 남방용 계통의 선발

남방용 선초는 주재배지가 구이저우貴州 쓰좐四川 광시廣西등이며, 목표작형의 파종은 8월 중하순 ~ 9월 초순이고, 정식기는 10월이다. 주요 목표 형질은 고온착과·신장성과 바이러스포장내병성 (FVT: Field Virus Tolerance)이다.

남방용 선초는 고온기인 10월이 주 착과기 이므로 이시기에 착과성이 좋은 개체를 선발하는 것이 아주 중요하다. 착과 신장성 평가를 위해서는 같은 시기에 태국 혹은 해남도에서 노지 정식하여 선발을 진행하였다.



그림 109 해남도 노지 선발 광경



그림 110 태국 콘깬 노지 선발 광경

# 4절. 역병 내병성 선발

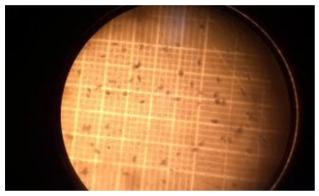
유전자원 및 분리 계통에 대한 역병 저항성 검정을 위하여 제 3 세부 프로젝트 기관인 충북대학교 식물 의학과와 공동으로 매년 접종시험을 수행하였다. 충북대 식물의학과 보유 균주를 사용하였으며 접종시 4  $imes 10^5$  의 농도로 접종을 하였다. 접종 후 약 3일은 환기를 하지 않고 암처리를 하였으며, 조사는 초기와 후기 2회에 걸쳐 수행하였다. 평가의 기준은 다음과 같다.

강; 건전 식물체와 차이가 없음

중; 식물체의 지제부가 갈변 되었으며 상단부의 잎이 시들기 시작함

약; 식물체의 지제부가 갈변되고 잎이 시들어 심하면 고사함

분리; 강 중 약한 개체가 명백히 분리함



자의 현미경 관찰

그림 111 고추 역병균의 유주포자낭과 유주포 그림 112 고추 역병균 접종 후 조사 기준 (왼쪽부터 강, 중, 약)



그림 113 접종 전 고추 모종 상태 및 고추 역병균 접종 광경



그림 114 고추 역병균 접종 후 초기 발병 상태



그림 115 고추 역병균 접종 후 후기 발병 상태



그림 116 저항성 개체 선발 광경

그림 117 저항성 개체 선발주

표4. 2015년 고추 역병 접종 결과

BN	계통명		조사결과	생존	주	고시	<b>나</b> 주	총주수	비고
5FP001	N657-4-0-1		초기->후기 강->강	22		0		22	
5FP002		N657-4-0-2	강->강	23		0		23	
5FP003		N657-4-0-5	강->강		24		0	24	
5FP004	N657-4-0-8		강->강	21		0		21	
5FP005		N659-9-0-1	분리->분리	7		14		21	
5FP006		N659-9-0-2	분리->분리		8		16	24	
5FP007	N659-9-0-4		강->강	22		0		22	
5FP008		N659-9-0-5	강->분리	9		15		24	
5FP009		N677-7-0-2	강->강		20		0	20	
5FP010	N677-7-0-4		강->분리	11		13		24	
5FP011		N677-7-0-7	강->약	0		19		19	
5FP012		N677-7-0-8	강->강		23		0	23	
5FP013	N682-7-0-5		강->분리	12		13		25	
5FP014		N682-7-0-6	분리->약	0		23		23	
5FP015		N682-7-0-7	분리->약		0		24	24	
5FP016	N682-7-0-8		분리->분리	12		10		22	
5FP017		N695-3-0-1	강->분리	15		9		24	
5FP018		N695-3-0-2	강->약		0		21	21	
5FP019	N695-3-0-3		강->강	22		0		22	
5FP020		N695-3-0-5	강->분리	13		11		24	
5FP021		N707-1-0-1	강->강		20		0	20	
5FP022	N707-1-0-2		분리->약	0		20		20	
5FP023		N707-1-0-5	분리->약	0		24		24	
5FP024		N707-1-0-8	강->강		19		0	19	
5FP025	N716-7-0-1		강->강	24		0		24	
5FP026		N716-7-0-3	분리->약	0		23		23	
5FP027		N716-7-0-6	분리->약		0		23	23	
5FP028	N716-7-0-7		강->분리	8		14		22	
5FP029		YJ2-1	약->약	0		21		21	
5FP030		YJ2-2	분리->약		0		22	22	
5FP031	YJ2-3		분리->약	0		20		20	
5FP032		YJ2-6	약->약	0		24		24	
5FP033	MSN12>BE	A-HP6/BE A-206AC-7 ⊕ BC1-27-2	강->강		21		0	21	
5FP034	MSN12>BE	A-HP6/BE A-206AC-7 © BC1-27-4	강->강	24		0		24	

DM	레드리	조사결과	שות	- 11 7	ラフム	
BN	계통명	초기->후기	생존주	고사주	총주수	비고
5FP035	MSN12>BE A-HP6/BE A-206AC-7 @ BC1-27-5	강->강	22	0	22	
5FP036	MSN12>BE A-HP6/BE A-206AC-7 ⊕	강->분리	11	10	21	
EDD007	BC1-27-10	7) > 7)	00	0	00	
5FP037	MSN12>BE A-HP6/BE A-206AC-7  BC1-51-1	강->강 -> -> -> -> -> -> -> -> -> -> -> -> -> -	22	0	22	
5FP038	MSN12>BE A-HP6/BE A-206AC-7  BC1-51-3	강->강	20	0	20	
5FP039	MSN12>BE A-HP6/BE A-206AC-7  BC1-51-6	강->강	24	0	24	
5FP040	MSN12>BE A-HP6/BE A-206AC-7  BC1-51-8	강->강	22			
5FP041	MSN12>BE A-HP6/BE A-206AC-7 © BC1-67-3	강->분리	7	14	21	
5FP042	MSN12>BE A-HP6/BE A-206AC-7  BC1-67-4	분리->분리	16	7	24	
5FP043	MSN12>BE A-HP6/BE A-206AC-7  BC1-67-5	분리->분리 강->강	14 21		21 21	
5FP044	MSN12>BE A-HP6/BE A-206AC-7 ® BC1-95-1  MSN12>BE A-HP6/BE A-206AC-7 ®	グ->ゲ	21	0	21	
5FP045	BC1-95-10	강->강	22	0	22	
5FP046	NRK10>BE A <hp6 bc1-26-1<="" td=""><td>강-&gt;강</td><td>23</td><td>0</td><td>23</td><td></td></hp6>	강->강	23	0	23	
5FP047	NRK10>BE A <hp6 bc1-26-2<="" td=""><td>강-&gt;강</td><td>18</td><td>0</td><td>18</td><td></td></hp6>	강->강	18	0	18	
5FP048	NRK10>BE A <hp6 bc1-26-3<="" td=""><td>강-&gt;강</td><td>20</td><td>0</td><td>20</td><td></td></hp6>	강->강	20	0	20	
5FP049	NRK10>BE A <hp6 bc1-26-6<="" td=""><td>강-&gt;강</td><td>19</td><td>0</td><td>19</td><td></td></hp6>	강->강	19	0	19	
5FP050	NRK10>BE A <hp6 bc1-27-2<="" td=""><td>강-&gt;강</td><td>22</td><td>0</td><td>22</td><td></td></hp6>	강->강	22	0	22	
5FP051	NRK10>BE A <hp6 bc1-27-7<="" td=""><td>강-&gt;강</td><td>23</td><td>0</td><td>23</td><td></td></hp6>	강->강	23	0	23	
5FP052	NRK10>BE A <hp6 bc1-27-9<="" td=""><td>강-&gt;강</td><td>21</td><td>0</td><td>21</td><td></td></hp6>	강->강	21	0	21	
	60A-N12-2(장과)>BE A-HP6/BE A-206AC-7 @					
5FP053	BC1-10-7	】	20	0	20	
5FP054	60A-N12-2(장과)>BE A-HP6/BE A-206AC-7 @	강->강	22	0	22	
3FF034	BC1-10-8	70 - 770	22	0	22	
5FP055	60A-N12-2(장과)>BE A-HP6/BE A-206AC-7 ©	   강->강	21	0	21	
	BC1-10-9 60A-N12-2(장과)>BE A-HP6/BE A-206AC-7 ©					
5FP056		분리->분리	7	15	22	
	BC1-36-1 60A-N12-2(장과)>BE A-HP6/BE A-206AC-7 ©					
5FP057	BC1-36-3	분리->강	23	0	23	
5DD050	60A-N12-2(장과)>BE A-HP6/BE A-206AC-7 ©	71 \ 71	0.4		0.4	
5FP058	BC1-36-5	강->강	24	0	24	
5FP059	60A-N12-2(장과)>BE A-HP6/BE A-206AC-7 ©	약->약	0	23	23	
011 000	BC1-36-9	' ' '			20	
5FP060	60A-N12-2(장과)>BE A-HP6/BE A-206AC-7 ©		22	0	22	
	BC1-38-2 60A-N12-2(장과)>BE A-HP6/BE A-206AC-7 ©					
5FP061	BC1-38-4	강->강	21	0	21	
	60A-N12-2(장과)>BE A-HP6/BE A-206AC-7 ©					
5FP062	BC1-38-6	<b>강−&gt;</b> 강	21	0	21	
5FP063	60A-N12-2(장과)>BE A-HP6/BE A-206AC-7 ©	강->강	20	0	20	
3FF003	BC1-38-7	70 - 770	20	U	20	
5FP064	60A-N12-2(장과)>BE A-HP6/BE A-206AC-7 ©	   강->강	22	0	22	
	BC1-50-5					
5FP065	60A-N12-2(장과)>BE A-HP6/BE A-206AC-7 @	분리->분리	12	9	21	
	BC1-50-8 60A-N12-2(장과)>BE A-HP6/BE A-206AC-7 ©					
5FP066	BC1-50-10	약->약	0	22	22	
5DD025	60A-N12-2(장과)>BE A-HP6/BE A-206AC-7 ©	H =1 \ H =1	11	10	00	
5FP067	BC1-54-1	분리->분리	11	12	23	
5FP068	60A-N12-2(장과)>BE A-HP6/BE A-206AC-7 ©	강->강	21	0	21	
0.1000	BC1-54-5	3 / 0				
5FP069	60A-N12-2(장과)>BE A-HP6/BE A-206AC-7 @	약->약	0	22	22	
	BC1-54-8					

BN	계통명	조사결과 초기->후기	생존주	고사주	총주수	비고
5FP070	60A-N12-2(장과)>BE A-HP6/BE A-206AC-7 © BC1-54-10	강->강	24	0	24	
5FP071	60A-N12-2(장과)>BE A-HP6/BE A-206AC-7 @ BC1-61-1	강->강	22	0	22	
5FP072	60A-N12-2(장과)>BE A-HP6/BE A-206AC-7 © BC1-61-4	강->강	19	0	19	
5FP073	60A-N12-2(장과)>BE A-HP6/BE A-206AC-7 영 BC1-61-5	강->강	24	0	24	
5FP074	BE A <hp6 bc1-14-2<="" bc1<(29m="" ms)28="" td=""><td>강-&gt;분리</td><td>13</td><td>8</td><td>21</td><td></td></hp6>	강->분리	13	8	21	
5FP075	BE A <hp6 bc1-14-4<="" bc1<(29m="" ms)28="" td=""><td>강-&gt;분리</td><td>13</td><td>11</td><td>24</td><td></td></hp6>	강->분리	13	11	24	
5FP076	BE A <hp6 bc1-14-5<="" bc1<(29m="" ms)28="" td=""><td>강-&gt;강</td><td>24</td><td>0</td><td>24</td><td></td></hp6>	강->강	24	0	24	
5FP077	BE A <hp6 bc1-14-10<="" bc1<(29m="" ms)28="" td=""><td>강-&gt;약</td><td>0</td><td>23</td><td>23</td><td></td></hp6>	강->약	0	23	23	
5FP078	BE A <hp6 bc1-22-2<="" bc1<(29m="" ms)28="" td=""><td>강-&gt;분리</td><td>8</td><td>16</td><td>24</td><td></td></hp6>	강->분리	8	16	24	
5FP079	BE A <hp6 bc1-22-6<="" bc1<(29m="" ms)28="" td=""><td>강-&gt;분리</td><td>8</td><td>14</td><td>22</td><td></td></hp6>	강->분리	8	14	22	
5FP080	BE A <hp6 bc1-22-9<="" bc1<(29m="" ms)28="" td=""><td>분리-&gt;약</td><td>0</td><td>24</td><td>24</td><td></td></hp6>	분리->약	0	24	24	
5FP081	BE A <hp6 bc1-22-10<="" bc1<(29m="" ms)28="" td=""><td>강-&gt;강</td><td>22</td><td>0</td><td>22</td><td></td></hp6>	강->강	22	0	22	
5FP082	BE A <hp6 bc1-33-2<="" bc1<(29m="" ms)28="" td=""><td>강-&gt;강</td><td>24</td><td>0</td><td>24</td><td></td></hp6>	강->강	24	0	24	
5FP083	BE A <hp6 bc1-33-3<="" bc1<(29m="" ms)28="" td=""><td>강-&gt;강</td><td>21</td><td>0</td><td>21</td><td></td></hp6>	강->강	21	0	21	
5FP084	BE A <hp6 bc1-33-7<="" bc1<(29m="" ms)28="" td=""><td>강-&gt;강</td><td>24</td><td>0</td><td>24</td><td></td></hp6>	강->강	24	0	24	
5FP085	BE A <hp6 bc1-33-10<="" bc1<(29m="" ms)28="" td=""><td>강-&gt;강</td><td>22</td><td>0</td><td>22</td><td></td></hp6>	강->강	22	0	22	
5FP086	BE A <hp6 bc1-39-1<="" bc1<(29m="" ms)28="" td=""><td>강-&gt;강</td><td>24</td><td>0</td><td>24</td><td></td></hp6>	강->강	24	0	24	
5FP087	BE A <hp6 bc1-39-2<="" bc1<(29m="" ms)28="" td=""><td>강-&gt;강</td><td>22</td><td>0</td><td>22</td><td></td></hp6>	강->강	22	0	22	
5FP088	BE A <hp6 bc1-39-3<="" bc1<(29m="" ms)28="" td=""><td>강-&gt;분리</td><td>15</td><td>9</td><td>24</td><td></td></hp6>	강->분리	15	9	24	
5FP089	BE A <hp6 bc1-39-6<="" bc1<(29m="" ms)28="" td=""><td>강-&gt;강</td><td>22</td><td>0</td><td>22</td><td></td></hp6>	강->강	22	0	22	
5FP090	BE A <hp6 bc1-67-1<="" bc1<(29m="" ms)28="" td=""><td>강-&gt;강</td><td>24</td><td>0</td><td>24</td><td></td></hp6>	강->강	24	0	24	
5FP091	BE A <hp6 bc1-67-2<="" bc1<(29m="" ms)28="" td=""><td>강-&gt;분리</td><td>12</td><td>11</td><td>23</td><td></td></hp6>	강->분리	12	11	23	
5FP092	BE A <hp6 bc1-67-4<="" bc1<(29m="" ms)28="" td=""><td>분리-&gt;분리</td><td>14</td><td>10</td><td>24</td><td></td></hp6>	분리->분리	14	10	24	
5FP093	BE A <hp6 bc1-67-10<="" bc1<(29m="" ms)28="" td=""><td>강-&gt;강</td><td>24</td><td>0</td><td>24</td><td></td></hp6>	강->강	24	0	24	
5FP094	T31B/Kstar-0-38-3	약->약	0	24	24	
5FP095	T31B/Kstar-0-38-7	분리->분리	8	13	21	
5FP096	T31B/Kstar-0-39-3	약->약	0	24	24	
5FP097	T31B/Kstar-0-39-7	약->약	0	24	24	
5FP098	T31B/Kstar-0-39-8	강->강	24	0	24	
5FP099	T31B/Kstar-0-39-10	분리->약	0	22	22	
5FP100	T31B/Kstar-0-46-5	분리->약	0	21	21	
5FP101	T31B/Kstar-0-46-6	분리->약	0	24	24	
5FP102	T31B/Kstar-0-46-10	분리->분리	14	10	24	
5FP103	T31B/Bstar-0-5-1 T31B/Bstar-0-5-3	약->약 약->약	0	18 24	18	
5FP104			-			
5FP105	T31B/Bstar-0-5-5	약->분리	14	8	22	

BN	계통명	조사결과 초기->후기	생존주	고사주	총주수	비고
5FP106	T31B/Bstar-0-5-9	분리->분리	7	14	21	
5FP107	T31B/Bstar-0-5-10	분리->분리	13	11	24	
5FP108	Kstar-0-21-1	강->분리	11	13	24	
5FP109	Kstar-0-21-2	강->강	23	0	23	
5FP110	Kstar-0-37-8	강->분리	11	6	17	
5FP111	Kstar-0-37-9	분리->분리	7	11	18	
5FP112	Kstar-0-51-3	분리->분리	7	14	21	
5FP113	Kstar-0-51-5	약->약	0	24	24	
5FP114	Kstar-0-51-9	약->약	0	23	23	
5FP115	Kstar-0-57-5	약->약	0	23	23	
5FP116	Kstar-0-57-6	약->약	0	24	24	
5FP117	Kstar-0-57-9	약->약	0	22	22	
5FP118	Kstar-0-57-10	약->약	0	23	23	
5FP119	BE A-HP6/BE A-206AC-7	분리->분리	14	8	22	
011110	⊕>MSN12-7Bt-0-0-31-1 BE A-HP6/BE A-206AC-7					
5FP120	©>MSN12-7Bt-0-0-31-4	분리->약	1	20	21	
5FP121	BE A-HP6/BE A-206AC-7	분리->약	1	19	20	
	©>MSN12-7Bt-0-0-31-8 BE A-HP6/BE A-206AC-7					
5FP122	©>MSN12-7Bt-0-0-31-10	강->강	22	0	22	
5FP123	BE A-HP6/BE A-206AC-7	분리->분리	15	9	24	
	©>MSN12-7Bt-0-0-52-1 BE A-HP6/BE A-206AC-7					
5FP124	⊕>MSN12-7Bt-0-0-52-2	분리->분리	10	14	24	
5FP125	BE A-HP6/BE A-206AC-7	분리->분리	8	13	21	
	BE A-HP6/BE A-206AC-7	22 . 22 .	_		2.4	
5FP126	⊕>MSN12-7Bt-0-0-52-9	분리->분리	7	17	24	
5FP127	BE A-HP6/BE A-206AC-7  ©>MSN12-7Bt-0-0-68-3	분리->분리	12	10	22	
EED100	BE A-HP6/BE A-206AC-7					A) +) H =)
5FP128	⊕>MSN12-7Bt-0-0-68-4					발아불량
5FP129	BE A-HP6/BE A-206AC-7	강->강	22	0	22	
5FP130	BE A-HP6/BE A-206AC-7	강->강	24	0	24	
	©>MSN12-7Bt-0-0-68-7					
5FP131	(BC3YK)3-9-4-10-1-5-64-1-2-3	약->약	0	21	21	
5FP132	(BC3YK)3-9-4-10-1-7-6-1- 4-6-3-7-2	약->약	0	20	20	
5FP133	(BC3YK)3-12 ♦	강->강	24	0	24	
5FP134	(BC3YK)3-11 ↑	강->강	22	0	22	
5FP135	((BC3YK)3)3-12-3-3-10-386-300-7-40	강->강	21	0	21	
5FP136	((BC3YK)3)3-12-15-6-2-7-287-20	강−>강 	23	0	23	
5FP137	(BC3YK)3-12-10-14-9-183-889:100\$10-2-5-9,11(0) -4 5(0)-4 9(0)-0(0)	강->강	24	0	24	
5FP138	T21	강->강	24	0	24	저항성대비
5FP139	강한1호 대비	강->분리	10	14	24	중도대비
5FP140	T84 대비	약->약	0	24	24	이병성대비

# 5절. 마커의 이용

세균성 반점병 저항성 계통을 육성하기 위하여 제4세부 프로젝트 기관인 FNP에 의뢰하여 마커 검정을 실시하였고 그 결과는 표5와 같다.



그림 118 bs2 SNU 마커 검정 결과 예시

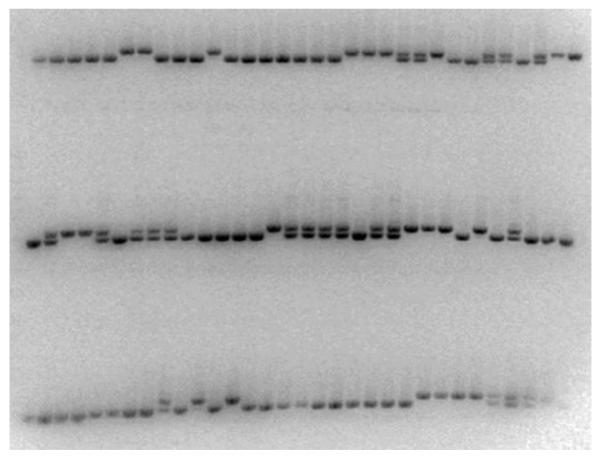


그림 119 bs2 FNP 마커 검정 결과 예시

표5. 2015년 세균성 반점병 마커 검정 결과

		Marker	Marker			Marker	Marker
BN	새GNA	FNP	SNU	BN	세GNA	FNP	SNU
		-BS2	-BS2		DY12A>23A/CNYS	-BS2	-BS2
4SB001	TPC82>60A/CNYS-0-2-1	R	R	4SB034	BC2-33-1	Н	unknown
4SB002	TPC82>60A/CNYS-0-2-2	Н	R	4SB035	DY12A>23A/CNYS BC2-33-2	Н	Н
4SB003	TPC82>60A/CNYS-0-2-3	Н	Н	4SB036	DY12A>23A/CNYS BC2-33-3	Н	R
4SB004	TPC82>60A/CNYS-0-2-4	S	Н	4SB037	DY12A>23A/CNYS BC2-33-4	S	unknown
4SB005	TPC82>60A/CNYS-0-2-5	S	Н	4SB038	DY12A>23A/CNYS BC2-33-5	Н	R
4SB006	TPC82>60A/CNYS-0-2-6	Н	Н	4SB039	D Y 1 2 A > 2 3 A / C N Y S BC2-33-6	Н	R
4SB007	TPC82>60A/CNYS-0-2-7	Н	Н	4SB040	DY12A>23A/CNYS BC2-33-7	Н	R
4SB008	TPC82>60A/CNYS-0-2-8	Н	unknown	4SB041	DY12A>23A/CNYS BC2-33-8	Н	R
4SB009	TPC82>60A/CNYS-0-2-9	S	Н	4SB042	DY12A>23A/CNYS BC2-33-9	Н	unknowr
4SB010	TPC82>60A/CNYS-0-2-10	S	unknown	4SB043	DY12A>23A/CNYS BC2-33-10	Н	Н
4SB011	TPC82>60A/CNYS-0-13-1	R	R	4SB044	60A/CNYS-19-2-1	Н	R
4SB012	TPC82>60A/CNYS-0-13-2	Н	R	4SB045	60A/CNYS-19-2-2	R	R
4SB013	TPC82>60A/CNYS-0-13-3	R	R	4SB046	60A/CNYS-19-2-4	R	R
4SB014	TPC82>60A/CNYS-0-13-4	Н	Н	4SB047	60A/CNYS-19-2-5	Н	R
4SB015	TPC82>60A/CNYS-0-13-5	Н	Н	4SB048	60A/CNYS-19-2-8	Н	unknowi
4SB016	TPC82>60A/CNYS-0-13-6	R	R	4SB049	60A/CNYS-19-2-9	Н	R
4SB017	TPC82>60A/CNYS-0-13-7	Н	Н	4SB050	60A/CNYS-19-2-10	Н	R
4SB018	TPC82>60A/CNYS-0-13-8	R	R	4SB051	T31B/60A/CNYS-5b-11-2	S	R
4SB019	TPC82>60A/CNYS-0-13-9	S	Н	4SB052	T31B/60A/CNYS-5b-11-3	Н	R
4SB020	TPC82>60A/CNYS-0-13-10	R	R	4SB053	T31B/60A/CNYS-5b-11-4	Н	R
4SB021	D Y 1 2 A > 2 3 A / C N Y S BC1-18-2	Н	unknown	4SB054	T31B/60A/CNYS-5b-11-5	Н	R
4SB022	DY12A>23A/CNYS BC1-18-3	R	R	4SB055	T31B/60A/CNYS-5b-11-10	S	R
4SB023	DY12A>23A/CNYS BC1-18-4	Н	R	4SB056	T31B/60A/CNYS-5b-17-1	S	Н
4SB024	D Y 1 2 A > 2 3 A / C N Y S BC1-18-6	S	S	4SB057	T31B/60A/CNYS-5b-17-7	Н	R
4SB025	DY12A>23A/CNYS BC1-18-8	S	Н	4SB058	T31B/60A/CNYS-5b-17-10	S	Н

4SB026	DY12A>23A/CNYS BC1-18-9	Н	R	4SB059	T31B/60A/CNYS-5b-29-1	S	Н
4SB027	D Y 1 2 A > 2 3 A / C N Y S BC1-18-10	Н	R	4SB060	T31B/60A/CNYS-5b-29-7	S	Н
4SB028	DY12A>23A/CNYS BC1-29-2	R	R	4SB061	T31B/60A/CNYS-5b-29-9	S	R
4SB029	DY12A>23A/CNYS BC1-29-4	S	Н	4SB062	T31B/60A/CNYS-5b-52-1	S	R
4SB030	D Y 1 2 A > 2 3 A / C N Y S BC1-29-5	R	R	4SB063	T31B/60A/CNYS-5b-52-4	R	R
4SB031	DY12A>23A/CNYS BC1-29-7	Н	R	4SB064	T31B/60A/CNYS-5b-52-5	R	unknown
4SB032	DY12A>23A/CNYS BC1-29-9	R	R	4SB065	T31B/60A/CNYS-5b-52-6	R	R
4SB033	D Y 1 2 A > 2 3 A / C N Y S BC1-29-10	Н	R	4SB066	T31B/60A/CNYS-5b-52-7	R	R
4SB067	T31B/60A/CNYS-5b-52-8	R	R	4SB074	T31B/60A/CNYS-5b-60-5	S	Н
4SB068	T31B/60A/CNYS-5b-52-9	R	R	4SB075	T31B/60A/CNYS-5b-60-6	S	Н
4SB069	T31B/60A/CNYS-5b-52-10	R	R	4SB076	T31B/60A/CNYS-5b-60-7	Н	unknown
4SB070	T31B/60A/CNYS-5b-60-1	S	Н	4SB077	T31B/60A/CNYS-5b-60-8	R	R
4SB071	T31B/60A/CNYS-5b-60-2	Н	R	4SB078	T31B/60A/CNYS-5b-60-9	Н	unknown
4SB072	T31B/60A/CNYS-5b-60-3	Н	unknown	4SB079	T31B/60A/CNYS-5b-60-10	S	Н
4SB073	T31B/60A/CNYS-5b-60-4	R	unknown				
BN	새GNA	Marker FNP -BS2	Marker SNU -BS2	BN	새GNA	Marker FNP -BS2	Marker SNU -BS2

표6. 2016년 세균성 반점병 마커 검정 결과

BN	색GNA	결과	비고	BN	새GNA	결과	비고
6FB0001	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-4f	Н		6FB0035	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-30f	R?	
6FB0002	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-7f	Н		6FB0036	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-33f	S	
6FB0003	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-12f	Н		6FB0037	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-35f	S	
6FB0004	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-18f	Н		6FB0038	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-37f	S	
6FB0005	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-19f	Н		6FB0039	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-41f	S	
6FB0006	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-21f	Н		6FB0040	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-42f	S	
6FB0007	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-28f	Н		6FB0041	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-43f	S	
6FB0008	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-29f	Н		6FB0042	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-48f	S	
6FB0009	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-31f	Н		6FB0043	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-50f	S	
6FB0010	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-34f	S		6FB0044	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-55f	S	
6FB0011	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-35f	S		6FB0045	YJ2//(T31B/60A/천년약속-5b-52-8)-0t -19f	Н	
6FB0012	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-37f	S		6FB0046	YJ2//(T31B/60A/천년약속 -5b-52-8)-0t-20f	Н	
6FB0013	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-39f	S		6FB0047	YJ2//(T31B/60A/천년약속 -5b-52-8)-0t-21f	Н	
6FB0014	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-41f	S		6FB0048	YJ2//(T31B/60A/천년약속-5b-52-8)-0t -24f	Н	
6FB0015	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-45f	S		6FB0049	YJ2//(T31B/60A/천년약속	Н	
6FB0016	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-46f	S		6FB0050	-5b-52-8)-0t-29f YJ2//(T31B/60A/천년약속	Н	
6FB0017	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-47f	S		6FB0051	-5b-52-8)-0t-33f YJ2//(T31B/60A/천년약속-5b-52-8)-0t	Н	
6FB0018	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-50f	S		6FB0052	-35f YJ2//(T31B/60A/천년약속	Н	
6FB0019	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-51f	S		6FB0053	-5b-52-8)-0t-36f YJ2//(T31B/60A/천년약속	Н	
6FB0020	YI2>T31B/60A/천년약속 BC1-3f	Н		6FB0054	-5b-52-8)-0t-37f YJ2//(T31B/60A/천년약속-5b-52-8)-0t	R?	
		Н			-39f YJ2//(T31B/60A/천년약속	S	
6FB0021	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-4f	п		6FB0055	-5b-52-8)-0t-53f YJ2//(T31B/60A/천년약속	5	
6FB0022	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-5f	Н		6FB0056	-5b-52-9)-0t-1f	Н	
6FB0023	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-10f	Н		6FB0057	YJ2//(T31B/60A/천년약속-5b-52-9)-0t -3f	Н	
6FB0024	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-12f	Н		6FB0058	YJ2//(T31B/60A/천년약속 -5b-52-9)-0t-5f	Н	
6FB0025	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-13f	Н		6FB0059	YJ2//(T31B/60A/천년약속 -5b-52-9)-0t-9f	Н	
6FB0026	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-17f	Н		6FB0060	YJ2//(T31B/60A/천년약속-5b-52-9)-0t -12f	Н	
6FB0027	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-18f	Н		6FB0061	YJ2//(T31B/60A/천년약속 -5b-52-9)-0t-22f	Н	
6FB0028	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-20f	Н		6FB0062	YJ2//(T31B/60A/천년약속 -5b-52-9)-0t-25f	Н	
6FB0029	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-21f	Н		6FB0063	YJ2//(T31B/60A/천년약속-5b-52-9)-0t -29f	R	
6FB0030	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-22f	Н		6FB0064	YJ2//(T31B/60A/천년약속 -5b-52-9)-0t-31f	R?	
6FB0031	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-23f	Н		6FB0065	YJ2//(T31B/60A/천년약속	S	
6FB0032	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-27f	R		6FB0066	-5b-52-9)-0t-40f YJ2//(T31B/60A/천년약속-5b-52-9)-0t	S	
6FB0033	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-28f	R		6FB0067	-41f YJ2//(T31B/60A/천년약속	S	
					-5b-52-9)-0t-47f	-	
6FB0034	YJ2>T31B/60A/천년약속 BC1-29f	R?					

# 6절. F1 조합 선발 시험

2015년 중국 산동성 칭조우靑州 연구소와 허저荷澤의 농가에서 동시에 시험을 수행하였는바, 총 6 조합이 선발되었다. 선발된 조합의 대략적인 특성은 표6과 같다.

표7. 2014년 선발조합 특성표

BN	GNA	SN	교배번호	과색	과장	과경	과중	초세	FVT	비고
H2206	60A-N12-1b/辛香808	1F-0023	3-6/836- 0	중진	20	1.7	10.6	강	강	14년 1606
H2211	盛世A/早丰6号 97760-5 6*-2-1t-2-10t-7-1-3-4-0	3F-5656	6603-3 4/6609-0	중	25	1.7	12.1	강	강	신규조합
H2214	盛世A/早丰6号 97760-5 6*-2-1t-2-10t-7-1-11-3- 0	3F-5659	6603-5 6/6610-0	중진	22	1.8	11.3	중	강	신규조합
H2218	성세상홍(NH) A-1 X 성세상홍(NH) B-0-1 2 ※ 辛香808 97565-0*-1-1t-1-2t-2-2- 3-4-0	13F-5654	6603-1 2/6607-0	중	23	1.6	10.5	중강	강	신규조합
H2223	盛世A/綠金線 江西正邦-0*-44-1-0	3F-6010	5302-0/5 146-0	진	24	1.7	11.7	중	강	신규조합
H2229	盛世A/HP-08-113 父-1	3F-7389	5302-0/7 38'9-0	진	24	1.7	11.7	중강	강	신규조합
H2204	辛香8号			중	22	1.7	10.7	중	강	

선발된 조합들은 대체로 포장 바이러스 내병성이 강해 재배가 용이하고 초세와 착과성이 좋아 수량성이 많은 조합이었다.

이중 H2206은 14년 선발조합 1606으로 작년에 이어 금년 시험에서 좋은 성적을 보였을 뿐 아니라 허저 荷澤 현지 농가시험에서도 좋은 반응을 얻어 내년도 시판이 가능할 것으로 사료되었다.

선발조합 중에서 2206(60A-N12-1b/辛香808)과 2218(盛世A/火辣8号)을 각각 하나에스1호(출원 2015-402), 하나에스2호(출원2015-401)로 품종보호출원을 하였다.



그림 120 조합 선발 시험 광경



그림 121 2206(하나에스1호 60A-N12-1b/辛香808) 과와 식물체 전경



그림 122 2218(하나에스2호 盛世A/火辣8号) 과와 식물체 전경



그림 123 2206(하나에스1호 60A-N12-1b/辛香808) 전시포(허저 荷澤)의 평가회 광경(1)



그림 124 2206(하나에스1호 60A-N12-1b/辛香808) 전시포(허저 荷澤)의 평가회 광경(2)

민원인을 가족같이, 민원을 내일같이

동지된 내용에 의문이 있으시면 달당자에게 문의하시기 바랍니다. 달당자: 김민기 전화: (054) 912-0113 FAX: (054) 912-0210 인터넷 홈페이지: www.seed.go.kr

7 4 0 - 2 2 0 경상복도 김천시 해선8로 119

### 품종보호출원번호 통지서

출원일자: 2015.5.22

품종보호 출원번호 : 출원 2015 - 402 품종명칭 출원번호 : 명칭 2015 - 880

작 물 명: 고추 품종 명칭: 하나에스1호

출 원 인 : (쿠)하나종묘 주 소 : 경기도 안성시 미양면 신두만곡로 331

2015년05월22일

민원인을 가족같이, 민원을 내일같이

통치된 내용에 의문이 있으시면 담당자에게 문의하시기 바랍니다. 담당자: 집민지 전화: (054) 912-0113 PAX: (054) 912-0210 인터넷 홈페이지: www.seed.go.kr

7 4 0 - 2 2 0 경상북도 김천시 혁신8로 119

#### 품종보호출원번호 통지서

품종보호 출원번호 : 출원 2015 - 401 출원일자 : 2015, 5,22

품종명칭 출원번호 : 명칭 2015 - 879

작 폴 명: 고추 품종 명칭: 하나에스2호 출 원 인: (주)하나종묘

주 소 : 경기도 안성시 미양면 신두만곡로 331

2015년05월22일

국립종자원

국립종자원

그림 125 하나-에스1호, 하나-에스2호 품종보호출원 통지서

2016년 조합선발 시험을 경기도 안성시 소재 하나종묘 육종 연구소에서 수행한 결과 BN2333, BN2338, BN2340 3조합을 선발하고 품종보호 출원을 하였다



그림 126 2333, 2338, 2340 과사진

그림 127 2333 전경 (하나에스3호)



그림 128 2338(하나에스4호)와 2340(하나에스5호)의 전경

표8. 2016년 선발조합 특성표

BN	GNA	SN	교배번호	과색	과장	과경	과중	초세	FVT	비고
2316	湘硏七号	5#1916		진	21	1.7	10.9	중강	중강	대비
2318	香辣17号	5#1918			20	1.7	11.0	중강	강	대비
2319	强丰7318	5#1919		중진	20	1.7	10.8	중	중강	대비
2333	성세상홍(NH) A-1 X 성세상홍(NH) B-0-3 4 ③ 早丰6号 97760-5 6*-2-1t-2-10t-7-1-3-4- 0	3F-5656	6603-3 4/6609-0	진	22	1.7	11.6	강	강	신규조합
2338	성세상홍(NH) A-1 X 성세상홍(NH) B-0-5 6 ③ 早丰6号 97760-5 6*-2-1t-2-10t-7-1-11-3 -0	13F-5659	6603-5 6/6610-0	진	23	1.8	11.8	강	강	신규조합
2340	성세상홍(NH) A-1 X 성세상홍(NH) B-0-3B ⓒ 火辣8号 92027-5B-4t-6-3-9-6-0	13F-5664	6603-3B /6614-0	중진	23	1.7	11.4	중강	강	신규조합

민원인을 가족같이, 민원을 내일같이

통지된 내용에 의문이 있으시면 담당자에게 문의하시기 바랍니다. 당자는 대통에 되는이 있으셔는 법당자에게 문의하다가 마립니다. 담당자: 김치유 전화: (054) 912-0113 FAX: (054) 912-0210 인터넷 홈페이지: www.seed.go.kr

39660

경상북도 김천시 혁신8로 119

### 품종보호출원번호 통지서

출원일자: 2016, 8,17

품종보호 출위번호 : 출위 2016 - 415 품종명칭 출원번호 : 명칭 2016 - 890

작 물 명: 고추

품종 명칭 : 하나-에스3호

출 원 인:(주)하나종묘

주 소 : 경기도 안성시 미양면 신두만곡로 SS1

2016년08월17일

민원인을 가족같이, 민원을 내일같이 통지된 내용에 의문이 있으시면 담당자에게 문의하시기 바랍니다. 담당자: 김지유 전화: (054) 912-0118 FAX: (054) 912-0210 인터넷 홈페이지: www.seed.go.kr

3 9 6 6 0

경상북도 김천시 혁신8로 119

#### 품종보호출원번호 통지서

출원일자: 2016, 8,17

중종보호 중위번호 : 총위 2016 - 417 품종명칭 출위번호: 명칭 2016 - 892

작 물 명: 고추

품종 명칭 : 하나-에스5호

출 원 인 : (주)하나종묘

주 소: 경기도 안성시 미양면 신두만곡로 331

2016년08월17일

민원인을 가족같이, 민원을 내일같이 통지된 내용에 외문이 있으시면 담당자에게 문의하시기 바랍니다.

담당자: 김지유 전화: (054) 912-0113 FAX: (054) 912-0210 인터넷 홈페이지: www.seed.go,kr

S 9 6 6 0 경상북도 김천시 핵신8로 119

### 품종보호출원번호 통지서

출원일자: 2016.8.17

품종보호 출원번호 : 출원 2016 - 416 품종명칭 출원번호 : 명칭 2016 - 891

작 물 명: 고추

품종 명칭 : 하나-에스4호

출 원 인:(주)하나종묘

주 소: 경기도 안성시 미양면 신두만곡로 881

2016년08월17일

#### 연구성과물(생물자원) 기탁 필증

기탁번호	BP1295111 ~ BP1295117	
연구개발사업명	생명산업가술개발	
연구과제명	중자수술 확대를 위한 해외 맞춤형 작물 품종육성	
연구기관명	에코씨드	
연구책임자	이용작 (과제책임자 : 안정환 )	
기탁명	총자 7점	
기탁소재 구분	종자·	
기탁일자	2016 - 07 - 06	

귀 기간에서 기탁하신 상기 연구성과를(성통자원)을 국가연구개발사업의 관리 등의 관한 규정[대통 형형] 개정(2008.5.27 공보) 및 통 규정 시하규칙 개정(2008.7.8 공보에 따라 상기와 같이 기탁 받았 응용 확인합니다.

• 기탁자원에 대한 상세정보는 형부파일을 확인하시기 바랍니다.

2016년 8 월 22 일

생물자원 • • 설라물전답기관

한국생명공학연구원 생물자원센터장

Korean Collection for Type Cultures (KCTC) Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB)

그림 129 하나에스3호. 하나에스4호. 하나에스5호의 품종보호출원 통지서 및 유전자 워 기탁필증

# 표9. 유전자원 기탁 내역

자원ID	학명	원산지	종자 종류	품종명/ 계통명	국명	수집 지역	수집자	기탁수량 (립)	특별한 성질이나 용도(유전자, 표현형, 유전물질 등)	종자 수 분함량	발아율	발아 온도	발아소요 기간	적합한 보존법	보존시 유의사항	이용성
BP1295111	Capsicum annuum	국외	품종	No. 6674	고추	국내	이용직	300	하나에스1호	14	90	30도	4일~7일	40%이하, 17도 이 하 항습 항온 조건	항온, 항습 조건 유지	산업용
BP1295112	Capsicum annuum	국외	품종	No. 6675	고추	국내	이용직	300	하나에스2호	14	90	30도	4일~7일	40%이하, 17도 이 하 항습 항온 조건	항온, 항습 조건 유지	산업용
BP1295113	Capsicum annuum	국외	품종	No. 5641	고추	국내	이용직	300	포장바이러스 내병성이 우수한 열대용 선초 선발조합	14	90	30도	4일~7일	40%이하, 17도 이 하 항습 항온 조건	항온, 항습 조건 유지	산업용
BP1295114	Capsicum annuum	국외	품종	No. 5643	고추	국내	이용직	300	초세가 강한 온대용 선초 계통	14	90	30도	4일~7일	40%이하, 17도 이 하 항습 항온 조건	항온, 항습 조건 유지	산업용
BP1295115	Capsicum annuum	국외	품종	No. 5653	고추	국내	이용직	300	포장바이러스 내병성이 우수한 선초 계통	14	90	30도	4일~7일	40%이하, 17도 이 하 항습 항온 조건	항온, 항습 조건 유지	산업용
BP1295116	Capsicum annuum	국외	품종	No. 5661	고추	국내	이용직	300	수량성이 우수한 온대용 선초 조합	14	90	30도	4일~7일	40%이하, 17도 이 하 항습 항온 조건	항온, 항습 조건 유지	산업용
BP1295117	Capsicum annuum	국외	품종	No. 5663	고추	국내	이용직	300	수량성이 우수한 열대용 선초 조합	14	90	30도	4일~7일	40%이하, 17도 이 하 항습 항온 조건	항온, 항습 조건 유지	산업용

## ○ 사업화성과 및 매출실적

## - 사업화 성과

항목		세부	항목	성 과
		개발제품	개발후 현재까지	4.5 억원
	매출액	계절제품	향후 3년간 매출	10 억원
	베럴릭	관련제품	개발후 현재까지	억원
		선년세품	향후 3년간 매출	억원
			개발후 현재까지	국내: %
		개발제품	개월수 현재까지	국외 : 1 %
사업화		개월세품 향후 3년간 매출	국내: %	
성과	시장		정무 당단한 제물	국외 : 2 %
- '	점유율		개발후 현재까지	국내: %
		관련제품 관련제품	7마린 F 현기에서 1	국외: %
		если	향후 3년간 매출	국내: %
			0100010	국외: %
	세계시장	현재 제원	푹 세계시장 경쟁력 순위	2 위
	경쟁력 순위	3년 후 7	네품 세계 시장경쟁력 순위	2 위

## - 사업화 계획 및 매출 실적

항 목	세부	항목		성 과					
	사업화 소	요기간(년)	3년						
	소요예신	난(백만원)		200					
	예상 및	개출규모	현재까지	3년후	5년후				
	(6	[원]	0	10					
사업화 계획		단위(%)	현재까지	3년후	5년후				
	시장 점유율	국내							
		국외	0	1	2				
	응용한 타	기술, 제품을 모델, 제품 날계획	현재까지 확보된 우수 보다 상품과(上品果)율	한 계통들을 이용하여, 이 높은 품종을 개발할	향후 곡과성이 개선되어 계획에 있다.				
	(단위:	: 억원)	현재	3년후	5년후				
무역 수지 개선 효과	수입대	체(내수)							
	수	출	0	3	10				

# PART 3. 중국수출용 하늘초품종개발

코드번호	D-05

## 1절. 도입종성능검정

1. 도입된 유전자원에 대한 원예적 특성 및 내병성을 평가하고 품종 개발을 위한 소재로 활용하기 위하여 현지에 판매 재배되고 있는 F1, OP품종 및 중국 광저우 교역회 등에서 수집된 789점의 유전자원에 대하여 하이난성 샨야에 위치한 농장 및 안성연구소에서 재배를 실시하여 원예적 형질을 평가한 후 각 소재별 단화방 하늘초 계통과 복화방 계통을 선발한 후 후대 분리를 실시하였다.

### 표2)도입성능검정내역

년차	수집유전자원	비고
1년차	76점	단화방(건고추, 남방계), 복화방
2년차	222점	단화방 3점, 복화방 1점 등
3년차	402점	단화방: 23점, 복화방: 1점 등 분리계통 포함
4년차	39점	단화방 남방계23 점, 복화방 3점 등
5년차	59점	단화방 남방계 37점, 복화방 9점 등



그림9) 중국 산야농장 도입종 재배시험 전경 그림10) 산야농장 하우스 재배시험 전경

# 2절. 단화방 남방계 하늘초 계통 및 품종 육성

1. 재료 및 방법

가. 파종일 : 국내 - 2월 중순 .중국-8월 말, 12월 초

나. 시험장소 : 국내- 경기도 안성시 미양면 갈전리, 중국 - 하이난도 산야 연구농장다. 시험방법 : F1 조합성능검정 - 국내 : 난괴법 2반복(각 5주), 중국 : 1반복(20주)

- 2. 단화방 남방계 하늘초 계통육성
- 가. MS-line 및 B-line 계통육성: 1년차 진행 시 건고추용 복화방 하늘초 CMS를 이용하여 F1조합을 작성한 조합에서는 생육 초기 집중착과 및 숙기가 빠른 장점은 있으나 장기간(8~12개월)재배를 하는 중국 남방지방의 특성상 후기에 수량이 떨어지며 내병성 등의문제가 발생하였고, 염홍 및 대몽 등에서 분리 중인 하늘초 계통(142계통)에 대한 원예적형질과 내병성(바이러스, 역병, 청고병)등을 평가하여 재배 후반기까지 생육 및 수량성이좋으며 고온기 착과에 안정된 계통을 남방계형 재료로 선발하였다. 선발된 C-line계통은기존 보유 CGMS의 B-line(maintainer)에 교배하여 남방형 특성을 가진 B-line(maintainer)계통을 육성하기 위하여 형질고정 및 세대진전을 실시하였다.

염홍 등에서 분리하여 BC6세대 진전된 남방계형 CMS 2계통들은 과장이 길고(8cm) 과색은 진록이며 바이러스에 강하고 장기 재배 시에도 후기 세력이 좋아 F1조합 능력도 우수하였으며 시교 76381과 79381의 각 각 모계로 사용되었다.(표3, 그림19,그림22)

- 나. B-line(maintainer) 육성을 위하여 국내와 중국 하이난 산야 농장에서 년 2회씩(2월, 8월) 재배하여, Backcross로 세대단축을 실시하여 과장이 길고(8cm~9cm) 과가 단 단하여 수송성이 우수하고 후기 생육이 우수한 MS 5계통을(DMG253-5, 254, 255, 256, 257 MS)을 육성하였다. 새로 육성된 유망 MS계통을 이용하여 신규 F1조합을 작성하고 8월 하이난도 및 광서성에서 F1 조합성능검정시험을 수행하였으며, 기 육성된 남방계 CMS계통 (SKYCHOHSCMS(BC6), SSS14CMS(BC6)은 임성이 매우 안정되고 바이러스 및 후기생육이 우수하나 과장이 짧아(표3: 4~5cm), 과장이 길은 회복친 부계(표3: skydm375Rf, skybd375Rf, skydm205Rf)등을 활용하여 각 13개, 42개의 신규 F1조합을 작성하여 2015년에 안성과 산야에서 성능검정을 실시하였다.
  - 다. C-line 계통 육성 : 보유중인 C-line(임성회복: Rf) 111계통에 대한 임성회복(Rf) 평가하여 남방계의 특성에 맞는 중만생으로 착과력이 우수한 계통에 대하여 내병성(바이러스, 역병, 청고병)검정을 실시 28계통을 선발하였다.

예비 조합능력이 우수한 계통에 대하여 고정 및 세대진전(년 2회 재배)을 실시하여 형질을 고정 후 F1조합을 작성하였다.

# 표3) 남방계하늘초 선발 계통 특성표

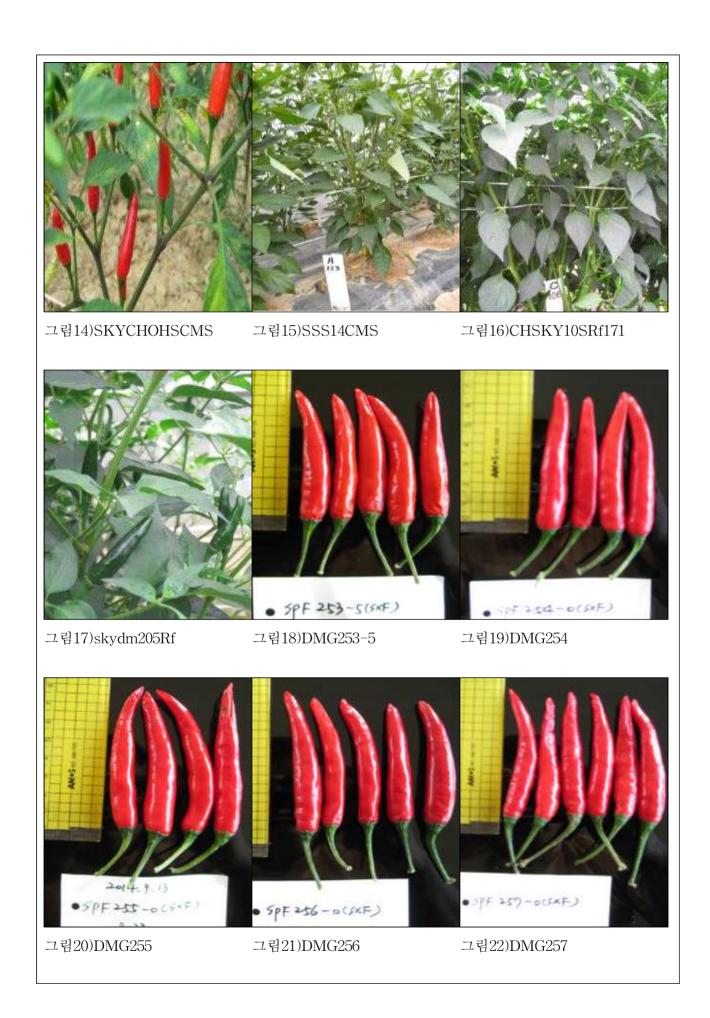
번호	계통명	세대	주요특성	비고
2A141	SKYCHOHSC	BC6	단화방CMS ,중생종, 중과종(과장4-5cm), 바이러스	2차년도선발
2A141	MS	ВСО	강	13개조합작성
4A123	SSS14CMS	BC6	단화CMS, 만생종, 바이러스에강하고 후기 생육 좋	3차년도선발
4/11/25	55514CW5	DCO	음,중과종(과장4-5cm)	42개조합작성
5A76	DMG253-5	BC5	단화방MS, 중만생종, 대과종(과장7cm), 바이러스	  신규조합작성
07170	DIVIG200 0	ВСО	강,수송성 강, 과색 및 과형우수, 현재 형질 고정 중	
			단화방MS, 중만생종, 대과종(과장8cm),바이러스 강	  시교76381 모계
5A78	DM254MS	BC6	,수송성 강, 과색(진록) 및 과형 우수,신미 강, 형질	· 시 · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
			고정	
			단화방MS,중만생종,대과종(과장9cm),바이러스강,수	  시교79381 모계
5A79	DM257MS	BC6	송성강,과색(진록) 및 과형 우수, 초장 장간, 형질	친
			고정	건
1C113	SKYAVHSRf	F9	초장 장간, 중만생종, 착과력 우수,바이러스 강, 과형	1차년도선발
10110	SITTIVIISITI	10	우수, 과장5cm, 과경0.7cm, 후기생육 좋음 ,	D1318부계
			역병과바이러스에 복합내병성, 중만생계, 과색진록,	1차년도선발
1C111	skydm375Rf	F9	과장 5cm, 과경0.7cm, 착과력 우수	  D2427부계
				, "
1C112	skybd375Rf	F8	청고병 중강, 바이러스 강, 중만생 , 과색 연록, 과장	1차년도선발
			4cm, 과경 0.8cm 즈마세즈 메이지스 카 링크버 가 제가 메리(키	아카 나 그 나나
2C140	skydm205Rf	F8	중만생종, 바이러스 강, 청고병 강 ,세장 대과(과	
	CHSKY10SRf		장:7-8cm,과경:0.7cm), 과색 농록 마새존, 베이크스카, 교자(4cm) 교형 으스 조하느린	D2348 부계
2C129		F8	만생종, 바이러스강 ,과장(4cm),과형 우수, 조합능력	
	171		우수	D2284 부계



그림11)skydm375Rf

그림12)skybd375Rf

그림13)SKYAVHSRf



- 3. 남방계 단화방 하늘초 품종 육성 (F1조합성능 검정시험)
- 가. 1년차 남방계 하늘초품종은 재배기간이 길어(10~12개월) 내병성을 요구하며 후기까지 지속적으로 많은 수확 할수 있는 품종이 요구된다. 기존 조생계 복화방CMS를 활용한 품종의 경우 과가 단단하지 않아 수송성이 떨어지며 후기까지 지속적인 수확이 힘들었으나 육성을 통해 개발된 중만생계 단화방 CMS계통은 남방계통의 특성인 생육후기까지 지속적인 착과를 보이며 과가 단단하고 수량성은 높으나 모계의 과장이 짧아 장과형 품종을 만들기 위해 육성하고 있는 C-line들 중 과장이 길은 계통을 선발하여 예비 조합을 작성하였다.
- 나. 2년차에 복화방 CMS와 남방계 단화방 C-line을 이용한 조합 중 D2348(2C140), D2394, D3206(표4) 등이 선발되었으나 과장이 대부분 짧고 과도 단단하지 않아 수송성이 떨어지며 초기 수량은 많으나 후기 생육이 부진하였다. 형질이 고정되지 않은 C-line들 중 과장이 길은 계통을 선발하여 예비 조합을 작성하였다.
- 다. 3년차 시험에서는 2년차에 선발된 D2348(1년차부터 Backcross하여 육성된 복화방 CMS 계통(SKY3MUCMS)에 단화방 남방계 부계친(2C140)을 이용한 조합)을 재시험할 결과 내병성, 과형(그림25,26), 건과품질(그림28)등이 염홍보다 우수하였으나. 후기 생육, 수송성 (과의 종자의 충실도), 과장 등이 대비종 염홍(그림27,28)에 비해서 떨어졌다(표.5). 3년차에 새로 선발된 D3206 또한 육성된 복화방 CMS계통과 단화방 남방계부계친(2C129)을 이용하여 작성한 조합인데 대비품종인 염홍과 대비하여 총생과수는 일부 낮지만 바이러스에 강하고 장과형에 총 생과중이 높아 전체 수량성은 높게 나오나(표,5) 수송성이 떨어져월동용 남방계 품종으로 부적합하였다.
- 라. 4년차에 선발된 F1 4조합(표6, 그림33: D137,139,158,167)도 D139를 제외하고는 과장이 짧으며 수송성과 홍과 품질이 떨어져 남방계 품종으로 적합하지 않음, 결론적으로 기존 보유하고 있는 복화방과 단과형 단화방 CMS계통으로 작성된 F1조합은 과장과 수송성, 홍과 품질 면에서 염홍 품종보다 떨어졌으며 새로 육성된 장과형으로 수송성이 좋고 홍과색이 분홍색으로 과품질이 우수한 MS계통(DMG253-5, 254, 255, 256, 257 MS)들을 이용하여 신규 작성된 F1품종은 기존 선발된 F1조합보다 우수할 것으로 생각되며 신규 작성 F1조합들은 8월 중국하이난도 산야와 광서성 난닝에서 조합 성능검정을 수행하였다.
- 마. 5년차: Backcross가 완료된 새로운 남방계 CMS(DM254, DM257) 2계통을 활용하여 F1 조합작성 하고, F1조합성능검정 결과 바이러스에 강하며 과장이 길고 청과색이 진록이며 과가 단단하여 수송성이 우수한 2조합(D483, D492)을 선발하여(표7) 시교 79381, 시교 76381로 중국 광시성, 라오스, 태국 등 3개국에 현지 시험을 진행한 결과 시교 79381이 우수하여(그림29,30,31,32) 현재 품종보호출원(sjsky6334) 후 생산 중에 있다. 시교 36381은 지속적으로 현지 재배시험을 통하여 판매 여부를 결정할 예정이다.

# 표4) 2년차 남방계 하늘초 F1조합성능검정 시험

파종	계통명	적과	청과	총과	총생	총건	건과율	1생과	1건과	과장	수송	비고	
번호	পাত্ত	পাত ও	수	수	수	과중	과중	(%)	중(g)	중(g)	(cm)	성	P1 74
2174	염홍	278	265	543	484	182	37.6	1.74	0.65	7.8	4	남방계	
2177	베베홍	363	292	655	628	223	35.5	1.73	0.61	6.2	3		
2347		598	599	1197	800	302	37.8	1.33	0.51	6.2	3	역,바강	
2348		279	590	869	480	176	36.7	1.72	0.63	7.8	3	역,바강	
2374	K7	397	262	659	860	275	31.9	2.17	0.69	7	2		

## 표5) 3년차 남방계하늘초 F 1조합성능검정시험 결과

파종	계통명	적과	청과	총과	총생	총건	건과율	1생과	1건과	과장	수송	비고
번호	세공경	수	수	수	과중	과중	(%)	중(g)	중(g)	(cm)	성	비끄
D093	염홍	558	356	914	1572	334.5	23	1.97	0.6	6.26	5	남방계
D094	Demon	418	321	739	1536	320.5	28	2.54	0.77	6.6	4	
D096	SUPER HOT	379	432	811	1491	261.5	30	2.2	0.69	6.22	4	
D097	베 베 홍 695	365	258	623	1191	239.5	27	2.16	0.66	4.8	4	
D107	2348	370	860	1230	1786	225.5	23	1.69	0.61	5.32	4	시교
D110	2394	298	284	582	1426	254	26	3	0.85	6.62	3	시교
D206	3206	514	316	830	1618	260.5	16	2.2	0.51	6.52	3	선발

## 표6) 4년차 남방계하늘초 F1조합성능검정시험 결과

파종 번호	계통명	주당	홍과율	1생	1건	과장	과경	수송성	홍과	비고
번호		과수	(%)	과중(g)	과중(g)	(cm)	(cm)		품질	
D136	염홍	212	28	2.43	0.68	10.6	0.66	5	4	남방계
D137	13BTP4	231	30	2.04	0.61	6.6	0.52	4	3	
D139	UP1416	406	28	1.89	0.53	9.1	0.57	4	3	
D158	14BT14	219	27	2.41	0.65	6.9	0.68	4	3	
D167	14BT23	242	25	3.26	0.82	6,9	0.67	4	3	

표7) 5년차 남방계하늘초 F1조합 성능검정시험 결과

파종	계통명	주당	홍과율	1생	1건	과장	과경	수송성	홍과	비고
번호		과수	(%)	과중(g)	과중(g)	(cm)	(cm)	ተቴ⁄8	품질	
D476	대몽	548	59.7	1.97	0.64	9.94	0.64	4	4	남방계
D477	염홍	430	51.9	2.32	0.74	10.86	0.63	5	4	
D482		502	62.6	1.98	0.59	13.66	0.61	4	3	
D483		665	60.7	1.61	0.54	10.30	0.61	5	4	시교76381
D486		335	59.4	2.37	0.80	12.20	0.61	3	3	
D492		700	49.8	1.80	0.60	13.24	0.59	5	4	시교79381 (sjsky6334)
D496		453	46.1	2.25	0.76	11.68	0.58	4	3	



그림23)D2348개체및전경



그림24)홍과사진D348:염홍



그림25)D348홍과

그림26)D348건과



그림27)염홍홍과

그림28)염홍건과



그림29)시교37381,36381 재배

그림30)시교37381,36381,대배종 비교



그림31) 시교37381,36381 재배

그림32) 염홍, 염미, 시교79381,76381 청과비교

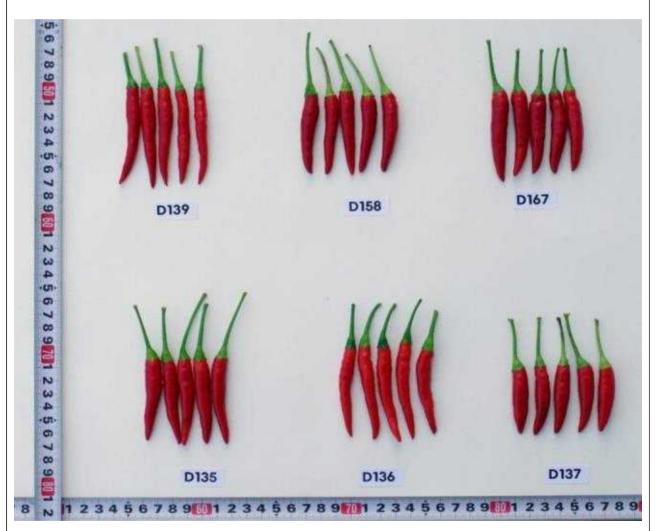


그림33) 4년차 선발 번호 홍과

## 3절. 단화방 건고추형 하늘초 계통 및 품종 육성

#### 1. 재료 및 방법

가. 파 종 일 : 국내- 2월 중순, 중국- 2월 말(준위), 8월 말(하이난도 산야)

나. 시험장소 : 국내- 경기도 안성시 미양면 갈전리, 중국 - 귀주 준위

다. 시험방법 : F1 조합성능검정 - 국내 : 난괴법 3반복(각 5주), 중국 : 2반복(각 20주)

#### 2. 단화방 건고추 하늘초 계통 육성

가. 1년차에 하늘초형 MS-line 계통육성 : 보유중인 형질이 고정된 B-line(maintainer)에 대하여 원예적 형질 및 내병성(역병)이 우수한 계통들을 선발하여 MS-line(웅성불임계통)에 지속적인 Backcross(년 1~2회)를 진행하고 다수성 품종육성을 위하여 모계를 복화방으로 육성하였다.

2, 3, 4년차에는 Backcross를 통해 임성이 고정된(BC3-4세대) 계통을 대상으로 예비조합 능력을 실시하면서 계속적으로 세대진전을 통해서 형질을 고정하였다. 특히 조생 극대과 계통(SHM307CMS)에 대해서는 다양한 임성회복 계통과의 교배를 통하여 F1조합을 작성하였다.

나. B-line(maintainer): 기후의 변화와 지역에 따른 작형에 맞는 품종의 개발을 위해서 다양한 형질의(조생종이며 바이러스에 강한 복화방CMS, 역병과 바이러스에 강한 복화방 CMS) B-line계통 육성이 필요하며 B X B, B X C 교배를 통하여 Pedigree selection을 수행하여 현재까지 다양한 계통을 세대진전 및 선발을 통하여 계통을 육성하였다(표:7). 초장이 단간이며 내병성이 좋은 복화방계통(표7:CHSKY4B, 그림34), 과장이 길으며 중만 생종으로 바이러스에 강한 복화방계통(표7:JAPANSKY3B 그림35), 숙기가 빠르며 착과가 우수한 단과형 복화방계통(표7:BSSKYB, 그림36)등 3계통을 육성하였으며 각 육성 계통은 CMS에 Backcross를 하여 형질을 고정하였으며 이 MS계통들을 활용하여 신규 F1조합을 작성하였다.

다. C-line(임성회복 계통 : Rf) : 복화방 및 단화방 CMS에 사용될 C-line(임성회복)은 다양한 특성을 가진 계통들로 육성하였다. 생과 및 건과의 품질이 우수한 임성회복계통 2C84(표7:그림37), 연속 착과력이 우수한 임성회복계 2C96 (표7: 그림39), 극대과에 일시수확이 가능한 임성회복계 2C162(표7:그림38), 조합능력이 우수한 임성회복계통 3C187(표7:그림41)등을 육성하였으며 형질 고정과 함께 F1조합을 작성하였다.

라. 탄두형 MS-line 계통육성: 건고추의 형태로 소비가 되고 있는 탄두형 OP시장이 F1 시장으로 전환을 하고 있는 시점에 다양한 형태의 MS-line계통의 육성이 필요한 상황이다. 도입종 성검 등으로 수집된 다양한 탄두형 고추 중에서 바이러스에 강하고 과형이 우수한 C-type(임성회복계통)을 선발 후 CGMS-line의 B-line(maintainer)과 교배하여 Backcross와 선발을 진행하여 바이러스에 강하며 건과품질이 우수한 B-line계통 (TAN5B141:표7, 그림42)을 육성하여 현재 BC4세대를 진행 중이며 F1조합을 작성하여 조합성능검정을 진행하였다.

## 표8 ) 단화방 건고추 하늘초 선발 계통 특성표

번호	계통명	세대	주요특성	비고
1B84	CHSKY4B	BC6	복화방CMS, 초장 단간, 내병성 강, 과장 5CM, 과경 0.8CM,	
1004	CHSK14D	ВСО	BTYPE	
1B81	JAPANSKY3B	BC5	복화방CMS,바이러스강,과장6CM,과경1.2CM,초장장간, 진록,	
1001	JAI ANSK 13D	ВСЭ	과형우수,BTYPE	
1B90	BSSKYB	BC5	복화방CMS,바이러스강,중만생,초장중,과장5CM,과경1CM,초장	
11090	DSSKID	DC5	단간.BTYPE(임성안정,F4)	
1A98	SKYNASRf(C1	F6	바이러스강,과형우수,과장6~7CM,과형1.0~1.1CM,착과력우수,조	
1A96	99)		합능력우수.	
2C84	SKYDMSRf111	F7	단화방Ctype,중생종,바이러스강,과형이우수(광택우수),과장	D2427
2C04	SKIDMSMIII	$\Gamma l$	5cm,건과품질우수	
2C96	SKY4SRf132	F6	단화방Ctype,중만생종,바이러스강,단과(과장:4cm),연속 착과력	D9410
2C90	SK 145N1152	ro	우수	D9410
2C162	SKYVR12SRf31	F6	단화방Ctype,극대과종(과장9~10cm,과경1.2cm),바이러스강,착	D2402
2C102	8	ro	과력우수,일시수확용.	D2402
4A280	TAN5B141	BC1	탄두형,바이러스강,건과우수,과장(2.5cm),과경(2cm)	
3C187	Cheky10	kv10 F6	단화방Ctype,중만생,중과종(과장4~5cm),바이러스강,착과력우	D3218
30107	Chsky10 F	1.0	수,	100210



그림34)CHSKY4B



그림35)JAPANSKY3B



그림36)BSSKYB



그림37)SKYNASRF(C199)



그림38)SKYVR12SRf318



그림39)SKY4SRf132



그림40)SKYDMSRf111



그림41)Chsky-10



그림42)TAN5B141

3. 단화방 건고추 하늘초 품종 육성(F1 조합성능검정 시험)

가. 건고추 하늘초: 생과보다 건과를 주로 이용하는 단화방 건고추는 남방계 단화방 고추와 달리 장기 재배와 수송 안전성에 대한 요구도가 낮은 편이나는 내병성, 다수확 및 건과품질 등이 우수한 품종 요구도가 크다. 건고추 하늘초는 주로 귀주성을(그림1) 중심으로 산간 지역(해발 700~900m)에서 많이 재배하고 있으며 토양은 점질토로 우기 시 토양에수분이 많아 역병이 많이 발생하여 역병에 대한 저항성 품종이 요구된다.

1,2,3,4년차에 육성된 주요 복화방 CMS-line과 C-line(임성회복친)을 이용한 F1조합을 작성한 후 단신비홍과 대몽 등을 대비종으로 하여 F1조합성능검정을 실시하였다.

국내 연구소와 중국 귀주성(준위시) 현지 연락시험에서 단신비홍(단상이상), 대몽 등의 대비종에 비하여 수량성, 건과품질, 내병성(바이러스, 역병) 등에서 우수한 조합을 선발한 후 2년차에 시교사업을 수행하였으며 현지 판매회사와 품종 평가회를 거쳐 품종보호출원 후생산 판매를 실시하였다. 건고추하늘초 출원품종은 3품종(sjsky-7, sjsky111, sjsky2402)이

며 4조합(TINY1호 등)은시교 후 생산, 판매 진행 중에 있다.

- 나. D2223(화전111)은 조생종이며 분지수가 많아 조기 수량이 높으며 중과종으로(과장 5cm) 역병과 바이러스에 강하며 건과 품질이 우수한 품종이다(표8:그림53,54). 바이오통에서 화전111품종으로 중국에서 판매되고 있으며, 3년차인 2013년에 생산판매신고를 한 후 4년차인 2014년에 품종보호출원을 실시하였으며, 2013년 100kg(15,000\$), 2014년 300kg(73,000\$), 2015년 200.4kg(39,230\$~진행 )을 판매하였다.
- 다. D2374(K-7)은 중생종으로 역병과 바이러스에 강하며 중대과종(7cm)으로 특히 건과 품질이 우수하여 현지에서 하늘초 품종 중 건과가 가장 우수한 품종으로 인정받고 있어서시세가 30%이상 높게 판매되고 있다(표8: 그림43, 44, 45, 49). 2013년에 생산판매신고 및 품종보호출원(sjsky-7)을 실시하였으며 K-7(천괴 등)이라는 품종명으로 중국에서 판매를하고 있다. 2013년 100kg(15,000\$), 2014년 390kg(90,500\$), 2015년725kg(168,64\$ ~ 진행)을판매하였으며 점차 매출이 증대할 것으로 기대한다. 중국광저우 종자교역회에 출품하여우수품종으로 선정되었다(2013년). 중경 지방정부에서 산간지역 농민들의 소득증대를 위한품종으로 선정되어 2017년부터 재배지역 확대가 예상된다.(그림73,74)
- 라. D2402(K10)조합은 수량성이 높고 내병성(바이러스)이 강하고 극대과종(10cm)이며 초기에 집중 착과되는 품종으로 일시 수확이 가능하여 생력화가 가능한 품종익다(표5, 그림 46), 중국 광저우종자교역회에 출품하여 좋은 반응을 얻었고 현재 중국 귀주성 뿐만 아니라 파키스탄에서도 시교사업을 진행 중에 있으며 바이오통에서 K10이라는 품종명으로 등록하여 2015년 100KG 생산하였다. 4년차인 2015년에 생산판매신고를 실시하였다(품종명:SJSKY-2402). 현재 중국 외에 파키스탄에도 시교 및 소량 판매를 진행하고 있다.
- 마. TINY1호(소영1호)은 조생종으로 분지수가 많으며 바이러스와 역병에 강한 소과종(과장 4cm, 과경0.8cm)품종으로 건과 품질이 우수하며 수량이 높은 다수성 품종. 2015년 시교후 2016년 소량 판매, 2017년 300kg 판매예정(현재 생산, 판매 진행 중)
- 사. D4200(K8) 2014년 4차 년도에 K7을 보완한 선발 조합으로 K7보다 숙기가 빠르며 분지 장이 짧고 분지수가 많아 수량이 높고 건과품질이 우수하다(표8:그림59,60,66). 현재 중국 귀주성 준위에서 현지적응성 시험을 진행 중이며 현지 시험 후 K7 후속 품종으로 판매할 예정이다.

#### 표9) 2년차단화방건고추하늘초F1조합성능검정선발조합

파종 번호	계통 명	적과 수	청과수	총과 수	총생 과중	총건 과중	건과 율(%)	1생 과중	1건과 중	과장	건과 품질	비고
D2173	SKYL 1	419	239	658	624	213	34.1	1.49	0.51	5.5	2	
D2178	단상이 상	444	258	702	805	259	32.2	1.81	0.58	6.3	3	
D2187	K11	480	339	819	880	280	31.9	1.83	0.58	6.2	3	시교
D2209	K9	456	201	657	920	328	35.7	2.01	0.72	7.1	4	판매예정
D2213		446	142	588	940	307	32.7	2.1	0.69	6.5		
D2223	K5	351	390	741	710	196	27.6	2.02	0.56	6	4	판매예정
D2234		449	293	742	600	194	32.3	1.34	0.43	6		
D2248		509	309	818	800	235	29.4	1.57	0.46	5.6		남방계

D2284		444	282	726	800	263	32.9	1.8	0.59	5		
D2299		355	255	610	700	177	25.3	1.97	0.5	5		
D2304		466	117	583	720	329	45.7	1.55	0.71	6.3		
D2374	K7	397	262	659	860	275	31.9	2.17	0.69	7	4	판매예정 (역,V강)
D2402		271	250	521	723	224	30.1	2.67	0.83	9.1		(시교) V강
D2427		449	283	732	860	266	30.9	1.92	0.59	6.0		(시교) 역병,V강
D2441	·	304	256	560	700	193	27.6	2.3	0.63	5.8		



그림43)D374(K7) 개체 및 재배 전경



그림44)D2374(K7)홍과 및 건과 사진



그림45 )D2209(K9) 홍과 및 건과사진



그림46)D2402 개체 및 건과사진



그림47)중국 귀주성 준위 연락시험(PT-9:K7)





그림48)D2427 개체 및 건과 사진



그림49)중국귀주성준위연락시험(PT-9:K7,PT-11:K9)



그림50 )K5:K7:K9 홍과 비교 사진

그림51) 준위현 연락시험 전경(K5)



그림52) 역병 발생 포장(준위)K7 : 로켓칠리(천승)

## 표10 )3년차 단화방건고추 하늘초 F1조합성능검정 선발 조합표

파종	포ᄀᆏ	7] 기	-) -)	之司人	총생	총건	건과율	1생	1건	-1 -1	건과	ul ¬
번호	품종명	적과	청과	총과수	과중	물중	(%)	과중	과중	과장	품질	비교
D092	SKYLINE-1	91	468	559	771	44.5	31	1.87	0.49	5.06	2	
D098	단신비옹	236	561	797	1292	132	27	2.12	0.56	6.34	2	
D099	k5(화전111)	224	760	984	1350	122	22	1.76	0.54	5.56	4	100kg 판매
D100	K11	325	912	1237	1951	185.5	20	2.02	0.57	4.52	3	
D101	k7	296	249	545	947	181.5	22	2.1	0.61	6.1	4	100kg 판매
D102	k9	152	535	687	1507	135	21	3.29	0.89	6.9	3	
D104	K13	352	502	854	1820	262.5	25	2.85	0.75	6.29	3	시교
D106	TINY3	706	646	1352	1918	364.5	31	1.73	0.52	5.0	3	시교
D108	2427	394	500	894	1242	212	25	1.73	0.54	4.04	3	
D109	2402	380	285	665	2211	352.5	24	4.04	0.93	7.9	3	생산
D115	소아1호	910	588	1498	1663	341	23	1.23	0.37	4.88	3	시교
D116	소아2호	650	111	761	1194	290.5	25	1.66	0.45	4.84	3	
D128		257	573	830	1587	189.5	12	2.8	0.74	5.96	3	
D129		179	393	572	1130	115.5	10	2.53	0.65	6.5	3	
D136		367	550	917	1294	167.5	13	1.69	0.46	5.68	3	
D196		469	669	1138	2189	257	24	2.26	0.55	6.1	3	선발
D218		1010	421	1431	1970	366	19	1.46	0.36	6.0	2	



그림53)K5(화전111)재배전경

그림54)K5(화전111)건과사진



그림55)K7(천귀)귀주성 준위 현지 재배 포장



그림56)단생홍비(단상이상)전경 그림57)단생홍비(단상이상)건과



그림58) D2402 재배시험 및 개체 사진, 건과 수량(D121:2012TP2,D120:skyline2,D109:2402)

## 표11)4년차 단화방 건고추하늘초 F1조합성능검정 선발 조합 결과

파종 번호	계통명	주당 과수	건과율 (%)	1생 과중	1건과 중	과장	과경	건과 품질	비고
133	단신홍비	227	27	1.91	0.51	5.7	1.17	2	
135	대몽	281	28	2.28	0.63	5.84	1.06	4	
140	TYNI1	478	27	1.55	0.42	5.1	1.03	3	
142	TINY3	495	29	1.64	0.48	5.6	1.03	4	
143	K13	298	29	2.38	0.69	6.2	1.17	4	시교사업
145	화전111	371	35	1.65	0.57	5.5	1.03	4	300kg판매
146	K7	346	34	1.83	0.63	5.8	1.14	5	390kg판매
148	2402	665	24	4.04	0.93	7.9	1.20	4	생판신고,100 kg생산
161	14BT17	445	29	1.84	0.54	5.8	1.02	4	
172		209	25	2.59	0.64	6.1	1.08	4	
174		261	30	1.59	0.48	5.4	0.93	4	
196		206	20	3.97	0.81	6.9	1.34	4	
200	K8	456	27	1.75	0.47	5.6	0.99	4	시교
201		454	28	1.66	0.47	5.2	0.91	4	

## 표12) 5년차 단화방 건고추 하늘초 F1조합성능검정 선발 조합 결과

파종 번호	계통명	주당과 수	건과율 (%)	1생 과중	1건과 중	과장	과경	건과 품질	비고
D259	단신 비홍	314	34	1.95	0.73	12.2	0.55		
D260	TINY1: 소영1호	529	34	1.13	0.44	9.6	0.49	4	출원 예정
D262	TINY3	451	30	1.49	0.57	11.8	0.57	4	
D264	K5	545	28	1.99	0.72	12.7	0.61	4	sjsky-111
D265	K7	398	34	2.34	0.80	12.4	0.66	5	sjsky-7
D266	K9	271	33	1.82	0.64	11.6	0.64	4	
D267	K10	271	26	3.29	0.91	16.7	0.75	4	sjsky2402
D269		592	35	1.60	0.60	13.2	0.60	4	
D270		462	33	1.97	0.77	12.5	0.70	4	
D271		458	26	2.49	0.84	12.9	0.92	3	
D274		614	30	2.34	0.80	12.2	0.72	3	
D277		486	31	2.09	0.74	12.8	0.69	4	
D278	K8	279	29	1.82	0.65	12.4	0.78	4	
D279		662	34	1.31	0.48	10.5	0.63	4	
D281		448	30	1.64	0.60	11.1	0.62	4	
D282		488	31	1.92	0.70	10.9	0.62	4	
D372		666	28	1.80	0.60	10.9	0.75	4	
D376		486	33	1.53	0.59	10.6	0.67	4	
D391		432	32	2.02	0.69	11.3	0.72	3.7	

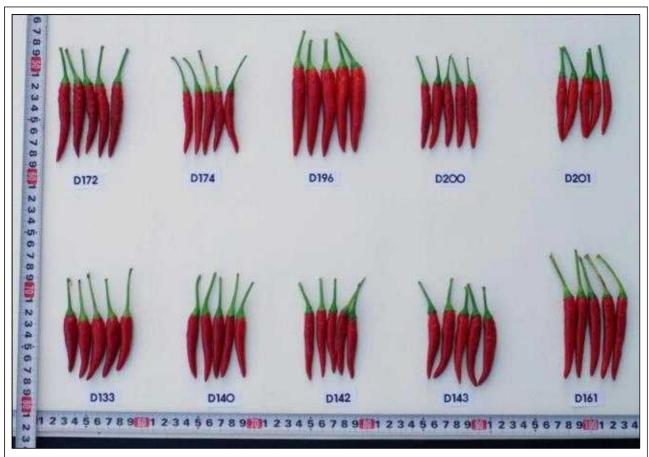


그림59) 4년차 단화방건고추 개체 사진

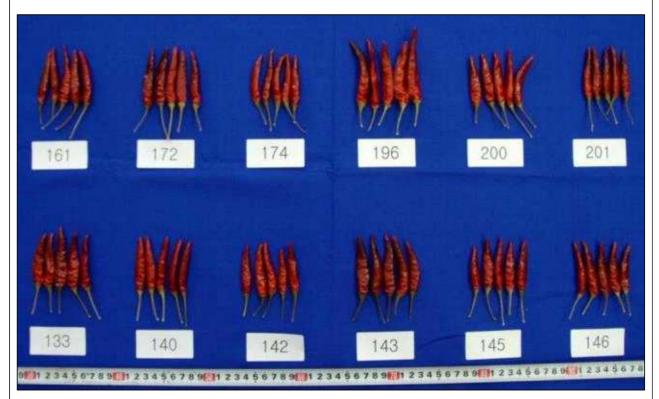


그림60) 4년차 단화방건고추 건과 사진







그림73) 충칭 K-7현지 재배

그림74)K-7 재배전경



그림 75)K-7 준위 재배농가

그림76) K-7홍과 및 청과

### 4절. 복화방 하늘초 계통 및 품종 육성

#### 1. 재료 및 방법

가. 파 종 일 : 국내- 2월 중순, 중국-2월 중순, 8월 말

나. 시험장소 : 국내- 경기도 안성시 미양면 갈전리, 중국 - 하이난도 산야 연구농장, 하남 삼무현

다. 시험방법 : F1 조합성능검정 - 난괴법 3반복(각 5주) 중국 : 1반복(20주)

#### 2. 복화방 하늘초 계통 육성

가. MS-line 계통육성: 단화방 및 복화방의 공통모계(MS-line)로 사용되는 복화방 CMS의 경우 C-line(단화방, 복화방)에 따라서 단화방건고추 및 복화방 하늘초로 다양하게 사용할 수 있다(단화방이 우성 임). 중국 산동과 하남성은 밀과 혼작으로 재배기간이 짧기 때문에 조생종이면서 일시에 수확 가능하며 건과품질이 우수한 품종이 요구된다.

보유 MS계통을 활용한 예비조합능력 평가와 조생 복화방이며 장과(8~9CM)형인 B-line 계통을 육성 후CGMS에 Backcross를 실시하여 조생 대과종인 복화방 계통인 SHM307cms(BC4)을 육성하였으며(표11: 그림77) 이 계통을 이용하여 다양한 C-line과 조합을 작성하였고 현재 F1조합성능검정을 수행하였다.

- 나. B-line(maintainer): 다양한 재료를 육성하기 위해서 (B-line x B-line), (B-line x C-line)간의 교배를 통해서 개체를 획득하고 F4 및 BC2F4로 세대를 진전 시키고 있으며 이를 MS-line(웅성불임계통)에 지속적인 Backcross를 실시하여 다양한 계통을 육성 중에 있다.
- 다. C-line(임성회복 계통 : Rf) : 복화방 계통은 대부분이 B-line type으로 C-line type의 육성재료가 다양하지 못하여 다양한 복화방 품종 육성에 한계가 있다. 따라서 다양한 복화방 C-line을 만들기 위하여 기존 복화방 C-line들 간 교배(C-line x C-line)는 물론이고 복화방 C-line과 복화방 B-line 간의 교배(C-line x B-line)를 통한 계통육성을 진행하여 원예적 형질이 좋은 4계통을 선발 하였으며(표11:그림78,79,80,81) 이들 계통을 이용하여 신규 F1조합을 작성하였으며, 현재 F1 조합성능검정을 시험 후 우수조합을 선발하였다.

#### 표13)복화방 하늘초 선발계통 주요 특성표

번호	계통명	주요특성	비고
4A126	SHM307cms	복화방 CMS, 조생, 바이러스 강, 장과(8~9CM),다수성, 건과품질 우수	2013년 sjsky6360 모계
2C95	SKY3MURf129	복화방 Ctype,중생, 바이러스에강,중과(과장:5cm)	2012년
2C115	SKYRKCMURf158	복화방 Ctype,중생,바이러스에강,소과(과장:3cm)	2012년
3C219	Chsky21	복화방 Ctype,중생,바이러스에강,중과(과장:5cm), 예비조합능력우수	sjsky6360 부계
3C238	Skymuctype	복화방 Ctype, 중생,바이러스에 강, 중과(과장:5cm), 예비조합능력우수	D216,217 F1조합







그림77)SHM307cms

그림78)SKY3MURf129

그림79)SKYRKCMURf158





그림80)Chsky21

그림81)Skymuctype

- 3. 복화방 하늘초 품종 육성(F1 조합성능검정 시험)
- 가. 현재 중국 복화방 주 재배지역은 하남성과 산동성으로 품종은 두 Segment로 나눌 수 있으며 밀 후작으로 재배 할 수 있는 조생종품종과 한 기작으로 재배하는 중만생 품종으로 나눌 수 있다. 조생종 복화방 하늘초 품종은 숙기가 빠른 조생종으로 일시에 수확하며 건과가 용이하고 건과품질이 좋으며 조기 착과가 많은 품종이 요구되고, 중만생종 품종은 숙기가 늦어도 내병성이며(바이러스) 수량이 많이 나오고 건과 품질이 우수한 품종을 선호한다.
- 나. 2년차에서 형질이 고정된 복화방 하늘초(단화방 건고추용으로 육성된 MS-line포함) MS-line에 대하여 새로 육성된 복화방 C-type(임성회복 계통) 4계통을 F1 예비조합을 작성하여 3년차에 F1조합 성능검정 결과 부계 2계통(Chsky21, Skymuctype)의 F1조합능력이 우수하였다(표13).3년차에서 4조합(D162,175,186,225)이 선발 되었으며 선발 조합 중 D162은 조생종으로 수량성이 높고 건과품질이 우수하여 중국 하남성에서 현지 적응성시험을 실시할 예정이다.

- 다. 4년차에서도 국내 성능검정시험 결과 2013년 조합성능이 우수하였던 D162(13BTP6)은 대비종 촉랄화전(현지 우수품종)보다 수량성은 유사하나 건과품질이 우수하였으며, 중국하남성 삼문협에서도 현지적응성시험 결과에서도 바이러스에 강하고 건과품질이 우수하여 현지 반응이 좋아 2015년 현재 50kg생산 중이며 품종보호출원(SJSKY4229)을 실시하였다 (표13: 그림87,88). 모계(CMS-line)은 k7 모계(복화방하늘초)를 사용하였다. 새로 육성된 조생장과형인 복화방 MS-line인 SHM307cms 계통과 C-line(임성회복 친) 2계통 (Chsky21, Skymuctype, 표13)을 중심으로 작성된 신규 F1조합을 작성하였다.
- 라. 5년차에는 새로 육성된 조생장과형인 복화방 MS-line인 SHM307cms 계통과 C-line(임 성회복 친) Chsky21계통 조합인 15 BTP16(SJSKY6360)을 선발 후 현지 재배시험과 품종 보호출원을 진행 중에 있으며 2017년 50kg을 생산 예정이다.
- 마. 13BTP6(SJSKY4429): 중생종으로 초기부터 후기까지 착과력이 우수하여 다수성이며 건 과품질이 우수하고 신미가 매우 강하며 바이러스에 내병성인 품종이다.(표14,15,16) 2016년 SK33으로 70kg을 수출(19,720\$)하였으며 향 후 수출 증대가 기대된다.
- 바. 15BTP16(SJSKY6360): 조생종품종으로 건과품질이 매우 좋으며 숙기가 빨라 산동 및 하남지역 밀 재배 후작으로 적합하며 2017년 확대 시험 후 중국 및 파키스탄에 수출 예정 임.

표14) 3년차복화방하늘초F1조합성능검정선발조합

파종	품종명	적과	청과	총과	총생과	총건	건과율	1생	1건	과장	건과	비교
번호	8 8 B	74	78 24	수	중(g)	중(g)	(%)	과중(g)	과중(g)	(cm)	품질	H1 712
D120	SKYLINE-2	216	206	422	1220	200	21	3.44	0.93	7.16	2	몬산토
D123	SKYLINE-3	63	912	975	1650	40.5	30	2.89	0.64	6.48	2	몬산토
D105	K15	297	246	543	926	147.5	27	1.75	0.5	6.34	3	
D121	TP1:2012년	195	383	578	1529	134	21	3.16	0.69	7	3	
D122		149	467	616	1335	80	25	2.63	0.54	6.82	3	
D124	화전3호	245	240	485	1125	140	29	2.73	0.57	6.56	3	
D162		525	139	664	1217	313	26	1.9	0.6	6.2	3.5	시교예정 (13BTP6)
D175		471	11	482	1040	237	23	2.16	0.5	6.02	3.5	선발조합
D186		350	46	396	810	182.5	23	2.1	0.52	5.4	3.5	선발조합
D197		193	145	338	820	132	16	2.67	0.68	5.66	4	
D213		180	41	221	297	61.5	21	1.39	0.34	5.92	3	
D216		390	180	570	866	134	15	1.63	0.34	5.98	3	
D217		350	161	511	848	135	16	1.84	0.39	6.58	3	
D222		247	28	275	584	161.5	28	2.17	0.65	6.04	3	
D225		279	47	326	817	197	24	2.46	0.71	5.54	3.5	선발조함

건과품질: 좋음(4)~나쁨(0)



표15)4년차복화방하늘초F1조합성능검정선발조합

파종 번호	계통명	주당 과수	건과율 (%)	1생 과중	1건 과중	과 장	과경	건과 품질	비고
D211	SKYLINE2	102.5	24	3.68	0.89	6.38	1.26	3	
D212	SKYLINE2 신조합	166.5	28	3.29	0.93	6.11	1.07	3	
D214	2012TP1	157.5	28	2.63	0.73	5.90	1.18	3	
D215	SKYLINE3	181.2	26	2.51	0.66	5.04	1.16	2	
D219	촉랄화전	256.7	29	2.27	0.66	5.37	1.22	3	대비종
D220	14BT4	209.0	26	2.49	0.64	6.66	1.26	4	
D229	13BTP6A	256.7	30	2.40	0.42	5.50	1.12	4	품종보호출원 (SJSKY4429)
D232	2013BTP09 A	303.0	25	2.50	0.63	6.10	1.13	4	
D234		122.5	25	2.37	0.6	5.00	1.11	4	
D238		369.5	25	2.25	0.57	5.94	1.10	3	
D240		243.7	22	2.50	0.55	5.39	1.13	4	
D243		289.2	26	2.02	0.53	5.87	0.92	4	
D247		273.7	28	2.30	0.63	5.84	1.04	4	

건과품질: 좋음(4)~나쁨(0)

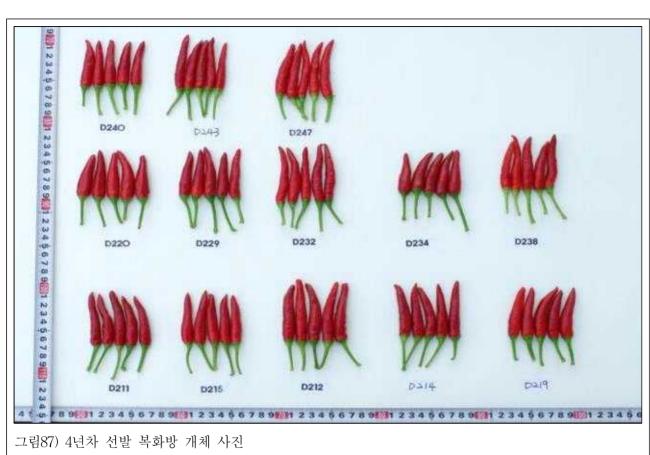


그림87) 4년차 선발 복화방 개체 사진



그림88) 4년차 선발 복화방 건과 사진



표 16) 5년차 복화방 하늘초 F1조합성능검정 선발조합

파종 번호	계통명	주당 과수	건과율 (%)	1생 과중(g)	1건 과중(g)	과장 (cm)	과경 (cm)	건과 품질	비고
D441	SKYLINE2	214.0	19	2.84	0.69	11.90	0.77	3	
D442		194.3	24	3.56	0.95	12.30	0.78	3.5	
D443		191.3	24	3.46	0.91	9.30	0.73	3	
D446	SKYLINE3	299.7	26	2.38	0.85	11.84	0.64	2	
D450	화랄랄	274.3	28	1.98	0.65	8.70	0.59	3	
D272		385.7	26	2.59	0.89	11.18	0.65	3	
D445		260.0	26	3.02	0.89	11.84	0.74	3	
D447	13BTP6	402.0	27	1.91	0.63	10.00	0.56	4	품종보호출원: sjsky-4229
D448		271.7	29	2.42	0.78	11.10	0.65	3	
D454	15BTP16	285.3	29	1.81	0.75	9.78	0.67	4	품종보호출원: sjsky-6360
D455		193.0	25	1.58	0.41	7.84	0.57	3	
D458		140.7	32	2.28	0.88	9.00	0.58	4	
D460		161.3	30	2.78	0.86	9.40	0.72	3	
D470		253.3	25	2.55	0.74	9.80	0.73	3	
D667		242.7	29	2.53	0.84	10.10	0.60	3	

건과품질: 좋음(4)~나쁨(0)

# 5절. 육성 계통 및 조합에 대한 병저항성(역병, 청고병, 바이러스) 검정 시험

#### 1. 역병 저항성 검정 시험

가. 재료 및 방법: 보유중인 BTPC1균주를 PDA배지에서 배양 후 V8배지에서 4일 간 균사배양 후 배지에 균사가 전면에 퍼진 후 광(light)을 2일 간 stress를 주어 포자낭포장를 형성 후 유주자를 수거하여 포자농도를 2X105~2X106/ml로 조절하여 식물체 1주당 2ml씩 접종하고 발병 후 1개월 간 발병 유무를 조사하였다.

#### 나. 시험결과 :

1년차 15계통(대비종포함)에 대한 검정을 실시하여 skydm375rf에 대하여 생물검정 및 마커분석에서 동일하게 저항성을 보였으면 선발조합인 D375에 대해서도 중강의 저항성을 보였다(표24).

2년차 26계통에 대한 검정에서는 D427,K9,K5등이 저항성을 보였으며 1년차에서 선발된 조합 D375(K7)도 전년과 동일하게 저항성을 보였다(표25).

3년차에 실시한 시험에는 1차 역병 검정 결과 병원균의 활력이 낮아 이병품종(대비종:금수강산)이 생존율이 17%로 나타나 전체적인 저항성을 검정하기 어려웠으며 2차 저항성검정은 병원균 활성이 높아 이병성 대비종(인가홍) 뿐만 아니라 저항성 품종(대세)도 생존율이 33.3%로 낮게 나타나 저항성 계통 및 조합 선발을 하기가 어려웠으나 계통 12점 중저항성 2계통, 조합 30점 중 저항성 4조합을 선발하였다.(표26, 그림.108)

4년차에 실시한 시험에서는 B-line육성을 위한 (B X C)와 C-line 계통에 대한 검정시험을 실시한 결과, 17조합 20계통 1대비종 총 38저항성 계통이 선발 됨. 선발된 계통과 조합은 계통 육성과 신규 조합작성에 활용할 예정이다(표27).

#### 표24)1년차검정결과

계통	검정계통	저항성계통	선발조합	비고
계통	4	1	1	
조합	7	1	1	K5,k7,k9,D427
대비종	4	1	_	단신이상
계	15	3	2	

#### 표25)2년차검정결과

계통	검정계통	저항성계통	선발조합	비고
계통	7	5	2	
조합	15	7	4	K5,k7,k9,D427
대비종	4	1	_	대몽
계	26	13	6	

## 표26)3차년도하늘초계통및선발조합역병저항성검정시험결과표(1,2차검정)

계통	검정계통	저항성계통	선발조합	비고
계통	29	2	2	
조합	30	17	4	
대비종	4	13	_	대몽,대세,빅스타,금수강산
계	53	31	6	

## 표27)4차년도하늘초계통및선발조합역병저항성검정시험결과표(1,2차검정)

계통	검정계통	저항성계통	선발조합	비고
계통	91	20	20	
조합	22	17	9	
대비종	3	1	_	대몽,염홍,단신비홍
계	116	38	29	

#### 표28)1년차하늘초계통및선발조합역병검정시험결과표

No.	계통명	검정수	이병주수	생존주율 (%)	저항성 정도	비고
1	대몽	25	12	48	+++	
2	염홍	3	3	0	+	
3	베베홍	25	18	25	++	
4	단신이상	25	17	68	++++	
5	bbhf2	23	23	8	+	
6	skydm375rf	14	4	72	++++	M.MPositive
7	skydm374rf	17	17	0	+	M.MNegative
8	D375	20	8	68	++++	
9	tp17c	25	1	4	+	
10	8d223	25	5	20	++	
11	9d238	25	20	20	++	
12	9d293	21	18	15	+	
13	10d147	12	12	0	+	
14	10d166	11	9	19	+	
15	10d213	13	10	24	++	
계		284	175	27.0	++	

<sup>-</sup>저항성정도:+(저항성약)~++++(저항성강)

<sup>-</sup>MM:MolecularMarker



그림105)skydm375rf계통

그림106)대몽

## 표29)2년차하늘초계통및선발조합역병검정시험결과표

No.	계통명	검정수	이병주수	이병주율 (%)	저항성정도	비고
1	ksks	23	21	91.3	+	이병성control
2	mhjs	22	5	22.7	++++	저항성control
3	back1	20	8	40.0	+++	
4	back2	23	7	30.0	++++	
5	2011D31	21	10	47.6	+++	
6	2011D55	23	8	34.8	++++	
7	2011D56	19	9	47.4	+++	
8	2011D57	25	12	48.0	+++	
9	2011D58	25	8	32.0	++++	
10	SKY1	21	20	95.2	++	
11	대몽	18	3	16.7	++++	
12	K5	23	6	26.1	++++	
13	K7	21	5	23.8	++++	
14	K9	23	9	39.1	++++	
15	K11	24	9	37.5	++++	
16	BTP1	25	13	52.0	+++	
17	BTP2	25	18	72.0	++	
18	BTP5	25	15	60.0	++	
19	BTP6	23	16	69.6	++	
20	2011D87	22	7	31.8	++++	
21	D284	25	13	52.0	+++	
22	D304	21	16	76.2	++	
23	D348	25	6	24.0	++++	
24	D393	25	7	28.0	++++	
25	D402	18	14	77.8	++	
26	D427	19	5	26.3	++++	
평균		22.5	10,4	46.2	+++	

-저항성정도:+(저항성약)~++++(저항성강)

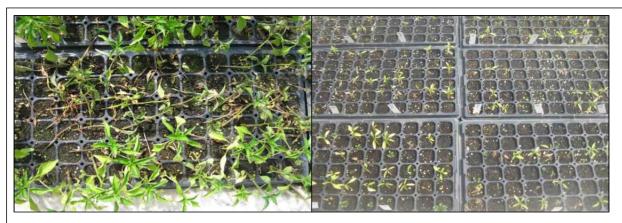


그림107,108)역병발병

## 표30)3년차1차하늘초계통및선발조합역병검정시험결과표

世 <u>支</u> 1 2 4	<b>계통명</b> 역홍 대몽	검정주수 15	이병주수	생존주수	생존주율	저항성	l HI T
1 2 4	대몽	15			(%)	정도	비고
4			3	12	80	++++	남방하늘초성검
		15	1	14	93	+++++	
	2348	9	2	7	78	++++	13년2월해남도분
5	13TP4	11	1	10	91	+++++	
6	13TP14	16	0	16	100	+++++	
7	D133	18	0	9	100	+++++	건고추하늘초성검
8 T	TINY1(소아1호)	16	0	16	100	++++	
9 T	「INY2(소아2호)	16	2	14	88	+++++	
10 1	12TP6(TINY3)	9	0	9	100	+++++	
11	K5(화전8호)	15	2	13	87	+++++	
12	K7	7	0	7	100	+++++	
13	K9	14	0	14	100	+++++	
14	K11	16	1	15	94	+++++	
16	2402(K10)	14	3	11	79	+++++	
17	12TP5	15	3	12	80	++++	
19	SKYLINE2	16	2	14	88	+++++	복화방하늘초성검
21	SKYLINE3	16	1	15	94	+++++	
22	12TP2	6	0	6	100	+++++	
23		14	3	11	79	++++	
26	13TP6	16	1	15	94	+++++	
27	13TP7	15	1	14	93	+++++	
28	13TP8	16	1	15	94	+++++	
29	13TP9	16	0	16	100	+++++	
30	pe403	14	1	13	93	+++++	
31	pe387	9	2	7	78	++++	
32	TAN5	8	1	7	88	+++++	탄두형하늘초성검
	HOTBRRRYUP	16	2	14	88	++++	
35	13TP11	16	6	10	63	++++	
36	13TP12	16	4	12	75	++++	
37	13TP15	11	6	5	45	+++	
	3TP15*pe308-1	12	4	8	67	++++	
39	A76*pe309-2	16	2	14	88	+++++	
40	A76*pe403-1	16	2	14	88	+++++	
41	A76*pe403-4	15	5	10	67	++++	

42	A81*BPE21	15	1	14	93	+++++	
43	A81*pe305-2	16	1	15	94	+++++	
44	A81*pe306-2	16	8	8	50	+++	
45	A81*pe307-2	16	7	9	56	+++	
46	A81*pe309-2	15	7	8	53	+++	
47	A81*pe403-1	16	7	9	56	+++	
48	A81*pe403-4	16	10	6	38	++	
52	금수강산	12	10	2	17	+	한국고추:대비종
53	빅스타	15	5	10	67	++++	



그림109) 하늘초 고추 1차 역병 저항성 검정시험

표31)3년차 하늘초 2차 계통 및 선발 조합 역병 검정시험 결과표

파종No	BN	계통명	검정주수	이병주	생존주	생존주율	저항성 정도	비고
PCA1		인가홍	12	12	0	0	+	
PCA2		대세	12	8	4	33.3	++	
PCA7	SSUR14CMS	A123	12	12	0	0	+	
PCA8	SFS186*187	A124	12	12	0	0	+	
PCA9	SHM309	A125	12	12	0	0	+	
PCA10	SHM307	A126	12	12	0	0	+	
PCC91		DMK7RFC	12	12	0	0	+	
PCC92		SHM1069-3	12	8	4	33.3	++	
PCD18	SY1402D-10	H14x16	12	12	0	0	+	
PCD19	SY1402D-11	H15x16	12	12	0	0	+	

<sup>\*</sup>저항성정도:강++++\*~약+



그림110) 하늘초 고추 2차 역병저항성 검정 시험

표32)4년차 하늘초 계통 및 선발조합 역병 검정 시험 결과표

파종No	계통명	검정 주수	이병주	생존 주	생존주 율	저항성정 도	비고
PCTB-001	B200-1	18	18	0	0%	+	
PCTB-002	B208-1	17	17	0	0%	+	
PCTB-003	B215-1	18	18	0	0%	+	
PCTB-004	B219-1	18	18	0	0%	+	
PCTB-005	B227-2	18	18	0	0%	+	
PCTB-006	B230-2	18	18	0	0%	+	
PCTB-007	B232-1	18	18	0	0%	+	
PCTB-008	B236-2	18	18	0	0%	+	
PCTB-009	B237-1	16	16	0	0%	+	
PCTB-010	B238-1	18	18	0	0%	+	
PCTB-011	B240-1	16	11	5	31%	++	
PCTB-012	B241-2	16	16	0	0%	+	
PCTB-013	B243-1	16	16	0	0%	+	
PCTB-014	B244-2	18	18	0	0%	+	
PCTB-015	B246-2	18	18	0	0%	+	
PCTB-016	B247-2	18	18	0	0%	+	

Domp of						<u> </u>	 I
PCTB-017	B248-1	11	11	0	0%	+	
PCTB-018	B250-1	18	18	0	0%	+	
PCTB-019	B251-2	18	18	0	0%	+	
PCTB-020	B256-2	18	18	0	0%	+	
PCTB-021	B257-2	17	17	0	0%	+	
PCTB-022	B264-2	19	3	16	84%	++++	
PCTB-023	B265-1	18	8	10	56%	+++	
PCTB-024	B268-2	18	18	0	0%	+	
PCTB-025	B274-1	18	18	0	0%	+	
PCTB-026	B335-2	17	17	0	0%	+	
PCTB-027	B336-2	18	18	0	0%	+	
PCTB-028	C390-1	12	5	7	58%	+++	
PCTB-029	C391-2	16	4	12	75%	++++	
PCTB-030	C393-1	18	15	3	17%	+	
PCTB-031	C396-1	18	18	0	0%	+	
PCTB-032	C396-2	18	18	0	0%	+	
PCTB-033	C397-1	18	18	0	0%	+	
PCTB-034	C397-2	14	14	0	0%	+	
PCTB-035	C398-1	18	18	0	0%	+	
PCTB-036	C399-1	17	17	0	0%	+	
PCTB-037	C400-2	18	18	0	0%	+	
PCTB-038	C401-1	18	18	0	0%	+	
PCTB-039	C402-2	18	18	0	0%	+	
PCTB-040	C403-1	15	15	0	0%	+	
PCTB-041	C468-1	17	5	12	71%	++++	
PCTB-042	C468-2	12	12	0	0%	+	
PCTB-043	H101-3	14	14	0	0%	+	
PCTB-044	B336-2XC399-1	18	18	0	0%	+	
PCTB-045	B336-2XC400-2	18	18	0	0%	+	
PCTB-046	B336-2XC401-1	18	18	0	0%	+	
PCTB-047	B337-1XC399-1	17	17	0	0%	+	
PCTB-048	B337-1XC400-2	18	18	0	0%	+	
PCTB-049	B337-1XC401-1	18	18	0	0%	+	
PCC-046	14C332	20	0	20	100%	++++	4229
PCC-047	14C203	20	0	20	100%	++++	4143
PCC-048	14C210	20	0	20	100%	++++	
PCC-049	14C212	20	0	20	100%	++++	4200
PCC-050	14C214	20	0	20	100%	++++	
PCC-051	14C215	20	0	20	100%	++++	
PCC-052	14C218	20	0	20	100%	++++	
PCC-053	14C219	20	0	20	100%	++++	
PCC-054	14C221	20	0	20	100%	++++	4201
PCC-055	14C227	18	12	6	33%	++	
PCC-056	14C255	18	18	0	0%	+	4174
PCC-057	14C352	18	18	0	0%	+	4234
PCC-058	14C185	18	18	0	0%		

PCC-059	14C188	18	18	0	0%	+	
PCC-060	14C184	5	5	0	0%	+	
PCC-061	14C246	13	8	5	38%	++	
PCC-062	14C248	21	21	0	0%	+	
PCC-063	14C300	20	16	4	20%	+	
PCC-064	14C304	21	11	10	48%	+++	
PCC-065	14C274	20	20	0	0%	+	
PCC-066	14C275	20	20	0	0%	+	
PCC-067	14C278	20	20	0	0%	+	
PCC-068	14C279	20	17	3	15%	+	
PCC-069	14C287	20	17	3	15%	+	
PCC-070	14C290	20	20	0	0%	+	
PCC-071	14C253	20	20	0	0%	+	4196
PCC-072	14C254	20	20	0	0%	+	4196
PCC-073	14C262	20	20	0	0%	+	
PCC-074	14C312-1	20	2	18	90%	++++	
PCC-075	14C411-1	20	2	18	90%	++++	
PCC-076	14C411-2	20	2	18	90%	++++	
PCC-077	14FC411-2	11	4	7	64%	++++	
PCC-078	14FC411-3	20	20	0	0%	+	
PCC-079	13BPE21	20	3	17	85%	++++	
PCC-080	14C380-1	20	20	0	0%	+	
PCC-081	14C382-2	20	2	18	90%	++++	
PCC-082	14C388-1	20	2	18	90%	++++	
PCC-083	2013BTP11C	20	20	0	0%	+	
PCD-051	단신비옹	24	11	13	54%	+++	
PCD-052	염홍	24	13	11	46%	+++	
PCD-053	대몽	24	16	8	33%	++	
PCD-054	K5	24	11	13	54%	+++	
PCD-055	K7	24	10	14	58%	+++	
PCD-056	K9	24	13	11	46%	+++	
PCD-058	K11	24	24	0	0%	+	
PCD-059	K13:1289	24	23	1	4%	+	
PCD-060	K15:1284	24	19	5	21%	++	
PCD-061	14BTP19	24	0	24	100%	++++	
PCD-062	14BTP20	24	12	12	50%	+++	
PCD-063	2013BTP04A	24	7	17	71%	++++	
PCD-064	UP1416	24	24	0	0%	+	
PCD-065	14BT14	24	14	10	42%	+++	
PCD-066	14BT23	24	24	0	0%	+	
PCD-067	TINY1:소영1호	22	2	20	91%	++++	
PCD-068	TINY3	12	7	5	42%	+++	
PCD-069	14BT17	12	2	10	83%	++++	
PCD-071	K5CMSxCHSKY10	12	12	0	0%	+	
PCD-072	14D211	18	5	13	72%	++++	
PCD-073	14D214	18	2	16	89%	++++	



그림111) 4년차 역병검정

#### 2. 청고병 검정시험

- 가. 충북대에 의뢰하여 파종후 4엽기의 고추묘종에 대하여 병원균(Ralstonia solanacarum, GMI1000)를 대상으로 접종밀도(O.D.600 = 1.0)로 2ml씩 관주접종(무상처 및 뿌리상처)후 30℃, 12시간 광처리 방법으로 실시진행을 하였다
- 나. 3년차에 실시한 4점, 조합 : 11점, 계통 : 8점 대한 실험결과 남방계 하늘초 육성 계통 및 조합을 대상으로 청고병저항성 시험결과 이병성인 대비종 왕대박 품종은 100% 모두

이병이었으며 조합 D30, 13TP4이 저항성 및 중도저항성이었으며, 계통은 PE2012C215이 중도저항성 이었다(표33).

다. 4년차 대비종 7점, 조합 11점, 계통 28점 대하여 청고병 저항성검정시험 결과 B-line 2 계통이 저항성이었으며 2016년 이를 MS계통의 조합에 대한 청고병 검정을 수행할 예정이다(표34).

표33) 3년차 청고병 검정 결과

			7	일			14	.일		저항성
파종번호	계통명	발병	주률	발병	지수	발병	주율	발병	지수	
		NONE	CUT	NONE	CUT	NONE	CUT	NONE	CUT	정도
PS1	탄탄대목	22.2	33.3	8.3	11.1	66.7	66.7	44.4	50	+++
PS2	강한뿌리	55.6	100	33.3	82.1	77.8	100	69.4	100	+
PS3	BTP30	44.4	55.6	33.3	55.6	100	88.9	75	72.2	++
PS4	D30	12.5	14.3	3.1	3.6	25	42.9	18.8	25	++++
PS7	염홍	83.3	60	16.7	45	83.3	100	70.8	100	+
PS8	2348	36.4	63.6	36.4	63.6	81.8	100	81.8	100	+
PS9	13TP4	22.2	37.5	22.2	37.5	88.9	75	72.2	50	+++
PS10	13TP14	20	20	10	20	60	80	30	70	++
PS11	단상비홍	66.7	100	66.7	100	66.7	100	66.7	100	+
PS12	소아1호	25	57.1	25	46.4	100	100	100	100	+
PS13	소아2호	37.5	57.1	25	53.6	75	100	59.4	96.4	+
PS14	12TP6	100	100	100	100	100	100	100	100	+
PS15	K5	63.6	70	61.4	60	90.9	100	88.6	95	+
PS16	K7	40	50	30	47.5	70	100	65	100	+
PS17	PE2011C66	100	100	100	91.7					+
PS18	BPE23	50	100	18.8	100					+
PS19	PE2012C120	25	57.1	6.3	50					+++
PS20	PE2012C127	57.1	100	42.9	92.9					+
PS21	PE2012C215	37.5	50	18.8	40.6					+++
PS22	PE2012C216	87.5	87.5	71.9	75					++
PS23	PE2012C251	60	80	55	75					++
PS24	PE2012C139	100	100	75	100					+
PS25	왕대박	50	80	45	72.5	100	100	100	100	이병성 CONTROL

저항성정도:저항성+++++~이병성+



그림112)청고병접종결과

표34) 4년차 청고병 검정 결과

파종번호	계통명	7일차	10일차	14일차	저항성정도
PS-001	탄탄대목	40.6	59.4	62.5	++
PS-002	TM-999	0.0	7.5	30.0	++++
PS-003	PTB	0.0	0.0	0.0	++++
PS-004	무한질주	0.0	0.0	10.0	+++++
PS-005	대세	0.0	0.0	6.3	+++++
PS-006	대세플러스	0.0	22.2	33.3	++++
PS-007	2013BTP03A	0.0	14.3	50.0	+++
PS-008	SH-1936	0.0	37.5	45.0	+++
PS-009	염홍	0.0	13.9	22.2	++++
PS-010	12BTP03	0.0	10.0	20.0	++++
PS-011	12BTP04	5.0	25.0	50.0	+++
PS-012	13BTP14	2.8	19.4	30.6	++++
PS-013	K5	5.6	35.0	44.4	+++
PS-014	K7	0.0	8.3	42.9	+++
PS-015	14BTP19	0.0	29.2	65.0	++
PS-016	14BTP20	0.0	42.5	25.0	++++
PS-017	TAN12	12.5	18.8	50.0	+++
PS-018	2013BTP12	0.0	32.1	70.0	++
PS-019	B019	0.0	32.5	28.1	++++
PS-020	B289-2	0.0	15.0	82.1	+
PS-021	B290-1	0.0	8.3	87.5	+
PS-022	B291-1	0.0	25.0	20.0	++++
PS-023	B137-1	0.0	25.0	11.1	+++++
PS-024	B137-2	0.0	11.1	37.5	++++
PS-025	B091-3	0.0	10.0	37.5	++++
PS-026	B285-1	0.0	25.0	41.7	+++

PS-027	B287-1	0.0	32.5	30.0	++++
PS-028	B287-2	6.3	8.3	56.3	+++
PS-029	B286XC400-2	0.0	14.3	40.0	++++
PS-030	BT33-CMS	0.0	0.0	55.6	+++
PS-031	SY1402C-30	0.0	25.0	50.0	+++
PS-032	C540	0.0	22.2	25.0	++++
PS-033	C424-1	0.0	10.0	40.0	++++
PS-034	C424-3	5.6	10.0	44.4	+++
PS-035	2014BPE33	5.0	47.5	40.0	++++
PS-036	2014BPE15	0.0	27.5	27.5	++++
PS-037	FC580	5.0	25.0	50.0	+++
PS-038	FC581	7.5	15.0	40.0	++++
PS-039	DMG253	0.0	13.9	14.3	+++++
PS-040	DMG253-5	0.0	15.0	30.0	++++
PS-041	DMG254	0.0	27.5	33.3	++++
PS-042	DMG255	0.0	38.9	40.0	++++
PS-043	DMG256	0.0	7.5	40.0	++++
PS-044	DMG257	0.0	20.0	77.8	++
PS-045	14BPE34	0.0	60.0	30.0	++++
PS-046	14BPE35	5.0	20.0	60.0	+++
왕대박		0.0	61.1	100	+

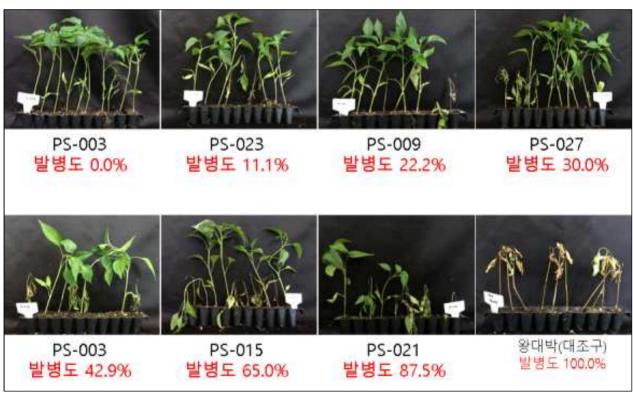


그림113)4년차 청고병 검정 결과

#### 3. 바이러스(CMV CO) 저항성 검정 시험

#### 가. 재료 및 방법

2년차에 채소병리사업단 강릉원주대학교에 검정시험을 의뢰하여 수행하였음.

#### 나. 시험결과 :

14계통과 2품종에 대하여 CMV 저항성 생물검정을 실시하였으며 계통 중 k5, k7, k9의 부계친으로 사용되는 375rf계통이 생물검정 결과 저항성이었으며(표35,36 그림114) 포장시험에서도 CMV에 저항성(달관조사)을 보여 결과가 서로 일치하였으나 에프엔피(주)의 marker 검정 결과는 불일치하여 마커에 의한 저항성 계통 선발은 좀 더 고려하여야 할것으로 생각된다.

AVH와 11C174계통도 고도의 저항성을 보였다.

#### 표35)바이러스(CMV)저항성검정시험결과표

파종	계통명	육안검정	ELISA검정	저항성정도	CMVC0 MARKER	비고
No. 1	AVH	_	_	R	rr	
2	375RF	_	_	R	rr	
3	RS1RF	mM	+	S		
4	CYCMS	mM	_	R	rr	
5	HDCMS	미발아	_	IX	rr	
6	DNP2C	M	+	S	RR	
7	WCY	M	_	R		
8	K5CMS	M	_	R	rr	
9	K7CMS	mM	+	S	rr	
10	SKY3MUCMS	M	+	S	11	
10	SKYJAPANMU	1V1	'	3		
11	CMS	mM	+	S		
12	SKY10MUCMS	_	+	S		
13	K9CMS	M	_	R		
14	11C174	-	-	R		
15	K11	mM	-	R	rr	
16	К9	М	+	S	rr	

표36 )ELISA검정결과시험일:2012.06.12-07.25

#### 06.12파종,07.06접종,07.25ELISA검정

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Α	BT1-1	BT1-2	BT1-3	BT1-4	BT1-5	BT2-1	BT2-2	BT2-3	BT2-4	BT2-5	BT3-1	BT3-2
А	0.134	0.146	0.113	0.131	0.125	0.131	0.148	0.138	0.142	0.149	0.147	0.450
В	BT3-3	BT3-4	BT3-5	BT4-1	BT4-2	BT4-3	BT4-4	BT6-1	BT6-2	BT6-3	BT6-4	BT6-5
Ь	1.064	0.122	0.135	0.111	0.126	0.132	0.114	0.117	0.122	0.115	0.120	2.434
С	BT7-1	BT7-2	BT7-3	BT7-4	BT7-5	BT8-1	BT8-2	BT8-3	BT8-4	BT8-5	BT9-1	BT9-2
C	0.191	0.152	0.171	0.189	0.149	0.122	0.126	0.114	0.122	0.115	1.167	0.207
D	BT9-3	BT9-4	BT9-5	BT10-1	BT10-2	BT10-3	BT10-4	BT10-5	BT11-1	BT11-2	BT11-3	BT11-4
U	2.587	3.522	0.406	3.249	3.147	3.384	2.517	3.312	0.726	0.319	3.249	0.413
Е	BT11-5	BT12-1	BT 12-2	BT12-3	BT12-4	BT12-5	BT13-1	BT13-2	BT 13-3	BT13-4	BT13-5	BT14-1
_	3.193	1.896	0.207	0.108	0.712	0.249	0.273	0.215	0.275	0.146	0.226	0.156
F	BT14-2	BT14-3	BT 14-4	BT15-1	BT15-2	BT15-3	BT15-4	BT15-5	BT16-1	BT16-2	BT16-4	BT16-5
Г	0.187	0.106	0.107	0.195	0.122	0.127	0.435	0.404	0.143	0.189	0.130	2.905
G	S.B	N.C	P.C									
u	0.096	0.096	3.517									

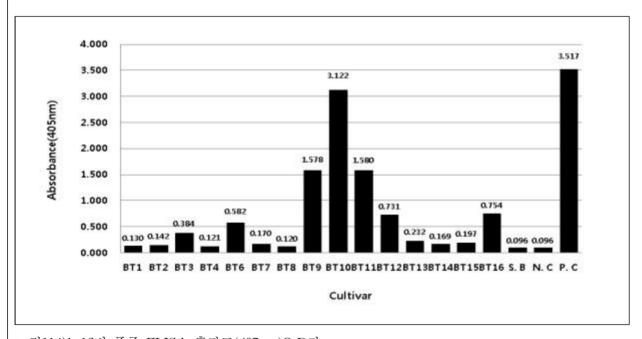
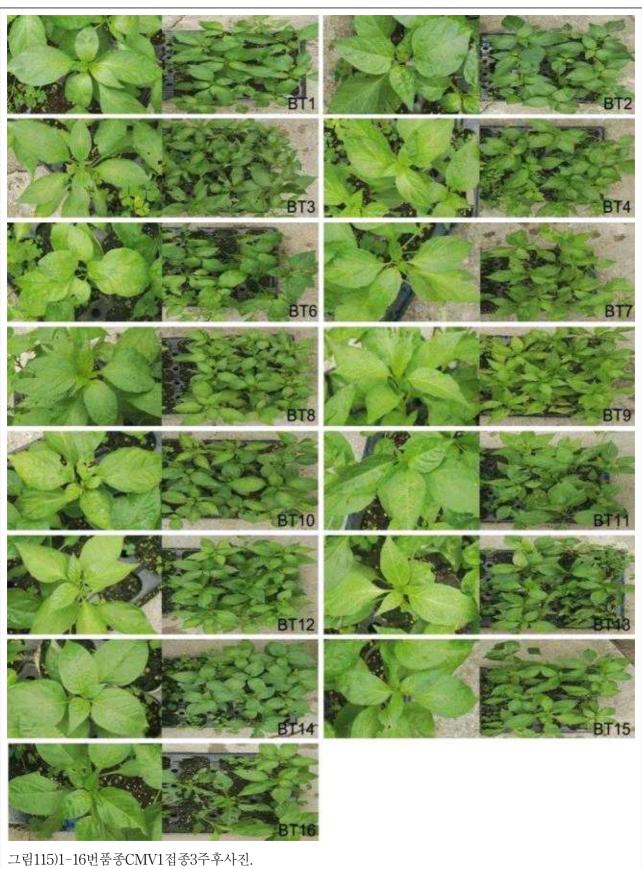


그림114)1-16번 품종 ELISA 흡광도(405nm)O·D값.



# 6절. 분자마커를 이용한 병저항성 분석시험

- 1년차 역병에 대한 마커분석을 의뢰한 결과 생물검정에서 저항성을 보인 계통과 마커분 석결과가 일치함을 확인하고 선발된 계통 skydm375rf을 활용한 조합에 대해서도 동일한 결과를 나타남을 확인하였다.
- 2년차 CMV, BS2, 역병에 대한 분자마커 184점의 분석을 의뢰한 결과 CMV RR 4점, Rr 2점, rr 22점, BS2는 RR 67점, rr 15점, 역병은 RR 21점, Rr 3점, rr 25점으로 나타났다. 본 시험결과와 포장검정을 cross checking하여 계통선발에 활용하였다.
- 3년차 BS2 12점, 역병 701점에 대하여 마커검정을 수행하였다.

표37)2년차CMV, BS2,역병MARKER를 이용한 병저항성 분석 결과표

MARKER	검정수	M	IARKERTYI	PΕ	비고
WARRER	14 78 T	RR	Rr	rr	H1-TZ
CMVco	30	4	2	22	
BS2	100	67	_	15	
역병	54	21	3	25	
계	184	92	5	62	



그림116)역병저항성 분자마커 검정결과

4. BS2, 역병에 대한 분자마커 713점의 분석을 의뢰한 결과 BS2는 RR 1점, Rr 3점, rr 8점, 역병은 RR 397점, Rr 178점, rr 122점으로 나타났다. 본 시험결과와 포장검정과 cross checking하여 계통선발에 활용할 예정이다.

표38) 3년차 BS2 ,역병MARKER를 이용한 병저항성 분석 결과표

MADKED	검정수	M.	ARKERTY	PE	비고
MARKER	선생품	RR	Rr	rr	비포
BS2	12	1	3	8	
역병	701	397	178	122	미검정:4
계	713	398	181	130	

# 7절. 연구개발 성과

1. 연구개발 성과목표 대비 실적

(단위 : 건수)

		품경	증개발		특	허	논	문	분 자	유 ( {	선자 원	7.11	7 -1	7]	마케팅	인
성괴	목표	생산수 입판매 신고	출 원	니O I록	출 원	등 록	SCI	ы] SCI	· 마 커 개 발	수집	등 록	· 국내 매출 액	종자 수출액 (\$)	술 이 전	전투 램고 서	력 양 성
최종	목표	6	6										150,000			
1차년	목표															
도	실적															
2차년																
도																
3차년													-			
도 ———		2	1				1						30,000			
45년		2	2										-			
도		2	2										163,500			
5차년			3													
도 ——			3	1									227,590			
소계		4	6													
	( = ) = -	4	6	1			1						421,090			
	차년도															
	2차년도															
	3차년도															
	1차년도															
	5차년도															
	계 															
압	계															

# 2. 개발 품종 결과

구분	품 <del>종</del> 명칭 (김버리리 제) 국명		출원			등록			기타
十七	(건별각각기재)	4 73	출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	714
품종보호 출원	SJSKY-7	한국	에스제이 그린	2014-05- 15	출원 2014-325	에스제이 그린	2016-03- 15	5944	단화방 건고추
품종보호 출원	SJSKY-111		에스제이 그린	2015.05.1	출원 2015-394				단화방 건고추

_		1		1			ı		
품종보호 출원	SJSKY-4229		에스제이 그린	2015.05.1	출원 2015-393				복화방 하늘초
품종보호 출원	SJSKY-2402		에스제이 그린	2016.08.0	출원 2016-396				단화방 건고추
품종보호 출원	SJSKY-6334		에스제이 그린	2016.08.0	출원 2016-384				단화방 남방계
품종보호 출원	SJSKY-6360		에스제이 그린	2016.08.0	출원 2016-385				복화방 하늘초
생산판매 신고	SJSKY-7	한국				에스제이 그린	2014-05-29	40-2014- 000802	3년차
생산판매 신고	SJSKY-111					에스제이 그린	2014-05-29	40-2014- 000803	3년차
생산판매 신고	SJSKY-4229					에스제이 그린	2015.05.1 5	40-2015- 000840	4년차
생산판매 신고	SJSKY-2402					에스제이 그린	2015.05.1 5	40-2015- 000839	4년차



그림117) 품종보호출원 통지서

#### 3. 논문

논문(국내의	외 전문학술지) 게재						
번호	논문명	학술지명	주저 자명	ই	국명	발행 기관	SCI여부 (SCI/비SCI)
	Enzyme-linked lmmunosorbent Assay를 이용한 CMV-P1저하엉 고 추 유전자원 평가	원예과학기술	김병섭	6	한국	한 국 원 예학회	SCI
						-	

#### Enzyme-linked Immunosorbent Assay를 이용한 CMV-P1 저항성 고추 유전자원 평가

EAS' - 468' - 608' - 448' - 386' - 460' - 446' - 388' (SEEPERS SEOTERS, NO.18

CMV-P1 Resistance Evaluation Using Enzyme-linked Immunosorbent Assay of Pepper Genetic Sources (Capsicum spp.)

Affan Nice', Sheng Am Xu', Am Young Kim', Arllysma Was', Han Gil Kim', Yong As Yark', Nac Ain Hong', and Byung Sup Sim'

"Majoranus of Plant Science Gargining Plants Various Convents, Gargining 194701, Roses Stimming Co., Marine 19-941, Karin

등이파학기술지 제기간 6호 m 2013년 17월 21일

Reprinted Dross

Korean Journal of Horticultural Science & Technology Vol. 31, No. 6 December 31, 2013

그림 118) 등록논문

#### 3. 종자 수출액

가.년차 별 수출액

종자수출액(USD)										
번호	수출품목		수출액							
[ - 번오 	一 下室舌音	수출일	수출국	수출금액						
	고추 종자	3년차	중국	30,000						
	고추 종자	4년차	중국(파키스탄)	163,500						
	고추 종자	5년차	중국(파키스탄)	227,590						
	합계			421,090						

#### 나. 품목별 수출(1,000\$) 및 예상금액

품종명	내역	3 ર્સ	!차	4년	!차	5년	!차	합	계
五子名	내적	수량	금액	수량	금액	수량	금액	수량	금액
K7	국내 수출	100	15	190	32.5	455	95.20	745	142.70
IX7	중국현 지판매			200	58	270	73.44	470	131.44
화전111	국내 수출	100	15	100	15	200.4	39.23	400.4	69.23
와인111	중국현 지판매			200	58			200	58
CK-33	국내 수출					75	19.72	75	19.72
SK-33	중국현 지판매		_						
합계		200	30	690	163.5	1,000.4	227.59	1,890.4	421.09

#### \*2016.1.27.기준 1\$=6.6¥



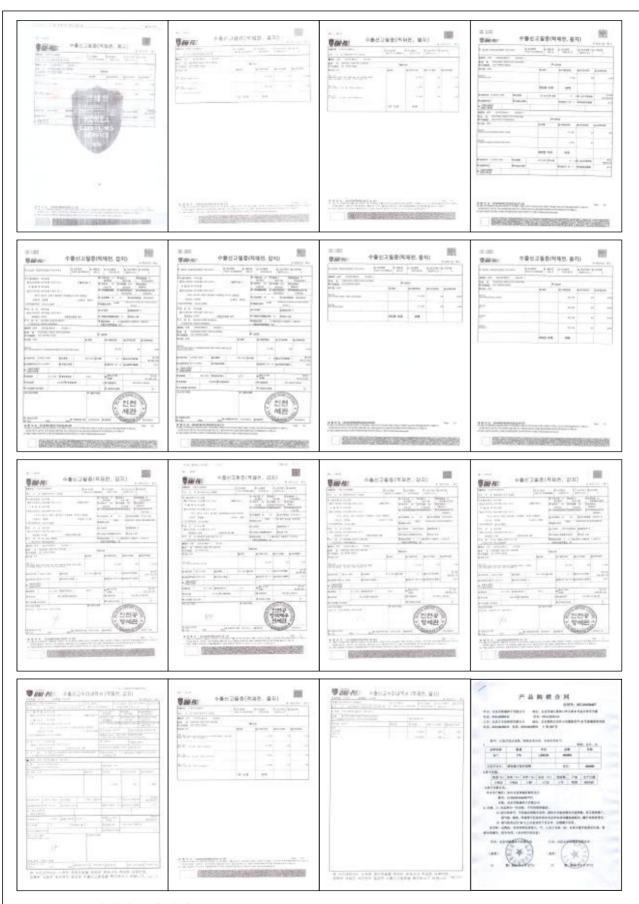


그림 119) 판매실적 수출내역

# 4. 사업화 성과 및 매출 실적

# 가.사업화성과

항목		세부	항목	성과	
		개발제품	개발 후 현재 까지	4.6억원	
	யித்வி	게일세품	향후 3년 간 매출	8억원	
	매출액	리 라 게 쪼	개발 후 현재 까지	억원	
		관련제품	향후 3년 간 매출	억원	
			개발 후 현재 까지	국내:%	
		개발제품	개월 수 현재 까지	국외:3%	
사업화		기 근 게 ㅁ	향후 3년 간 매출	국내:%	
성과	시장		정부 이런 전 제물	국외:5%	
Ů,	점유율		개발 후 현재 까지	국내:%	
		관련제품	게글 구 현재 까지	국외: 0%	
		य स्थाव	향후 3년 간 매출	국내:%	
			정부 이런 전 제발	국외: 2%	
	세계시장	현재 제품 세계시	시장 경쟁력 순위(건고추 하늘초)	2위	
	경쟁력 순위	3년 후 제품 세계	3년 후 제품 세계시장 경쟁력 순위(건고추 하늘초)		

항목	세투	<b>-</b> 항목		성과				
	사업화소	요기간(년)	3년 전부터 매출					
	소요예선	난(백만원)						
		H출규모	현재까지	3년후	5년후			
	(ō	†원) 	4.6	8	15			
사업화계획	, ,	단위(%)	현재까지	3년후	5년후			
	시장 점유율	시장 점유율	시장 점유율	국내	-	-	_	
		국외	3	5	10			
	향후관련기* 한타모델,지	술,제품을응용 베품개발계획						
	(단위	:억원)	현재	3년후	5년후			
무역수지 개선효과	수입대	체(내수)						
	ŕ	- 출						

# PART 4. 분자마커개발 및 분석지원

### 제 1절 기개발마커의 분석지원

- CMV-Co, TMV, Bs2(세균성반점병), 역병, GMS, 회복인자, 매운맛 총 7가지 형질과 관련된 분자마커를 분석지원함
- 분석지원한 분자마커의 종류를 살펴보면, 1~2년차 기간에는 CMV 마커의 분석의뢰가 50%를 차지하였으나, 3년차부터 역병마커의 분석의뢰가 증가하였음
- 3, 4년차의 경우 순도검정 의뢰가 발생하였으며, 이에 대해 SNP와 RAPD를 이용한 분석을 수행하였음
- TMV, 회복인자, GMS 마커는 분석의뢰가 저조한 편이며, TSWV와 흰가루병 저항성 마커 는 현재 유용성 검증 중인 마커임
- 1~5년차 동안의 연차별 분자마커 분석수는 표 1과 같음

표 1. 연차별 분자마커 분석지?	丑	1. 🤄	견차별	분자미	ŀ커 튠	-석지 -	원
--------------------	---	------	-----	-----	------	-------	---

의뢰처	CMV	TMV	Bs2	역병	회복 인자	매운맛	순도 검정	TSWV	PW	합계
연구기간내 총 분석수	5,200	998	1,374	4,808	898	1,149	3,127	39	427	18,020
5년차	364	_	_	768	_	206	-	_	150	1,488
4년차	942	20	111	1,356	376	131	1,918	_	232	5,086
3년차	841	_	802	1,708	-	778	1,209	_	-	5,338
2년차	1522	304	262	434	445	34	-	39	45	3,085
1년차	1,531	674	199	542	77	_	-	_	I	3,023

- 마커분석결과에 대하여 세부프로젝트기관과의 피드백시스템을 통해 의견교류가 이루어지며, 이를 토대로 마커의 개선방향을 모색함. 도출된 내용은 다음과 같음
  - ① 역병마커는 CM334 저항성 마커 선별에서 유용성이 있는 반면, AC2258 저항성 마커 선별에는 변별력이 없음. 이를 감안하여 2015년 마커결과를 분석해보면, CM334 저항성 마커를 보유한 것으로 분석된 샘플 중에서 병리검정결과와 불일치하는 샘플이 약 20% 확인됨 => 이의 개선 및 보완을 위하여 CM334 계통으로부터 개발된 DH라인을 이용하여 역병마커 개선연구 수행
  - ② Bs2 저항성 마커는 병검정 결과와 일치하고 유용성이 높음
  - ③ SNP 마커의 HRM 분석 결과에 대한 신뢰도: SNP 마커는 LC480 프로그램의 HRM 방법으로 분석됨. R/H/S의 genotype을 가지는 샘플을 standard로 인식하여 자동 genotyping 이 이루어지므로 스코링상의 에러는 적을 것으로 판단됨. 경우에 따라 'Unknown' 샘플이 발생할 경우 재분석을 실시함
  - ④ 바이러스마커의 경우 기존 개발마커는 이미 육종계통들이 대부분 저항성 마커를 보유하고 있음. 따라서 변종 및 신규한 바이러스에 대한 복합적인 저항성이 요구되어 바이러스발

생 포장에서 FVT 검정이 수행되고 있음. 그러나 FVT 관련한 바이러스 저항성 신규마커 개발은 본과제의 연구개발 범위를 초과함

# 제2절 기개발마커의 개선

- (1) CMV-Co 마커개선
- 역강홍장군 집단에 활용가능하도록 개선
- 본과제의 분석지원에 사용되는 CMV-Co 마커는 역강홍장군과 같은 일부 육종소재에서는 다형성이 없으므로 사용이 불가능함
- 이에 FnP(AC) 유전연관지도를 이용하여 CMV-Co 마커가 등재되어있는 2번 염색체에서 CMV-Co 근방의 마커들을 확보한 후, 다형성을 보이지 않는 집단 (역강모계)에 대하여 근접 SSR 마커의 다형성을 분석하였음(그림 1)
- 유전연관지도상의 SSR 마커 중 B0253, B0540, B4375, B4849, B5797, B5599, B6210, B1490, B3891, B5824, C1153, C0783, C1035, N2319, W0269, G148, N0151, C1522, N2761, N2179 마커를 사용하여 PCR 증폭을 수행하였으며 FP11 및 역강모계를 주형으로 증폭된 PCR 증폭 산물의 염기서열을 분석하였음(그림 2)

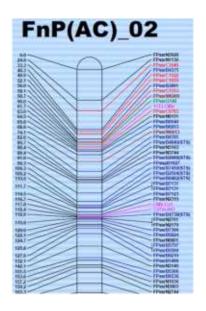


그림 1. FnP(AA) 유전연관지도 중 2번 염색체에서 CMV 저항성 마커들의 위치. 핑크색으로 표기된 1113-CMV(특허 제 10-0520994호), CMV-Co1(특허 제10-1323515호), CaTm-int1 (Kang et al. 2010. TAG theoretical and applied genetics. 120(8): 1587-1596) 3개의 마커가 CMV 저항성으로 보고된 마커임

```
B0540
                     94875
                              84649
                                         85797
                               B3881
 89599
                      B1490
                                          B5824
            86210
C1153
             00783
                                          W0269
                                N2319
                      C1035
坐 E 智 基 E
          NOIS
9148
                      N1522
```

그림 2. CMV-Co 근접 SSR 마커의 PCR 증폭 산물. 염기서열 분석으로 FP11(RR)과 역강모계 (R'R') 간의 다형성을 분석하였음

- 그 결과 C1522 마커에서 FP11 (저항성), FP14 (이병성), 역강모계 (이병성)간의 다형성이 확인되었음. C1522 마커의 유용성 확인을 위하여, C1522 마커와 기존마커와의 교차마커분 석을 수행한 결과 100% 분석결과가 일치하였음(표 2)
- C1522 마커를 이용하여 RR(FP11 계열 저항성)xR'R'(역장계열 이병성) F2 개체에 분석한 결과 다형성이 확인되었음(그림 3). 추후 역강홍장군과 같이 기존마커를 보유하고 있으나 이병성인육종소재는 C1522 마커를 사용하여 분석 가능함

표 2. RR(FP11 계열 저항성)xR'R'(역강계열 이병성) F2 개체에 대한 C1522 마커 분석결과

DNA No.	CMV-Co(CAPS)	C1522 (SSR)	DNA No.	CMV-Co(CAPS)	C1522 (SSR)
C-193	rr	rr	C-250	Rr	Rr
C-194	Rr	Rr	C-251	RR	RR
C-196	RR	RR	C-252	rr	rr
C-205	RR	RR	C-253	RR	RR
C-206	Rr	Rr	C-254	Rr	Rr
C-207	Rr	Rr	C-255	Rr	Rr
C-215	rr	rr	C-256	rr	rr
C-216	rr	rr	C-258	Rr	Rr
C-226	rr	rr	C-262	Rr?	RR
C-229	Rr	Rr	C-263	RR	RR
C-230	Rr	Rr	C-266	RR	RR
C-232	RR	RR	C-267	Rr	Rr
C-233	_	Rr	C-268	rr	rr
C-238	Rr	Rr	C-269	Rr	Rr
C-241	Rr	Rr	C-270	Rr	Rr
C-242	rr	rr	C-271	Rr	Rr
C-243	_	rr	C-272	Rr	Rr
C-244	rr	rr	C-273	RR	RR
C-245	Rr	Rr	C-275	Rr	Rr
C-246	Rr	Rr	C-277	Rr	Rr
C-247	rr	Rr	C-283	RR	RR
C-248	RR	RR	C-285	Rr	Rr
C-249	Rr	Rr			

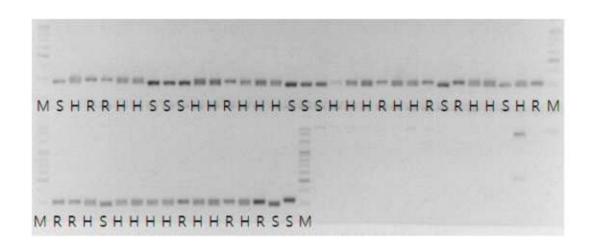


그림 3. C1522 마커를 이용한 RR(FP11 계열 저항성)xR'R'(역강계열 이병성) 집단 F2의 분석결과

- 분석효율 증대를 위한 SNP로의 전환
- 기개발마커인 CMV-Co 마커는 CAPS 마커로써 분석효율 증대를 위하여 SNP로 전환함
- CMV 마커의 염기서열에서 목표 제한효소 사이트를 detection 가능하도록 forward primer 인 CMVSNP-1F, 3F, 4F와 reverse primer인 CMVSNP-1R, 3R, 4R을 제작하여 총 9조합 을 PCR 테스트 수행하였음
- 그 결과 단일밴드로 증폭된 4개조합 (CMVSNP-3F/1R, 3F/3R, 3F/4R, 4F/4R)을 선발하였으며, FP1113 교배조합의 F2 개체를 이용한 유용성 검증으로 최종 조합 CMVSNP-3F/3R을 선발함(표 3)

표 3. CMV 마커의 SNP 전환을 위한 SNP 프라이머 테스트

C 1	CMAN, CADC		CMV-SN	P marker	
Sample name	CMV_CAPS	3F/1R	3F/3R	3F/4R	4F/4R
FP11	R	R	R	R	R
FP13	S	S	S	S	S
1113F1	Н	Н	H	Н	Н
1113F2_15	Н	Н	Н	Н	R
1113F2_16	R	R	R	S	S
1113F2_17	R	R	R	S	S
1113F2_18	Н	Н	H	Н	Н
1113F2_19	S	Unknown	S	Unknown	Unknown
1113F2_20	Н	Н	Н	Н	Н
1113F2_21	S	Unknown	S	S	Unknown
1113F2_22	Н	_	_	Н	R

- 최종선발조합인 CMVSNP-3F/3R을 이용하여 세부프로젝트의 분석의뢰 시료를 사용하여 유용성 검증을 완료하였음(그림 4)

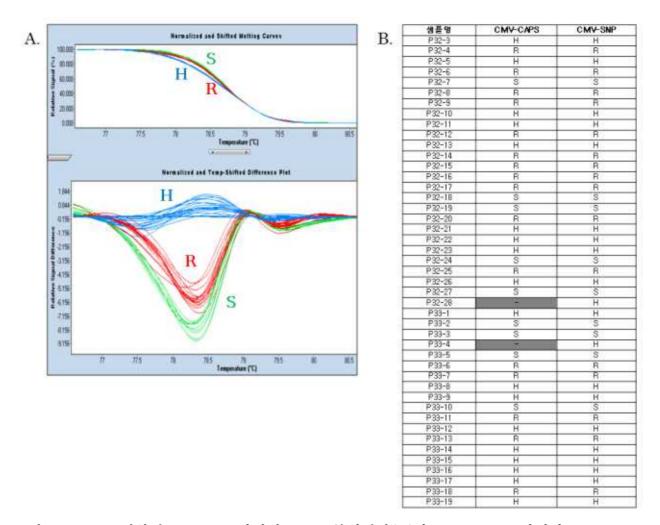


그림 4. SNP로 전환된 CMVSNP마커의 HRM 분석결과(A)와 CMV-CAPS마커와 CMV-SNP마커의 결과비교(B)

#### (2) 역병마커의 유용성 검증 및 개선

- CM334 x 제주재래 집단을 이용한 유용성 검증
- 역병 저항성 분자마커의 유용성 검증을 위하여 역병 생물검정 결과와의 교차확인을 수행
- CM334 x 제주재래의 F2 개체에 대하여 분자마커와 생물검정결과를 비교분석한 결과, 분자마커가 저항성으로 분석된 식물체는 126번 식물체를 제외하고, 접종 3주후까지 발병하지 않거나 하엽이 탈락하는 정도(발병지수 1)의 발병증상을 보인 반면, 분자마커가 이병성으로 분석된 식물체는 대부분 기부에서 발병증세가 심하여 시들거나 고사하였음(표 4)
- 마커분석결과 RR, Rr 타입으로 분석된 개체를 선발하여 육성하였으며, 분자마커검정과 역 병검정을 교차검정하면서 육성함

표 4. CM334 x 제주재래 F2 개체의 병검정결과와 마커분석결과 비교

F2 번호 역병생물검		(index 0~4, 발병	도 0=저항성)	분자마커	E2 H #	역병생물검정	(index 0~4, 발병	도 0=저항성)	분자마커	
2 연오	접종후 1주일	접종후 2주일	접종후 3주일	M07-CAPS	F2 번호	접종후 1주일	접종후 2주일	접종후 3주일	M07-CAP	
80	0	0	1	Н	125	0	0	1	H	
81	0	0	1	Н	126	0	4	4	R	
82	0	0	1	н	127	0	1	1	R	
83	0	0	1	Н	128	0	1	2	H	
84	0	0	0	H	129	0	1	1	H	
85	0	0	1	R	130	0	0	1	Н	
86	0	0	1	H	131	1	2	4	5	
87	0	0	1	Н	132	0	3	4	S	
88	0	3	4	5	133	0	0	1	H	
89	1	2	4	S	134	0	0	3	5	
90	0	0	1	H	135	0	0	1	H	
91	1	1	1	Н	136	0	0	1	H	
92	0	0	1	H	137	0	0	1	H	
93	0	0	1	R	138	0	0	1	H	
94	1	1	4	\$	139	1	2	4	5	
95	0	0	1	H	140	0	0	0	H	
96	0	0	1	R	141	0	0	0	H	
97	0	0	1	Н	142	0	1	4	H	
98	0	0	2	Н	143	0	1	3	Н	
99	0	0	1	R	144	0	0	1	R	
100	0	0	1	Н	145	0	1	4	S	
101	0	0	0	Н	146	0	0	1	H	
102	0	0	0	H	147	0	0	0	H	
103	0	Đ	1	R	148	0	0	0	H	
104	0	0	1	Н	149	0	0	1	H	
105	0	1	3	S	150	0	0	1	H	
106	0	0	1	H	151	0	4	3	5	
107	0	0	4	S	152	0	0	1	H	
108	0	0	4	H	153	0	0	1	H	
109	0	1	1	R	154	0	2	4	S	
110	0	0	0	Н	155	0	0	1	H	
111	0	0	1	Н	156	0	0	3	H	
112	0	1	1	H	157	0	0	3	H	
113	. 0	0	2	Н	158	0	0	1	H	
114	.0	0	0	Н	159	0	0	3	H	
115	Ö	0	1	R	160	0	0	1	H	
116	0	0	0	Н	161	0	0	1	H	
117	0	1	2	S	162	0	1	4	H	
118	0	0	0	Н	163	0	0	0	H	
119	0	0	1	R	164	0	0	0	R	
120	0	0	1	H	165	1	4	4	5	
121	0	0	1	H	166	0	0	1	R	
122	0	0	1	R	167	0	1	4	S	
123	0	0	0	Н	168	0	1	1	H	
124	0	0	0	H	169	0	0	1	R	

- DH 계통을 이용한 유용성 검증
- 2년차에 FP1612 (ECW123R x CM334) DH 43계통을 계통당 5~10주 육묘하여 역병 생물검 정을 수행하였음
- DH 라인의 역병 저항성 생물검정 내용은 아래와 같음
  - ① 분석계통: DH1216 43계통 (그림 5)
  - ② 접 종 일 : 13. 05. 06
  - ③ 접종시기 : 본엽 6~12매 출현
  - ④ 접종농도 : 4.8x10<sup>5</sup>, 3mL 관주
  - ⑤ 접종환경: 최고 48도, 최저 13도, 3일간 저면관수 및 습윤처리
  - ⑥ 조 사 일 : 1차 접종 후 5일, 발병여부로 scoring 하였음 2차 - 접종 후 10일, 발병지수로 scoring 후 저항성 여부를 계산하였음
  - ⑦ 발병지수 4(윗부분까지 병진전, 잎이 모두 떨어지고 고사), 3(기부의 2cm 이상 병진전, 잎이 대부분 탈락), 2(1~2cm 병진전, 하엽 탈락), 1(1cm 미만 병진전, 잎이 노랗고 일부 하엽 탈락), 0(병징 없음)으로 scoring >> equ.= {1-(처리구 발병지수 합/최고발병지수\*
    - 전체주수) }\*100



P16(S) P12(R) #15 #18 #19 #20 #23 #25 #26 #27

그림 5. DH1612 계통의 역병저항성 검정을 위한 파종 모식도 (a)와 육묘모습 (b)

- 병리검정 결과는 아래 그림 6의 a에서 보듯이 접종 5일후에는 식물체 기부에서 발병여부만을 확인할 수 있었기 때문에 발병여부를 scoring 하였음. 접종 10일 후에는 그림 6의 b와 같이 저항성 정도를 scoring 하였으며 접종 20일 경과 후에는 그림 c와 같이 두 계통만이고도 저항성을 보유한 것으로 검정되었음
- DH 라인 43계통 중 3계통은 발아불량으로 병검정하지 못했으며 40계통에 대하여 마커분석 과 병리검정 결과를 비교하면 표 5와 같음
- DH 라인 40계통 중 마커분석 결과 RR로 분석된 계통은 8계통이며 그중 병리검정 결과 고도 저항성을 나타낸 것은 2계통, 중도저항성을 보인 것은 5계통이었음. 그 외 DH1612-37 계통은 저항성 마커를 보유하고 있었으나 병리검정 결과 이병성으로 분석됨
- 현재 보유하고 있는 DH 라인은 저항성 마커를 가지고 있는 개체의 비율이 현저히 낮고, 실제 병리검정 결과도 전반적으로 저항성 개체가 적게 나타났음. DH 집단이 유전적으로 유전분석을 하기에는 부적당하나, DH1612-37계통과 같이 저항성 마커를 보유하고 있으나 실제로는 이병성인 식물체를 이용하여 신규마커 개발을 위한 집단개발은 가능하였음



그림 6. DH1612 계통의 역병검정 결과. a : 접종 후 5일째로 기부에서 발병확인되었으며 하엽의 탈락이 관찰됨. b : 접종 후 10일째로 대조구에서 발병여부가 확연이 관찰되며, 대부분의 라인에서 병진행이 빠르게 나타남. c : 접종 후 20일째로 최종적으로DH1612-1, 54번 라인에서만 저항성으로 검정됨

표 5. CM334xECW123R 교배조합에서 개발된 DH계통의 역병 분자마커 및 병리검정 결과

No	시료#	마커분석 (M07)	병리검정	No	시료#	마커분석 (M07)	병리검정
1	DH-1612-1	RR	100.0	22	DH-1612-36	rr	0.0
2	DH-1612-2	rr	0.0	23	DH-1612-37	RR	0.0
3	DH-1612-4	RR	12.5	24	DH-1612-38	rr	0.0
4	DH-1612-7	rr	0.0	25	DH-1612-39	rr	4.2
5	DH-1612-11	rr	0.0	26	DH-1612-41	RR	20.0
6	DH-1612-14	rr	0.0	27	DH-1612-42	RR	39.3
7	DH-1612-15	rr	0.0	28	DH-1612-45	RR	16.7
8	DH-1612-18	rr	0.0	29	DH-1612-47	rr	0.0
9	DH-1612-19	rr	0.0	30	DH-1612-48	rr	0.0
10	DH-1612-20	rr	0.0	31	DH-1612-49	rr	0.0
11	DH-1612-23	rr	12.5	32	DH-1612-50	rr	0.0
12	DH-1612-26	rr	5.0	33	DH-1612-51	rr	0.0
13	DH-1612-27	rr	0.0	34	DH-1612-53	rr	0.0
14	DH-1612-28	rr	0.0	35	DH-1612-54	RR	90.0
15	DH-1612-29	rr	0.0	36	DH-1612-55	rr	16.7
16	DH-1612-30	rr	0.0	37	DH-1612-56	rr	0.0
17	DH-1612-31	rr	0.0	38	DH-1612-57	rr	0.0
18	DH-1612-32	rr	0.0	39	DH-1612-58	rr	0.0
19	DH-1612-33	rr	0.0	40	DH-1612-59	RR	39.3
20	DH-1612-34	rr	12.5	대조	CM334	RR	82.5
21	DH-1612-35	rr	12.5	구	ECW123R	rr	0

- 3년차에 M07마커의 genotype이 'RR'로 분석된 계통 중 병리검정 결과 저항성이 전혀 없는 DH1612-37 계통을 선발하여, 마커 및 병리검정 결과 모두 저항성으로 확인된 DH1612-1 계통과 교배조합을 작성하였음(그림 7)
- DH1612-1과 DH1612-37 계통의 교배를 통하여 F1을 생산·육성하였으며(그림 7A), F1 식물체의 교배여부는 RAPD 마커로 분석하여 확인(그림 7B)하였음
- 4년차에 DH1612-1xDH1612-37 교배조합의 F2 종자를 확보하여 제4세부프로젝트 기관에 역병검정을 의뢰하였음. 분석결과 DH01은 저항성친, DH37은 이병성친, DH01xDH37 F1은 중도 저항성을 나타내었으며(그림 8), DH01xDH37 F2 81개체는 접종 후 14일 조사한 결과, 저항성: 이병성의 비율이 59: 22로 카이검정에 의해 3:1로 분석되었음
- 이상의 병검정 결과를 바탕으로 BSA-RAPD를 수행하였음. Bulked Segregant Analysis를 위하여 표 6과 같이 저항성 및 이병성 DNA를 각각 5개씩 동일농도로 섞은 후 오페론 프라이머를 screening 하였음

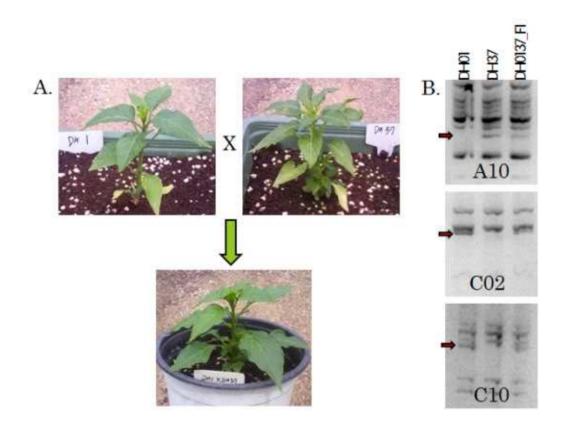


그림 7. DH1612-1과 DH1612-37 계통의 교배를 통하여 F1을 생산·육성 중(A)이며, F1 식물 체의 교배여부는 RAPD 마커로 분석하여 확인(B)하였음

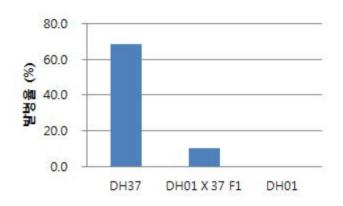


그림 8. 병검정 집단의 양친 (DH01은 저항성친, DH37은 이병성친) 및 DH01xDH37 F1의 병검 정 결과

표 6. BSA-RAPD를 위해 사용된 F2 개체의 병검정결과

DUM V DU	27 52					접	종후	발병여	부				
DH01 X DH37 F2		3일	4일	5일	6일	7일	8일	9일	10일	11일	12일	13일	14일
SECTION OF THE PARTY OF THE PAR	F2-9	Х	Х	Х	X	0	0	0	0	0	0	0	0
Susceptible	F2 -30	Х	Х	Х	X	Х	Х	0	0	0	0	0	0
bulked DNA #1	F2 -32	Х	Х	Х	Х	х	Х	X	Х	Х	0	0	0
(SB #1)	F2 -54	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	X	0	0	0	0
577	F2 -64	Х	Х	Х	X	х	Х	X	Х	Х	0	0	0
111	F2 -16	Х	Х	Х	Х	X	Х	Х	Х	Х	0	0	0
Susceptible	F2 -19	Х	Х	Х	Х	Х	Х	· X	Х	Х	Х	Х	0
bulked DNA #2	F2 -21	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	0
(SB #2)	F2 -22	Х	Х	Х	Х	х	Х	Х	Х	X	Х	Х	0
(35 2)	F2 -31	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	0	0
80 80 a. d. 49 c. 00 a. d. 1	F2 -1	Х	Х	Х	Х	х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	X
Resistant	F2 -2	Х	Х	Х	Х	х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	X
bulked DNA #1	F2 -3	Х	Х	Х	Х	х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	X
(RB #1)	F2 -6	х	х	Х	Х	х	х	х	Х	Х	х	Х	X
(1,2,2,2)	F2 -8	Х	Х	Х	Х	х	Х	Х	Х	х	Х	Х	X
1	F2 -10	х	Х	Х	х	х	х	X	X	х	Х	Х	X
Resistant	F2 -12	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	X
bulked DNA #2	F2 -17	х	х	х	X	х	х	X	х	х	х	х	X
(RB #2)	F2 -18	х	х	X	х	х	х	х	х	x	х	х	x
(1102)	F2 -23	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	X	х	Х	х	X

- 오페론사의 RAPD용 프라이머 OPA01∼OPZ20 총 520개 프라이머를 screening하여 저항성 DNA (DH01, RB #1, RB #2)와 이병성 DNA (DH37, SB #1, SB #2) 사이에 다형성을 보이는 L07 프라이머를 선발하였음
- Y05, Y11 프라이머는 DH37(이병성친), DH01(저항성친)에서 다형성을 보이나, 저항성 및 이병성 bulked DNA에서는 구분되지 않으므로 역병저항성 유전자와 관련이 없음(그림 9). 이와 같이 양친에서만 다형성을 보이는 경우가 전체의 20%정도임
- 선발된 L07 프라이머는 약 500bp와 470bp에서 polymorphic band가 확인되어 F2 개체별로 PCR 증폭하여 확인하였음(그림 10). 특이밴드를 scoring 하여 병검정결과와 비교한 결과 표 7에서 볼 수 있듯이 연관성이 낮았음

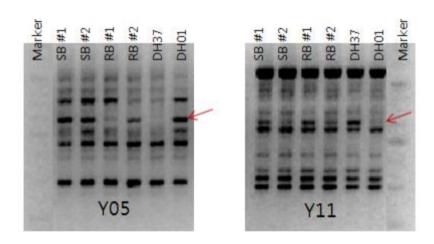


그림 9. DH37(이병성친), DH01(저항성친)에서만 다형성을 보이는 프라이머 Y05와 Y11

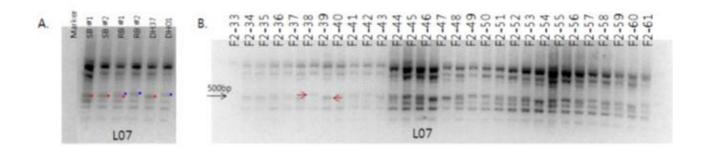


그림 10. 선발된 L07 프라이머(A)를 이용하여 F2 개체별로 확인(B)한 결과

표 7. L07 프라이머에 의해 증폭된 특이밴드의 증폭유무와 병검정 결과와의 비교

	1				P	heno	type:	전증	투발	병여기	¥.			RA	PD
DH01XDH37 F2	3	4 92	5	6 0	7	50 GR	9 0	10	11	12 91	13 9	14 일	저항성여부	L7-500 (저함성)	L7-480 (이병성
F2 -33	X	X	X	X	X	X	X	X	X.	X	Х	X	R	0.	X
F2 -34	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	Х	X	R	X	0
F2 -35	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	Х	X	R	Х	0
F2 -36	×	X	X	×	X	×	X	X	Х	х	Х	x	R	0	0
F2 -37	X	X	X	X	X	x	X	X	X	X	Х	X	R	0	0
F2 -38	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	R	X	0
F2 -39	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	0	5	0	×
F2 -40	X	X	X	X	X	X	X	X.	X	X	Х	0	5	X	0
F2 -41	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	0	5	0	0
F2 -42	X	Х	X	X	X	X	X	X	X	X	х	X	R	0	0
F2 -43	×	X	X	x	X	×	X	X	X	×	X	X	R	0	x
F2 -44	×	X	X	X	X	X	X.	X	X	X	X	×	R	X	0
F2 -45	X	X	X	X	X	X	Х	X	X	X-	X	X	R	0	0
F2 -46	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	Х	×	R	0	×
F2 -47	X	X	X	X	X	X	X	X	Х	Х	Х	X	R	0	0
F2 -48	×	X.	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	R	X	0
F2 -49	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	Х	X	R	X	0
F2 -50	X	X	X	X	X	×	X	X	X	X	X	X	R	0	0
F2 -51	X	X	X	X	X.	X	X	X	X	X	х	X	R	0	×
F2 -52	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	R	0	X
F2 -53	X	X	X	X	X.	X	х	X.	X	X	х	×	R	0	0
F2 +54	X	X	X	x	X	X	X	X	0	0	0	0	S	0	0
F2 -55	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	R	0	0
F2 -56	×	X	X	X	X	×	0	0	0	0	0	0	S	X	0
F2 -57	X	X	X	X	X	X	X	X	Х	X	X.	X	R	0	0
F2 -58	×	Х	X	X	X.	X	X	X	X	X	Х	×	R	0	X
F2 -59	×	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	R	0	0
F2 -60	×	X	X	×	X	X	Х	X	X	×	Х	х	R	0	X
F2 -61	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	R	0	0

- 역병마커의 시판품종에 대한 유용성 검증
- 1년차부터 지속적으로 육종회사와의 교차확인으로 역병마커의 유용성 및 분석효율을 확인 하고 있음
- 본 과제에서 사용된 마커는 그림 11에서 보는 바와 같이 5번 염색체에 위치하는 3개의 QTL 중 2번 QTL에 근접한 PcMD18-CAPS 마커로, QTL과는 0.1cM 떨어져있음(표 7)

#### 표 7. CM334xECW123R F2 유전집단의 5번 염색체에서 분석된 역병저항성 QTLs 정보

QTL	Position	LOD <sup>a</sup>	R <sup>2b</sup> (%)	flanking Marker	Marker Position	비고
1	82.1	18.4	44.8	FPssrW1179	84.7	
2	87.8	22.0	47.2	PcMD18-CAPS	87.7	
3	98.1	17.5	44.7	FPssrN0033	103.8	

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> Log of odds ratio

<sup>&</sup>lt;sup>b</sup> Percentage of phenotypic variation explained by the QTL

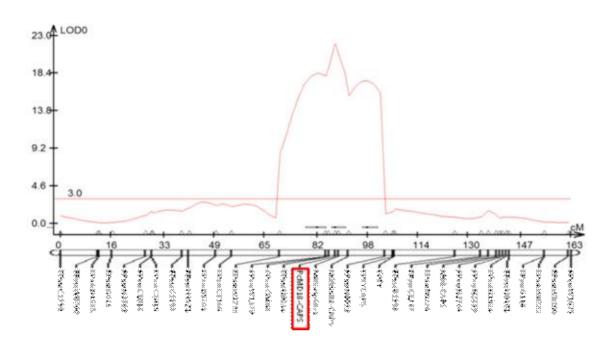


그림 11. CM334xECW123R F2 유전집단의 5번 염색체에서 역병저항성 QTL 분석 결과

- 표 8에서 볼 수 있듯이 1~23번 샘플은 마커분석 결과 저항성 마커를 보유한 것으로 분석되었음. 이 샘플들은 독야청청으로부터 역병저항성을 도입한 계통으로 병리검정 결과에서도 저항성을 나타내었음. 24~26번 샘플은 역강홍장군으로부터 저항성을 도입한 계통으로 병리검정 결과 저항성을 나타내었으나 M07 역병마커는 보유하지 않은 것으로 확인되었음. 현재분석지원 중인 역병마커 M07은 CM334 및 독야청청 유래 저항성 개체의 선발에 유용한 것으로 확인됨

표 8. 육종회사의 역병 마커 블라인드 테스트 결과

NO.	샘플명	분석결과	비고
1	B47	RR	
2	B48	RR	
3	B49	RR	
4	B50	RR	
5	B51	RR	
6	B52	RR	
7	B53	RR	
8	B54	RR	
9	B55	RR	
10	B56	RR	
11	B57	-	독야청청유래저항성계통 병리검정결과
12	B58	RR	
13	B59	RR	저항성으로 확인됨
14	B60	RR	
15	B61	RR	
16	B62	RR	
17	B63	RR	
18	B64	RR	
19	B65	RR	
20	B66	_	
21	B67	RR	
22	B68	RR	
23	B69	RR	
24	B70	rr	여가호자구으레 지하서 벼거저겨코
25	B71	rr	역강홍장군유래 저항성, 병검정결과
26	B72	rr	저항성으로 확인됨

- M07-CAPS 마커는 RAPD를 이용하여 개발된 후 CAPS 마커로 전환된 것으로써, RAPD에 의해 증폭된 특이밴드의 염기서열분석을 위해 제작된 프라이머 (녹색), CAPS 마커 전환을 위해 제작된 프라이머 (forward primer 오렌지색, reverse primer 하늘색), CAPS 마커로 전환된 프라이머 중 현재 사용중인 프라이머 조합 (빨강색)의 위치는 그림 12와 같음
- M07-CAPS 마커 분석결과는 마커패턴에 따라 CM334 유래 마커 패턴을 "1", AC2258 유래 마커 패턴을 "2", ECW123R을 포함하는 이병성 계통 유래 마커 패턴을 "3"으로 스코링 하였음(그림 13)
- CAPS 마커 전환을 위해 제작된 프라이머 (forward primer 오렌지색, reverse primer 하늘

- 색)를 이용하여 총 6가지 프라이머 조합이 가능하며, 각 조합의 분석결과는 모두 동일한 분 석결과를 나타냈음(그림 14)
- 역병저항성마커의 유용성을 검증하기 위하여 고추 시판품종 45점을 수집하여 분석을 수행하였음(그림 15). CM334 유래 마커 패턴인 "1"만을 저항성 분자마커로 판별할 경우, 마커 패턴 "1"을 포함하고 있는 모든 품종은 모두 저항성인 것으로 일치하였음. 반면, 마커 패턴 "2" 및 "3"을 이형접합으로 가지고 있는 품종은 총 14 품종으로서 이 중 10품종은 이병성인 것으로 확인되었고, 4 품종(역강홍장군, 해비치, PR 마당쇠 및 PR지존)은 저항성인 것으로 확인되었으며, 마커 패턴 "2"의 동형접합인 PR 무적함대는 저항성인 것으로 확인되었음(표 9)
- 이러한 결과를 검토하면 CM334 유래의 마커 패턴인 "1"은 고추역병 저항성과 매우 밀접하게 연관되어 있고, AC2258 유래의 마커 패턴 "2"는 저항성 source를 알고 있을 경우 선발 가능하며, ECW123R을 포함하는 이병성 계통 유래의 마커 패턴인 "3"은 고추역병 이병성과 밀접하게 연관되어 있으나, 열성인 것으로 판단됨

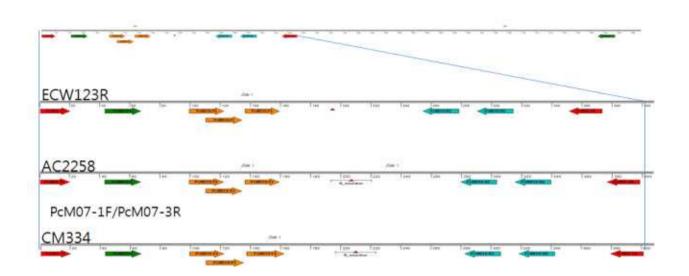
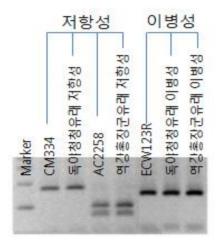


그림 12. 역병저항성 QTL 마커의 염기서열내 프라이머 위치를 표시한 모식도



샘플	샘플명	역병저항성	저항성 source
1	CM334	저항성	CM334
2	독야청청유래 저항성개체	저항성	CM334
3	AC2258	저항성	AC2258
4	역강홍장군유래 저항성개체	저항성	AC2258
5	ECW123R	이병성	_
6	독야청청유래 이병성개체	이병성	-
7	역강홍장군유래 이병성개체	이병성	_

그림 13. 저항성 source에 따른 M07-CAPS 마커 분석결과

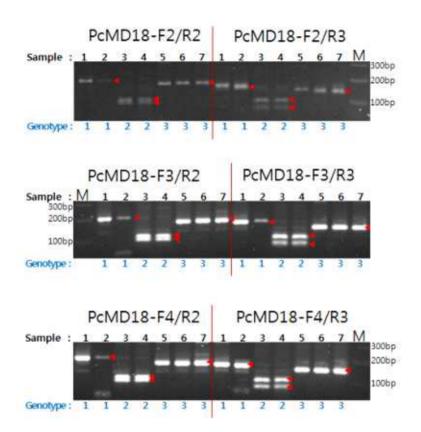


그림 14. 3개의 forward primer, 2개의 reverse primer를 이용한 6가지 프라이머 조합의 분석결과 (1: CM334(저항성), 2: 독야청청유래 저항성개체, 3: AC2258(저항성), 4: 역강홍장군유래 저항성개체, 5: ECW123R(이병성), 6: 독야청청유래 이병성개체, 7: 역강홍장군유래 이병성개체)

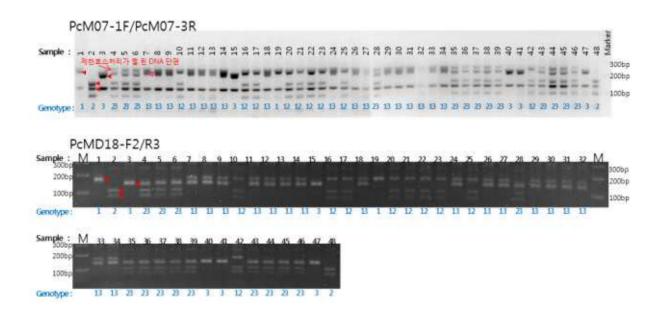


그림 15. 최종선발된 프라이머 조합을 이용한 고추시판품종 45종의 마커분석 결과

표 9. 고추 시판품종 45점에 대한 역병저항성마커의 genotype. CM334 유래 마커 패턴을 "1", AC2258 유래 마커 패턴을 "2", ECW123R을 포함하는 이병성 계통 유래 마커 패턴을 "3"으로 스코링

순번	품종명	역병저항성유무	PcMD18-CAPS	순번	품종명	역병저항성유무	PcMD18-CAPS
1	CM334	저항성	1	25	진짜사나이	저항성	12
2	AC2258	저항성	2	26	PR강인한	저항성	13
3	ECW123R	이병성	3	27	PR리더	저항성	13
4	장수왕	이병성	23	28	PR마당쇠	저항성	23
5	역강홍장군	저항성	23	29	일월산천	저항성	13
6	해비치	저항성	23	30	두루두루	저항성	13
7	불꽃처럼	저항성	13	31	거창한	저항성	13
8	PR행진	저항성	13	32	빅스타	저항성	13
9	배로따	저항성	13	33	에코스타	저항성	13
10	강력대통	저항성	12	34	PR케이스타	저항성	13
11	옹고집	저항성	13	35	정통	이병성	23
12	적벽대전	저항성	13	36	거대	이병성	23
13	한마루	저항성	13	37	대통	이병성	23
14	PR스마트	저항성	13	38	금탑	이병성	23
15	천년약속	이병성	3	39	대장금	이병성	23
16	대권선언	저항성	12	40	대들보	이병성	3
17	독립선언	저항성	12	41	금수강산	이병성	3
18	불탑	저항성	13	42	무한질주	저항성	12
19	세계일	저항성	1	43	마니따	이병성	23
20	PR농가사랑	저항성	12	44	PM신강	이병성	23
21	PR삼사극찬	저항성	12	45	천리향	이병성	23
22	PR진검승부	저항성	12	46	PR지존	저항성	23
23	남자의자격	저항성	12	47	홍반장	이병성	3
24	멋진사나이	저항성	13	48	PR무적함대	저항성	2

## 3) 청고병, TSWV, 흰가루병 저항성 마커개발

- (1) 청고병 저항성 마커개발
- 청고병 검정용 균주
- 2012년 2월 8일 제4프로젝트 연구기관인 충북대학교 식물진균병학 실험실로부터 청고병 균주를 분양받음 (균주명 FPRS06로 명명함)
- 논문 (Lim. 2008. 식물병연구 / Kang. 2007. JOURNAL OF MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY)에 보고된 *Ralstonia solanacearum* 특이적인 프라이머를 이용하여 청고병 균주임을 확인하였음(그림 16)
- 청고병 저항성 검정
- FPRS06에 대한 생물검정방법을 확립하기 위하여 접종방법 및 적정농도에 대한 예비 생물 검정을 수행하였음
  - ① 청고병 저항성 대조구로 TM999를, 이병성 대조구로 BN-Susceptible을 사용
  - ② 접종농도는 OD<sub>600</sub> = 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0
  - ③ 접종방법: 상처후 침지(주당 10분간), 무상처 침지(주당 10분간), 관주(주당 3㎡) 접종
- 생물검정 결과 저농도(OD<sub>600</sub> = 0.01) : 저항성 모든 처리구에서 0% 발병율, 이병성 처리구 는 20%이하의 낮은 발병율이 확인되었음 (그림 17)
- 고농도 (OD<sub>600</sub> = 1.0) : 저항성 처리구에서 50% 발병율이 확인되었음
- 접종방법에 따른 처리 결과 관주처리에서는 발병율이 낮거나 0%로 검정되어 관주를 이용 한 접종방법 확립은 효과적이지 못하였음

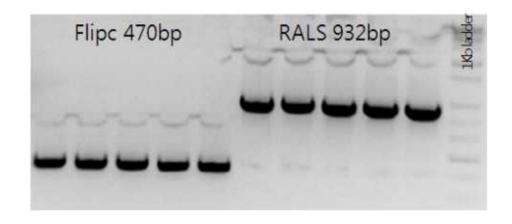


그림 16. 논문에 보고된 Ralstonia solanacearum 특이적 프라이머로 균주 확인

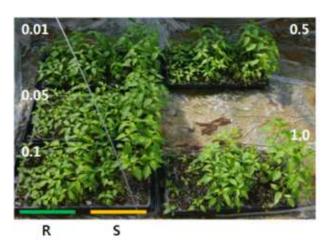


그림 17. 청고병 생물검정 결과 사진 (접종 후 14일 경과)

- 2년차 시판품종 중 청고병 저항성 품종과 이병성 품종을 수집하여 청고병 생물검정을 수행 하였음
- 병원균 및 병접종은 제5세부과제에서 정립된 프로토콜을 사용하였음
  - ① 병원균: CNU균주 (병원성 테스트 결과 병원성이 가장 강함)
  - ② 검정품종 : 무한질주, 남자의자격, P67, TM999, 원강4호 총 5개의 저항성 품종 PR무적함대, 홍반장, 역강홍장군, PR지존, 마니따 총 5개의 감수성 품종
  - ③ 반복수: 5주씩
  - ④ 접종묘령 : 본엽 4~6매
  - ⑤ 발병조건 : 30℃, 12시간 광암조건, 12일 후 병징확인
  - ⑥ 조사일 : 접종 12일 후
  - ⑦ 발병지수: Disease index for evaluating disease severity (0 = no symptoms; 1 = < 2 5% of leaves with symptoms; 2 = 51 to 75% of leaves with symptoms; 3 = 76 to1 00% leaves with symptoms; 4= plant dead)

Disease severity (%)=  $\{\Sigma(\text{disease index} \times \text{the number of diseased plants})/(\text{the highe st disease index} \times \text{the number of plants rated}) \}\times 100$ 

- 총 10품종에 대한 청고병 저항성 병리검정 결과 청고병에 저항성으로 알려져 있는 품종인 '무한질주'와 '남자의 자격'이 저항성이 가장 높게 확인되었음. 또한 'PR무적함대'와 '홍반장'에서도 약간의 저항성이 확인된 반면, TM999와 원강4호에서는 발병이 확인됨
- 이는 병접종시 품종별 생육상태가 동일하지 않아 생육이 좋은 품종은 병발현이 적고, 저항 성 품종이더라도 생육이 좋지 않은 TM999와 원강4호는 발병된 것으로 판단됨(그림 18)
- 저항성 품종으로 확인된 무한질주(신젠타)와 남자의 자격(신젠타)의 F2 분리세대를 확보하였음

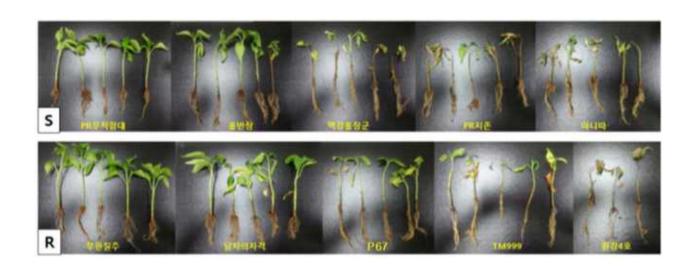


그림 18. 총 10품종의 생물검정 수행결과 무한질주와 남자의 자격, 2품종이 저항성이 확인되어 마커개발을 위해 육성

- 4년차에 저항성 시판품종 남자의 자격과 무한질주 F2 종자를 확보하여 제4세부프로젝트 기 관에 청고병검정을 의뢰하였음. 종자의 발아율이 저조하여 집단별로 각각 28주와 24주를 청고병 검정하였음
- 저항성 대조구로 P67 계통을, 이병성 대조구로 마니따 품종을 검정하였으며, 병검정 결과는 발병도 지표를 사용하여 스코링하였음 (0: 발병징후 없음, 1: 한개의잎 또는 ½이상의 잎에서 발병확인, 2: 한개이상의 잎부터 전체미만의 잎에서 발병확인, 3: 식물전체 시듦, 4: 고사)
- 청고병 검정결과 남자의 자격 F2의 경우 총 27주 중 저항성 18주, 이병성 9주로 분석되었으며, 무한질주 F2의 경우 총 24주 중 단 2주만이 이병성으로 분석되었음(표 10, 그림 19, 20, 21). 남자의 자격 F2 28주의 병리검정 결과를 토대로 RAPD를 이용한 다형성 분석을 수행하였으나 저항성 유/무에 따라 다형성을 보이는 프라이머를 선발하지 못함
- 세부프로젝트 연구기관(에코씨드, 충북대학교)으로부터 청고병 저항성을 보유한 신규한 계통이 확인됨에 따라 이를 이용한 93개체의 F2 분리유전집단에 대한 병검정을 수행하였으며, RAPD, AFLP, SRAP등을 이용한 유전적 다형성 분석을 수행할 계획임

표 10. 청고병 내병성 시판품종 남자의 자격 및 무한질주 F2 병검정 결과

No.	남자의 자격 F2	발병도 (%)	No.	무한질주 F2	발병도 (%)
1	409-1	0	28	410-1	0
2	409-2	0	29	410-2	0
3	409-3	0	30	410-3	0
4	409-4	0	31	410-4	0
5	409-5	75	32	410-5	0
6	409-6	100	33	410-6	0
7	409-7	0	34	410-7	0
8	409-8	0	35	410-8	0
9	409-9	100	36	410-9	0
10	409-10	0	37	410-10	0
11	409-11	0	38	410-11	0
12	409-12	100	39	410-12	0
13	409-13	0	40	410-13	0
14	409-14	0	41	410-14	100
15	409-15	75	42	410-15	50
16	409-16	0	43	410-16	0
17	409-17	100	44	410-17	0
18	409-18	0	45	410-18	0
19	409-19	100	46	410-19	0
20	409-20	0	47	410-20	0
21	409-21	0	48	410-21	0
22	409-23	100	49	410-22	0
23	409-24	100	50	410-23	0
24	409-25	0	51	410-24	0
25	409-26	0			
26	409-27	0			
27	409-28	0			



그림 19. 저항성 대조구 P67 계통, 이병성 대조구 마니따 품종, 내병성 F1 품종인 남자의 자격과 무한질주 품종의 병리검정 사진



그림 20. 시판품종 '남자의 자격'의 F2 개체 청고병 검정결과



그림 21. 시판품종 '무한질주'의 F2 개체 청고병 검정결과

- (2) TSWV 저항성 마커개발
- 기보고된 TSWV 저항성 CAPS 마커의 개선
- TSWV 저항성 계통으로 보고된 PI159236을 비롯한 다양한 유전자원을 수집하였음
- Genome 43:137-142(2000) 논문에 발표된 TSWV 저항성 분자마커의 유용성 검증을 위하여 다양한 유전자원들에 대한 마커분석을 수행하였음
- 저항성 계통으로 알려져 있는 PI159236을 포함한 9종에 대하여, 기보고된 CAPS(제한효소 2, HeaIII) 마커로 분석하였음. 분석 샘플 중 #1~#6은 국립농업유전자원센터에서 분양받은 계통으로, 국립농업유전자원센터에서 보유한 마커로 분석하였을 경우 #1번 샘플이 저항성 마커를 보유한 것으로 보고되어 있음
- 기보고된 CAPS(제한효소 2, HeaIII) 마커로 분석한 결과 이병성인 #4번 샘플에서 저항성으로 분석되는 오류가 확인되었음
- 모닝풋을 제외한 8계통 (#1~6, FP202, PI159236) 간의 염기서열내 다형성을 분석한 결과 저항성 계통으로 알려져 있는 PI159236과 #1번 샘플에서만 다형성을 나타내는 제한효소 1(AluI)을 탐색하였음(그림 22)
- 제한효소 1(AluI)을 사용한 CAPS 마커 분석결과 기존마커에 비해 선발오류를 줄일 수 있을 것임. 또한 분석효율을 높이기 위하여 iPCR 수행으로 주변 염기서열을 확보한 후 프라이머 위치를 개선한 결과 마커분석 결과를 명확히 판단할 수 있었음 (그림 23)

100		K	100	2	-	-	-			-
atum			scens	suse	FP202(S): C. chinense	E	Em			
#5(S) · C baccatum		ro(s): - annuum	#1(R): C. frutescens	#4(S): C. chinense	S): C. c	#2(5): C. annuum	#3(S): C. annuum	R 专图)	36 (R)	
#5(5)	#6/61	: (c)0#	#1(R):	#4(5):	FP202(	#2(5):	#3(2):	모닝ੁ (R추정)	P1159236 (R)	-
		-			-	-	-			-

	<b>3</b> 3	보고된	마커	분석
No.	품종	저항성여부	제한효소 1	제한효소 2
1	P59	R (마커)	R	R
2	P60	S	S	S
3	P61	S	S	S
4	P62	S	S	R
5	P63	S	S	S
6	P64	S	S	S
-	FP202	S	S	S
-	모닝풋	R (시판종)	S	S
_	PI159236	R	R	R

그림 22. 제한효소 2를 사용한 TSWV 저항성 CAPS 마커와 계통간의 다형성 분석을 통해 새로 탐색된 제한효소 2의 마커분석 결과 비교

В.

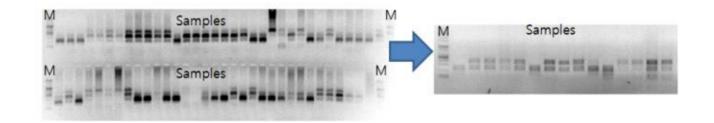
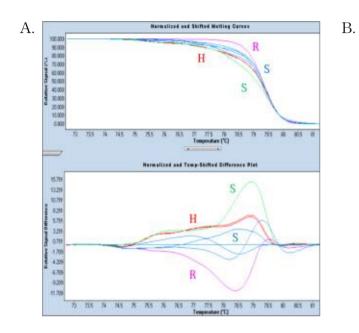


그림 23. TSWV 저항성 CAPS 마커 분석의 명확성 및 효율성을 높이기 위하여 iPCR 수행으로 분자마커 개선

- TSWV 저항성 SNP 마커 개발
- Genome 43:137-142 (2000) 논문에 발표된 TSWV 저항성 연관 DNA 염기서열에서 10개의 SNP를 확인하였으며, 이중 SNP 마커로 개발 가능한 5개의 SNP에 대하여 프라이머 TWsnp1~5를 제작하였음
- 제2세부프로젝트기관으로부터 TSWV 저항성 F1 2품종(D12, D13)을 분양받았으며, 수집된 TSWV 저항성 품종에 대하여 SNP 다형성 분석을 수행하였음
- HRM 분석결과 TWsnp5 프라이머에서 저항성으로 보고된 PI159236은 R, 세부기관에서 분양받은 F1 품종은 H, 그 외 품종들은 두가지 패턴의 S로 분석되어(그림 24) 마커로써 유용성이 확인됨
- D12 및 D13 F1품종의 F2 종자를 확보하여 육성중이며, F2 식물체로부터 gDNA를 추출하여 TWsnp5 마커를 분석하였음(그림 25). 그 결과 극명하게 4개의 그룹으로 분리되어 저항성과 이병성의 밴드패턴을 확인 가능하였음



_				
	No.	품종	보고된 저항성여부	TWsnp5 마커분석
	1	PI159236	R	R
	2	P59	R (마커)	S
	3	P60	S	S
	4	P61	S	S
	5	D12	Н	Н
	6	D13	Н	Н
	7	FP11	S	S'
	8	MG8	S	S

그림 24. TWsnp5의 HRM 분석모습(A)과 결과(B). PI159236은 R, 세부기관에서 분양받은 F1 품종(D12, D13)은 H, 그 외 품종들은 두가지 패턴의 S로 분석

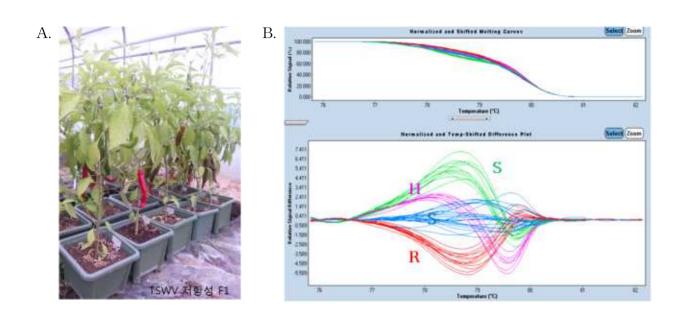


그림 25. TSWV 저항성 F1 품종의 후대확보를 위한 육성모습(A)과 확보된 F2 식물체에 대한 TWsnp5의 HRM 분석 결과(B). SNP마커인 TWsnp5의 분석결과 F2 세대에서 마커의 분리가 명확하게 분석되었음

- (3) 흰가루병 저항성 마커개발
- 고추 흰가루병 병원균 및 발병증상
- 고추 흰가루병은 1980년에 처음 보고되었음(차 등, 1980). 흰가루병은 잎 표면에 표정이 관찰되기 전에 이미 많은 균사가 조직속에 발달하여 어린 잎의 앞면에 반점이 생기면서 열복소가 파괴되어 황색으로 탈색되고 광합성 효율을 떨어뜨림(Correll, 1986; Heffer 등, 2006). 병장이 심하면 병반조직이 괴사되면서 잎이 고사되어 고추 생육 및 수량에 영향을 줌
- 병원균은 Leveillula taurica로 진균계 자낭균문에 속하는 활물기생균으로 자낭포자와 분생포자를 형성한다고 알려져 있음. L. taurica은 Oidiopsis taurica의 완전세대로서 건조한 때에 발생이 많으며, 감수성 품종을 재배할 경우 더욱 심하게 발생함(권 등, 1998; Beris와 Hormattallah, 1985; Diop-Bruckler, 1989). 바람에 의하여 전반되고 밤낮의 기온차가 클 때인 봄가을에 많이 발생함
- 고추 흰가루병은 하우스 시설재배가 증가하고, 기후변화에 따른 재배환경 변화 등으로 인하여 매년 발생이 증가함. 현재, 고추 흰가루병에 관련된 QTL 분석은 몇몇 논문을 통해 발표된 바 있으나, 이를 이용하여 육성된 상업용 품종은 발표된 바 없음
- 고추 흰가루병 저항성 연관 QTL 마커 수집
- 기보고된 논문으로부터 토마토 및 고추 유래 흰가루병 저항성 분자마커를 탐색하였음 ① 1997년 Chunwongse et al 등은 토마토에서 Leveillula taurica와 연관된 단일우성유전자 Lv를 염색체 12번에서 맵핑하였으며, 근접마커로 CT121과 CT129를 보고한 바 있음(그림 26)

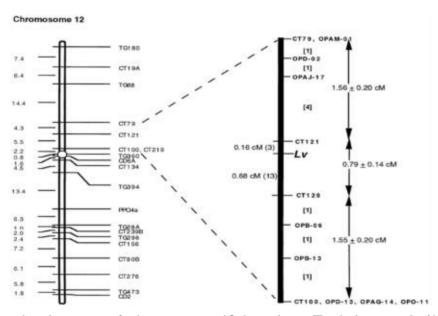


그림 26. Left: molecular map of chromosome 12 based on Tanksley et al. (1992). The open circle shows the approximate position of the centrometer based on Grandillo and Tanksley (1996). Right: enlargement of the interval CT79-T100 containing the Lv gene. Centimorgan distances on the right are derived from the analysis of 1906 F2 plants. Distances on left are derived from the disease screening of a subset of 72 individuals determined to be recombinant between CT79 and CT100. Numbers in parentheses are

the numbers of individuals showing recombination in the corresponding interval. The order of RAPD markers (right side) was determined by the analysis of 16 selected individuals with crossovers in the CT79-T100 interval. The numbers in brackets are the numbers of individuals recombinant in each corresponding interval

② 2003년 Y. Bai 등은 흰가루병 이병성인 Lycopersicon esculentum cv. Moneymaker와 저항성 토마토 Lycopersicon parviflorum G1.1601의 교배를 통한 F2 유전집단을 이용하여 Oi dium neolycopersici와 연관된 3개의 QTL을 맵핑하였으며, 그중 염색체 12번에 위치한 Olqtl2는 Lv 유전자 근처에 위치하는 것을 확인하였다. (그림 27)

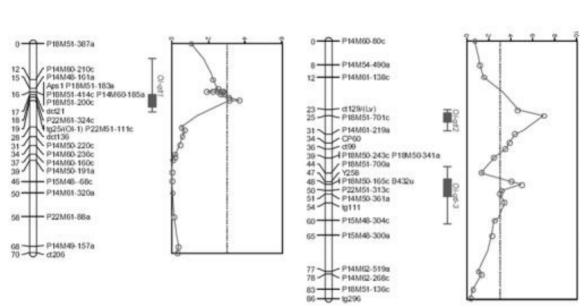


그림 27. The positions of quantitative trait loci (QTLs) for Oidium lycopersici resistance are shown with the linkage maps of chromosomes 6 and 12, which are derived from the F2 population of the Lycopersicon esculentum cv. Moneymaker X lycopersicon parviflorum G1. 1601. Map positions are given in cM. Amplified fragment length polymorphism marker loci are assigned with primer combination name and fragment size followed by an a or c, indicating the MM- or G1.1601-specific marker, respectively. Bars indicate the QTL intervals for which the inner bar shows a one - ogarithm of odds (LOD) support interval, and the outer bar shows a two-LOD support interval. Graphs show the QTL likelihood profiles for interval mapping. The LOD threshold value of 3.0 is shown as a dotted line. (Bai Y. et al, MPMI (2003))

③ 2013년 A. Seifi 등은 토마토의 물리지도에서 염색체 4, 6, 12번에서 Oidium neolycopers ici와 연관된 우성유전자 5개와 열성유전자 1개, 3개의 QTL, 그리고 Lv 유전자를 맵핑하여 보고하였다. (그림 28)

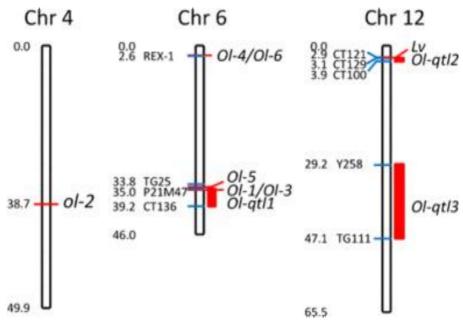


그림 28. Physical map of tomato chromosomes 4, 6 and 12 showing the positions of markers on the left (blue lines) and powdery mildew resistance genes and QTL regions on the right (red lines and boxes). Positions are indicated in Mega basepairs (Mbp), based on the Heinz SL2.40 tomato genome sequence (<a href="http://olgenomics.et">http://olgenomics.et</a>) (Seifi Alireza et al., European J. of Plant Pathology (2013), Springer link)

- 상기 논문들에서 확보한 흰가루병 저항성 유전자 근접마커는 표 11과 같음

표 11. 기보고된 논문에서 확보한 흰가루병 저항성 QTL 연관 근접마커들

순번	마커명	참고문헌
1	CT129-F	p = 0
2	CT129-R	
3	CT100-F	
4	CT100-R	NCBI search
5	TG568-F	NCDI Search
6	TG568-R	
7	CD03-F	
8	CD03-R	
9	Aps1-F	Yuling Bai et al., MPMI Vol. 18, No.
10	Aps1-R	4, 2005, pp. 354 - 362. DOI:
11	TG25-F	, , , , , , , , , , , , , , , , , , , ,
12	TG25-1	10.1094/MPMI -18-0354.
13	Ol2CAPS-F	C.De Giovanni et al., Plant Science
14	Ol2CAPS-R	166, 2004, pp41-48

○ 고추의 흰가루병 저항성 계통과 이병성 계통을 이용하여 마커들의 다형성을 확인(그림 29)

- 저항성 계통 : 외부종자회사에서 분양받은 흰가루병 저항성 계통(PW-R)의 잎샘플 이용

- 이병성 계통 : 흰가루병 이병성 계통 (PW-S)의 잎샘플 이용



그림 29. 분자마커의 다형성 분석에 사용된 흰가루병 저항성 계통(PW-R, 좌)과 이병성 계통(PW-S, 우)

- CT129는 Solanum lycopersicum cDNA (clone: LEFL1064BA11, GenBank: AK323789.1)로 상기 제작된 CT129-F/R 프라이머 조합을 이용하여 PCR 증폭을 수행한 결과 저항성 계통 에서만 3개의 DNA 단편이 증폭(그림 30)되었음
- 흰가루병 저항성 계통(PW-R) 샘플에서 증폭된 3개의 DNA 단편은 약 1,200, 1,650, 2,000 bp 크기이며, 그 중 1650 bp 크기의 밴드는 제외하고 1200, 2000 bp 크기의 DNA 단편을 이용하여 염기서열을 분석하였음
- 상기 두 밴드 모두 프라이머 제작에 사용했던 original sequence인 CT129 염기서열과는 일 치하지 않았으나, 저항성 계통에서만 PCR 증폭되었으므로, 마커로써의 유용성을 확인하기 위하여 확보한 염기서열을 기반으로 하여 내부에서 신규 프라이머를 제작하여 실험을 진행하였음. 그 결과 1200 bp 밴드 유래의 염기서열은 저항성 계통과 이병성 계통간의 다형성이 없었고, 2000 bp 밴드 유래의 염기서열은 다형성이 확인되었음
- CT129 외에 6개의 프라이머 조합에서는 흰가루병 저항성 계통 및 이병성 계통에서 모두 DNA 단편이 증폭되었으며, 염기서열을 분석한 결과 Ol2 (Yuling Bai et al. 2005) 유래 프라이머 조합에서만 다형성을 확인하였음
- CT129와 Ol2 유래 염기서열에서 확인된 다형성 부위는 Single nucleotide polymorphism이며, 제한효소부위가 존재하지 않기 때문에 CAPS 전환이 불가능하여 SNP 마커로 전환하기위하여 신규 프라이머 CTSNP와 OLSNP를 제작하였음(그림 31)
- 흰가루병 내병성 시판품종인 PM신강과 천리향(농우바이오)의 F2 분리세대를 육성하였으며 이들에 대하여 CTSNP와 OLSNP의 다형성 분석을 수행하였음(그림 32)
- PM신강과 천리향(농우바이오)의 F2 집단별로 각 23개체를 CTSNP와 OLSNP 마커로 분석한 결과 2개의 마커 모두 분리가 확인되었으나, OLSNP 마커의 경우 헤테로와 이병성친의 구분이 명확하지 않음
- 흰가루병 저항성 시판품종의 F3 분리집단 육성 및 후보마커 유용성 검정
- 마커개발용 유전집단 육성을 위하여 시판중인 흰가루병 내병성 F1 품종 PM신강과 천리향의 F2, F3 분리집단을 육성하여 CTSNP 분자마커를 분석하였음(그림 33)

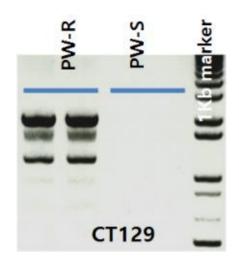


그림 30. CT129 프라이머를 이용하여 증폭된 DNA 단편. 흰가루병 저항성 계통에서만 DNA 단편이 증폭되었음

>> CT129 gene CTTGCATAACTTTATTT			CACA			CAT
AAG ATG	CA*	TTTAAG			TYTTAGGTATT	TTATCAAA
CACC AT	ATGG			ATATA		CCTAG
TTT	GATT					
- Detection : Y(C,T)	145bp에	위치				
- Primer F : G	ATC	CA / R : CA	:AT	AGG		
- PCR product size : 10	Olbp					
- PCR product size : 10	01bp					
- PCR product size : 10	)1bp					
- PCR product size : 10 >> <b>OL2 gene</b>	)1bp		TCGA	ΔA	ATTAGA <u>G</u>	CA
- PCR product size : 10 >> <b>OL2 gene</b>	)1bp		TCGA:	AA ;AATG <mark>Y</mark> A		CA 3
- PCR product size : 10 >> OL2 gene TATGCTTTT	)1bp	.GC	17273			CA 3
- PCR product size : 10 >> OL2 gene TATGCTTTT		125 (A. C. A. C. A	CAGA			CA 3
- PCR product size : 10 >> <b>OL2 gene</b> TATGCTTTT		위치	CAGA			CA 3

그림 31. CT129와 Ol2 유래 염기서열의 다형성부위를 SNP로 전환

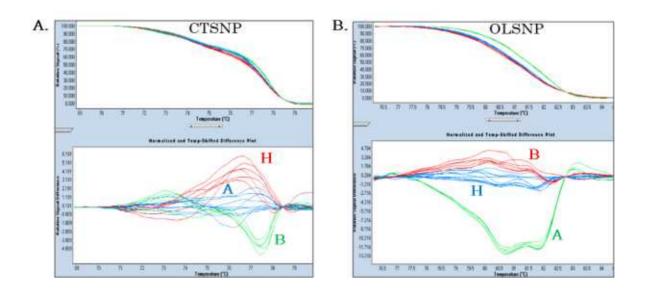


그림 32. CTSNP와 OLSNP 프라이머를 이용하여 흰가루병 내병성 시판품종인 PM신강과 천리향(농우바이오)의 F2 분리세대에서 다형성 분석수행

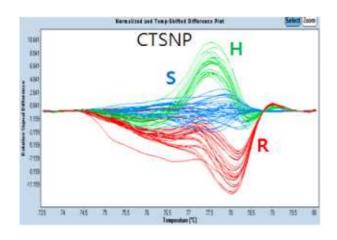


그림 33. CTSNP 마커의 F3 분석결과

- 그림 34와 같이 고추 재배포에서 발병한 흰가루병 병원체(이병개체 및 이병엽)를 확보하였으며, 현미경 관찰로 병원균을 확인하였음
- F3 집단의 자연적 흰가루병 발생 여부 조사 : F3 50라인을 라인당 각 10주씩, 자연상태에서 흰가루병을 감염시키기 위하여 접종상을 조성하였음(그림 35)
- F3 집단의 마커분석결과와 흰가루병 발생 여부를 비교한 결과, CTSNP가 저항성(R)으로 고정된 라인의 경우 흰가루병 발병이 현저히 적었음 (표 12)

표 12. PM 신강과 천리향의 F3 분석결과와 발병여부

	샘플	명				샘플	명		
순번	(PM신강		CTSNP	병징	NO.	(천리향		CTSNP	병징
1	(11,11 _ 0	-1	R		57	( L - 1 0	-1	R	
3	156	-2 -3	S	분리됨	58 59	172	-2 -3	l S	분리됨
3	100	-3	H	6-10	59	112	-3	H	2-10
5		-4 -1	S H		60 61		-4 -1	H S	
6		-2	S	., , ,	62		-2	S	
$\frac{0}{7}$	157	-3	R	분리됨	63	173	-3	S S	있음
8		-4	H		64		-4	S S	
9		-1	S		64 65		-1	H	
10	158	-2 -3	H	분리됨	66 67	174	-2 -3	S S	분리됨
11	100		R	6-10	67	111	-3 -4	S H	6-10
12		-4 -1	S		68 69		-4	R	
14	150	-2	R	Həlel	70	175	-2	R	N 0
15	159	-2 -3	Н	분리됨	70 71	175	-2 -3	R	없음
16		-4	S		72 73		-4	R	
17		-1	S		73		-1	S S	
18 19	160	-2 -3	SS	있음	74 75	176	-2 -3	<u> </u>	분리됨
20		-4	S		76		-4	H	
21		-1	S		76 77		-1	S	
22 23	161	-2 -3	S	있음	78 79	178	-2 -3		있음
23	101		S	, , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	79	170	-3	- S S	<u> </u>
24 21		-4 -1	S H		80 77		-4 -1	S	
22		-1 -2	S S		78		$\frac{-1}{-2}$	Н	
22 23	162	-2 -3	H	분리됨	78 79	179	-2 -3	H S	분리됨
24 21		-4	Н		80		-4	Н	
21		-1	Ĥ		77		-1	S S	
22 23	163	-2 -3	H	분리됨	78 79	181	-2 $-3$	S	분리됨
24		-3	S H		80		-3	R R	·
21		-1	-		77		-1		
22 23	164	-2 -3	Н	분리됨	78 79	182	$\frac{-2}{-3}$	Н	분리됨
23	104	-3	R	T 니 답	79	102	-3	H	- 판니텀
24 37		-4	R		80		-4	R S	
38		-1	R H		93 94		- <u>1</u>	R	
39	165	-2 -3	H	없음	95	184	-2 -3	H	분리됨
40		-4	Н		96		-4	S	
41		-1	S		97		-1	Н	
42	166	-2 -3	S	있음	98 99	185	-2 $-3$	H	분리됨
43 44		-3 -4	S	,,,,,,,	100		-3 -4	H H	_ , =
45		-1	S		100	186	-1	R	없음
46	167	-2 -3	R	<u>ਖ</u> ੁਗਵੀ	102	PW-	-R	R	없음 없음 없음
47	167	-3	-	분리됨	103	PM 4	난강	Н	내병성 시판종
48		-4	H		104	천리	향 1	H	1100 1140
49 50		-1	R R		105 106	FP1 FP1	2	S	
51	168	-2 -3	R	없음	107	FP1	3	S S	이병성
52		-4	R		108	FP1	.4	l S	
53		-1	İ		109	FP1	.6	S	
54	169	-2 -3	S	분리됨	110	PW-	-R	R	저항성
55 56	100	<del>-3</del>	S	2 1 11	111	PM 각 천리	<u> 건강</u> 햐	Н	내병성 시판종
56	<u> </u>	-4	Н		112	선디	<u>ა</u>	Н	<u> </u>



그림 34. 흰가루병 발생포장의 이병개체 및 이병엽 사진과 병원균 사진



그림 35. 흰가루병의 자연적인 감염을 발생시키기 위한 접종상으로 왼쪽 그림과 같이 가운데 이병주(사각화분)를 놓고 양쪽에 F3(원형화분)를 배치시킨 모습이며, 오른쪽은 흰가루병이 발생한 F3 이병주의 모습, 아래의 175번은 CTSNP 마커가 확인되었고 병장이 없는 라인, 166번은 CTSNP 마커가 확인되지 않았고 흰가루병이 발생한 라인의 대표사진임

- 고추 흰가루병 관련 육성 계통 중 선발된 14라인에 대하여 CTSNP 마커의 분석결과와 발 병여부를 확인한 결과 PM신강 분리후대에서 선발한 1개체의 분석결과가 상이하였으나, 95% 정도의 선발효율을 확인할 수 있음(표 13, 그림 36)

표 13. 고추 흰가루병 관련 육성 계통 중 선발된 14라인에 대한 CTSNP 마커와 발병상황 비교

No.	유래	계통명	CTSNP	발병여부
1	저항성계통	PW_R	R	없음
2	내병성	PM신강	Н	없음
3	F1시판품종	천리향	Н	없음
4		FP11	S	발병
5	] 이병성	무한질주	S	발병
6	F1시판품종	남자의자격	S	발병
7		마니따	S	발병
8		15-32	S	발병
9	이병성 분리후대	15-33	S	발병
10		15-39	S	발병
11	_ - 저항성계통	15-58	R	없음
12		15-59	R	없음
13	(D286)	15-67	R	없음
14		15-108	R	없음
15	PM신강 분리후대	15-120	S	없음
16		15-122	Н	없음
17		15-131	R	없음
18		15-151	R	없음
19	천리향 분리후대	15-153	S	발병
20		15-155	S	발병
21		15-158	S	발병



그림 36. 고추 흰가루병 관련 육성 계통 중 선발된 14라인의 흰가루병 발병증상

## 3) 순도검정

- (1) RAPD를 이용한 순도검정
- 분석이 용이한 SNP와 RAPD를 이용하여 계통 및 F1 순도검정을 수행하였음
- 3년차에 세부기관으로부터 의뢰된 5계통에 대하여 오페론 A01~A18 총 18개의 프라이머로 RAPD를 수행하였음(그림 37). 그 결과 OPA07, OPA15 프라이머에서 'D120, D121, D122' 와 'D123, D124' 두 그룹으로 나뉨 (프로그램 : XLSTAT Agglomerative hierarchical clustering (AHC), 설정 : Dissimilarity Percent disagreement). 비유사도 조사 결과 'D120, D121, D122'와 'D123, D124' 로 나뉜 두 그룹간의 비유사도는 1.8%임 (유사도 98.2%). Operon A01~A18 분석결과 A06프라이머를 제외한7개 프라이머에서 평균 6.4개의 밴드가 증폭되었으며, 17개의 프라이머 중 다형성을 보이는 프라이머는 2개로 각각 1개의 특이밴드가 증폭되었음(붉은색 화살표)
- (2) SNP를 이용한 순도검정
- SNP 마커를 이용하여 양친 및 F1 순도검정을 수행하였음. 양친인 #7-7, #7-8에 대하여 SNP 마커를 스크리닝한 후 최종 FPsnpB0712 마커를 선발하였음
- F1의 생산지별로 #7-1~6까지 6개군의 종자를 의뢰받아 종자로부터 gDNA 추출 후 FPsnpB0712 마커 분석을 수행하여 F1 순도검정을 분석하였음(그림 38)
- SNP 마커의 경우 variation이 많은 단점이 있기 때문에 1개 마커로 분석하는 것이 신뢰도 가 낮을 것으로 사료됨. 따라서 마커수를 늘리거나 RAPD를 병행하여 분석할 계획임
- 두 번째로 의뢰된 F1 순도검정은 SNP와 RAPD를 이용하여 수행하였음. 상기와 마찬가지로 양친에 대하여 SNP 및 RAPD 프라이머를 스크리닝하여 다형성을 보유한 프라이머를 선발하였음. 최종적으로 SNP는 FPsnpB6730과 FPsnpC1581 두 개 마커를, RAPD는 UBC154를 선발하여 F1 검정에 활용하였음(그림 39). UBC154의 경우 RAPD 마커임에서 양친의 특이 밴드가 모두 확인되어 co-dominant 마커로써 분석되었음(그림 39C)
- 양친은 각각 15립, F1은 110립으로부터 gDNA를 추출하여 분석한 결과 높은 순도를 확인하였음(그림 39D)

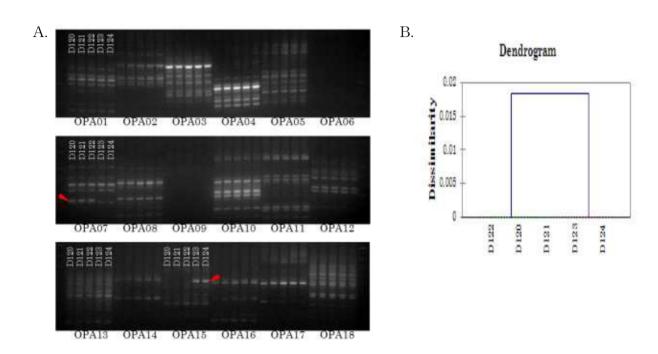


그림 37. D120~D124 5계통에 대한 유사도 분석 결과

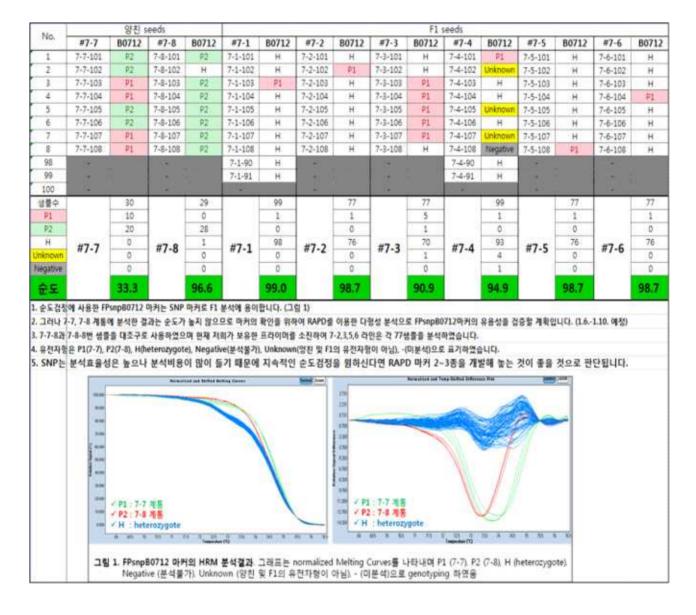


그림 38. SNP를 이용한 F1 순도검정 결과

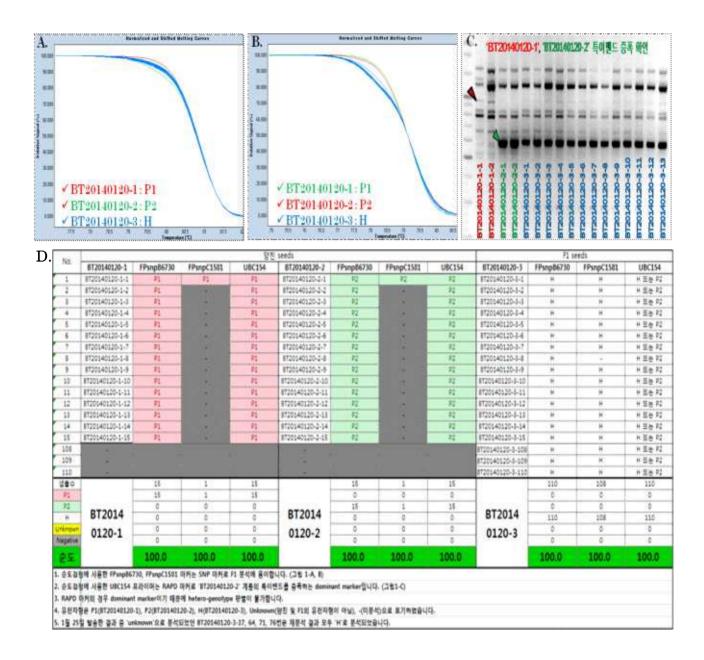


그림 39. 선발된 SNP 마커 FPsnpB6730과 FPsnpC1581, RAPD 마커 UBC154의 분석모습. A는 FPsnpB6730 마커의 HRM 분석결과, B는 FPsnpC1581 마커의 HRM 분석결과로 그래프는 normalized Melting Curves를 나타내며 P1 (BT20140120-1), P2 (BT20140120-2), H (BT20140120-3), Unknown (양친 및 F1의 유전자형이 아님), - (미분석)으로 genotyping 하였음. C는 UBC154 프라이머의 RAPD 분석결과로 붉은색화살표는 BT20140120-1, 녹색화살표는 BT20140120-2 계통의 특이밴드를 나타냄. D는 26. 선발된 SNP 마커 FPsnpB6730과 FPsn pC1581, RAPD 마커 UBC154의 분석결과를 scoring한 데이터파일

- (3) SSR 마커를 이용한 순도검정
- SSR 마커를 이용한 F1 순도검정 방법은 아래와 같음
  - ① 고추의 계통간 SSR 마커 분석 데이터베이스를 이용하여 계통간 다형성율 (PIC 값)이 높은 SSR 마커 선발
  - ② 순도검정을 하고자하는 F1의 양친 계통들에 대하여 1st screening 수행
  - ③ 염색체당 1개씩 최소 6개의 SSR 마커 선발
  - ④ 양친을 마커로 F1 순도검정 분석
- 계통 순도검정에서 마커가 분리되어 선발에서 탈락된 두 계통 (13-271, 13-278)을 제외하고 4계통 (13-273, 13-275, 13-279, 13-280)과 교배조합의 모친으로 사용한 10-116 계통에 대한 1st screening 수행으로 각 교배조합별로 최소 6개 프라이머 선발을 목표로 하였으며 우선적으로 10-116X13-273 조합 양친간 다형성을 보유한 3개 마커를 선발 (그림 40)
- 이와 같은 방법으로 각 교배조합 양친간의 다형성 프라이머를 각각 선발한 후 F1 잡종 개체들에 대하여 순도검정 분석한 결과는 아래 그림과 같음 (그림 41)

	Primer name	produc t size	PCR (Y/N)		Pol	yme	eph	ism		Linkage Group	SSR modif	1:13-273
	N1231	207		1	1	1	1	1	1	4	(56C)5	2:13-275 3:13-278 4:13-279
	N2712	290	No. of Concession, Name of Street, or other Designation, or other	0	0	0	0	0	0	1	(FC)II	5:13-280 6:10-116(모친
1	N2928	26	production	0	1 0	1 0	1 0	1 0	1 0	10	(AGC)5	
	164639	294		0 1	0	0	1 0	1 0	0	4	(1)11	
	N5282	227	-	1 11	0	0	0	0	0	3	(GCT)5	
	81490	240		0 0	0 1 0	1 0	0	0 1 0	0 0	2	(1)18	
1	85449	91	_	0	0	0	0	0	10	11	(1)11	
1	85520	91	-	0 0	0 0	0 1 0	0	1 0	1 0 0	5	IAISO-TUZ	
1	C0585	297	-	1 0	1	0	0	1 0	1 0	8		

그림 40. 교배조합 작성에 사용된 엘리트 계통들간의 다형성 분석 (1<sup>st</sup> screening). 붉은 원으로 선발된 프라이머는 12-273과 10-116 계통간의 다형성을 보유한 마커임

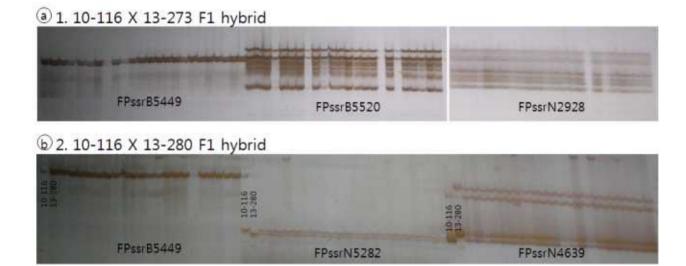


그림 41. 양친간의 다형성 프라이머를 이용한 F1 순도검정

# 4) MAB(Marker Asisted Backcross / Marker Asisted Breeding) 시스템 구축

- \* MAB 시스템 구축과 관련된 연구내용은 3년차 연구수행 평가시 목표에서 제외됨으로써 4년차부터 연구내용에서 제외되었음
- (1) MAB 시스템 구축을 위한 전략
- MAB 시스템은 일반적으로 3가지 형태의 선발을 수행함 (그림 42)
  - ①  $1^{st}$  selection (목표형질 선발) : 형질 연관 분자마커를 이용하여 목표형질이 도입된 개체 선발
  - ② 2<sup>nd</sup> selection (목표형질 주변 재조합체 선발): 목표형질만을 도입하기 위하여 주변 염색체가 제거된 개체를 선발
  - ③ 3<sup>rd</sup> selection (공여친 염색체 제거): 유전연관지도상에 고르게 분포된 분자마커를 이용하여 공여친 염색체가 제거된 개체를 선발
- 상기 시스템을 육종과정에 적용해 보기 위하여 FP11xFP13 교배조합의 여교잡집단을 육성 하였음
- 3<sup>rd</sup> selection에 필요한 유전연관지도는 FnP(AC) map을 활용하였으며, 2<sup>nd</sup> selection은 목표 형질의 유전자가 명확히 밝혀진 것이 아닐 경우 선발오류의 위험성이 높기 때문에 시스템 구축에서 제외하였음
- (2) FP1113 BC1F1을 이용한 MAB 시스템 구축
- 엘리트 품종인 FP11을 반복친으로, 고도 매운맛과 노란과색을 보유한 FP13을 공여친으로 교배조합을 작성하여 MAB 분석을 수행하였음 (그림 43)
  - ① Population size: FP1113 BC1F1 128주
  - ② 목적형질: CMV, 회복인자, Psv (과색)
  - ③  $3^{rd}$  selection을 위한 분자마커 : FnP(AC) map을 사용하여 유전연관지도에 고르게 분포되어있는 분자마커 선발



그림 42. MAB 시스템의 일반적인 형태

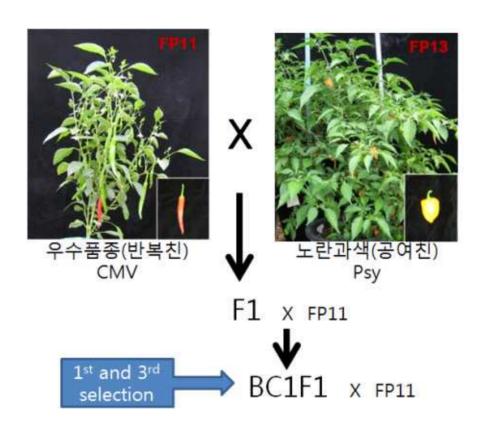


그림 43. MAB 분석 시스템 확립을 위한 유전집단 육성 계획도

- 목표형질 중 CMV 저항성과 Rf 회복인자는 반복친이 보유한 형질이므로 모든 개체가 보 유하고 있었으며 과색과 연관된 Psv 마커 보유여부가 1<sup>st</sup> selection을 좌우함
- 3<sup>rd</sup> selection을 위한 프라이머의 선발조건을 알아보기 위하여 12개의 SSR 마커를 최소 단 위로 구성하여 두가지 조건으로 프라이머를 선발하였음 (그림 44)
  - ① 선발조건 1: 염색체별로 12개의 마커를 선발
  - 1차 분석 염색체1번의 12개마커 → 2차 분석 염색체2번의 12개마커 → 3차 분석 염색체3번의 12개 마커… 순으로 추가분석함
  - ② 선발조건 2 : 그림 1의 왼쪽 번호순서와 같이 염색체 위치별로 동일한 위치에 등재된 12 개의 마커를 선발
  - 1차 분석 각 염색체에서 1번 위치의 12개마커  $\rightarrow$  2차 분석 각 염색체에서 2번 위치의 12개마커  $\rightarrow$  3차 분석 각 염색체에서 3번 위치의 12개마커… 순으로 추가분석함
- 3<sup>rd</sup> selection 분석에 사용될 프라이머를 선발조건1과 선발조건2의 기준에 따라 선발 후 총 9차 분석까지 진행하였음
- 각 회차별로 반복친으로의 회귀비율을 계산 후 회차간의 편차를 알아본 결과 대부분의 개체에서 선발조건1 보다 선발조건2에 의해 선발한 프라이머가 회차간의 편차가 적었음 (그림 45)
- 따라서 선발조건2에 따라 선발된 프라이머 12개를 1set로 구성하여 필요에 따라 분석 프라이머 set를 추가하는 것이 선발오류를 줄일 수 있을 것임
- FP1113 BC1F1 128주에 3<sup>rd</sup> selection에 의한 개체선발은 아래와 같은 순서로 진행되었음 (그림 46)
  - ① 1차 분석 (프라이머 12개 1set)으로 80% 이상의 회귀율을 보유한 개체선발
  - ② 1차 분석에서 선발된 개체에 대하여 2차 분석 수행
  - ③ 2차 분석 (프라이머 12개 1set)으로 80% 이상의 회귀율을 보유한 개체선발
  - ④ 2차 분석에서 선발된 개체에 대하여 3차 분석 수행
  - ⑤ 위와 같은 방법으로 필요에 따라 추가분석 및 개체 선발을 진행함
- 분석 회차가 증가할수록 선발개체수는 적어짐. 9차 분석까지 진행하여 6개체를 선발하였음
- 유전연관지도상의 임의선발로 SSR마커를 추가분석하여 총 175개의 마커를 분석한 후 회귀 율이 높은 상위 10%내의 13개체를 선발하였음
- 그림 33에서 보는 바와 같이 9차 분석진행으로 선발된 6개체를 175개 마커분석으로 선발된 개체들과 비교한 결과 50%가 동일한 개체임을 확인하였음
- MAB 분석에 의해 최종선발된 개체를 육성하였으며 BC2F1을 작성하였으나 재배상의 문제로 인하여 BC2F1 두 개체만을 육성중에 있으며 6월 현재 정식한 모습은 아래와 같음 (그림 47). 현재 생육상태가 좋지 못하지만 유전자형(표 14)과 마찬가지로 표현형도 반복친인 FP11로 회귀된 모습을 확인함

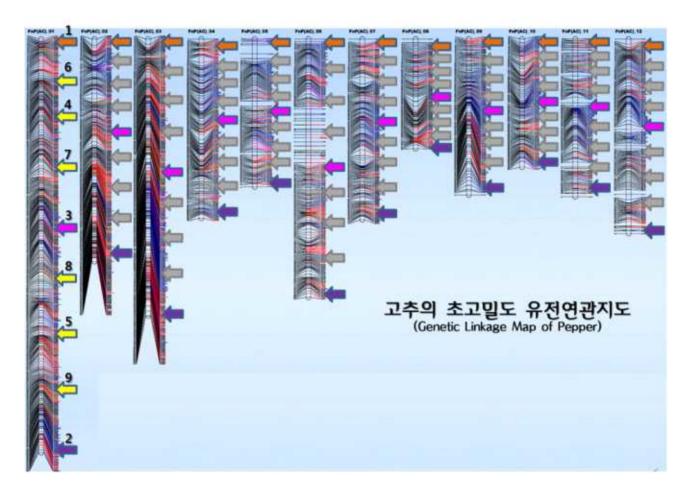


그림 44. MAB의 3<sup>rd</sup> selection을 위한 프라이머의 선발조건 중 선발조건 2의 프라이머 선발 모 식도

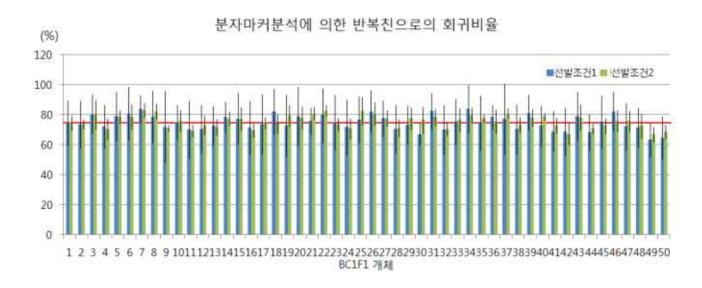


그림 45. 분자마커를 이용한 background selection시 각 개체에 대한 반복친으로의 회귀비율. 붉은 선은 회귀비율 75%를 나타냄

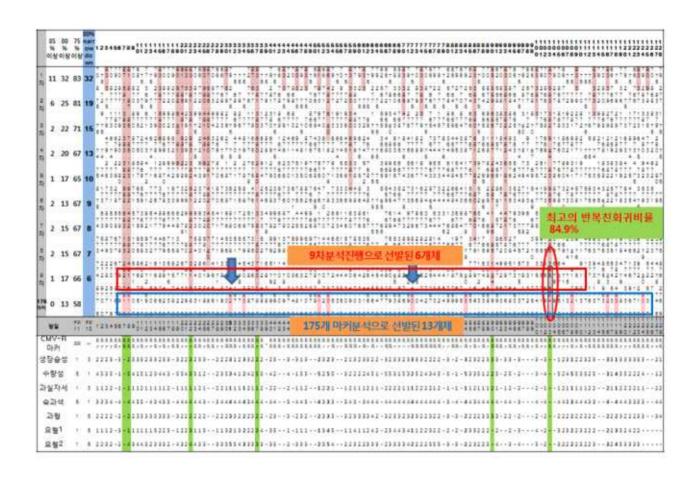


그림 46. FP1113 BC1F1 128주에 3<sup>rd</sup> selection에 의한 개체선발. 9차 분석진행으로 선발된 6 개체(붉은 색 박스안에 핑크색으로 표시된 개체들)를 175개 마커분석으로 선발된 개체들(파란색 박스안에 핑크색으로 표시된 개체들)과 비교한 결과 50%가 동일한 개체임을 확인하였음



파종일: 2013.01.29 정식일: 2013.05.15



<배배양> 치상일: 2013.10.08 순화일: 2013.03.06 정식일: 2013.05.15

그림 47. MAB 분석에 의해 최종선발된 개체의 BC2F1 육성모습. a는 양친의 모습이며 b는 B C2F1 2개체의 모습임

표 14. SSR 마커를 이용한 FP1113 BC1F1 개체의 반복친 회귀율 분석

	218	분석 회차		23	22	Κ:	31	37	<u>}</u> ;	91	::>	93	24	72
		1社	81.8	83.3	83.3	87.5	79.2	83.3	75	81.8	16.7	86.4	79.2	75
		2.21	67	27¥.2.	81.3	27.2	75	81.3	72.1	2.8 3	33.2	82.6	20. Y	75
		331	85.7	70 g	81.9	24 g	75	80.6	78,8	74.3	96,≴.	80	70,4	77.1
	-	4차	85.1	33.5	83.3	372,3	75	80.2	350	\$5.S	33.3	381.07	29.9	76.6
	24.44	5차	83.9	278.22	82.5	.93	77.5	80	74.2	75.4	¥0.?	70	73.2	76.3
	sie etapie	6자	82.4	23.3	81.9	e85	77.8	61,3	34.5	76 }	36)	98.8	33.2	75.7
	3 33 3	7차	82.3	₹ <b>4</b>	82,7	₹6.>	78.3	81	23.5	720	20.4	YY.4	22.3	76.8
		6.81	82.4	₹e.7	82.3	30.3	78.9	80.7	22.3	78.4	20.2	77.7	\$1.\$	76.6
	ŀ	9.81	81.6	√3.3	81.9	25.2	80.4	80:3	22.4	74:	78.7	77.4	25	77.4
		175	81.4	27.2	28.3	23.3	82.2	78.7	<b>€</b> 83	£1.0	22.2	80.5	Z P B	80.4
영질	FP 11	FP 13	.6	21	22	30	31	37	38	51	52	53	71	72
2137 F	86	₹!	ΤĶ	¥;	<u>%</u> ~	687	RR	¥4 <sub>1</sub>	884	9 <b>3</b> 6	¥::	₹;	þ:	RR
#788	ŧ	.5	ř	ï	3	::	3	ږ	2	7	3	.:	}	3
P 2017	۲.	ŧ	:	9	.8	.5	3	S	۲.	.5	S	.5.	×.	2
<u>সংক্</u> ৰাক	3	3	1	ì	1	ì	1	;	2	;	2	2	3	1
& W &	>	ŧ	à	-4	-3	-3	4	4	-4	4	3	3	4	4
भाष	ŧ	ÿ	7	2	2	Ÿ	3	2	2	-2	3,	-3	*	2
\$1.861	3	3	3	2	:χ	:3	2	.5	a	:	:Κ	4	π	1
1 A # 7							5				5		4	2

- FP1113 BC1F1을 이용한 이상의 MAB 분석방법을 정리하면 다음과 같음
  - ① 선발조건2의 방법으로 프라이머를 선발하여 1회 분석시 12개의 프라이머 1세트를 분석
  - ② 각 회차 분석 후 반복친 회귀비율이 80% 이상인 개체 선발
  - ③ 선발된 개체에 한하여 3rd selection 계속 진행함

# 제3절. 연구성과

# ○ 연구개발성과

	품종	·개발		특	허	논	문		유전	자원					
성과목표	생산수입판 매신고	출원	등록	출원	등록	SCI		분자마 커개발		등록	국내매출 액	종자 <del>수출</del> 액	기술이 전	마케팅 전략립보 고서	인력양 성
최종목표				2	1	1	1	3							
연구기간내 실적				2	_	_	_	3							
달성율(%)				100	0	0	0	100							

성과목표	DB구축	DH계통개발	자원분양	서비스					
				성분분석	분자마커	병리검정	표현형검정		
최종목표					21,000				
연구기간내 실적					18,020				
달성율(%)					86				

# ○ 분자마커 분석지원 성과

서비스	(성분·	분석, 분자마커, 병리검정	, 표현형검정)		
번호	<u> </u>	서비스 종류	점 수	주요내용	기타
연구기 실 <sup>2</sup>		분자마커	18,020	병저항성, 회복인자, 신미관련	
	1	병저항성 분자마커	2,946	역병, CMV, TMV, Bs2 저항성 분석	
1년차	2	회복인자 분자마커	77	회복인자 보유 분석	
		합계	3,023	-	
	1	병저항성 분자마커	2,606	역병, CMV, TMV, Bs2 저항성 분석	
2년차	2	회복인자 분자마커	445	회복인자 보유 분석	
4년사	3	신미관련 분자마커	34	매운맛 분석	
		합계	3,085	-	
	1	병저항성 분자마커	3,351	역병, CMV, TMV, Bs2 저항성 분석	
3년차	2	신미관련 분자마커	778	매운맛 분석	
3연사	3	순도검정	1,209	RAPD를 이용한 순도분석	
		합계	5,338	-	
	1	병저항성 분자마커	2,661	역병, CMV, TMV, Bs2 저항성 분석	
	2	회복인자 분자마커	376	회복인자 보유 분석	
4년차	3	신미관련 분자마커	131	매운맛 분석	
	4	순도검정	1,918	RAPD를 이용한 순도분석	
		합계	5,086	-	
	1	병저항성 분자마커	1,282	역병, CMV, 흰가루병 저항성 분석	
5년차	2	신미관련 분자마커	206	매운맛 분석	
		합계	1,488	-	

# ○ 특허출원 성과

번호	구분 (논문 /특허 /기타	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국 가	Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/인 용횟수 등)
1	투 청 출	고추역병균 저항성 고추 품종 선별용 양적형질좌위 연관 분자마커 및 그를 이용한 고추역병균 저항성 고추 품종 판별방법	(주)에프 앤피	발명자	대한민국 10-2016- 0076604	_	출원일자 2016.06.20	중복	-
2	특허 출원	고추 흰가루병 저항성 식물체 검출용 유전자 마커 및 검출방법	(주)에프 앤피	발명자	대한민국 10-2016- 0119860	-	2016.09.dd	중복	-

# PART 5. 병검정체계확립 및 내병성검정지원 제 1 절 주요 병원균의 병리 분석 및 검정 지원

1. 저항성 라인 대량 선발을 위한 검정법 확립

# 가. 고추 탄저병의 대량 선발 검정법 확립

고추는 국내에서 재배하는 작물 중에서 생산액으로 비교하였을 때 농업 전체에서 5위이며, 채소류 중에서는 1위를 차지하는 주요 작목이고, 재배 면적을 보더라도 전체 채소류 재배 면적의 21.6%를 차지하고 있다. 하지만 재배 기간이 길기 때문에 병해 관리가 소홀히 되면 다양한 병이 발생하여 연중 생산량이 큰 폭으로 변화하기 때문에 생산량을 예측하기가 어렵다. 고추는 우리의 식생활에서 차지하는 비중이 크기 때문에 생산량이 감소할 경우 경제적으로 큰 혼란을 야기하는 작목이기도 하다.

고추의 생산량에 직접적으로 큰 영향을 미치는 병으로는 탄저병을 들 수 있는데, 병 방제에 실패한다면 고추의 생산량이 매우 심각한 수준으로 감소하기도 한다. 국내에서 고추 탄저병은 7월 초순이나 중순경부터 열매에 발생하기 시작하여 8월과 9월을 지나면서 급격히 발생량이 증가하기 때문에 수량이 감소하고 품질이 저하하게 된다. 이러한 피해는 한국뿐만 아니라, 인도, 인도네시아, 중국 남부와 같이 장마기나 우기가 있는 몬순 기후대의 재배지에서도 막대한 피해가 발생하고 있다(Kim과 Park, 1988; Park과 Kim, 1992; Shin 등, 1999).

탄저병의 방제를 위해서는 체계적으로 살균제를 처리하는 것이 가장 실용적이며 효과적인 방법이기 때문에, 침투 이행성이며 방제효과가 우수한 살균제를 선발하는 것이 필요하다. 살균제의 효과는 배지 상에서 병원균에 대한 항균활성을 검정하는 방법, 고추 열매를 사용하여 살균제의 특성과 병 방제 효과를 검정하는 방법, 포장에서 직접 살포하여 병 방제 효과를 검정하는 방법 등이 있다. 포장에서 직접 실험하는 방법이 살균제의 효과를 가장 정확하게 검정하는 방법이기는 하나, 많은 살균제의 효과를 검정하거나 신속하게 효과를 조사하기에는 어려움이 있다. 온실에서 실험하는 방법도 고추를 성체까지 재배하고 열매가 형성 된 후에 실험해야하기 때문에 실험 재료를 준비하기에도 어려움이 크다. 따라서 실험실 내에서 고추열매를 대상으로 살균제의 효과를 검정할 수 있는 표준화된 방법이 필요하다.

지금까지 열매를 이용한 고추 탄저병 검정 방법들은 여러 가지가 제안되었지만(Kim 등, 2007; Manandhar 등, 1995; Susheela, 2012), 고추 표면에서 병원균의 생장과 분화에 미치는 요인들이 병 발생에 어느 정도의 영향을 미치는 지에 대해서는 조사되지 않았다. 따라서 본 실험에서는 고추 열매에 병원균을 무상처 분무 접종하며 병원균의 접종 밀도, 습실처리 기간, 발병온도 등이 고추 열매 상에서 포자 발아, 부착기 형성 그리고 병 발생 등에 미치는 영향을 조사하여 탄저병 검정 방법을 표준화하였다. 또한 표준화한 무상처 접종과 열매에 인위적인 상처를내고 병원균을 접종하는 각각의 방법으로, 특성이 다른 살균제의 효과를 비교함으로써 고추 열매를 이용한 실내 살균제 효과 검정법의 효용성을 조사하였다.

# (1) 재료 및 방법

# (가) 실험에 사용한 병원균

탄저병이 발생한 고추 열매의 발병 부위에서 단포자 분리를 통하여 얻은 탄저병균 Colletotrichum acutatum JC24를 25<sup> $\circ$ </sup>C의 Potato dextrose agar(PDA) 사면 배지에서 배양한 후, 4<sup> $\circ$ </sup>C에서 보관하며 실험에 사용하였다.

# (나) 접종원 준비 및 병원균 접종

접종원인 분생포자는 병원균을 25℃의 PDA배지에서 10일간 배양한 후, 멸균 증류수를 탄저병균의 균총에 붓고 균총 표면에 형성된 분생포자를 긁어서 수확하였다. 수확한 포자 현탁액은 4겹의 거즈에 여과하여 균사 조각 등을 제거하고 현탁액의 포자 밀도를 정해진 밀도로 조절하였다. 준비한 *C. acutatum* JC24의 포자 현탁액은 상처를 내지 않은 고추 열매 표면에 분무하여 접종하거나, 멸균한 핀으로 고추 열매에 상처를 내고 상처 위에 5 μL의 포자 현탁액을 점적하여 접종하였다.

# (다) 병 발생에 미치는 요인 실험

모든 실험은 탄저병균인 *C. acutatum* JC24의 포자를 무상처 분무접종하여 실시하였다. 플라스틱 상자의 바닥에 2겹의 종이 타올을 깔고 100 mL의 증류수를 부어 습실을 유지할 수 있게 준비한 후, 고추 열매(품종: 왕대박)를 놓고 병원균을 접종하였다. 이 때 병원균의 포자 밀도는 1 x 10<sup>4</sup>, 5 x 10<sup>4</sup>, 1 x 10<sup>5</sup>, 5 x 10<sup>5</sup>, 1 x 10<sup>6</sup>, 5 x 10<sup>6</sup> 개 mL<sup>-1</sup>로 조절하여 분무 접종하였다. 병원균을 접종한 고추 열매는 25℃에서 5일간 습실처리 후에 플라스틱 상자 뚜껑을 열어서 보관하며 발병을 유도하였고, 병원균을 접종한 지 12일 후에 병 발생 정도를 조사하였다.

습실 처리 기간이 병 발생에 미치는 효과를 조사하기 위해서, 포자 밀도가 1 x 10<sup>6</sup> 개 mL<sup>-1</sup>로 조절된 현탁액을 분무 접종하고 25℃에 보관하며, 각각 1, 2, 3, 5, 7일로 정해진 기간 동안만 플라스틱 상자의 뚜껑을 덮어 습실을 유지하였다. 정해진 기간 동안 습실을 유지한 후 상자의 뚜껑을 열어 발병을 유도하였으며, 병 조사는 역시 병원균을 접종하고 12일 후에 동시에 조사하였다.

발병 온도가 병 발생에 미치는 영향을 조사하기 위해서, 접종한 고추 열매를 습실 처리한 플라스틱 상자에 넣고 20, 25, 30℃에 보관하며 발병을 유도하였다. 이 때 병원균 포자현탁액의 포자 밀도를 1 x 10<sup>6</sup> 개 mL<sup>-1</sup>로 조절하여 분무 접종하였으며, 5일 동안 습실 처리하였다. 병조사는 병원균을 접종하고 12일 후에 실시하였다. 모든 무상처 접종 실험구에서 병 발생 조사는 아래와 같은 발병지수를 사용하여(Table 1-1) 열매에서 발병 정도를 조사한 후, 다음과 같은 산출식에 의거 발병도를 계산하였다.

Disease incidence (%) =  $[(1 \times n_1 + 2 \times n_2 + 3 \times n_3 + 4 \times n_4)/4N] \times 100$ 

N; total number of fruits

n1; total numer of fruits evaluated as disease index 1

n2; total numer of fruits evaluated as disease index 2

n3; total numer of fruits evaluated as disease index 3

n4; total numer of fruits evaluated as disease index 4

Table 1-1. Anthracnose disease index on a pepper fruit

Disease index	Degree of diseased lesion						
0	no lesions on a fruit						
1	one or three small lesions						
2	lesion area ranging from 1 to 5%						
3	lesion area ranging from 5 to 25%						
4	lesion area above 25%						

# (라) 병원균 포자 발아율과 부착기 형성율 조사

병원균을 고추 열매에 분무 접종한 후, 포자 발아와 부차기 형성을 조사하기 위해서 고추 표면에 있는 포자를 투명한 테이프를 이용하여 떼어내어 테이프에 부착된 병원균의 포자를 현미경으로 관찰하였다. 반복 당 100개씩의 포자를 관찰하여 발아율과 부착기 형성율을 조사하였으며, 5개의 열매를 반복으로 사용하였고 모든 처리는 3반복으로 실험하였다.

# (마) 살균제의 효과 검정

고추 탄저병 방제 약제로 사용되는 보호용 살균제인 propineb(a.i. 70%, WP)와 ergosterol 생합성 저해 살균제인 tebuconazole(a.i. 25%, WP), 병원균의 호흡을 저해하는 trifloxystrobin(a.i. 22%, SC)를 사용하여 탄저병에 대한 예방 효과와 치료 효과를 조사하였다. 살균제의 예방과치료 효과는 병원균을 무상처 접종과 상처 접종 방법으로 나누어 접종하면서 각각 조사하였다. 병원균을 무상처 접종할 경우, 살균제의 예방 효과는 병원균을 분무 접종하기 1일 전에, 치료효과는 병원균을 분무 접종하고 1일과 5일 후에 살균제를 처리하였다. 병원균의 접종은 포자현탁액의 포자 밀도를 1 x 10<sup>6</sup> 개 mL-1로 맞추어 분무 접종하고, 접종한 고추 열매는 25℃의플라스틱 상자에서 5일간 습실처리한 후, 뚜껑을 열고 발병을 유도하였다. 병원균을 접종하고 12일 후에 고추 열매 당 발병정도를 조사하였다. 상처 접종 방법으로 살균제의 예방과 치료 효과를 조사할 경우, 고추 열매에 핀으로 상처를 내고 병원균을 접종하기 1일 전에 살균제를 처리하여 예방효과를 구하였고, 병원균을 접종하고 1일과 5일 후에 살균제를 처리하여 치료 효과를 구하였다. 병원균의 접종은 1 x 10<sup>6</sup> 개 mL<sup>-1</sup>로 포자 밀도를 조절한 포자 현탁액을 상처위에 5 μL씩 점적하여 접종하였다. 병원균을 접종한 고추는 앞의 실험들과 동일하게 25℃에서

습실처리한 플라스틱 상자에 넣어 5일간 습실 처리하였다. 습실 처리 후 플라스틱 상자의 뚜껑을 열고 발병을 유도하였으며, 병원균을 접종하고 12일 후에 상처 위에 형성된 탄저병 병반의 크기를 측정하였다. 살균제의 예방과 치료 효과는 무처리구와 살균제 처리구에서 발병 정도를 비교하여 산출한 방제가를 가지고 비교하였다.

# (바) 통계 분석

통계 분석은 SAS(SAS Institute, Inc., 1989, Cary, NC) 프로그램을 이용하여 ANOVA 분석을 하였으며, 처리 평균간 비교를 위하여 Duncan' multiple range test(P = 0.05)를 실시하였다.

# (2) 결과 및 고찰

(가) 병원균 포자의 밀도, 습실처리 기간 그리고 발병 온도가 열매 상에서 포자 발아, 부착기 형성 및 발병도에 미치는 영향

접종한 병원균의 포자 밀도는 Fig. 1-1에서 보는 것과 같이 열매 위에서 C. acutatum JC24의 포자 발아율과 부착기 형성율에 영향을 주지 않았다. 탄저병균은 접종한 포자 밀도에 따라서 68.3에서 73.0% 사이의 포자 발아율과 35.3에서 49.3% 사이의 부착기 형성율을 보였지만,처리 간에 차이가 없었다. 접종 12일 후에 발병도를 조사한 결과, 현탁액에서 포자 밀도를  $1 \times 10^6$  개  $mL^{-1}$ 로 조절하여 접종한 처리구에서 98.9%로 가장 높은 발병도를 보였다.

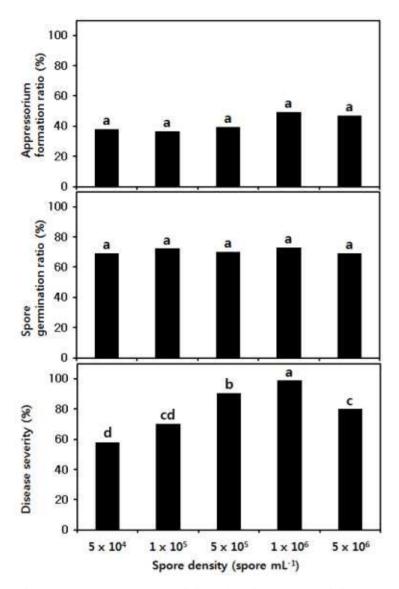


Fig. 1–1. Effect of conidial density on conidial germination, appressorium formation and disease severity on pepper fruits. *C. acutatum* JC24 was inoculated with spraying conidial suspension adjusted to each indicated conidial density. Inoculated fruits were kept in a humidity plastic box at  $25\,^{\circ}$ C for 5 days, and then disease incidence was investigated 12 days after inoculation. Values in the labeled with the same letter are not significantly different in Duncan' multiple range test at P = 0.05.

병원균을 접종(포자 밀도; 1 x 10<sup>6</sup> 개 mL<sup>-1</sup>)하고 25℃에서 1, 2, 3, 5, 7일간 습실처리하였을 때, 습실처리 기간이 길어짐에 따라서 열매 상에서 포자 발아율과 부착기의 형성율은 상승하였다(Fig. 1-2). 습실 처리 기간이 늘어나면서 병원균의 발아와 부착기를 형성하는 비율이 증가하는 것을 보면, 상처가 없는 고추 열매 위에서 병원균이 열매를 직접 침입하기 위해서는 습실처리 기간이 매우 중요함을 알 수 있었다. 병 발생도 1일간 습실처리하였을 때에는 전혀 발병되지 않았지만, 2, 3, 5, 7일간으로 습실처리 기간이 증가함에 따라, 44.4, 75.6, 82.2, 95.6%로 증

가하였다. 딸기의 잎 상에서 딸기 탄저병균인 *C. acutatum*의 포자 발아, 2차 분생포자 형성, 부착기 형성 등도 습실처리 기간에 영향을 받는다(Leandro 등, 2003b). 또한 본 실험의 결과와같이 습도가 높고 기간이 길어질수록 딸기 열매에서 발병도가 증가하였다(Fernando 등, 1999; Wilson 등, 1990). 이처럼 습실처리 기간은 병원균의 초기 침입 관련 분화와 발병 정도에 큰 영향을 미친다. 하지만 고추 탄저병의 경우 5일 이상 습실 처리를 할 경우, 고추 열매 위에서 병원균의 균사 생장이 급격하게 증가하여 포장에서 관찰하는 것과 같은 전형적인 탄저병의 병반을 발견하기 어려웠다.

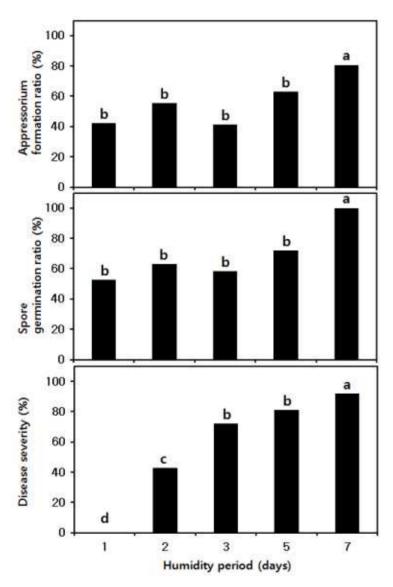


Fig. 1–2. Effect of wetness period on conidial germination, appressorium formation and disease severity on pepper fruits. C. acutatum JC24 was inoculated with spraying conidial suspension adjusted to 1 x  $10^6$  spores mL<sup>-1</sup>. Inoculated fruits were kept in a humidity plastic box at  $25^{\circ}$ C for each indicated wetness period, on which disease incidence was investigated 12 days after inoculation. Values in the labeled with the same letter are not

significantly different in Duncan' multiple range test at P = 0.05.

병원균을 고추 열매에 접종하고 발병을 유도하기 위한 온도를 20, 25, 30℃로 각각 조절하여 보관하였을 때, 포자 발아와 부착기 형성에는 차이가 없었지만, 발병도는 31.1, 86.7, 100%로, 실험한 세 가지 온도 중에서는 30℃에서 발병이 가장 심하였다(Fig. 1-3). 딸기에서는 병원균의 포자 발아 적온은 23 - 27℃이었으며, 35℃ 이상에서는 균사의 생장과 포자 발아뿐만 아니라 발병도까지도 감소하였다(Leandro 등, 2003a). 본 실험에서는 30℃ 이상의 온도에서 실험을 실시하지 않았지만, PDA상에서 *C. acutatum*의 균사 생장이 25℃보다 30℃에서 저하하는 것을 보면 30℃ 이상의 고온은 고추 탄저병인 *C. acutatum*이 생장하거나 병이 발생하기에 좋은 환경이 아닐 것으로 생각되었다(Kim 등, 2008).

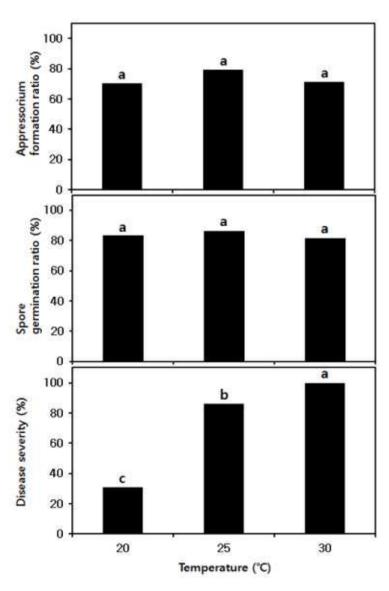


Fig. 1-3. Effect of incubation temperature on conidial germination, appressorium formation and disease severity on pepper fruits. *C. acutatum* JC24 was inoculated with spraying

conidial suspension adjusted to  $1 \times 10^6$  spores mL<sup>-1</sup>. Inoculated fruits were kept in a humidity plastic box for 5 days, and then disease incidence was investigated 12 days after inoculation. Values in the labeled with the same letter are not significantly different in Duncan' multiple range test at P = 0.05.

이상의 결과에서 보면 고추 열매 상에서 병원균이 포자 발아를 하거나 부착기 형성을 하기 위해서는 포자 밀도 접종 후 발병 온도보다 습실처리 기간이 더 큰 영향을 미쳤다. Fig. 1-1과 1-3에서 보는 것과 같이 포자 발아율과 부착기 형성율에 유의적인 차이가 없는데도 불구하고 발병율에서 차이가 있는 것을 보면, 열매를 침입하는 초기의 포자 발아율와 부착기 형성율은 고추 열매에 대한 병원성과 상관 관계는 낮은 것으로 생각되어진다. 병원균에 따라서는 벼 도 열병균과 같이 기주 식물을 침입하는데 부착기를 형성하는 것이 필수적인 과정인데 비하여, 딸 기 잎에서 C. acutatum은 침입보다는 생존을 위해서 부착기를 만들기도 한다(Emmett와 Parberry, 1975; Galhano와 Talbot, 2011; Leandro 등, 2003a). 하지만 Fig. 1-2에서 습실처리 기간이 길어지면서 병원균의 포자 발아율과 부착기 형성율이 높아지고 발병도 또한 증가하는 것을 보면, 고추 탄저병균의 경우도 열매 상에 형성하는 부착기가 병원균이 기주식물을 직접 침입하는데 비록 낮은 상관관계이지만 영향을 미치고 있다고 생각한다. 고추 탄저병균의 병원 성에 관여하는 요인으로 열매의 형태적 형질이 관여하고 있다. Manandhar 등(1995)은 고추 탄 저병균인 C. gloeosporioides의 발병 정도는 열매의 큐티클 층과 과피 층의 두께와 관계가 있 다고 보고하였다. 고추의 다양한 계통(line)을 이용한 실험에서도 과피의 두께가 두꺼울수록 형 성되는 병반의 크기가 작아지고 병반의 증가 속도도 감소하였다. 결국 열매에서 부착기 형성율 과 더불어 열매의 형태적 형질도 병 발생에 영향을 미친다는 것을 보여주고 있다. 또 다른 고 추 탄저병균인 C. capsici를 다양한 생육 단계의 열매에 접종하면, 열매가 성숙한 것일수록 포 자발아와 부착기 형성 정도가 증가하며, 열매에 형성되는 병반의 크기도 증가하며(Rajapakse와 Ranasinghe, 2002), C. capsici의 경우 고추의 형태적 형질이 병원균의 침입 기구 형성과 발병 정도에 모두 영향을 미친다. 이러한 결과를 보면 고추 탄저병의 발생은 환경 요인뿐만 아니라 고추의 형태적인 요인 역시 관여하고 있기 때문에, 살균제의 활성을 검정하는 경우에는 항상 병원균의 무상처 접종과 상처 접종이 동시에 이루어져서 살균제의 활성을 검정할 수 있어야 하다.

이러한 특성은 살균제 효과 검정뿐만 아니라 탄저병에 대한 다양한 유전자원의 저항성 정도를 검정하는데도 동일하게 영향을 미칠 것으로 생각한다. Kim 등(2012)은 탄저병균에 대해서고추의 유전자원 896점의 저항성 검정을 실시하였는데, 그 중 34점이 저항성으로 특히 9점은전혀 병이 발생하지 않는 유전자원으로 판정하였다. 하지만 병원균을 상처 접종한 결과, 5점만이 3% 미만의 발병율을 보였는데, 이는 상처가 병원균에 대해서 초기에 저항성 요인으로 작용할 수 있는 큐티클층과 세포벽 등에 영향을 미치기 때문이라고 보고하였다. 이 결과는 탄저병균이 고추를 침입하는데 있어서 열매 상에 형성된 상처가 큰 영향을 미친다는 것을 보여준다.

이러한 상처는 병원균을 접종하기 위해서 인위적으로 낸 상처뿐만 아니라 포장에서 발생하는 다양한 상처가 병 발생에 큰 영향을 주는 것이기 때문에, 열매를 이용하여 살균제의 효과검정을 실시하거나 유전자원의 저항성 검정을 실시할 경우에는 특히 주의해야 할 사항이 된다.

# (나) 고추 탄저병에 대한 살균제의 예방 및 치료 효과

보호용 살균제인 propineb는 병원균을 접종하고 살균제를 처리하는 치료효과가 병원균을 접 종하기 전에 처리하는 예방효과보다 낮았다(Table 1-2). 특히 열매에 상처를 내고 접종하였을 경우에는 무상처 접종에서 병원균을 접종하고 1일과 5일 후에 살균제 처리하였을 때 얻은 61.1%와 36.1%의 치료효과보다도 더 낮은 13.3%와 13.3%의 효과가 나타나, 병 방제 효과를 볼 수가 없었다. 하지만 예방 효과의 경우는 무상처 접종구에서 77.8%, 상처 접종구에서 62.2% 의 효과를 보였다. 이 결과는 예방 살균제의 경우 포장에서 병이 발생하기 전에 예방적으로 처 리한다면 열매에 상처가 있다고 하더라도 탄저병에 대해서 방제 효과를 나타낼 수 있지만, 병 이 발생한 후에 치료용 방제약제로 처리할 경우에는 효과가 크게 감소하기 때문에 탄저병을 방제하기 어려울 것으로 예상한다. 따라서 예방 살균제의 경우에는 처리하는 일정을 잘 조절하 여 병이 발생하기 전에 처리하는 것이 중요하다. 치료효과가 우수한 것으로 보고되어 있는 tebuconazole은 상처 접종구와 무상처 접종구 모두에서 병원균을 접종하고 1일 후에 처리하는 치료 효과가 예방효과보다 우수하였다. 일반적으로 tebuconazole과 같이 ergosterol 생합성을 억제하는 살균제는 병원균의 포자 발아 억제 효과보다는 균사 생장을 억제하는 효과가 더 크 기 때문에 열매 표면에서도 병원균의 포자가 발아하고 균사 생장을 하는 단계에서의 효과가 더 우수하기 때문에 예방효과보다 치료효과가 우수하게 나타났을 것으로 생각한다(Amponsah 등, 2012). 병원균의 호흡을 억제하여 병 방제 효과를 나타내는 strobilurin계에 속하는 trifloxystrobin은 병원균에 대해서 우수한 포자 발아 억제효과와 균사생장 억제효과를 모두 지 니고 있는 것으로 알려져 있다. Table 1-2에서 탄저병균을 상처 혹은 무상처 접종하였을 때 모두에서 trifloxystrobin은 예방과 치료 효과가 모두 우수하였다. 하지만 병원균을 접종하고 5 일 후에 처리한 경우, 방제효과는 0%와 11.1%로 크게 감소하였다. 이러한 결과는 동일한 계통 의 pyraclostrobin의 포도 탄저병과 감귤 괘양병 방제 효과에서도 얻을 수 있었다(Mondal 등, 2007). 병원균을 접종하기 전과 접종 1일 후에 처리하였을 때, 80 - 100%의 효과가 병원균을 접종하고 4일 후에 처리하였을 때에는 30 - 40%로 감소하였다. 본 실험에 사용한 propineb와 tebuconazole 역시 병원균을 접종하고 5일 후에 처리할 경우 방제효과가 2.2%에서 36.1% 사이 로 매우 낮게 나타났다. 따라서 살균제는 각각의 특성이 다르다고 하더라도 병이 발생하고 너 무 시기가 늦은 상태에서 처리할 경우, 탄저병을 방제할 수 있는 가능성은 매우 희박해지기 때 문에 포장에서 병 발생을 지속적으로 모니터링하면서 처리 시기를 결정하는 것이 필요하다.

Table 1–2. Efficacy of fungicides and inoculation methods on the development of pepper anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum* 

D	Application <sup>a)</sup>	Control efficacy(%)						
Fungicide	time	Non-wound in	noculation <sup>b)</sup>	Wound inoculation				
Propineb	1 DBI	77.8 <sup>c)</sup>	$b^{d)}$	62.2	b			
	1 DAI	61.1	bc	13.3	d			
	5 DAI	36.1	d	13.3	d			
Tebuconazole	1 DBI	50.0	cd	44.4	С			
	1 DAI	75.0	b	60.0	b			
	5 DAI	13.9	e	2.2	d			
Trifloxystrobin	1 DBI	100	a	88.9	a			
	1 DAI	71.1	b	91.7	a			
	5 DAI	0.0	e	11.1	d			

- a) Each fungicide was applied by spraying on pepper fruits one day before inoculation (DBI), and one day and 5 days after inoculation (DAI) with *C. acutatum* JC24. Fungicides were sprayed by a recommended concentration in the field.
- b) The conidial suspension of C. acutatum JC24, which were adjusted to  $1 \times 10^6$  spores mL<sup>-1</sup>, was inoculated by spraying with spore suspension and  $5 \mu$ L-dropping on a wound. Inoculated fruits were kept in a humidity plastic box at  $25^{\circ}$ C for 5 days. Disease incidence on a fruit was investigated 12 days after inoculation.
- c) Figures presented the control value (%).
- d) Values followed by the same letter are not significantly different at P = 0.05 based on Duncan's multiple range test.

고추 탄저병균을 열매에 무상처 접종할 때, 병원균 접종 밀도, 습실처리 기간, 발병 온도 등이 병원균의 침입 기구 형성과 열매에서의 발병도에 영향을 주기 때문에 살균제 효과 검정에서 무처리구의 발병도가 실험 조건에 따라서 상당한 차이를 보일 수 있다. 그런데 살균제 무처리구의 발병도는 살균제 효과에 영향을 미치기 때문에 검정하는 정확한 조건을 표준화하는 것이 필요하다. 또한 병원균을 무상처 접종하는 방법과 상처 접종하는 방법은 살균제가 갖는 특성에 따라서 효과가 감소할 수도 있기 때문에 포장과 동일한 조건에서 살균제의 효과를 정확하게 조사하기 위해서는 두 가지의 접종 방법을 동시에 실시하는 것이 타당하다. 이처럼 검정방법의 표준화는 살균제의 효과 검정과 작용 특성을 연구하는데 꼭 필요한 과정이며, 유용하게 사용될 수 있을 것으로 생각한다.

나. 고추 역병에 대한 병리 검정 체계 표준화 및 CAA계열 살균제의 작용 특성

고추(Capsicum annuum)는 쌍떡잎식물의 가지과 한해살이 작물로 국내 전 지역에서 재배고 있다. 고추가 우리나라에 도입된 것은 400여 년에 불과하지만, 우리 음식 문화에서 없어서는 안될 중요한 조미채소로 깊숙이 자리 잡고 있다. 현재 농업인들에게는 쌀 다음으로 중요한 소득원이고, 소비자에게는 가장 중요한 조미채소이다. 우리나라에서 종묘회사들이 채소육종을 시작한 것은 1960년대 초반이며, 그 이후 고추의 품종육성은 민간 종묘회사들의 가장 중요한 업무가 되었다. 고추 품종 개발의 주요 내용은 1970년대 초반까지는 원예연구소를 중심으로 주로 재래종의 개량에 치중하였다. 고추에서 웅성불임성을 활용한 일대교잡종의 종자생산 기술이 개발되면서, 민간 종묘회사에서 1969년 세계 최초로 고추의 일대교잡종의 종자생산 기술이 개반되면서, 민간 종묘회사에서 1969년 세계 최초로 고추의 일대교잡종 품종을 상용화하게 되었다. 이런 결실로 일대교잡종의 재배면적이 확대되다가 1990년대 말부터는 100% 일대 교잡종 재배시대가 열리게 되었다. 실제 고추 품종 육종의 성과로는 10a당 수량이 1980년대 94kg 수준에서 2000년 이후 250kg 이상 수준으로 3배정도 높였고, 내병성, 건과 특성들을 크게 향상시켰다. 착색단고추(파프리카)를 제외한 모든 품종이 국산화되었고, 더 나아가 최근에는 전체 채소종자 수출량의 34%인 710만불 상당의 고추 종자를 외국에 수출하고 있다. 우리 나라의 고추품종 개발 능력은 세계적으로 가장 우수하며 높은 국제 경쟁력을 갖추고 있어 우리나라 채소산업 발전에 크게 기여하였다(고추재배전서, 2008).

고추역병은 고추재배에 있어 가장 피해가 심한 병으로서 우리나라 고추생산에 큰 감수요인이 되고 있다. 이 병은 묘상부터 전생육기간에 걸쳐 발생하며 특히 비가 많이 오는 6월 하순부터 8월 말까지 뿌리와 줄기, 그리고 잎과 열매에 발생하며 이어짓기를 하는 밭이나 비닐하우스에서 고추의 작황을 좌우한다. 역병의 피해는 고추를 이어짓기 함으로써 토양전염되는 역병균의 전염원이 매년 증가하기 때문이기도 하지만, 역병이 발생하기 쉬운 여름철에 장마가 겹치므로 물빠짐이 나빠지거나 침수가 되기 때문에 피해가 증가하기도 한다. 최근 고추재배는 노지뿐만 아니라 비닐하우스 재배면적도 급격히 증가되고 있으며, 재배기술의 지역적인 특이성으로인하여 주산지화되고 있다(황, 2002).

Phytophthora capsici는 고추, 가지, 토마토, 수박, 오이, 참외, 호박 등 박과와 가지과를 주로 침해하는 것으로 보고되어 있다(지, 2004). 특히 국내 채소 재배면적의 20% 이상을 차지하는 (약 7.7만 ha) 고추에 발생하는 역병은 고추재배의 가장 큰 장애 요인으로, 1985년과 1988년 사이, 그리고 1998년과 2000년 사이의 전국 평균 발병 주율이 각각 8-25% 및 2-20%로 조사되었다. 고추의 연간 총 생산액은 약 1조 4,500억 원으로 채소 전체 생산액의 약 27%를 차지하고 있는데, 고추 역병에 의한 수량 감소를 연 평균 5%로 가정한다면, 손실량은 해마다 10,000톤 정도이며 피해액은 7백억원이 넘을 것으로 추정한다(지, 2004). 노지와 하우스 모두 병 발생이 지속적으로 발생하고 있어 역병의 피해는 점점 증가하고 있다.

P. capsici는 물 속에서 증식하고 물을 따라 전파되는 반수생적 토양 전염성 병원균으로 방제가 매우 어렵고, 병 발생환경이 적합하고 감수성인 기주가 있으면 넓은 지역으로 피해가 급

속히 확산된다(Erwin & Ribeiro, 1996; Jee 등, 2000). Phytophthora속의 병원균은 일반 진균과는 매우 다른 여러 가지 특성을 가지고 있는데, 수생균의 일종으로 균사에 격막이 없고 (coenocytic), 물 속에서 주머니 형태의 무성번식체인 유주포자낭(sporangium)을 형성하는데 유주포자낭 속에는 두 개의 편모를 가진 유주포자(biflagellate zoospore)가 다량으로 형성된다. 또한 일반 곰팡이의 세포벽 주성분은 키틴질로 되어 있으나, 역병균류는 셀룰로오스와 βーglucan으로 구성되어 있다. 이와 같은 차이로 Phytophthora속의 병원균은 생물 분류체계에따라 더 이상 진균계에 속하지 않고 유사균류인 색조류계에 속한다(Agrios, 1997; Erwin & Ribeiro, 1996; Hawksworth 등, 1995).

전 세계적으로 시들음증상을 일으키는 역병의 방제를 위해 다양한 살균제가 사용되고 있다. 많은 수의 화학적으로 다른 활성 기작으로 난균류의 시들음 병을 억제 하는 약제로서, RNA 생합성을 억제하는 phenylamide계열의 metalaxyl°] 있고, DNA합성을 억제하는 heteroaromatics계열의 etridiazole, ATP생성을 억제 하는 dinitroanilines계열의 fluazinam, 세포 막 삼투에 영향을 미치는 carbamate계열의 propamocarb가 있다. 호흡을 억제하고 퀴논 안쪽과 밖에 영향을 미쳐 억제하는 quinone outside inhibitor(QoI)와 quinon inside inhibitor(QiI)계열 의 fenamidone, cyazofamid가 있다. β-tubuline 합성을 억제하는 benzamides계열의 zoxamide 가 있으며 다양한 억제 기작을 가지고 있는 copper, mancozeb, chlorothalonil이 있다. 이러한 살균제들은 Phytophthora spp. 의 생활사에서 다양한 단계에 활성을 보이며 예를 들어 mancozeb는 유주포자의 방출을 억제하고, fluazinam과 QoI는 유주포자의 운동성에 영향을 끼 친다. metalaxyl은 균사생장을 억제하는 기작을 가짐으로 병을 억제 한다(Yigal & Ulrich, 2007). 1981년 네덜란드에서 Phytophthora infestans를 이용하여 저항성 검정을 실시 한 결과 metalaxyl에 대한 저항성균이 발생하였다고 보고된 후 전 세계적으로 Phytophthora의 여러 종 들에 있어서 저항성 균의 출현이 보고되어 왔다(Lamour & hausbeck, 2000).

최근에 역병 방제를 위해서 개발된 carboxylic acid amide(CAA) 살균제는 난균류의 세포벽형성을 억제하여 병을 방제하는 살균제로, benthiavlaicarb와 iprovalicarb(valinamid carbamate), dimethomorph(cinnamic acid amide), mandipropamid(mandelic acid amide)가 알려져 있으며, 역병 뿐만 아니라 노균병에도 효과적인 살균제로 보고되어 있다(Yigal 등, 2008). CAA살균제는 병원균의 생활사에서 유주포자의 발아와 유주포자낭의 발아, 그리고 균사생장을 억제하는 효과를 가지고 있다(Cohen과 Gisi, 2007).

benthiavalicarb와 iprovalicarb는 2006년에 등록되었으며, dimethomorph는 1994년, mandipropamid는 2007년에 등록이 되었다. dimethomorph는 phenylamide계열 살균제와 교차 저항성은 보이지 않았으나, 실험실에서 화학적으로 돌연변이 시켰을 때 dimethomorph에 저항성을 가지는 *P. capsici* 돌연변이를 만들 수 있었으나 실제로는 적응 하지는 못했다. 러시아에서 포장에서 낮을 비율로 *P. infestans*에 대한 dimethomorph의 내성이 발견되었으나, 감자의 반복적인 치료를 통해 내성이 있는 균주에 대한 활성을 낮추었다(Moore 등, 2008).

국내에서도 고추 역병의 방제를 위하여 년부터 CAA계열 살균제가 도입되어 사용되고 있다.

하지만 아직까지 고추 역병균인 *P. capsici*를 대상으로 CAA계열 살균제에 대한 효과와 작용특성의 보고는 없는 실정이다. 특히 새로운 살균제가 도입되어 사용되는 초기에 수행되어야 하는 감수성 기준(baseline) 설정에 대한 연구 역시도 진행된 바가 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 실험실과 온실에서의 검정 실험을 통하여 CAA계열에 속하는 benthiavalicarb, iprovalicarb, dimethomorph, mandipropamid등 4가지의 살균제의 작용특성을 구명하며, 또한포장에서 고추 역병에 대한 효과를 조사하고자 하였다. 그리고 2005년부터 2008년까지 전국적으로 채집한 고추 역병균을 대상으로 각 살균제에 대한 저항성 모니터링을 실시하여, 감수성기준을 결정하고자 하였다.

# (1) 재료 및 방법

# (가) 병원균 분리

# ① 발병 고추의 채집과 병원균의 분리

2005년부터 2008년까지 전국 주요 고추재배 지역을 중심으로, Fig. 1-4에서 보는 것과 같이 역병균에 감염되어 전형적인 시들음 증상을 보이는 고추를 채집하였다. 채집해온 고추의 병환부와 건전부 경계의 조직을 잘라 1% sodium hypochloride에서 1분간 표면살균 후, 70% ethanol에서 다시 30초간 살균하였다. 표면살균한 고추조직은 멸균수로 세척하여, Phytophthora의 선택배지인 Jee 배지(corn meal arar에 항생제 용액(멸균증류수; 100, pimaricin; 100 mg, rifampicin; 100 mg, ampicillin; 1000 mg, hymexazol; 250 mg, PCNB; 500 mg)을 1%가 되게 첨가하여 혼합한 선택배지)에 치상하고, 20℃ 항온기에서 4일간 배양하였다. 치상한 조직에서 자라나온 균사의 선단에서 균사 조각을 떼어내어 20% V-8 juice agar(DW 800 ml; V8 juice 200 ml; agar 17 g; CaCO₃ 1 g)에 옮겨 20℃ 항온기에서 배양하였다.

# ② 고추 역병균의 동정

분리된 병원균의 동정은 유주포자낭의 형태를 관찰하여 동정하였다. 유주포자낭의 형태를 확인하기 위해 병원균을 20% V-8 juice agar에서 20℃로 5일간 배양 후 역병균의 균사 선단에서 5 mm의 균사 조각을 떼어내어 oatmeal agar에 접종한 후 동일한 온도에서 1주일간 배양하였다. oatmeal agar에서 자란 역병균의 공중균사를 제거하여 상처를 낸 후, 20℃ 광조건에서 48시간동안 배양하였다. 표면에 형성된 유주포자낭을 멸균수를 이용하여 수확하고 현미경 하에서 그 형태를 관찰하였다. 또한 수확한 유주포자낭에서 한 개의 유주포자낭을 분리하여 역병균의 순수 배양체로 배양하여 실험에 사용하였다.

# ③ 보관 균주의 제작

분리한 고추 역병균들을 20% V-8 juice agar에서 5일간 20℃로배양한 후 균총의 선단부에서 직경 5 mm의 균사 조각을 떼어내어 cap tube(직경; 1 cm, 높이; 10 cm)에 10조각씩 넣고, 보관용액 5 ml(멸균증류수; 4.5 ml, streptomycin; 300 µg/ml농도로 맞춰 0.5 ml)를 넣어 20℃

항온기에 보관하며 실험에 사용하였다.

# (나) 실험에 사용한 살균제

본 실험에서는 Fig. 1-5에서 보는 것과 같은 CAA계열에 속하는 4개의 살균제를 선발하여 사용하였다. valinamide carbamate에 속하는 benthiavalicarb (a.i. 93.6%)와 iprovalicarb(a.i. 97%), cinnamic acid amide에 속하는 dimethomorph(a.i. 95%) 그리고 mandelic acid amide(a.i. 21.8%)를 Bayer crop science와 동부하이텍, 그리고 신젠타로부터 분양받아 실험에 사용하였다.



Fig. 1-4. Symptoms of Phytophthora blight in the pepper field (A) and in a pot (B) caused by inoculation with *Phytophthora capsici* artificially in the field and the greenhouse.

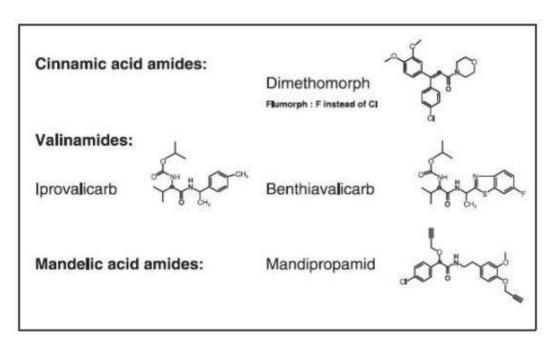


Fig. 1-5. Chemical structure of four fungicides used in this study.

# (다) 고추 역병균의 생육 단계에 미치는 살균제 효과

# ① 균사생장 억제 효과

실험에 사용한 살균제는 DMSO에 용해시켜 V-8 juice agar에 첨가하였는데, 약제의 농도는 100, 20, 4, 0.8, 0.16, 0.032, 0.0064 µg/ml가 되도록 조절하였다. 또한 배지에서 DMSO의 최종농도가 1%를 넘지 않도록 조정하였다. *P. capsici* 06-143을 V-8 juice agar에서 20℃에서 5일간배양하고, 균총의 선단부에서 지름 2mm의 균사조각을 떼어내어 살균제가 첨가된 배지의 중앙에 접종하였다. 병원균을 접종한 배지는 20℃ 암조건에서 3일간 배양하고 균총의 직경을 측정하였다. 각 살균제의 균사생장 억제 효과는 아래의 식에 의해서 계산하였다.

# ② 유주포자낭 발아 억제 효과

앞에서 설명한 방법으로 oatmeal agar에서 형성시킨 유주포자낭은 멸균수를 이용하여 수확하여 실험에 사용하였다. 이 때 유주포자낭 현탁액에서의 유주포자낭 농도는 유주포자낭을 1 x 10<sup>5</sup> 유주포자낭/ml로 조정하였다. 각 살균제는 DMSO에 용해시켜 유주포자낭 현탁액에 최종 농도가 100, 20, 4, 0.8, 0.16, 0.032, 0.0064 µg/ml가 되도록 조절하였으며, DMSO의 농도는 1%가 넘지않도록 첨가하였다. 살균제를 첨가한 유주포자낭 현탁액을 slide-glass에 50µℓ씩 떨어트리고, 25℃에서 4시간 배양한 후 발아율을 조사하였다. 이때 slide-glass는, 2장의 키친타올을 깔고 100 ml의 증류수를 부어 습한 상태를 유지해 주는 플라스틱 상자에 넣어 배양하였다. 각살균제의 유주포자낭 발아 억제 효과는 아래식에 의해 조사하였다.

# ③ 유주포자낭의 나출 억제 효과

유주포자낭 발아와 동일한 방법으로 유주포자낭을 수확하고, 살균제를 처리한 후에는 저온 (4℃)에서 1시간, 상온(25℃)에서 30분을 배양한 후 현미경 하에서 유주포자낭에서 유주포자가 나출되어 속이 비어있는 유주포자낭의 수를 조사하였다. 각각의 처리구에서 유주포자낭의 나출율을 조사한 후 아래 식에 의해서 각 살균제의 유주포자 나출 억제 효과를 구하였다.

#### (라) 온실에서의 살균제 효과 검정

Oatmeal agar에서 자란 병원균을 멸균수를 이용하여 유주포자낭을 수거하고, 유주포자낭 농도를  $5 \times 10^3$ ,  $1 \times 10^5$  유주포자낭/ml 로 조절한 후 토양에 관주처리하여 접종하였다.

역병균에 대해 감수성 품종으로 알려져 있는 '왕대박' 품종을 온실에서 4엽기까지 재배한 후실험에 사용하였으며, 병원균은 metalaxyl에 대하여 감수성인 06-143을 선발하여 사용하였다. 살균제는 병원균 접종 7일전, 3일전, 1일전과 병원균 접종 1일후에 처리하여 각 살균제의 예방효과와 치료효과를 조사하였다. 선발한 4종의 살균제를 각각 500, 100, 10  $\mu$ g/ml 로 농도를 조절하여 각각의 pot에 10 ml씩 관주처리하였다. 병원균은 유주포자낭 접종농도에 따른 효과를조사하기 위해, oatmeal agar에서 형성된 P. capsici 06-143의 유주포자낭을 수확하여 병원균의 유주포자낭 밀도가  $5 \times 10^3$ ,  $1 \times 10^5$  유주포자낭/ml가 되도록 각각 준비하였다. 계획한 것과동일한 밀도로 병원균 현탁액을 준비한 후, pot당 10 ml를 토양 관주하여 접종하였다. 접종한고추는 저면관수를 통하여 토양이 항상 과습한 상태로 유지되도록 하였으며, 병원균을 접종하고 12일 후까지 발병도를 조사하여 살균제의 병 방제 효과를 구하였다.

# (마) 포장에서의 살균제 효과 검정

포장에서 CAA계열의 살균제에 대한 방제효과 검정을 2009년과 2010년, 2년에 걸쳐서 수행되었다. 모든 포장 실험에서의 처리구는 난괴법 3반복으로 배치하였다. 2년간의 포장 실험에 사용한 살균제의 제형과 유효성분량은 Table 1-3과 같았다. 특히 benthiavalicarb와 iprovalicarb의 경우는 단제로 개발된 품목이 없었던 관계로, 탄저병 방제 살균제인 chlorothalonil과 propineb을 각각 혼합한 혼합제를 실험에 사용하였다. 2009년 포장실험에서는 benthiavalicarb, iprovalicarb, dimethomorph, 그리고 mandipropamid등 4종의 살균제 각각의 처리 농도를 포장에서 사용하는 농도인 35, 120, 250, 109 μg/ml로 조정하여 처리하였다. 모든 살균제는 10일 간격으로 4회 처리하였으며, 마지막 처리를 하고 10일 후에 발병주율을 조사하였다. 살균제는 토양에 흘러 내릴 정도로 고추의 지상부에 충분히 처리하였다.

포장 실험에서 시험구의 배치는 난괴법 3반복으로 실시하였으며, 사용한 살균제도 동일하였다. 다만 포장에서 처리한 살균제의 농도는 기준 추천 농도의 1/2 농도와, 2배의 농도인 benthiavalicarb는 17과  $70~\mu g/ml$ 로, iprovalicarb는 60과  $240~\mu g/ml$ 로, dimethomorph는 125와  $500~\mu g/ml$ 로, mandipropamid는 55와  $220~\mu g/ml$ 로 조정하여 처리하였다. 모든 살균제는 10일 간격으로 4회 처리하였으며, 최종처리를 하고 10일 후에 발병주율을 조사하였다.

Table 1-3. List of fungicides used for field experiments

Fungicides	a.i.(%)	Formulation <sup>a)</sup>	Groups
Benthiavalicarb + Chlorothalonil	1.75 + 50	WG	valinamid carbamate
Iprovalicarb + Propineb	6 + 60	WP	valinamid carbamate
Dimethomorph	25	WP	cinnamic acid amide
Mandipropamid	21.8	SC	mandelic acid amide

<sup>&</sup>lt;sup>a)</sup> WP: wettabel powders, SC: suspension concentrates, WG: water dispersible granule.

# (바) 고추 역병균의 살균제에 대한 저항성 검정

병원균은 실험 시작하기 전부터 본 실험실에서 보관해 오던 병원균 중에서 2005년에 분리한 20개, 2006년 45개, 2007년 23개, 그리고 2008년에 분리한 92개의 균주를 포함한 총 180개 균주를 사용하여, 난균류의 세포벽 형성을 억제하고, 균사의 생장을 억제하는 작용기작을 가진 carboxylic acid amide(CAA)계열 살균제와 rRNA 합성을 억제하여 단백질 합성을 억제 하는 기작을 가진 metalaxyl에 대한 저항성 발현을 모니터링 하였다.

보관하던 병원균을 20% V-8 juice agar에 접종하고 20℃의 배양기에서 5일간 배양한 후 실험에 사용하였다. 실험에 사용한 살균제는 mandipropamid를 제외하고 나머지는 모두 원제를 사용하였으며, 실험 배지에 살균제를 첨가하기 위해서 앞에서 설명한 방법과 같이 DMSO를 사용하여 용해 시켰다. mandipropamid의 경우에는 멸균한 증류수를 사용하여 충분히 현탁시킨다음, 배지에 첨가하였다. V-8 juice agar에 첨가한 살균제의 최종농도는 benthiavalicarb가 0.4, 0.2, 0.1, 0.05, 0.025, 0.0125, 0.00625 µg/ml, iprovalicarb가 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625 µg/ml, dimethomorph가 4, 0.8, 0.16, 0.032 µg/ml, 그리고 mandipropamid가 0.8, 0.16, 0.032, 0.0064 µg/ml가 되도록 하였으며, metalaxyl은 100, 20, 4, 0.8, 0.16, 0.032 µg/ml가 되도록 첨가하였다. 이 때 V-8 juice agar에는 세균의 오염을 방지하기 위해 300 µg/ml의 streptomycin을 첨가하였다. 살균제를 첨가한 V-8 juice agar에 이미 배양해둔 P. capsici 균주들의 균충 선단에서 직경 5 mm의 균사조각을 떼어 접종하고 20℃에서 3일간 배양 후, 균충의 직경을 측정하였으며, 약제를 첨가하지 않은 배지 상에서 균충의 직경과 비교하여 균사생장 억제율(%)을 구하였다.

#### (2) 결 과

#### (가) 고추 역병균의 분리 및 동정

전국 고추 재배지역에서 시들음증상을 보이는 고추를 채집하여, Phytophthora 선택배지를 이용하여 역병균을 분리하였다. 분리한 역병균은 동정을 위하여 oatmeal agar에서 유주포자낭을 형성시켜 그 형태를 관찰하였다. Fig. 1-6에서 보는 것과 같이 단경과 장경의 크기가 각각 22.76 µm와 38.74 µm이며, 선단에 돌기가 달려 있는 유주포자낭을 관찰할 수 있었는데, 이는 Waterhouse(1963)와 Newhook(1978), Stamps(1990)등의 분류 기준에 따라서 *P. capsici*로 동정하였다. 분리된 모든 고추 역병균은 하나의 유주포자낭만을 단독으로 분리하여 수수 배양체를 얻었으며, 실험에 사용하였다. 이렇게 분리된 순수배양체 중에서 Table 1-4에서 보는 것과 같이 분리 연도와 장소를 고려하여 총 180개의 균주를 선발하여 본 실험에 사용하였다.

Table 1-4 Isolates collected from infected pepper plants during 4 years from 2005 to 2008

Year	Collected locations	Number of isolates
	Gyeongsangnam-Do	1
	Gyeongsangbuk-Do	12
2005	Jeollanam-Do	1
2005	Jeollabuk-Do	1
	Chungcheongnam-Do	1
	Chungcheongbuk-Do	4
	Gyeonggi-Do	2
2006	Gyeongsangbuk-Do	12
2006	Chungcheongnam-Do	16
	Chungcheongbuk-Do	15
	Gyeonggi-Do	7
2007	Gyeongsangbuk-Do	4
2007	Chungcheongnam-Do	9
	Chungcheongbuk-Do	3
	Gyeongsangnam-Do	2
	Gyeongsangbuk-Do	20
0000	Jeollanam-Do	8
2008	Jeollabuk-Do	17
	Chungcheongnam-Do	29
	Chungcheongbuk-Do	16
Total		180

# (나) 고추 역병균의 각 생육단계에 미치는 효과

실험에 사용한 4종의 살균제가 역병균의 균사생장, 유주포자낭 발아와 유주포자낭으로부터 유주포자 나출 억제 효과를 조사하였다. Fig. 1-7에서 보는 것과 같이 metalaxyl 감수성 균주인 P. capsici 06-143에 대한 실험에 사용한 살균제의 억제 양상을 보면, 4종의 살균제 모두06-143 균주의 균사생장과 유주포자낭 발아에 대한 억제효과는 양호하였으나, 유주포자낭으로부터 유주포자가 나출되는 것을 억제하는 효과는 거의 없는 것을 알 수 있었다. 균사생장 억제효과를 조사하였던 benthiavalicarb, iprovalicarb, dimethomorph, 그리고 mandipropamid에 대한 P. capsici 06-143의  $EC_{50}$ 값과 MIC값을 비교하여 보면, 각각의  $EC_{50}$ 값은 0.036, 0.4, 0.325, 0.003  $\mu g/ml로$  나타났으며, MIC값은 0.8, 4, 0.8, 0.16  $\mu g/ml로$ , 각 살균제 효과의 정도는 차이가있지만, 모든 살균제가 역병균의 균사생장을 효과적으로 억제하고 있는 것을 알 수 있었다. 병원균의 유주포자낭 발아에 대한 mandipropamid의  $EC_{50}$ 값과 MIC값을 보면 0.008  $\mu g/ml와$  100  $\mu g/ml로$ , 균사생장 억제효과보다 높은 농도에서 유주포자낭의 발아를 억제하는 것을 볼 수 있었다. dimethomorph 역시 균사생장을 억제하는  $EC_{50}$ 값과 MIC값은 0.325  $\mu g/ml와$  0.8  $\mu g/ml$  인데 비하여, 유주포자낭 발아에 대한  $EC_{50}$ 값과 MIC값은 0.622  $\mu g/ml와$  100  $\mu g/ml으로$ , 동일한 농도에서 균사생장 억제효과와 유주포자낭 발아 억제효과를 비교하여보면, 유주포자낭 발아를

억제하는 농도보다 더 낮은 농도에서 균사생장을 억제하는 것을 알 수 있었다. 하지만 실험에 사용한 4종의 살균제 모두 유주포자낭으로부터 유주포자가 나출되는 것을 억제할 수는 없었다.

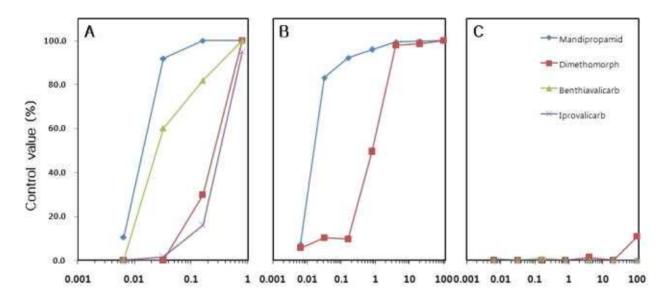


Fig. 1–7 Inhibitory effect of 4 fungicides on mycelium growth (A), zoosporangium germination (B), and zoospore release (C). Fungicides used in these experiments was mandipropamid, dimethomorph, benthiovalicarb and iprovalicarb.

# (다) 살균제의 예방 및 치료효과

각 살균제의 고추 역병에 대한 예방과 치료효과를 조사하기 위하여, 선발한 4종의 살균제 처 리 농도를 500, 100, 10 µg/ml로 조절하여 토양에 관주하였다. 또한 병원균에 의한 발생 정도를 달리하기 위하여 병원균의 접종농도를 5 x  $10^3$ 과 1 x  $10^5$  유주포자낭/ml로 다르게 조절하여 접종하였다. 또한 병 조사는 병원균을 접종하고 발병이 진행되기 시작하는 6일 후와, 병 발생 이 최대로 나타나는 12일 후에 실시하였다. Table 1-5에서 보는 것과 같이 병원균을  $5 \times 10^3$ 유주포자낭/ml의 농도로 접종하고 6일 후에 조사한 예방효과를 보면, iprovalicarb의 10 μg/ml 의 처리구를 제외한 모든 처리구에서 100%의 방제효과를 보여 주었다. 하지만 동일한 처리구 에서 병 발생 정도를 병원균을 접종하고 12일 후에 실시하였을 때의 예방효과를 보면, benthiavalicarb와 iprovalicarb의 10 µg/ml 처리에서 55.6%와 22.2%로 감소하기 시작하였다. dimethomorph의 경우는 benthiavalicarb와 iprovalicarb보다도 심각하게 그 효과가 감소하였는 데, 500 μg/ml의 처리구에서 조차 16.7%로 예방효과가 거의 인정되지 않았다. mandipropamid 의 경우도 병원균 접종 12일 후에 조사한 예방효과를 보면, 500 μg/ml에서 83.3%의 효과를 보 였을 뿐, 100과 10 μg/ml에서는 27.8%와 0%로 예방효과가 거의 나타나지 않았다(Fig. 1-7). 이 처럼 병 발생이 진전되면서 나타나는 예방효과의 감소현상은 병원균을 1 x  $10^5$  유주포자낭/ml 의 농도로 접종하였을 때 더 뚜렷하게 나타났다. 처리한 4종의 살균제 중에서 benthiavalicarb 는 병이 진전되면서 나타나는 예방효과의 감소현상은 접종한 병원균의 농도와 관계없이 매우

유사한 양상을 보이고 있었다. 병원균을 1 x  $10^5$  유주포자낭/ml의 높은 농도로 접종하고 12일 후에 조사하였을 때, benthiavalicarb의 각 처리 농도에서 효과는 100, 100, 61.1%로 나타나, 5  $\ge 10^3$  유주포자낭/ml의 낮은 농도로 접종하고 12일 후에 조사하였을 때와 비슷한 효과를 보여 주었다. 하지만 나머지 3가지의 살균제는 병원균의 접종농도가  $5 \times 10^3$  유주포자낭/mI에서  $1 \times 10^3$ 10<sup>5</sup> 유주포자낭/ml로 상승하면서 역병에 대한 예방효과가 감소하였다(Fig. 1-8), iprovalicarb 10 μg/ml 처리구의 예방효과를 6일 후에 조사하였을 때는, 낮은 농도의 접종구에서 80%이었던 효과가 높은 농도의 병원균 접종구에서 22.2%로 감소하였으며, 12일 후의 조사에서도 22.2%의 효과로 전혀 예방효과가 없는 것으로 나타났다. 이러한 예방 효과의 변화는 dimethomorph와 mandipropamid에서 더 심하게 나타났다. dimethomorph의 예방 효과의 감소 현상이 가장 심하 게 나타났다. dimethomorph 100 μg/ml 처리의 예방효과를 6일 후에 조사하면, 병원균의 저농 도 접종구에서 100%이었던 예방효과가 고농도 접종구에서는 72.7%로 감소하였다. mandipropamid 역시 병원균을 접종하고 12일 후에 500과 100 μg/ml의 효과를 조사하였을 경 우, 저농도 접종구에서 83.3%와 27.8%이었던 효과가 66.7%와 22.2%로 감소하였다. 병원균을 접종하고 1일 후에 각 살균제를 처리하여 조사한 치료효과의 결과는 Table 1-6과 같다. 우수 한 예방효과를 보인 benthiavalicarb의 치료효과는 예방효과보다는 다소 떨어지는 경향을 보였 지만, 전반적으로 유사한 결과를 보여주었다. 병원균을 낮은 농도로 접종하고 6일 후에 조사하 였을 때, benthiavalicarb는 10 μg/ml의 처리구에서도 100%의 방제효과를 보여주었으며, 12일 후에 조사하였을 때 66.7%로 감소하여 예방효과와 대등한 효과를 보였다(Fig. 1-9). 그러나 병 원균의 접종농도가 1 x 10<sup>5</sup> 유주포자낭/ml로 상승할 경우 예방효과보다는 낮은 치료효과를 나 타내었다. Table 1-6에서 보는 것과 같이 10 µg/ml 처리구의 치료효과가 6일 후에 61.1%의 효 과를 보였으며, 12일 후에는 전혀 방제효과가 나타나지 않았다. 뿐만 아니라 100%의 예방효과 보이던 100 µg/ml의 처리구에서도 치료효과는 83.3%로 감소하였다(Fig. 1-10). dimethomorph는 고추 역병균을 접종하고 12일 후에는 예방효과와 마찬가지로 전혀 치료효과 를 보이지 않았다. mandipropamid 역시 예방효과에 비해서는 치료효과가 저조하게 나타났는 데, 저농도의 병원균을 접종하고 6일 후에 조사하였을 때, 모든 처리에서 조차 100%의 예방효 과를 보였던 결과가 100과 10 μg/ml처리구에서 75%와 36.4%의 효과를 나타내었다. 접종 12일 후에 조사한 mandipropamid의 치료효과는 dimethomorph와 마찬가지로 전혀 병 방제효과를 보이지 않았다. benthiavalicarb를 제외한 실험에 사용한 3종의 CAA계열 살균제는 예방효과가 치료효과보다 우수하였다. 살균제의 치료효과는 기본적인 살균제의 활성정도와 역병 발생 정 도, 병 발생 지속 기간등의 영향에 의해서 그 효과가 감소하지만, CAA계열이 아닌 다른 살균 제들과 비교하여 볼 때 치료 처리 초기에는 병원균에 대한 치료효과가 인정되었다.

Table 1–5 Effect of zoosporangium density and fungicide concentration on the protective activity of four fungicides against *Phytophthora capsici* causing pepper Phytophthora blight.

					/ / 1
Fungicides	Zoosporangium	Investigation	Fungicide	concentration	on (µg/ml)
	density (/ml)	timing (DAI <sup>a</sup> )	500	100	10
Benthiavalicarb	$5 \times 10^{3}$	6	$100^{\rm b}$	100	100
		12	100	100	55.6
	$1 \times 10^{5}$	6	100	100	100
		12	100	100	61.1
Iprovalicarb	$5 \times 10^{3}$	6	100	100	80
		12	100	100	22.2
	$1 \times 10^{5}$	6	100	100	22.2
		12	100	100	0
Dimethomorph	$5 \times 10^{3}$	6	100	100	100
		12	16.7	0	0
	$1 \times 10^{5}$	6	100	72.7	18.2
		12	0	0	0
Mandipropamid	$5 \times 10^{3}$	6	100	100	100
		12	83.3	27.8	0
	$1 \times 10^{5}$	6	100	100	45.5
		12	66.7	22.2	0

a; days after inoculation

Table 1–6. Curative effect of fungicides on pepper Phytophthora blight caused by *Phytophthora capsici* according to inoculum density, concentration of fungicide, and investigation time.

b; control value (%)

c; All the fungicides were treated one day before inoculation.

Fungicides	Zoosporangium	Investigation	Fungicide	concentrati	on (µg/ml)
1 dilgieldes	density (/ml)	timing (DAI <sup>a</sup> )	500	100	10
Benthiavalicarb	$5 \times 10^3$	6	100 <sup>b</sup>	100	100
		12	100	100	66.7
	$1 \times 10^{5}$	6	100	100	61.1
		12	100	83.3	0
Iprovalicarb	$5 \times 10^{3}$	6	100	100	73.3
		12	100	94.4	5.6
	$1 \times 10^{5}$	6	100	100	61.1
		12	94.4	94.4	0
Dimethomorph	$5 \times 10^{3}$	6	75	61	100
		12	0	0	0
	$1 \times 10^{5}$	6	90.9	72.7	36.4
		12	0	0	0
Mandipropamid	$5 \times 10^{3}$	6	75	75	0
		12	0	O	0
	_				
	$1 \times 10^{5}$	6	100	75	36.4
		12	0	0	0

a; days after inoculation
b; control value (%)
c; All the fungicides were treated one day before inoculation.

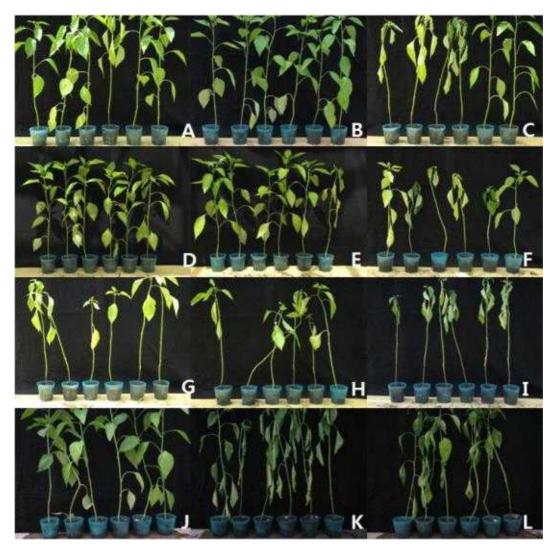


Fig. 1–7. Protective activity of fungicides against *Phytophthora capsici* causing Phytophthora blight. All fungicides were applied one day before inoculation at indicated concentrations. For the inoculation with the pathogen, zoosporangium suspension adjusted to 5 x  $10^3$  zoosporangia/ml was poured into the soil of a pot. A; 500  $\mu$ g/ml of benthiavalicarb, B; 100  $\mu$ g/ml, C; 10  $\mu$ g/ml, D; 500  $\mu$ g/ml of iprovalicarb, E; 100  $\mu$ g/ml, F; 10  $\mu$ g/ml, G; 500  $\mu$ g/ml of dimethomorph, H; 100  $\mu$ g/ml, I; 10  $\mu$ g/ml, J; 500  $\mu$ g/ml of mandipropamid, K; 100  $\mu$ g/ml, L; 10  $\mu$ g/ml

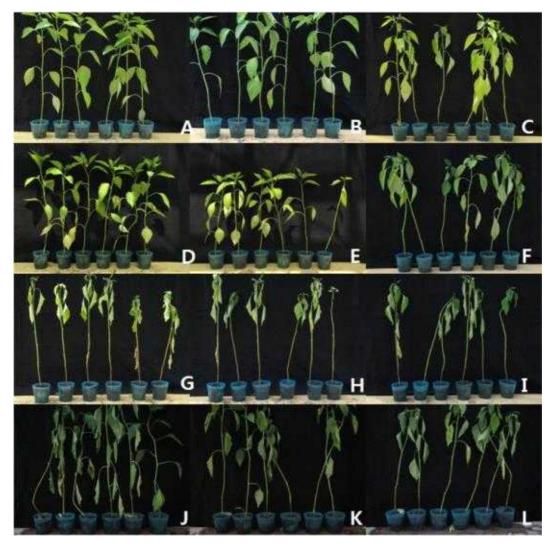


Fig. 1–8. Curative activity of fungicides against *Phytophthora capsici* causing Phytophthora blight. All fungicides were applied one day after inoculation at indicated concentrations. For the inoculation with the pathogen, zoosporangium suspension adjusted to 5 x  $10^3$  zoosporangia/ml was poured into the soil of a pot. A; 500  $\mu$ g/ml of benthiavalicarb, B; 100  $\mu$ g/ml, C; 10  $\mu$ g/ml, D; 500  $\mu$ g/ml of iprovalicarb, E; 100  $\mu$ g/ml, F; 10  $\mu$ g/ml, G; 500  $\mu$ g/ml of dimethomorph, H; 100  $\mu$ g/ml, I; 10  $\mu$ g/ml, J; 500  $\mu$ g/ml of mandipropamid, K; 100  $\mu$ g/ml, L; 10  $\mu$ g/ml

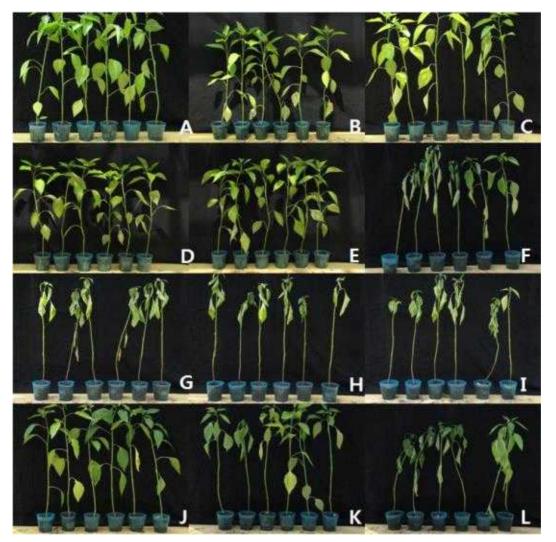


Fig. 1–9. Protective activity of fungicides against *Phytophthora capsici* causing Phytophthora blight. All fungicides were applied one day before inoculation at indicated concentrations. For the inoculation with the pathogen, zoosporangium suspension adjusted to 1 x  $10^5$  zoosporangia/ml was poured into the soil of a pot. A; 500  $\mu$ g/ml of benthiavalicarb, B; 100  $\mu$ g/ml, C; 10  $\mu$ g/ml, D; 500  $\mu$ g/ml of iprovalicarb, E; 100  $\mu$ g/ml, F; 10  $\mu$ g/ml, G; 500  $\mu$ g/ml of dimethomorph, H; 100  $\mu$ g/ml, I; 10  $\mu$ g/ml, J; 500  $\mu$ g/ml of mandipropamid, K; 100  $\mu$ g/ml, L; 10  $\mu$ g/ml

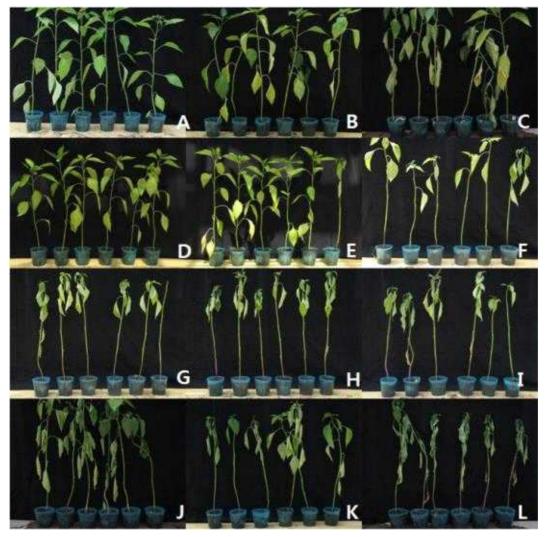


Fig. 1–10. Curative activity of fungicides against *Phytophthora capsici* causing Phytophthora blight. All fungicides were applied one day after inoculation at indicated concentrations. For the inoculation with the pathogen, zoosporangium suspension adjusted to 1 x  $10^5$  zoosporangia/ml was poured into the soil of a pot. A; 500  $\mu$ g/ml of benthiavalicarb, B; 100  $\mu$ g/ml, C; 10  $\mu$ g/ml, D; 500  $\mu$ g/ml of iprovalicarb, E; 100  $\mu$ g/ml, F; 10  $\mu$ g/ml, G; 500  $\mu$ g/ml of dimethomorph, H; 100  $\mu$ g/ml, I; 10  $\mu$ g/ml, J; 500  $\mu$ g/ml of mandipropamid, K; 100  $\mu$ g/ml, L; 10  $\mu$ g/ml

# (라) 살균제의 지속 효과

실험에 사용한 모든 살균제의 농도를  $100~\mu g/m$ l로 조정하여 병원균을 접종하기 7일, 3일, 1일 전에 처리하고 병 방제 효과를 조사하였다. 병원균을 접종하고 6일 후까지 4종의 살균제 모두 병원균의 접종 농도가  $5 \times 10^3$  유주포자낭/ml인 저농도 접종에서는 100%의 효과를 보였지만,  $1 \times 10^5$  유주포자낭/ml의 고농도로 접종하였을 때에는 benthiavalicarb와 iprovalicarb만이처리 시기에 관계없이 모두 100%의 방제 효과를 보였다(Fig 1-11). 하지만 dimethomorph와 mandipropamid의 방제 효과는 고농도로 병원균을 접종하였을 때 살균제를 처리한 시기에 따

라서 변화하는 것을 알 수 있었다. Mandipropamid는 병원균을 접종하기 1일 전에 처리할 경우에 100%의 효과를 보였지만, 3일과 7일 전에 처리하였을 때에는 각각 90.9%와 81.8%로, 처리하는 시기가 길어질수록 병 방제 효과도 감소하였다. Dimethomorph의 경우는 1, 3, 7일 전의처리구에서 방제 효과가 각각 72.7%, 45.5%, 81.8%로 나타나, 다른 살균제들보다 역병균에 대한 방제 효과가 저조하나 처리 시기가 효과에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 병원균을 접종하고 12일 후에 조사한 결과를 보면, benthiavalicarb는 여전히 병원균의 접종 농도와는 관계없이 모든 처리 시기에서 100%의 효과를 보이고 있었다. Iprovalicarb는 병원균을 고농도로 접종하였을 경우 처리 시기에 따른 방제 효과의 변화가 뚜렷하게 나타났는데, 처리 시기가 멀어질수록 방제 효과는 감소하여, 7일 전 처리에서 55.6%이었던 방제 효과가 3일과 1일전처리에서는 88.9%와 100%로 상승하였다. Mandipropamid는 병원균을 저농도로 접종하였을 때, 7일 전에 11.1%이었던 방제 효과가 3일과 1일 전 처리에서는 27.8%와 27.8%로 약간 상승하였다. 하지만 고농도의 병원균 접종 시에는 1일 전 처리에서만 22.2%의 매우 저조한 효과를 보였다.

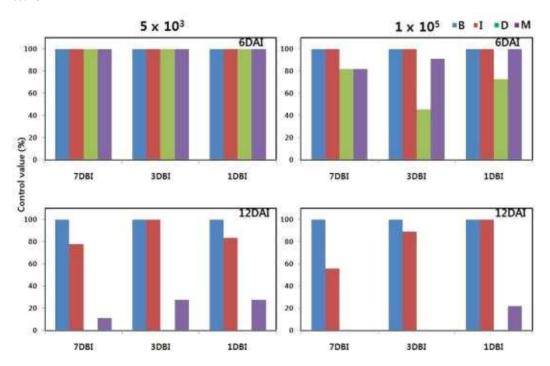


Fig. 1–11. Persistant effect of fungicides on Phytophthora blight caused by *Phytophthora capsici*. All fungicides were adjusted to 100  $\mu$ g/ml and applied 7, 3, and one day before inoculation. For the inoculation, zoosporangium suspension prepared from the culture of *P. capsici* was adjusted to 5 x 10<sup>3</sup> and 1 x 10<sup>5</sup> zoosporangia/ml, and poured into soil of pot, respectively. The percentage of diseased plants was investigated 6 and 12 days after inoculation. B; Benthiavalicarb, I; Iprovalicarb, D; Dimethomorph M; Mandipropamid.

# (마) 포장에서의 역병 방제효과

실험에 사용한 4종의 살균제의 역병 방제효과를 2년 동안 고추포장에서 조사하였다. 2009년의 포장 실험에서는 역병의 자연발병을 유도하여 인공접종하지 않았으나, 병 발생 정도가 포장전체적으로 균일하지 못하여 실험을 진행하는데 어려움이 많았다. 따라서 2010년에는 살균제를 2회 처리한 후에 역병균을 접종하여, 실험 포장 전체적으로 역병의 발생을 균일하게 조정하고자 노력하였다. 2년간의 포장 실험에서 모든 살균제는 10일 간격으로 4회 처리하고, 10일 후에 각 처리구 당 20주의 고추를 조사하여 발병주율을 구하였다. 실험에 사용한 4종의 살균제 포장사용 농도는 benthiavalicarb가 35  $\mu$ g/ml, iprovalicarb가 120  $\mu$ g/ml, dimethomorph가 250  $\mu$ g/ml, mandipropamid가 110  $\mu$ g/ml로, 각 살균제가 갖는 병원균에 대한 활성 정도에 따라서 각기 달랐다. 따라서 본 실험에서는 각 살균제를 포장 사용농도로 처리하고 고추 역병에 대한 방제효과가 효과적으로 이루어지는지를 조사하였다.

Table 1-7에서 보는 것과 같이 2009년에 살균제 무처리구에서의 발병주율은 15.8%이었지만, 인공 접종을 시도하였던 2010년의 무처리구에서 발병주율은 71.5%이었다. 무처리구의 발병율 이 낮았던 2009년의 포장 실험 결과에서는 iprovalicarb처리구의 발병주율이 1.8%로 88.4%의 방제 효과를 보였으며, benthiavalicarb와 mandiporpamid의 방제효과는 66.4%와 69.2%로 나타 났다. 하지만 dimethomorph의 경우 발병주율이 11.5%로 27.2%의 효과밖에 나타내지 못하였다. 2010년에는 2009년의 실험 결과를 바탕으로 4종의 살균제를 포장 추천 농도보다 2배 높은 농 도와 1/2인 농도로 처리하였다. 각 살균제의 처리 농도를 2배 높은 농도로 처리한 경우, 모든 살균제는 우수한 방제효과를 보였는데, 각 처리구의 발병주율은 benthiavalicarb, iprovalicarb, dimethomorph, mandipropamid에서 각각 3.7, 4.2, 3.7, 12.5%로 나타나, 병 방제효과가 94.8, 94.2. 94.8. 82.5%로 나타났다. 각 살균제 포장 사용 농도의 1/2의 농도로 처리하였을 때, dimethomorph의 경우는 2009년의 결과와는 전혀 다르게 89.5%라는 결과를 얻었다. 자연 발병 을 유도하여 무처리구에서의 발병주율이 15.8%로 낮았던 실험에서 27.2%의 효과를 보인 dimethomorph 처리가, 무처리구에서의 발병율이 71.5%로 훨씬 높았던 2010년 실험에서 1/2 처 리 농도인 125 μg/ml의 처리에서 89.5%의 효과를 보여 포장에서 dimethomorph의 효과가 불안 정하게 나타남을 알 수 있었다. dimethomorph의 역병 방제 효과는 병원균의 병원성 정도와 접 종 농도 등 별 발생에 영향을 주는 요인들에 의해서 병 방제효과가 변화한다고 보고되어 있었 다. 하지만 2009년의 포장 결과에서는 병 발생이 높지 않은 포장인데도 불구하고 낮은 방제효 과를 보이고 있었기 때문에 병 발생 정도 때문에 나타난 차이로 설명하기에는 부족함이 있고, 토양 환경의 차이나 온도, 강우 등과 같은 병 발생 환경 등이 dimethomorph의 효과에 미치는 영향 등을 조사하여야 정확한 이유를 설명할 수 있을 것으로 생각한다.

Table 1-7 Control efficacy of 4 fungicides against Phytophthora blight caused by *Phytophthora capsici* in pepper field for 2 years from 2009 to 2010

	Experiment I (2009)			Experiment II (2010)		
	concentration	disease	control	concentration	Disease	control
	(µg/ml)	incidence (%)	value (%)	(µg/me)	incidence (%)	value (%)
Dandhiamlianh	35	5.3	66.4	70	3.7	94.8
Benthiavalicarb				17	26.2	63.4
Iprovalicarb	120	1.8	88.4	240	4.2	94.2
				60	18.7	73.9
Dimethomorph	250	11.5	27.2	500	3.7	94.8
				125	7.5	89.5
Mandipropamid	110	4.9	69.2	220	12.5	82.5
				55	15	79
Untreated Control		15.8		21/200	71.5	

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup>; All fungicides were treated 4 times by 10-day interval. To assess the activity of each fungicide, percentage of diseased plants was investigated 10 days after the last application with each fungicide.

# (바) 고추 역병균의 CAA계 살균제에 대한 감수성 baseline 결정

연도별로 분리한 총 180개의 균주를 대상으로 benthiavalicarb, iprovalicarb, dimethomorph, mandipropamid에 대한 감수성 baseline을 조사하였다(Table 1-8). Benthiavalicarb의 평균  $EC_{50}$  값은  $0.033~\mu g/ml$ 이였고,  $EC_{50}$ 값의 범위는  $0.151~\mu g/ml$ 에서  $0.049~\mu g/ml$ 까지였다. 동일하게 iprovalicarb, dimethomorph, mandipropamid의 평균  $EC_{50}$ 값과 그 범위는 각각  $0.411~\mu g/ml$ 0.197  $\sim 0.556~\mu g/ml$ ),  $0.271~\mu g/ml$ 0.101  $\sim 0.798~\mu g/ml$ ),  $0.019~\mu g/ml$ 0.001  $\sim 0.044~\mu g/ml$ 0 로 조사되었다. 이와 같은  $EC_{50}$ 값의 결과는 앞으로 CAA계열 살균제에 대한 저항성 역병 균 출현을 판단할 수 있는 기준이 될 수 있을 것으로 생각한다.

본 실험을 수행하면서 채집한 균주들 중에 이미 저항성 집단이 출현해 있는지를 알아보기 위하여 180개 모든 균주들의 EC50값의 분포를 분석하였다. Fig. 1-12.에서 보는 것과 같이 benthiavalicarb와 iprovalicarb는 왼쪽으로 치우친 분포도를 보여주고 있지만, 저항성 병원균집단이라고 생각될 분포도가 나타나지는 않았다. Mandipropamid와 dimethomorph 역시 저항성병원균집단이 발현되었다는 증거는 볼 수가 없었고, 다만 분포도가 오른쪽으로 치우쳐 있는양상을 볼 수가 있었다. 4종의 살균제 중에서 dimethomorph는 1994년부터 국내에서 사용되어오는 살균제로서 CAA계 살균제 중에서는 가장 사용 기간이 오래된 살균제임에도 불구하고 저항성병원균이 보고되어 있지는 않았다. Dimethomorph에 대한 저항성보고는 국내뿐만 아니라 국외에서도 전혀 보고되지 않았다. 나머지 살균제들은 benthiavalicarb와 iprovalicarb가 2006년부터, 그리고 가장 최근인 2007년부터 mandipropamid가 등록되어 국내 고추 포장에서사용되고 있다. 고추 포장에서 서로 다른 사용 기간을 보여 주고 있지만, 국내에서 저항성 문제가 나타났을 가능성은 전혀 없다고 생각한다. 따라서 본 실험에서 구한 감수성 기준은 앞으

로 CAA계열의 살균제를 관리하는데 중요한 자료가 될 것으로 생각한다.

저항성 병원균 집단의 발생이 없다고 판단하는 또 다른 결과는 Fig. 1-13.이라고 생각한다. 각 병원균을 분리한 연도를 기준으로 EC50값의 분포를 조사하여보아도, 각 분리 연도 간에 차 이가 없음을 알 수 있다. 각 분리 연도 별로 병원균의 평균 EC50값을 비교하여 보면, Table 1-9에서처럼 benthiavalicarb와 iprovalicarb의 평균 EC50값에는 변화가 없었다. 하지만 가장 오 래 포장에서 사용한 dimethomorph는 2005년 분리 균주의 평균 EC₅0값이 0.2202 μg/ml이었다가 분리 연도에 따라서 2006년에 0.2233 μg/ml, 2007년에 0.2831 μg/ml, 그리고 2008년에 0.3031 μg /ml로 점점 상승해가고 있는 경향을 확인하였다. 따라서 고추 포장에서 dimethomorph에 대한 지속적인 살균제 저항성 발현에 대한 모니터링이 수행되어야 할 것으로 Mandipropamid의 경우에는 2005년부터 2007년까지 균주들은 0.0165 μg/ml, 0.0137 μg/ml, 0.0150 μg/ml의 평균 EC<sub>50</sub>값을 보이다가, 2008년에는 0.0236 μg/ml로 상승하였다. 이처럼 포장 에서 분리한 병원균 집단의 EC50값이 2008년에 상승한 것을 보아, 모니터링 대상 살균제로 선 택하여 계속적인 감수성 정도의 변화를 모니터링하여야 할 것으로 생각한다. 고추 역병균은 이 미 포장에서 metalaxyl에 대한 저항성균이 발생되었다고 보고되어 있다. 따라서 metalaxyl에 대한 저항성 정도와 본 실험에서 사용한 4종의 살균제의 상관 관계를 살펴봄으로써 CAA계 살 균제의 metalaxyl과의 관계뿐만 아니라 두 살균제 그룹의 작용 기작의 유의성을 알 수 있다. CAA계열 살균제와 methalxyl의 상관관계를 조사한 결과, benthiavalicarb와 R<sup>2</sup>값은 0.0002로, 상관관계가 없었고, iprovalicarb, dimethomorph, mandiprpamid와의 R<sup>2</sup>값 역시 0.0097, 0.0697, 0.0686으로 상관관계가 나타나지 않았다(Fig. 1-14).

실험에 사용한 4종의 살균제는 모두 CAA계의 살균제로 알려져 있는데, 동일한 계열에 속하는 살균제 간의 상관관계를 분석하였다. 그 결과, dimethomorph와 mandipropamid의 R<sup>2</sup>값은 0.406으로 서로 상관관계가 있었고, iprovalicarb와 benthiavalicarb의 R<sup>2</sup>값도 0.233으로 서로 상관관계가 있는 것을 보았다. 그러나 다른 benthiavalicarb와 mandipropamid, dimethomorph 그리고 iprovalicarb와 dimethomorph, mandipropamid의 상관관계는 없는 것으로 보였다(Fig. 1-15).

Table 1–8. Mean value of effective concentration inhibiting by 50% of mycelial growth (EC<sub>50</sub>) to four fungicides in *Phytophthora capsici* causing pepper Phytophthora blight

Fungicides	Minimum	Average	Maximum
Benthiavalicarb	0.0151 <sup>a</sup>	0.0333	0.0488
Iprovalicarb	0.1967	0.4108	0.5562
Dimethomorph	0.1013	0.2714	0.7982
Mandiporpamid	0.0011	0.0193	0.0437

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup>; EC<sub>50</sub> value

b; The sensitivity of P. capsici was investigated through the agar dilution method.

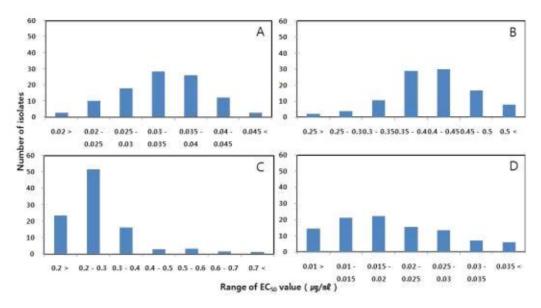


Fig. 1–12. Number of *Phytophthora capsici* isolates in each EC<sub>50</sub> value scale against four fungicides. A; benthiavalicarb, B; iprovalicarb, C; dimethomorph, D; mandipropamid.

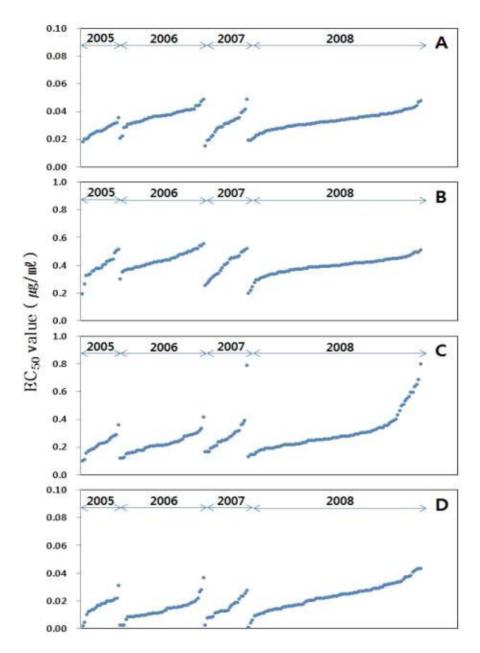


Fig. 1–13. Distribution of  $EC_{50}$  value ( $\mu g/ml$ ) of *Phytophthora capsici* isolate to benthiavalicarb (A), iprovalicarb (B), dimethomorph (C), mandipropamid (D) during 4 years from 2005 to 2008.

Table 1-9. Mean value of EC<sub>50</sub> during 4 years form 2005 to 2008.

Average of EC <sub>50</sub> value	2005	2006	2007	2008
Benthiavalicarb	0.0263 <sup>a)</sup>	0.0367	0.0307	0.0333
Iprovalicarb	0.3894	0.4389	0.4004	0.3953
Dimethomorph	0.2202	0.2233	0.2831	0.3031
Mandipropamid	0.0165	0.0137	0.0150	0.0236

 $<sup>\</sup>overline{a}$ ; EC<sub>50</sub> value ( $\mu$ g/ml)

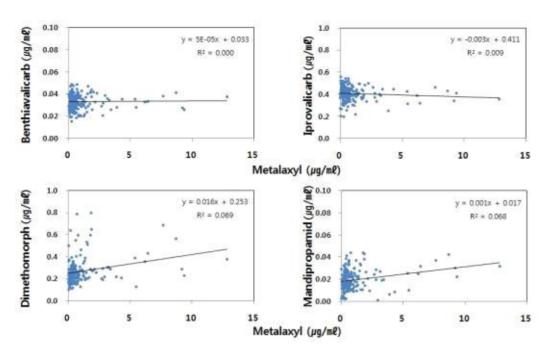


Fig. 1-14. Relationship between the effective concentration of the fungicide used in this study such as benthiavalicarb, iprovalicarb, dimethomorph, and mandipropamid and metalaxyl needed to reduce mycelium growth by 50% (EC<sub>50</sub>) for 180 isolates of *Phytophthora capsici*.  $R^2$  value is the correlation value for the relationship.

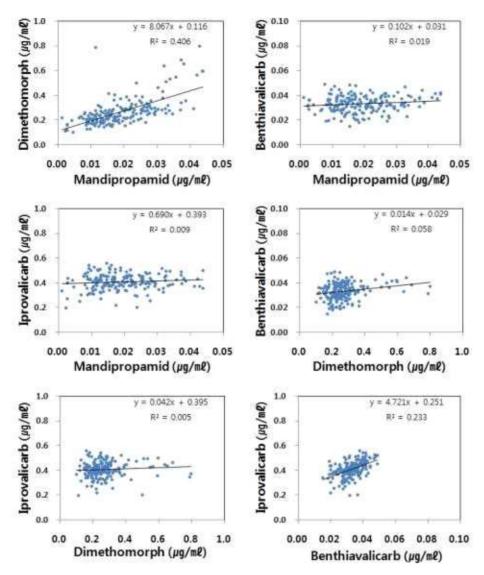


Fig. 1–15. Relationship among the effective concentration of each fungicide used in this study such as benthiavalicarb, iprovalicarb, dimethomorph, and mandipropamid each other needed to reduce mycelium growth by 50% (EC<sub>50</sub>) for 180 isolates of *Phytophthora capsici*.  $R^2$  is the correlation value for the relationship.

## (3) 고 찰

2005년에서 2008년까지 4년 동안 전국의 주요 고추 재배 산지에서 여름 장마가 시작하는 시기인 7월 초부터 8월 말까지 시들음 증상을 보이는 고추에서 분리된 180개의 병원균을 사용하였는데, 실험실에서 형태적 동정과 분자생물학적 동정이 된 180개의 균주로 CAA살균제에 대한 반응과 병원균에 대한 작용특성을 조사하여 온실에서 살균제에 대한 효과 검정을 실시하고, 포장에서의 효과 검정과 병 방제를 위한 방제 방법을 연구하였다.

CAA 계열 살균제는 난균류의 세포벽 합성을 억제하는 기작을 가지고 있는데, Yigal과 Urich(2007)는 감자 역병균에 대한 생육단계별 CAA 약제 실험에서 균사생장과 유주포자낭 발

아에 대한 효과가 있는 것을 확인하였지만, 고추 역병에 대한 생육 단계별 실험이 이루어지지 않다. 고추 역병균의 균사생장과 유주포자낭 발아에 대한 EC50값을 보면 0.622와 0.008 µg/ml이 였고, MIC값은 두 약제 모두 100 µg/ml였다. 실험에 사용한 benthiavalicarb, iprovalicarb, dimethomorph, 그리고 mandipropamid에 대한 P. capsici 06-143의 EC50값과 MIC값을 보면, 각각 0.036, 0.4, 0.325, 0.003 \(\mu g/ml로\) 나타났고, MIC값은 0.8, 4, 0.8, 0.16 \(\mu g/ml으로\) 각 살균제 효과의 정도는 차이가 있었지만 4약제 모두 균사 생장을 효과적으로 억제하였다. 유주포자낭 발아 억제 실험 결과를 비교하여 보면 CAA계열 살균제는 유주포자낭 발아보다는 균사 생장을 더 낮은 농도에서 억제하였다. CAA계열에 속하는 4가지 살균제는 모두 유주포자낭으로부터 유주포자의 나출은 억제하지 못하였는데, 이는 노균병과 감자 역병균에 대한 병원균의 생활사 에 대한 억제 실험과 유사한 결과를 보였다(Cohen, 2008; Cohen, 2007). 고추 역병균에 대한 저항성 모니터링이 이루어지지 않아 2005년부터 2008년까지 분리한 병원균에 대해서 균사 생 장 억제 효과를 보면 다양한 양상을 보이는 것을 알 수 있었다. 균사생장 억제 실험의 결과로 각 약제별로 180균주에 대한 분포를 7가지로 나누어 분포도를 그려 보았는데, benthiavalicarb 표준정규분포 그래프를 그렸고, iprovalicarb는 좌측으로 치우진 분포를 dimethomorph와 mandipropamid는 우측으로 치우친 분포표를 보였다. 4약제에 대한 분포표를 보았을 때 아직까지는 CAA계열 약제에 대해 저항성은 나타나지 않은 것을 확인 할 수 있었으 나 지속적인 모니터링은 필요하다고 생각한다.

180균주에 대한 약제별 평균  $EC_{50}$ 값은 benthiavalicarb는  $0.033~(0.015~~0.049)~\mu g/ml$ 이고, iprovalicarb는  $0.411~(0.197~~0.556)~\mu g/ml$ 였다. dimethomorph와 mandipropamid의 평균  $EC_{50}$  값은 각각  $0.271,~0.019~\mu g/ml$ 였고, 최대와 최소  $EC_{50}$ 값은 각각  $0.101~~0.798~\mu g/ml$ ,  $0.001~~0.044~\mu g/ml$ 이었다.

각 연도별 약제의 평균 EC50값은 benthiavalicarb는 2005년이 0.026 µg/ml, 2006년이 0.037 µg/ml, 2007년이 0.031 µg/ml, 2008년에는 0.033 µg/ml으로 나타났고, iprovalicarb는 2005년 0.389 µg/ml, 2006년 0.439 µg/ml, 2007년이 0.4 µg/ml, 2008년이 0.395 µg/ml로 나타났으며, dimethomorph는 2005년 0.22 µg/ml, 2006년 0.223 µg/ml, 2007년 0.283 µg/ml, 2008년 0.303 µg/ml이었고, mandipropamid는 2005년 0.017 µg/ml, 2006년 0.014 µg/ml, 2007년 0.015 µg/ml, 2008년 0.024 µg/ml로 나타났는데 이 결과를 보면 benthiavalicarb와 iprovalicarb의 연도별 평균 EC50값을 봤을 때, 크게 차이를 보이지 않으나 dimethomorph와 mandipropamid는 연도별로 조금씩 평균 EC50값이 증가하는 것을 보여, 포장에서 분리한 병원균에 대한 지속적인 모니터링을 통하여 살균제에 대한 저항성 검정은 살균제에 대한 병 방제 효과와 연결되어질 수 있고, 포장에서의 병원균에 대한 저항성균의 발현을 억제 할 수 있을 것이라 생각된다.

CAA계열 4약제와 metalaxyl의 교차저항성의 유의성을 보기 위해 실험을 하였는데, metalaxyl과 benthiavalicarb의  $R^2$ 값은 0.0002이고, iprovalicarb와  $R^2$ 값은 0.009, dimethomorph와  $R^2$ 값은 0.069, mandipropamid와  $R^2$ 값은 0.068로 CAA계열 4약제와 metalaxyl과 상관관계는 나타나지 않았고, CAA계열 4약제에 대한 교차 저항성 여부를 확인하였는데, mandipropamid와

dimethomorph의  $R^2$ 값은 0.406, benthiavalicarb와 iprovalicarb의  $R^2$ 값을 봤을 때 0.233으로 상관관계가 있음을 확인하였다. 이외에 benthiavalicarb와 mandipropamid, dimethomorph를 확인하였을 때에는 서로 상관관계가 나타나지 않았다.

온실에서 병 방제를 위한 살균제 선발을 위하여 metalaxyl 감수성 균주인 P. capsici 06-143 균주를 이용하여 CAA 살균제를 각각 처리 하고 예방 효과와 치료효과를 조사하였다. 살균제 의 농도별로 각각 처리 하였을 때 병원균 접종 1일전에 benthiavalicarb와 iprovalicarb를 각각 500, 100 μg/ml 처리구 에서 병원균 접종 12일 후까지 높은 효과를 보였고, dimethomorph와 mandipropamid 도 접종 6일후 까지는 높은 효과를 보였으나 접종 12일 후에는 효과가 감소하 는 것을 볼 수 있었고, 병원균 접종 농도에 따른 차이에는 병원균 접종 1일전 처리에서 병원균 접종농도가  $5 \times 10^3$  유주포자낭/ml일 때와  $1 \times 10^5$  유주포자낭/ml일 때의 약제별 차이를 비교 하면 약제를 100 μg/ml 처리하였을 때 benthiavalicarb와 iprovalicarb 모두 접종 12일 후까지 100%의 억제율을 보였으나, dimethomorph와 mandipropamid에서는 6일 후까지는 100%의 억 제율을 보이다가 12일 후에는 효과가 급격히 감소하는 것을 볼 수 있었다. 약제의 치료와 예 방, 처리시기에 따른 효과를 보면 병원균 접종 농도가 5 x 10<sup>3</sup> 유주포자낭/ml 일 때 6일 후 조 사에서 4약제 모두 예방 효과는 100%를 보였고, 병원균 접종 1일후에 약제를 처리한 처리구에 서도 benthiavalicarb와 iprovalicarb가 100%를 보인 반면 dimethomorph는 60%정도의 효과를 보였고, mandipropamid도 78%정도의 효과를 보였다. 병원균 접종 12일 후 조사에서는 dimethomorph는 약제처리시기가 병원균 접종 7일전, 3일전, 1일전, 1일 후 처리 모두에서 효과 를 보이지 않았고 mandipropamid도 낮은 효과를 보였으며, 치료효과에서는 효과가 나타나지 않았다. 반면 benthiavalicarb와 iprovalicarb는 병원균 접종 12일 후까지 지속적으로 치료 효과 가 유지되는 것을 확인 할 수 있었다. 병원균 접종 농도가 1 x 10<sup>5</sup> 유주포자낭/ml일 때에 전체 적인 효과는 떨어졌지만 5 x  $10^3$  유주포자낭/ml과 같은 경향을 보였는데, 이 결과로 benthiavalicarb와 iprovalicarb는 약제의 지속 효과도 길게 유지가 되었고, 치료효과도 있는 것 으로 확인되었다. 반면 dimethomorph는 예방효과에서 6일 후 조사의 결과를 비교해 보면 병원 균 농도에 따라 효과에 차이가 나는 것을 보였고, 지속시간이 길수록 예방효과와 치료효과 모 두 급격히 감소하는 것을 확인 할 수 있었다. mandipropamid의 경우에도 병원균 농도에 영향 을 받았으며 그에 따른 12일 후까지 지속효과도 병원균 접종 농도에 영향을 받는 것을 확인하 여, 약제의 효과에 영향을 미치는 것이 병원균의 농도라고 생각된다.

2009년과 2010년 2년에 걸친 포장실험의 결과 dimethomorph의 예외적인 경우를 빼고는 약제 농도가 높아질수록 효과가 좋아 지는 것을 확인 할 수 있었고, 4약제 모두 포장에서 효과가좋게 나왔다. 앞의 온실 실험에서 약효 지속시간이 길지 못했던 dimethomorph와 mandipropamid의 경우 10일 간격으로 주기적으로 약제를 처리해 주었을 때 높은 효과가 지속적으로 유지 되는 것을 확인하여 포장에서는 포장내의 병원균의 밀도도 중요하지만 약제를 처리하는 시기와 간격도 약효를 지속할 수 있는 중요한 요인이라 생각된다.

다. 고추 세균점무늬병에 대한 병리검정법 표준화 및 Bion-M의 방제효과

많은 종류의 고추 병해 중에서 고추 세균점무늬병은 식물체의 각 부위에서 발병하지만 주로 잎에 발병하여 조기낙엽을 유발하므로 수량에 직접적인 피해를 끼칠 수 있다. 잎에서 초기 병 징은 회갈색의 작은 점무늬로 나타나고, 진전되면 중심부는 흰색으로 변하며, 병반의 가장자리는 암갈색을 띠게 된다. 병반의 주위에는 황색의 테두리가 형성된다. 심한 경우에는 잎 전체가 갈색으로 변해 떨어진다. 잎자루와 과경에는 갈색의 둥근 반점이 형성되고 진전되면 암갈색 부정형으로 약간 확대되면서 심하게 발병하면 방제하기 어려운 병으로 알려져 있다(조용섭 등, 1999). 착색기에서 수확기 사이에 고온과 잦은 강우에 영향을 받아서 병의 발생이 증가하고 약제 살포 적정시기 선정의 어려움으로 피해가 증가하고 있는 추세이며, 약제방제는 예방을 목적으로 사용하는 것이 효과적이나 방제시기를 놓치면 낮은 방제율을 나타내기 때문에 방제적기를 설정하여 농약사용을 절감하는 효율적인 방제방법이 시급하다.

# (1) 재료 및 방법

# (가) 실험에 사용한 고추 세균점무늬병균

실험에는 한국생명공학연구원에서 분양받은 Xanthomonas campestris pv. vesicatoria(Xcv, 고추 세균점무늬병) 1523과, 한국농업미생물자원센터(KACC)에서 분양 받은 KACC11157과 KACC11158 균주를 사용하였다. 세균점무늬병균은 NA(nutrient agar, Becton, Diskinson and Company)배지에서 2일간 배양하여 단 콜로니를 취한 다음 NB(nutrient broth: Water 1  $\ell$ , Beef extract 3 g, yeast extract 2 g, peptone 5 g)배지에서 진탕배양(150 rpm, 28°C)하여 실험에 사용하였다. 실험에 사용되는 식물체인 고추(품종; 녹광)는 50공 플러그 묘판에서 키운 후, 지름 4.4 cm 포트에 옮겨 심은 후 온실에서 재배하여 실험에 사용 하였다.

## (나) 고추 세균점무늬병에 대한 병리검정법 표준화

#### ① 대표균 선발

Xcv (고추 세균점무늬병)의 대표균주 선발을 위해서 실험에 사용한 3균주인 KACC11157, KACC11158, 1523 3가지 균을 6엽기 고추에 주 당 5 mL씩 경엽분무 접종하고 6일 뒤에 Table 1-10과 같은 방법으로 이병엽율을 조사한 후에 발병도를 계산하여 병원성이 우수한 대표 병원균을 선발 하였다.

# ② 병원균 농도 및 접종 방법 확립

선발된 세균점무늬병균의  $OD_{600}$ (optical density at 600 nm) 값을 0.2 와 0.4로 조정하여 6엽기 고추에 주 당 5 mL씩 경엽분무 접종하고, 이병엽율을 조사한 후에 발병도를 계산한다. 위실험에서 결정된 병원균의 접종 농도로 3엽기 고추 유묘에 Xcv를 접종할 때에 잎의 표면, 잎뒷면, 잎의 표면과 뒷면 모두에 경엽분무 접종하였을 때, 이병엽율을 조사하여 발병도를 계산하여 병원균 접종 농도와 접종 방법을 선택하였다.

# ③ 고추 세균점무늬병의 발병 조사

6엽기 고추에 Xcv 1523의 OD<sub>600</sub> 값을 0.4로 조정하여 접종하고, 28℃ 12 hrs (L/D) 상태에서 발병을 유도하여, 접종 10일 뒤에 이병엽율을 조사하였다.

Table 1-10. Assessment key for investigating disease severity of pepper bacterial spot

Disease index	lesion percentage of Bacterial Spot in pepper leaves
0	No disease observed
1	more than 0.1% or under 5%
2	more than 5% or under 20%
3	more than 20% or under 50%
4	more than 50%

Disease severity(%)= 
$$\frac{\sum (\text{No. of diseased plants x disease index})}{5 \text{ x No. of plants}} \text{ x } 100$$

# (다) 고추 세균점무늬병에 대한 acilbenzolar-S-methyl/mancozeb의 방제 효과

# ① 온실에서 Bion-M의 효과

온실에서 고추 유묘(품종: 왕대박)를 플라스틱 폿트(직경: 4.5 cm, 높이: 5.0 cm)에 이식하여 6엽기까지 재배한 후, 실험에 사용하였다. 본 실험에서는 acibenzola-S-methyl과 mancozeb의 혼합제(a.i. 1% acibenzola-S-methyl과 48% mancozeb, WP)를 사용하였으며, 처리할 Bion-M 용액을 준비할 때는 acibenzola-S-methyl의 농도를 기준으로 준비하였다. 온실에서 효과 검정을 위해서 Bion-M 용액의 농도를 0.16, 0.8, 4.0, 20, 100 μg mL<sup>-1</sup>로 조제하여 고추를 재배한 폿트의 토양에 5 mL씩 관주처리하였다. Bion-M을 처리한 고추 유묘는 온실에서 계속 재배하였으며, 약제를 처리하고 7일 후에, 28℃의 NB배지에서 3일간 배양한 X. euvesicatoria 1523을 수확하였으며, 600 nm에서의 세균 현탁액 흡광도를 0.5로 조절한 후, 잎 뒷면에 분무접종하였다. 또한 접종하는 세균의 농도가 Bion-M의 병 방제 효과에 미치는 영향을 조사하기 위해서, 0.032, 0.16, 0.8, 4.0, 20 μg mL<sup>-1</sup>의 Bion-M 용액을 6엽기의 고추 유묘에 동일하게 토양 관주처리하고, 7일 후에 600 nm에서 세균 현탁액의 흡광도를 0.1과 0.5로 맞추어 잎 뒷면에 각각분무 접종하였다. Bion-M의 효과를 고추 유묘에서 뿐만 아니라 성체에서도 실험하였다. 고추유묘를 대형 폿트(직경: 25 cm, 높이: 19 cm)에 이식하여 2달 동안 온실에서 재배하였으며, 0.2, 2.0, 20.0 μg mL<sup>-1</sup>의 Bion-M 용액을 병원균을 접종하기 2일 전과 7일 전에 각각 100 mL씩 토양에 관주하여 처리하였다. 병원균의 접종과 조사 방법은 전과 동일하게 실시하였다.

#### ② 포장에서의 Bion-M의 방제 효과

고추 유묘(품종: 왕대박)를 충북대학교 실험 포장에 정식하고 고추 관행 재배법을 따라서 재배하였으며, Bion-M은 7월 18일부터 7일 간격으로 3회 처리하였다. 이 때 Bion-M은 포장에서 사용하는 처리 농도인 10 µg mL<sup>-1</sup>로 조절하였으며, 고추 지상부에 충분히 묻도록 흐르기 직전

까지 경엽처리하였고, 또 고추 한 주 당 100 mL씩 토양에 관주처리하는 두 가지 방법으로 처리하였다. 포장에서 세균점무늬병이 균일하게 발생하게 하기 위하여, Bion-M을 3차 처리하기 1일 전인 7월 31일에 O.D.600값을 0.5로 조절한 X. euvesicatoria 1523 현탁액을 분무접종하였다. 세균점무늬병의 발병 조사는 Bion-M을 3회 모두 처리하고 14일 후인 8월 15일에 고추 한주 당 무작위로 100엽을 선발하여 발병엽율과 잎 당 발병도를 조사하였다. 발병도는 온실 실험의 조사에서 사용하던 발병지수를 동일하게 사용하였다. 포장에서 시험구는 난괴법 3반복으로 배치하여 실험을 수행하였다.

#### (2) 결 과

- (가) 고추 세균점무늬병에 대한 검정 방법 표준화
- ① 실험에 사용한 세균점무늬병균의 선발

Xanthomonas campestris pv. vesicatoria 균주 KACC11157, KACC11158, 1523의 각각의 배양액을 6엽기 고추 유묘의 잎 표면에 골고루 경엽분무 접종하고, 28℃에서 6일 동안 습실을 유지하며 관리한 후, 발병도를 측정하였다(Fig. 1-16). 그 결과 Xcv 균주의 발병도는 KACC11158 8.33%, KACC11157 33.33%, 1523 58.33%로 조사 되었다. 동일한 방법으로 각각의 Xcv 균주를 접종하였을 때 가장 높은 발병도를 나타낸 Xcv 균주 1523를 고추 세균점무늬병의 스크리닝 균주로 결정하였다.

## ② 병원균 농도 및 접종 방법 확립

Xcv 1523의 OD<sub>600</sub>값을 0.2와 0.4로 조정하여 경엽분무 접종하고 5일 뒤에 발병도를 조사하였다. OD<sub>600</sub>값 0.2 처리에서는 56.25%, OD<sub>600</sub>값 0.4 처리에서는 87.50% 발병도를 나타내었다(Fig. 1-17). 병원균 농도 확립실험에서 3엽기 고추 유묘에서 병원균의 OD<sub>600</sub> 값을 0.4로 조정하여 접종하였을 때 효과적으로 병이 발생하는 것을 알 수 있었다.

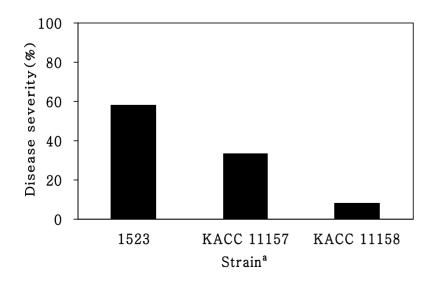


Fig. 1-16. Comparison of the disease severities of pepper bacterial spot isolates caused by *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. <sup>a</sup>; *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* 

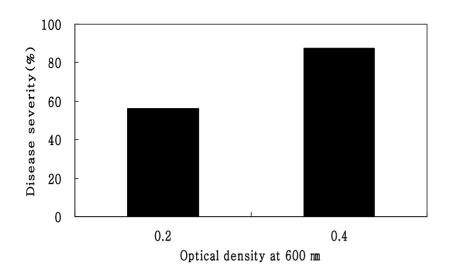
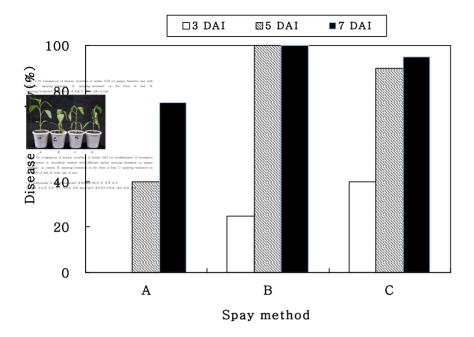


Fig. 1-17. Disease severities caused by isolate 1523 of X. campestris pv. vesicatoria treated with different  $OD_{600}$  value.

병원균 접종 방법을 확립하고자 Xcv 1523의  $OD_{600}$ 값을 0.4로 조정하여 3엽기 고추 유묘의 잎 표면, 잎 뒷면, 그리고 표면과 뒷면 모두에 경엽분무 접종하고, 3일, 5일, 7일째에 발병도를 조사하였다(Fig. 1-18). 접종 3일째에는 고추 유묘 아래 부분을 접종한 처리에서 높은 발병도를 나타내었다. 접종 후 시간이 지날수록 모든 처리의 발병도는 점차 증가 하다가, 접종 7일째에서는 모든 처리간의 발병도가 유사해 짐을 알 수 있었다. 잎의 한 면보다는 표면과 이면을 모두 접종한 고추 유묘에서 접종 후 3일째인 접종 초기부터 다른 처리구에 비하여 발병도가 높았다(Fig. 1-19).



X. euvesicatoria 1523 현탁액의 흡광도를 0.427에 맞추고 고추 유묘에 분무 접종하고 9일 후에 조사한 결과, Fig. 1-20에서 보는 것과 같이 무처리구에서는 75%의 발병도를 보였으며, acibenzola-S-methyl와 Mancozeb의 혼합제인 Bion-M을 20 μg mL<sup>-1</sup>의 농도로 관주처리한 처리구에서는 19%의 발병도를 보여 74.7%의 효과가 있음을 알 수 있었다. Bion-M의 농도를 100 μg mL<sup>-1</sup>로 처리하였을 때에는 고추 유묘에서 큰 약해가 일어나 고추 유묘의 잎이 떨어지는 현상이 관찰되었다. Bion-M의 처리 농도가 4.0과 0.8 μg mL<sup>-1</sup>일 경우에는 38과 53%의 발병도를 보여, 49.3과 29.3%의 방제 효과를 보였다.

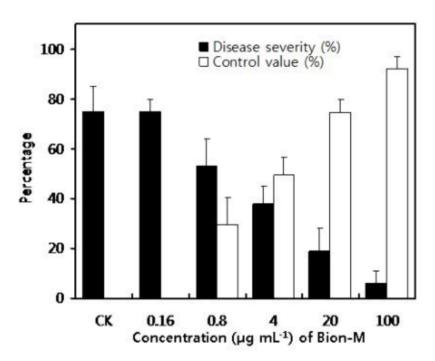


Fig. 1–20. Control effect of Bion–M on bacterial spot in pepper seedlings by the application of soil–drenching. Bion–M adjusted to each concentration was treated by soil–drenching 7 days before inoculation with *Xanthomonas euvesicatoria*. Inoculum suspension of the pathogen was prepared as bacterial cells harvested after 3–day incubation in nutrient broth at 28°C, of which the optical density at 600 nm was adjusted to 0.5.

## ② 병원균 접종 농도에 따른 Bion-M의 방제 효과

병원균을 접종하고 1일 후부터 2일 간격으로 발병도를 조사하였다(Fig. 1-21). 접종한 병원균 현탁액의 흡광도를 0.1과 0.5로 조절하여 접종하였으며, Bion-M을 처리하지 않은 무처리구에서는 병원균의 접종 농도가 낮을 때, 5일 후부터 병장이 나타나기 시작하여 시간이 경과함에따라 18, 50, 58, 62%의 발병도를 보였다. 높은 농도로 병원균을 접종하였을 때에도 병장이 처음 출현하는 시기는 접종하고 5일째로 동일하였으나, 낮은 농도로 병원균을 접종하였을 때에는 9일과 11일이 되는 조사 후기부터 병 발생이 완만해지고 있었지만, 높은 농도로 접종하였을 때에는 9일과 11일째에도 발병도가 60과 75%로 계속 증가하였다. Bion-M을 20 µg mL<sup>-1</sup>로 관주

처리하였을 때에는 병원균의 접종농도와 관계없이 세균점무늬병의 발생을 관찰할 수 없었지만, 고추 유묘의 생육이 억제되고, 잎의 색이 약간 황화되었으며, 하위엽이 탈락하는 약해 증상이 관찰되었다. Bion-M을 4.0 μg mL<sup>-1</sup>로 처리하였을 때에 병 방제 효과는 낮은 병원균 접종구에서는 98%, 높은 농도 접종구에서는 86%로 우수한 효과를 얻을 수 있었다. 하지만 4.0 μg mL<sup>-1</sup>의 처리구에서도 유묘의 생육이 저해되는 약해증상은 여전히 관찰되었다. 처리한 Bion-M의 농도가 낮아질수록 병원균의 접종농도가 Bion-M의 방제 효과에는 더 큰 영향을 미쳤는데, 0.8과 0.16 μg mL<sup>-1</sup>의 처리구에서 접종농도가 낮은 유묘 처리구에서는 76과 58%의 효과를 보였지만, 높은 접종구에서는 49과 16%로 효과가 감소하였다.

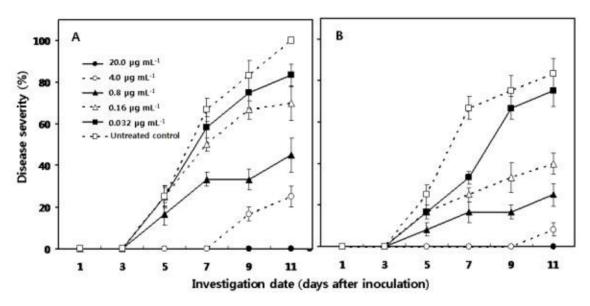


Fig. 1–21. Control effect of Bion–M on pepper bacterial spot by soil–drenching application. Effect of Bion–M was investigated in 6–leaf stage of pepper seedling. Inoculum was prepared by harvesting bacterial cell after incubation for 3 days at 28°C. Optical density of bacterial suspension was adjusted to 0.1 (A) and 0.5 (B). Bacterial suspension was inoculated by spraying at the adaxial side of pepper leaves 7 days before the application of Bion–M.

#### ③ 고추 성체 식물에서의 Bion-M 방제 효과

고추 성체에 Bion-M을 처리하였을 때에도 병 저항성이 유도되어 방제가 가능한 지를 조사하기 위하여 온실에서 재배한 성체 식물에 Bion-M을 토양관주 처리하였다. Table 1-11에서보는 것과 같이 병원균을 접종하기 7일 전에 관주처리한 고추에서 방제 효과가 2일전에 처리한 경우보다 높았다. 병원균을 접종하기 7일전에 20.0, 2.0, 0.2 µg mL<sup>-1</sup>로 Bion-M을 처리하였을 때에 방제가는 각각 75, 62, 62%이었다. 그러나 20.0 µg mL<sup>-1</sup> 처리구에서는 유묘 처리 때와유사하게 잎이 황화되는 현상이 발견되었다.

Table 1-11. Effect of Bion-M on bacterial spot of pepper in adult plants

Concentration	Application time of Bion-M		
of Bion-M (µg mL <sup>-1</sup> )	2 days before inoculation	7 days before inoculation	
20.0	25.0° c (63°)	16.7 c (75)	
2.0	30.0 c (55)	25.5 b (62)	
0.2	50.0 b (25)	25.5 b (62)	
Untreated control	66.7 a	66.7 a	

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup>; Disease severity (%) was investigated according to disease index showing in Table 1-10.

Control value (%) = (1 - disease severity (%) of Bion-M treatment/disease severity (%) of untreated control) x 100

# ④ 고추 포장에서 Bion-M 방제 효과

고추 포장에서 Bion-M을 처리하지 않은 처리구에서 세균점무늬병의 발병정도를 고추 한 주당 발병엽율로 조사하였을 경우 70%의 발병엽율을, 그리고 총 100개의 잎에서 엽당 발병지수를 조사하였을 경우에는 55%의 발병도를 보였다. Bion-M의 효과는 포장에서 병 발생 정도를 어떻게 조사하는 지, 즉 병 조사하는 방법에 따라서 다르게 나타났다. 포장에서 발병엽율을 가지고서 발생 정도를 조사할 경우보다는 엽당 발병도를 조사하여 방제효과를 계산하는 경우에효과가 더 우수하였다. 또한 지상부에 경엽처리하였을 때보다 토양에 관주처리하였을 때의 방제효과가 더 우수하였다. 지상부에 경엽처리하였을 때에는 발병엽율을 조사하여 방제 효과를계산한 경우 24%이었지만, 토양에 관주처리하였을 경우에는 58%로 더 우수하였다. 병 발생 정도를 발병도로 조사하였을 때에도 발병엽율 조사 때와 마찬가지로 경엽처리에서는 58.5%의,토양관주처리에서는 71.2%의 효과를 보였다(Table 1-12).

Table 1-12. Control efficacy of Bion-M on pepper bacterial spot by leaf-spraying and soil-drenching application in pepper field

Treatment	Application method of Bion-M	Percentage of infected leaves (%)	Disease severity (%)
Bion-M	Leaf-spraying	53.3 b (24ª)	22.8 b (59)
	Soil-drenching	29.2 c (58)	15.8 c (71)
Untreated control		70.2 a	54.9 a

b; Control value (%) was calculated as follows.

<sup>&</sup>lt;sup>c</sup>; The same letters indicate no significant difference at P<0.05.

<sup>a</sup>; Figures indicate the control value (%).

## (3) 고 찰

Bion-M이라는 혼합제를 구성하는 주요성분 중에 하나인 acibenzolar-S-methyl은 파파야의 역병, phytoplasma에 의한 국화의 병, 토마토의 세균점무늬병, 밀의 흰가루병 등 다양한 작물 에서 다양한 병원체에 대한 우수한 방제 효과를 보인다(Zhu 등, 2003; D'Amelio 등, 2010; Oostendorp 등, 2001; Görlach 등, 1996; Vallad와 Goodman, 2004). 본 실험에서도 acibenzolar-S-methyl이 주요 성분으로 들어가 있는 Bion-M은 온실과 포장실험을 통해서 고 추 세균점무늬병에 대한 방제효과가 인정되었다. Bion-M에는 acibenzolar-S-methyl 이외에도 mancozeb라는 보호용 살균제가 같이 첨가되어 있지만, 세균점무늬병에 대한 acibenzolar-S-methyl의 효과일 것으로 생각한다. 왜냐하면 mancozeb는 다양한 식물병을 방제 하기 위해서 사용되는 살균제로서, 병이 발생하기 전에 예방적으로 처리하여야 하며, 치료효과 와 침투이행효과는 없는 것으로 알려져 있는 살균제인데, 본 실험에서는 병원균을 접종하기 7 일 전에 Bion-M을 토양에 관주처리하였기 때문에, 예방적으로 처리해서 병원균과 직접적인 mancozeb의 효과는 매우 미미하며. 접촉이 있을 때만 효과를 발휘할 수 있는 acibenzolar-S-methyl이 처리된 고추에서 병원세균에 대한 병 저항성이 발현되어 나타났을 것 으로 생각한다. Acibenzolar-S-methyl 처리한 고추에서 병 저항성이 발현되었는지에 대해서는 추후 병 저항성 관련 유전자가 식물체 내에서 발현되었는지를 조사함으로써 확실하게 결정을 내릴 수 있을 것으로 생각한다.

식물과 병원균의 상호작용에 의해서 식물체에서 괴저 반응이 나타나며, 바이러스, 세균 진균 등에 저항성을 보이는 현상을 전신획득저항성이라고 말한다(Ross, 1961; Ryals 등, 1994). 이처럼 다양한 병원체에 대해서 저항성을 보이는 전신획득저항성은 salicylic acid(SA), acibenzolar-S-methyl, 2,6-dichloroisonicotinic acid(INA) 등을 식물체에 처리하여도 발생한다 (Zhu 등, 2003; Görlach 등, 1996; Qiu 등, 2004; Price 등, 2000; Koné 등, 2009). 실제로 1.5 μg mL<sup>-1</sup> SA를 경엽과 종자 처리하여 X. campestris pv. vesicatoria에 의한 토마토 세균점무늬병을 방제하였는데, 온실에서는 38.9%, 토마토 포장에서는 53.0%의 방제효과를 보였으며, 토마토 생산량을 14.3% 증가시켰다(Abo-Elyousr와 El-Hendawy, 2008). 본 실험에서도 고추에 acibenzolar-S-methyl을 토양관주처리함으로써 세균점무늬병을 효과적으로 방제하였다. 온실에서 재배한 고추 유묘에 병원균을 인공 접종하기 7일전에 acibenzolar-S-methyl을 20 μg mL<sup>-1</sup>로 토양 관주처리하였을 때 병 발생을 75%억제하였으며, 고추 성체식물에 동일한 시기에 동일한 농도를 관주처리하였을 때는 75% 방제하였다. 이러한 효과는 포장 사용 농도인 10 μg mL<sup>-1</sup>로 포장에서 처리하였을 때, 71%의 효과를 보임으로써, 고추 세균점무늬병에 대한 acibenzolar-S-methyl의 방제 가능성을 확인할 수 있었다.

또한 고추의 경우에는 acibenzolar-S-methyl을 20 μg mL<sup>-1</sup> 이상으로 처리할 경우 고추의 잎이 황화되고 심할 경우 조기에 낙엽이 지는 약해가 발생하였다. 하지만 포장에서 사용농도인

 $10~\mu g~mL^{-1}$ 로 처리하였을 경우에는 특별한 약해 증상을 관찰하지 못하였다. 따라서 acibenzolar-S-methyl을 고추에서 병 방제용으로 사용하고자 할 때에는 약해가 발생하지 않도록 주의하여 사용하여야 할 것으로 본다.

포장실험에서 발병엽율로 병 발생 정도를 조사하였을 때에는 발병도를 가지고서 조사하였을 때보다 방제효과가 감소하여 58.4%의 효과를 보였다. 고추 포장에서 병 발생을 발병엽율을 가 지고서 조사할 경우, 한 개의 잎에 병반이 하나만 발생하여도 발병엽으로 간주하기 때문에, 각 개체의 잎에서 완전히 병 발생을 억제하지 못할 경우에는 발병엽율이 증가할 수밖에 없다. 하 지만 발병도를 가지고서 발병 정도를 조사할 경우에는 한 개의 잎에서 병이 발생한다고 하더 라도, 그 심한 정도를 발병지수를 이용하여 조사하기 때문에, 한 개의 잎에서 완전히 병 발생 을 억제하지 못하였다고 하더라도 병 발생이 적게 되었을 때는 처리한 살균제의 효과가 인정 될 수 있다. 특히 병원균의 생장을 완전히 억제하지 못하는 살균제의 경우라면, 이와 유사한 결과를 얻게 될 가능성이 높다. 토마토 세균점무늬병을 가지고 실험을 한 Abo-Elyousr와 El-Hendawy(2008)의 결과를 보면, 0.5 g L<sup>-1</sup>의 acibenzolar-S-methyl을 처리한 토마토 종자를 파종하여 4주간 온실에서 재배한 후, 병원균을 접종하고 잎에서 병원균의 수를 조사한 결과, 무처리구에 비해서 처리구에서 병원균의 수가 46.9% 감소하였다. 이 결과는 식물체에서 병 저 항성 반응을 유기하는 acibenzolar-S-methyl이 병원균의 생장을 완전히 억제하지는 못하지만, 병 발생을 억제할 수는 있음을 보여주고 있다. 따라서 병 저항성 유도물질을 이용한 세균병의 포장 방제 실험에서는 발병엽율을 조사하는 것보다는 엽당 발병도를 조사하여 효과를 검정하 는 것이 타당할 것으로 생각되어진다.

기주식물에서 저항성을 유도하여 병 방제를 할 수 있는 화합물들이 개발되면서 여러 작물에서의 병 방제의 개념과 방법의 변화가 수반되고 있다. 특히 화학살균제의 사용을 줄이는 추세에서 미생물 농약의 사용이 증가하고 있는데, 미생물 농약의 효과를 높이기 위해서 화학살균제와의 혼합 사용 또는 교호 사용 등의 방법이 제시되고 있다. 이 때 미생물의 생장에 영향이 없으면서 식물체의 병 저항성을 높이는 전신획득저항성 유도 화합물은 좋은 혼합 방제제로서의역할을 감당할 수 있을 것으로 생각한다. 실제로 토마토 세균점무늬병의 방제를 위해서 사용하는 Pseudomonas fluorescens와 acibenzolar-S-methyl를 교호 사용함으로써 방제 효과를 높일수 있었다(Abo-Elyousr와 El-Hendawy, 2008). 복숭아 수확 후에 발생하는 푸른곰팡이에 의한부패와 목화의 뿌리썩음병을 방제하기 위해서 생물방제제와 acibenzolar-S-methyl 또는 병 저항성 유도 화합물들을 혼합 처리함으로써 방제 효과를 높이기도 하였다(Cao 등, 2011; Abo-Elyousr 등, 2009).

본 실험을 통하여 acibenzolar-S-methyl과 mancozeb의 혼합제인 Bion-M의 고추 세균점무 늬병에 대한 방제 효과가 확인되었다. 최근 세균병의 문제가 커지고 있는 상황에서, 전신획득 저항성을 유도하는 Bion-M을 사용하여 세균병을 방제할 수 있다면 세균병 방제용 살균제에 대한 저항성 병원세균의 출현과 같은 문제없이 효과적인 병 방제가 가능할 것으로 생각된다. 특히 우수농산물 생산을 위해서 화학살균제의 사용을 줄이는 대안으로 사용되고 있는 미생물 농약과의 사용도 수월해질 수 있기 때문에 acibenzolar-S-methyl의 사용은 다양한 방제 방법의 제안을 가능하게 할 수 있을 것으로 생각한다.

## 라. 풋마름병에 대한 고추 품종의 저항성 검정법 표준화

Ralstonia solanacearum은 열대, 아열대, 온대 지역에 걸쳐서 매년 10억불 이상의 경제적인 피해를 야기하는 토양병원균으로, 200여종이 넘는 식물을 침입할 수 있는 넓은 기주범위를 갖으며, 전 세계적으로 분자식물병리학적 측면에서도 중요한 식물병원세균으로 보고되어 있다(Ji et al., 2005; Mansfield et al., 2012). 고온다습한 기상 조건에서는 국내에서도 토마토, 감자, 담배, 고추, 가지 등에서 심각한 피해를 유발한다(Jeong et al., 2007; Yun et al., 2004). R. solanacearum은 토양 전반 식물병으로서, 뿌리를 통하여 식물체를 침입하고 물관부를 통하여이동하기 때문에 지상부에 시들음 증상이 나타나게 되고, 결국 침입한 식물체를 죽게 만든다(Genin, 2010). 또한 이 병원균은 토양 중에서 수 년간 생존할 수 있으며, 주변의 잡초 등에 잠복감염 할 수 있는 능력이 있기 때문에 방제에 큰 어려움을 겪고 있다(Hayward, 1991; Wenneker, 1999).

세균풋마름병을 방제하기 위한 방법으로는 토양 소독(Ji et al., 2005), 토양 개량(Michel et al., 1997; Michel과 Mew, 1998), 생물적 방제(Boukaew et al., 2011; Ran et al., 2005; Smith et al., 1998), 유도저항성을 유기하는 식물활성제의 사용(Pradhanang et al., 2005), 화학적 방제와 식물 정유(Lee et al., 2012) 등을 이용하는 방법 등이 연구되어 왔지만 아직까지 효과적인 뚜렷한 결과를 얻지 못하고 있다.

이처럼 식물병원균을 제어하는 다양한 기술이 있는데도 불구하고, 풋마름병균을 토양 중에서 효과적으로 제어하거나 식물체 상에서 발병을 방제한다는 것이 매우 어려운 일이기 때문에, 저 항성 품종을 육종하여 현장에 보급하고자 하는 연구들이 진행되어 왔다(Huet, 2014; Mimura and Yoshikawa, 2009; Mimura et al., 2009). 저항성 품종 육종을 위해서는 여러 라인에 대한 저항성 정도를 정확하게 검정할 수 있는 검정 체계의 표준화가 필요하다. 식물체에 식물병원균 을 인공적으로 접종할 경우, 오이 잎에 탄저병을 일으키는 Colletotrichum lagenarium은 병원 균의 접종밀도, 발병 환경, 습실 처리 시간들이 병 발생에 영향을 주며, 고추 유묘에 병을 일으 키는 Colletotrichum coccodes도 병원균의 접종밀도, 습실처리 기간, 식물의 생장 단계 등에 따 라서 병 발생 정도가 달라진다(Hong and Hwang, 1998; Kim et al., 1991). Lemessa와 Zeller(2007)도 가짓과 작물에서 풋마름병을 일으키는 R. solanacearum race 1과 race 3 균주를 사용하여 1 - 2엽기, 3 - 4엽기와 5 - 6엽기의 고추 유묘에 인공 접종한 결과, race 3 균주는 병 발생 정도가 고추 유묘 엽기에 관계없었지만, race 1 균주의 경우에는 1 - 2엽기와 3 - 4엽 기의 고추 유묘에 비해서 5 - 6엽기의 유묘에서 병원성이 현저히 저하하였다. 이처럼 식물병원 균을 기주식물에 인공 접종할 경우 환경 요인에 따라서 병 발생 정도가 영향을 받게 될 경우 유묘를 이용한 병원성 검정에서 전혀 다른 결과를 얻을 수가 있다. 멜론에 덩굴쪼김병을 일으 키는 Fusarium oxysporum f. sp. melonis의 경우 병원균의 접종밀도와 유묘를 접종원 현탁액 에 침지하는 시간, 발병온도 등은 병 발생 정도에 영향을 미쳐서 저항성 품종에서조차 병이 발생하기 때문에 품종의 저항성과 감수성을 구분하기가 어려워져 정확한 저항성 검정을 할 수가 없었다(Lee et al., 2015).

고추 풋마름병의 방제를 위해서는 저항성 품종을 사용하는 방법이 가장 효과적인 방법이기때문에 저항성 품종 육종을 위한 라인 선발을 위해서 병리 검정 체계의 표준화가 필요하다. 따라서 본 실험에서는 고추 풋마름병을 일으키는 병원균인 *R. solanacearum*의 접종 밀도, 접종방법, 발병 온도, 사용하는 고추 유묘의 생장 단계, 유묘를 정식하고 접종하는 때까지의 기간 등이 병 발생에 미치는 영향을 실험하여, 병 접종 방법을 표준화하였으며, 그 방법에 따라 기존 고추 품종의 저항성 정도를 조사하였다.

# (1) 재료 및 방법

# (가) 실험에 사용한 병원균과 고추 품종

실험에 사용한 고추 풋마름병균(Ralstonia solanacearum GMI1000)은 서울대학교에서 분양받아 본 실험에 사용하였다. 고추 품종으로는 왕대박을 사용하였으며, 최아 시킨 고추 종자를 플러그육묘판에 파종하고 온실에서 재배하여 실험에 사용하였다. 풋마름병균인 R. solanacearum GMI1000에 대한 고추 품종의 저항성 정도를 조사하기 위해서 예쁜독야청청, 탄탄대목, 하나역 강/청고강, 늘푸른플러스, 무한질주, 상아탑, PR 대촌, PR 마니따, 슈퍼금당, PR 금고추, 독야청청, 왕대박, 불맛 등 13종의 품종을 선발하여 실험에 사용하였다.

## (나) 접종원 준비

R. solanacearum GMI-1000을 28℃의 TTC 액체배지(10 g peptone, 5 g dextrose, 15 g agar/1 L 증류수, 멸균 후 5 g 2,3,5-triphenyl tetrazolium 첨가)에서 3일간 진탕배양한 후 3,000 x g로 원심분리하여 수확하고, 살균증류수로 2회 세척하여 접종원으로 사용하였다. 병원균은 접종하기 전에 600 nm에서 O.D.값을 정해진 값으로 맞추어 접종원의 밀도를 조절하였다.

## (다) 병 발생에 영향을 미치는 요인

병원균의 접종 방법과 고추 뿌리의 상처 유무, 정식 후 접종 시기, 접종원 밀도, 발병 온도, 고추의 생육 시기 등이 병 발생에 미치는 영향을 조사하였다.

병원균의 접종 방법이 발병에 미치는 영향을 조사하기 위해서 고추 유묘를 병원균의 현탁액에 1시간 침지하여 접종하는 방법과 유묘를 폿트(직경; 7 cm, 높이; 8.6 cm)에 정식한 후, 병원균의 현탁액을 폿트 당 10 mL씩 토양에 관주하여 접종하는 방법으로 병원균을 접종하였다. 병원균은 TTC 배지에 접종하여 30℃에서 2일간 배양한 후 병원균을 수확하고, 정해진 O.D.값이되도록 조절하여 접종원으로 사용하였다. 두 가지의 방법 모두 고추 뿌리의 상처 유무 여부가발병에 미치는 영향을 조사하기 위해서 유묘를 침지 전 혹은 정식 전에 물로 세척하여 뿌리에서 토양을 제거하고, 뿌리의 끝에서 1 cm되는 위치를 가위로 잘라 상처를 냈다. 또한 병원균의

현탁액을 고추 유묘를 폿트에 정식한 직후(0 hr)와, 정식하고 1일, 2일 그리고 4일간 온실에서 재배한 후에 폿트 당 10 mL씩 토양에 관주하여 접종하였다. 병원균 현탁액의 병원균 밀도는 600 nm에서 O.D.값을 0.1, 0.4, 0.7, 1.0으로 조절하여 접종하였다. 접종한 고추 유묘는 발병을 위해서 12시간씩 광을 조사하는 항온기에 넣고 항온기의 습도를 80% 이상이 되도록 관리하였다. 이 때 온도는 광암조건 모두 30℃의 항온 조건과, 광조건에서 30℃, 암조건에서 25℃의 변온 조건, 그리고 광암조건 모두에서 25℃의 항온 조건을 유지하는 세 가지의 조건에서 발병 정도를 조사하였다. 또한 고추 유묘의 생육 시기가 발병에 미치는 영향을 조사하기 위해서 고추유묘를 4엽기와 6엽기까지 재배하여 폿트로 정식한 직후에 병원균 현탁액을 토양에 관주하여 접종하고 발병 정도를 지속적으로 조사하였다. 병 발생은 접종한 후부터 매일 오전과 오후 9시에 Table 1-13과 같은 발병지수로 조사한 후에 발병도를 계산하였다(Mimura et al., 2009). 발병 정도는 병원균을 접종하고 10일 후까지 매일 실시하였다.

Table 1-13. Disease index used in this study

Index	Symptoms
0 :	there was no visible wilting symptom
1:	one leaf per a pepper seedling was wilted
2:	most leaves in a pepper seedling were wilted
3:	all leaves were wilted in a pepper seedling, but seedlings survived
4:	the stem of wilted seedlings collapsed, resulting in death

## (2) 결과 및 고찰

(가) 병원균 접종 방법과 접종원 밀도가 병 발생에 미치는 효과

고추 유묘를 600 nm에서 흡광도를 0.4, 0.7과 1.0으로 조절한 풋마름병균의 현탁액에 침지하여 접종한 후 정식하고 4일, 7일, 10일 후에 발병도를 조사하였다. 또한 동일한 조건의 병원균 현탁액을 고추 유묘를 폿트에 정식한 후에 토양에 관주하여 접종하고, 유묘를 병원균 현탁액에 침지하여 접종한 후 정식하였을 때와 발병 정도를 비교하였다(Fig. 1-22). 병원균 현탁액에 고추 유묘를 침지하여 접종할 경우 뿌리 절단 유무에 따른 병 발생에 차이가 없었다. 이는 뿌리에 직접 상처를 내지 않더라도 유묘를 다루는 과정에서 발생한 상처 등을 통하여 병원균의 현탁액에 고추 유묘를 침지하는 동안 병원균이 충분히 침입할 수 있었기 때문이라고 생각한다. 유묘를 병원균의 현탁액에 침지하여 접종할 경우에는 병원균의 밀도가 높아질수록 병 발생 정도로 증가하였다. 지금까지의 대부분의 실험에서 고추와 토마토에서 분리한 풋마름병균의 병원성을 조사하거나, 고추 품종의 저항성 정도를 조사하기 위해서 유묘의 뿌리를 절단하고 병원균인 R. solanacearum의 현탁액에 침지하여 접종하였다(Kim et al., 1998; Seo et al., 2007). 하지만 병원성 검정을 해야 하는 식물체의 수가 많을 경우는 뿌리를 절단하여 접종하는 것이 많은

시간과 노력을 필요로 하기 때문에, 뿌리를 절단하지 않고서 접종한다면 대량의 식물체를 경제적으로 접종할 수 있을 것으로 생각한다. 고추 유묘를 병원균의 현탁액에 침지하여 접종하지 않고 다른 폿트에 정식한 후에 병원균을 토양에 관주하여 접종하는 경우에도, 두 가지의 방법간에는 통계적인 유의성이 없었다. F. oxysporum f. sp. melonis의 경우도 뿌리 절단 유무가병원균을 인공접종하였을 때 품종간의 저항성과 감수성 반응에 영향을 주지 않았으며, 뿌리 절단을 통한 상처 없이도 병원균에 대한 멜론 품종의 저항성과 감수성 반응을 구분할 수 있었다(Lee et al., 2015). 물론 Lee 등(2015)은 식물병원진균인 F. oxysporum f. sp. melonis을 사용하고 있는 것이 본 실험의 병원균과는 큰 차이이지만, 본 연구에서도 뿌리 절단 없이 병원균을 균일하게 접종하는 것이 대량 검정을 위해서도 필요한 사항이다. 그런데 병원균 현탁액의 흡광도를 0.7로 맞추어 접종한 처리구에서 1.0으로 맞추어 접종한 처리구보다 병원균의 밀도가 낮은데도 불구하고 초기 발병율이 높게 나타났다. 따라서 병원균을 토양에 관주 접종할 경우 최소한의 상처 유발을 통하여 일관성있는 병 발생을 유도할 필요가 있다.

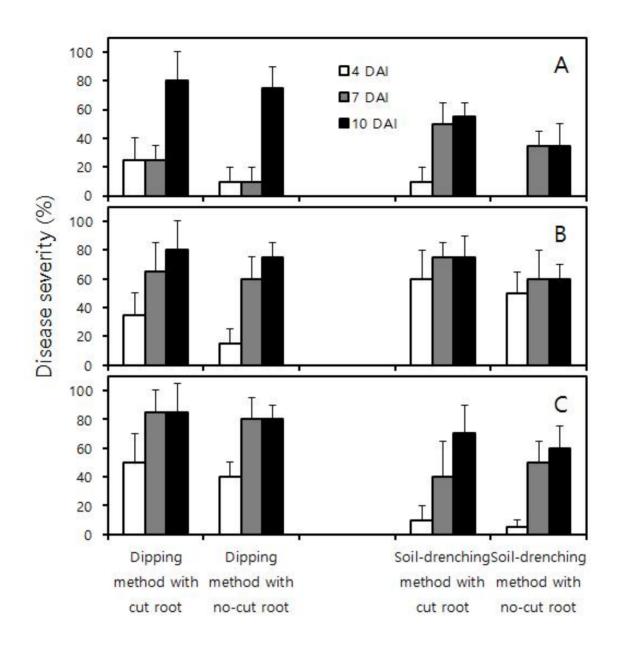


Fig. 1-22. Disease severity of bacterial wilt on pepper seedlings by inoculating bacterial suspension with seedling-dipping method and soil-drenching method. The optical density of bacterial suspension of *Ralstonia solanaearum* GMI1000 was adjusted to 0.4 (A), 0.7 (B) and 1.0 (C) at 600 nm. When pepper seedlings were inoculated with bacterial suspension, roots were cut by 1 cm with scissors or not cut. Disease severity was calculated with disease indexes investigated 4, 7 and 10 days after inoculation.

# (나) 정식 후 접종 시기가 병 발생에 미치는 영향

정식 후에 병원균을 토양 관주하여 접종할 경우에는 뿌리 절단 여부가 병 발생에 영향을 미치지 않았다(Fig. 1-23). 하지만 유묘를 정식하고 1일 후에 접종한 결과를 보면, 병 발생이 현

저하게 줄어들었고 2일 후부터는 병이 발생하지 않았다. 이처럼 정식 1일 후부터 발병이 급격하게 감소하는 것은 1일이라는 시간이 뿌리 부위에 발생한 상처를 치유할 수 있는 충분한 시간이었음을 보여주고 있다고 생각한다. 따라서 유묘를 정식하고 병원균을 토양 관주를 통하여접종하고자 할 때에는 정식하고 즉시 접종하는 것이 타당할 것으로 생각한다.

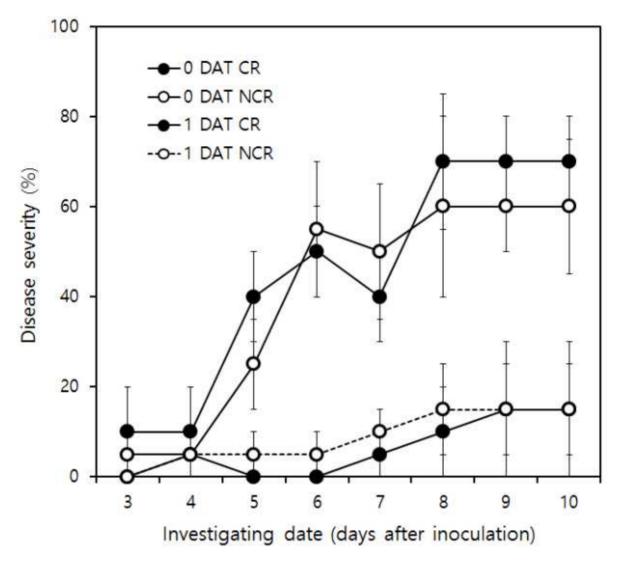


Fig. 1–23. Effect of inoculating timing on pepper bacterial wilt. *Ralstonia solanacearum* GMI1000 was inoculated by soil drenching with suspension of *R. solanacearum* GMI1000, of which O. D. value at 600 nm was adjusted to 1.0, at that day of transplanting or 1 day after transplanting (DAT). Before transplanting, root of pepper seedlings was cut (CR) or not cut (NCR) for inoculation with pathogen.

## (다) 발병 온도가 병 발생에 미치는 영향

고추 풋마름병균을 접종하고 광조건과 암조건 모두 30℃에서 보관하며 발병을 유도할 경우, 병원균을 접종하고 4일 후부터 급격하게 병이 발생하기 시작하여 8일 후에는 모든 고추 유묘 가 시들음 증상을 보였다(Fig. 1-24). 하지만 암상태의 온도가 25℃로 떨어지거나 광/암상태 모 두 25℃로 조절하여 발병을 유도할 경우에는 병 발생이 늦어져서 병원균을 접종하고 8일 후에는 50%와 25%의 발병율만을 보였을 뿐이다. 물론 광과 암상태의 온도를 30℃와 25℃로 관리할 경우에는 병원균을 접종하고 10일 후에 모든 유묘에서 시들음 증상이 나타나기 시작하였으며, 광/암상태 모두 25℃로 조절할 경우에는 11일 후부터 95%의 발병율을 보였지만, 30℃로 조절하여 발병을 유도할 때에 비하면 병 발생이 많이 지연되는 결과를 보였다.

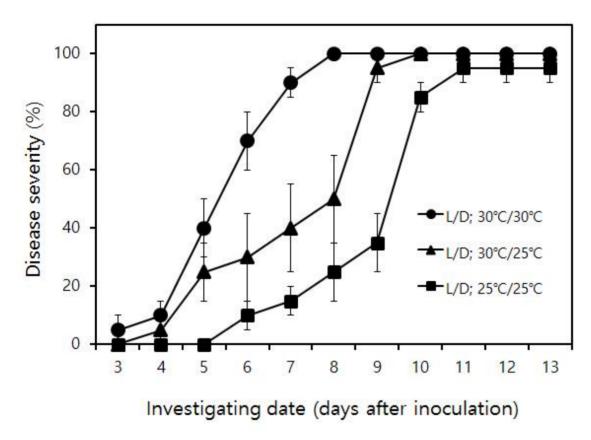


Fig. 1-24. Effect of temperature on development of pepper bacterial wilt. Temperature was adjusted to  $30/30^{\circ}$ C (light/ dark condition),  $30/25^{\circ}$ C, and  $25/25^{\circ}$ C, respectively. Disease severity was investigated 3 days after inoculation with *Ralstonia solanacearum* GMI1000.

Lee 등(2011)은 토마토에서 분리한 병원성이 강한 *R. solanacearum* SL341과 담배에서 분리한 병원성이 약한 SL1944 균주를 사용하여 몇 가지 온도에서 토마토에 대한 병원성을 조사하였다. 병원성이 강한 SL341 균주는 토마토 품종에 대해서 온도와 관계없이 강한 병원성을 보인 반면에, 병원성이 약한 SL1944 균주는 *R. solanacearum*에 대해서 저항성 품종인 토마토에서 발병 온도가 고온일 경우 병 발생이 급격히 증가하는 경향을 보였다. 이러한 경향은 본 연구에서 사용한 *R. solanacearum* GMI1000 균주에서도 동일하게 나타났다. Fig. 1-24에서 보는 것과 같이온도가 30℃에서 25℃로 떨어질 경우 병의 진전 속도가 저하하였다. 이 결과는 *R. solanacearum*에 대한 품종의 저항성 검정에서 발병온도가 매우 중요한 요인으로 작용할 수 있음을 보여 주고 있다. 따라서 온도의 조절이 가능하지 않은 온실에서 저항성 검정을 수행할 경

우, 결과를 정확하게 해석하기 위해서는 계속적인 조사를 통하여 병 진전 양상을 비교해야할 것으로 생각된다.

# (라) 고추 유묘의 엽기가 병 발생에 미치는 영향

병 접종에는 4엽기와 6엽기의 고추 유묘를 사용하였다. Fig. 1-25에서 보는 것과 같이 병원 균을 접종하고 3, 5, 8일 후에 조사한 결과 엽기가 다른 유묘에서 시들음 증상이 발생하는 정 도에는 차이가 없었다. Lemessa와 Zeller(2007)는 기주식물의 엽기 간에 병 발생 차이는 사용 한 균주에 따라서 발생한다고 하였다. R. solanacearum  $\operatorname{racel}$  균주는 5 - 6엽기의 유묘에서 1- 2엽기 또는 3 - 4엽기의 유묘보다 발병율이 낮았던 반면에 race3에 속하는 균주의 경우에는 엽기에 관계없이 병원성이 차이가 없었다. 하지만 고추에서는 병원균의 race에 따라서 병원성 이 차이가 있었는데 race1이 race3보다 병원성이 강하였다. 본 연구에서 사용한 R. solanacearum GMI1000은 고추를 포함한 감자, 토마토, 참깨, 담배를 침입하는 것으로 알려진 race1에 속하는 균주이다(Jeong et al., 2007). 하지만 본 연구 결과는 Lemessa와 Zeller의 결과 와는 다르게 4엽기와 6엽기의 유묘 간에 병원성 차이를 확인할 수 없었다. 본 실험에서는 유묘 의 엽기보다는 발병온도가 병 발생에 더 큰 영향을 주었다. 병원균을 접종하고 발병온도를 3 0℃로 맞추어 재배할 경우, 4엽기와 6엽기의 유묘 모두 병원균을 접종하고 3일 후부터 발병하 기 시작하였다. 동일한 발병온도 조건에서 4엽기와 6엽기 유묘는 병원균을 접종하고 8일 후에 는 모든 유묘에서 시들음 증상이 관찰되었으나, 25℃에서 재배할 경우에는 8일 후에도 15%와 20%의 병 발생만을 보였을 뿐이었다. 이처럼 병 발생에는 실험에 사용한 고추 유묘의 엽기보 다 발병온도가 더 큰 영향을 미쳤다.

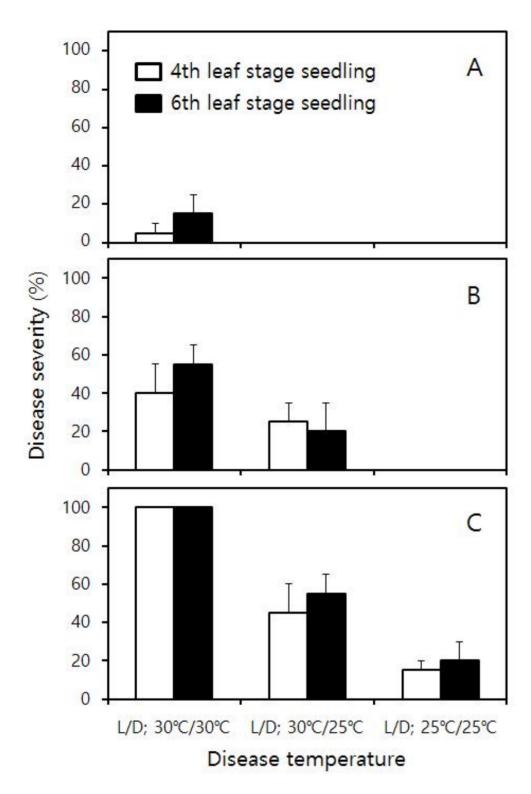


Fig. 1-25. Effect of leaf stage of pepper seedling and disease temperature on the development of bacterial wilt. Seedling stage of pepper used in this study was 4-leaf and 6-leaf stage.

(마) 풋마름병균에 대한 고추 품종의 병원성 정도 실험에 사용한 13종의 품종은 3가지의 그룹으로 나눌 수 있었다. 그룹 I은 병원균을 접종하 고 7일 후까지는 뿌리 절단 접종구와 무절단 접종구 모두에서 전혀 병이 발생하지 않았다. 그룹 I에는 하나역강/청고강, 예쁜독야청청, 탄탄대목, 늘푸른플러스, 무한질주, PR마니따, PR대촌 등이 속하였다. 그룹 II는 뿌리 절단 접종구에서는 7일 후에 병이 발생하였지만, 뿌리 무절단 접종구에서는 전혀 병이 나지 않은 품종들로서, 상아탑, 슈퍼금당, PR금고추 등이 속하였다. 마지막으로 그룹 III은 병원균을 접종하고 7일 후부터 뿌리 절단 혹은 뿌리 무절단 접종구 모두에서 병이 발생한 품종들로서, 독야청청, 왕대박, 불맛 등이 속하였다. 하지만 그룹 I에 속하는하나역강/청고강을 제외한 나머지 품종들은 병원균을 접종하고 14일 후에는 병이 발생하였는데, 예쁜독야청청, 탄탄대목, 늘푸른플러스, 무한질주의 발병율은 40% 이하이었지만, PR마니따와 PR대촌은 96.7%와 100%의 발병율을 보였다. 그룹 II도 병원균을 접종하고 14일 후에는 뿌리 무절단 접종구에서 병이 나기 시작하였는데, 상아탑, 슈퍼금당, PR금고추 등에서 각각 20, 50, 10%의 발병율을 보였다. 그룹 III에 속하는 품종들은 병이 계속 진전되어 14일 후에는 무절단 접종구에서 독야청청, 왕대박, 불맛 등의 발병율이 각각 80, 90, 50%이었다(Fig. 1-26).

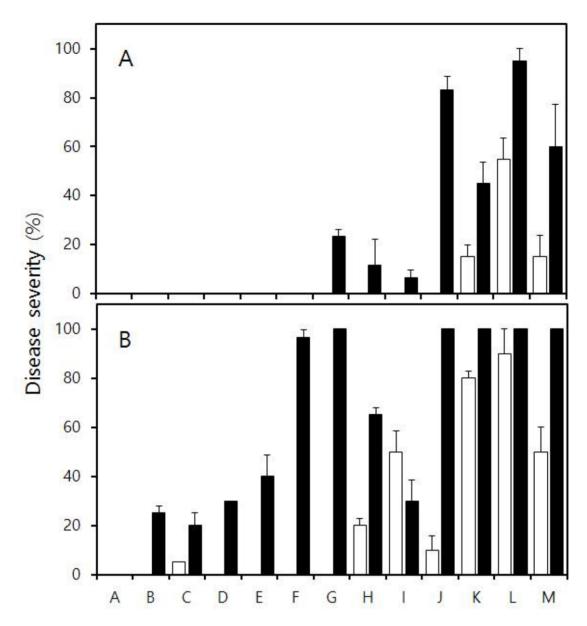


Fig. 1–26. Resistance to *Ralstonia solanacearum* GMI1000 causing pepper bacterial wilt. Pepper seedlings were inoculated by dipping the roots into bacterial suspension for 1 hr. Before inoculation, the root of each seedling was cut (closed bar) or not (open bar) with sterile scissors at the point 1 cm away from the root tip. Pepper plants were used for the 4–leaf stage and 6–leaf stage seedlings. Disease severity with indicated disease index was investigated 7 days (A) and 14 days (B) after inoculation. Each variety was as follows: A; Hanayeokkang/cheongkokang, B; Yeopeuntokyacheongcheong, C; Tantandaemok, D; Neulpeuleunplus, E; Muhanjilju, F; PR–Manidda, G; PR–Daechon, H; Sangahtab, I; Superkeumdang, J; PR–Keumgochu, K; Tokyacheongcheong, L; Wangdaebak, M; Bulmat.

마. 바이러스 저항성 검정을 위한 방법 바이러스 접종은 인위적으로 CMV를 접종하여 바이러스 증상이 나타난 CMV 감염 담배 조 직을 -70℃에 보관하면서 사용하였다. 접종원 0.1 g당 0.01 M sodium phosphate buffer (pH7.0)를 1 ml씩 넣고 유발에서 고르게 갈았다. 바이러스를 접종하기 위해서 고추(품종; 왕대박) 유묘를 떡잎이 완전히 전개되고 1엽이 나오기 직전까지 온실에서 재배하였다. 카보랜덤 용액을 고추의 떡잎에 분무하고 멸균된 핸드타올에 준비한 바이러스 감염 담배의 즙액을 적셔서 고추 떡잎에 2-3회 문질러서 접종하였다. 떡잎에 묻은 카보렌덤이 제거될 때까지 물로 세척하였다. 접종한 고추 유묘는 20, 25, 30℃의 배양기에 넣고 12시간식 형광등을 조사하며 발병을 유도하였다. 병원균을 접종하고 7일 후에 병 발생 여부를 조사하였다.

Table 1-14. 온도에 따른 바이러스 증상 발현 정도

온 도	바이러스 증상 발현
20℃	0/5
$25^{\circ}$ C	0/5
30℃	4/5

Table 1-14에서 보는 것과 같이 바이러스 증상은 30℃에서만 나타났다. Fig. 1-27, Fig. 1-28에서 보는 것과 같이 30℃에서 보관한 고추의 1엽의 하단부위부터 CMV의 모자이크 증상이 나타나기 시작하였다.

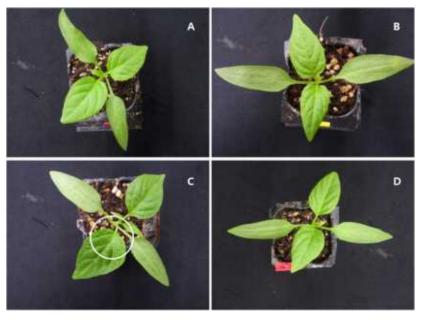


Fig. 1-27. 발병 온도에 따른 바이러스 증상. A; 20℃에서 보관한 유묘, B; 25℃에서 보관한 유묘, C; 30℃에서 보관한 유묘, D; 바이러스 무접종구. 원; 바이러스의 모자이크 증상이 나타난 잎



Fig. 1-28. 30℃에서 나타난 고추 1엽의 모자이크 증상. CMV를 접종하고 7일 후에 조사하였음.

- 2. 저항성 라인 대량 선발을 위한 병리 검정
- 가. 역병에 대한 병리 검정
- (1) 1차년도 (2012. 8 2013. 8)

940개의 고추 라인에 대해서 역병 저항성 검정 실시 395개 라인(총 42.0%)이 저항성으로 검정되었음.

# (가) 실험에 사용한 병원균

병든 고추에서 분리한 고추 역병균(*Phytophthora capsici* JHAW1-2)을 본 실험에 사용하였다.

# (나) 고추 유묘를 이용한 역병 억제 효과 검정

온실에서 6엽기 이상까지 재배한 다양한 고추 라인의 유묘를 실험에 사용하였다. 병원균의 접종원을 준비하기 위하여 20℃의 V8 배지에서 4일간 배양한 역병균의 균총 선단에서 균사 조각을 떼어 내어 oat meal배지(oatmeal; 60 g, agar; 12.5 g, 증류수; 1L)에 접종하고, 다시 20℃에서 7일간 배양하였다. 배지 표면에 형성된 공중균사를 긁어 상처를 낸 후에, 2일 동안 형광등을 쪼여 주고, 증류수를 부어 형성된 포자낭을 수확하였다. 포자낭 현탁액의 포자낭의 수를 1 x 10⁴ 개/mL로 조절하였으며, 4℃에 3시간 동안 보관하여, 포자낭으로부터 유주포자를 나출시켰다. 유주포자와 포자낭 현탁액을 고추 유묘를 재배한 연결 폿트에 5 mL씩 부어서 접종하고, 온실에서 보관하며, 병이 발생하도록 관리하였다. 병원균을 접종하고 계속적으로 역병의 발생 정도를 조사하였다.



Fig. 2-1. 역병에 대한 저항성 검정

# (다) 저항성 검정 결과

고추 940 라인에 대해서 역병 저항성 정도를 조사하였다. 전혀 역병이 발생하지 않은 라인의수는 395라인으로 전체의 42.0%이었으며, 중간 저항성이라고 말할 수 있는 발병율이 20% 이하인 라인의 수는 272개로 전체의 28.9%를 차지하였다.

저항성 검정은 3회로 나누어 실시하였으며, 각 검정 시 378, 292, 270라인을 검정하였다. 역병이 전혀 발생하지 않은 저항성 라인의 비율을 아래 그림에서 보는 것과 같이 28.8, 47.3, 54.8%이었다(Fig. 2-2).

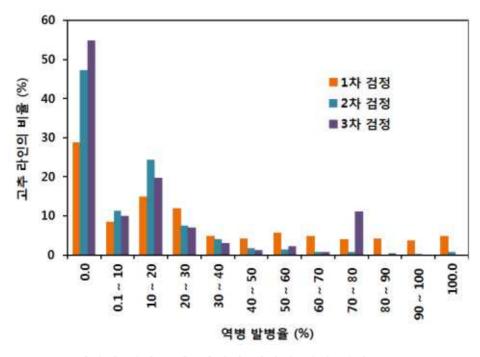


Fig. 2-2. 역병에 대한 고추 라인의 저항성 검정 결과

# (2) 3차년도 (2013. 8 - 2014. 8)

o 1차 검정: 총 601 라인 (총 6,302주) o 2차 검정: 총 723 라인 (총 24,502주)



Fig. 2-3. 고추 역병균 접종 모습. A; 역병균의 포자낭 수확 모습, B와 C; 고추 유묘에 역병균을 접종하는 모습



Fig. 2-4. 역병 발병 유도를 위한 유묘 관리

고추 1,324 라인에 대해서 역병 저항성 정도 조사를 2차에 나누어서 병리검정을 실시하였다. 전체적으로 전혀 역병이 발생하지 않은 라인의 수는 1차 검종에서 39개, 2차 검정에서 501개로 총 40.7%에 해당하는 540라인으로 검정되었다. 하지만 1차 검정 시 2.9%이었던 비율이, 2차 검정에서 37.8%로 급증하였는데, 이는 1차 검정 시에는 다양한 계통에 대한 검정을 실시하였고, 2차 검정에서는 1차 검정에서 선발된 계통을 중심으로 라인을 선발하여 검정하였기 때문에 저항성 반응을 보이는 라인의 수가 증가하였다. 중간 저항성이라고 생각할 수 있는 발병율이 10 - 30% 이하인 라인의 수는 1차에 49개, 2차에 57로, 총 8.0%에 해당하는 라인이 중간 저항성을 보였다(Fig. 2-5).

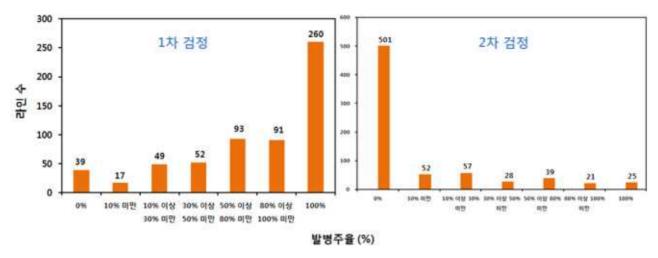


Fig. 2-5. 역병에 대한 고추 라인의 저항성 검정 결과.

- (3) 4차년도 (2014. 8 2015. 8)
- (가) 저항성 검정 결과
- ① 총 1,264계통(하나종묘 751계통, 에코씨드 400계통, 에쓰제이그린 113계통)에 대해서 역병에 대한 저항성 검정을 실시하였다.
- ② 하나종묘의 경우 751계통에 대한 역병 검정을 실시하기 위하여 총 26,821개체의 유묘에 병원균을 접종하고 병 조사를 실시하였다.



③ 4차년도 하나종묘의 결과: 731계통에 대한 결과를 얻었다.

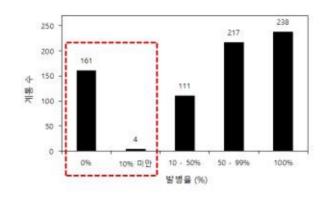


Fig. 2-6. 고추 계통의 역병균에 대한 발병 정도

- (나) 에코씨드의 역병 저항성 검정: 유묘 병리 검정과 마커 검정 결과 비교
- ① 총 400계통의 고추에 대해서 역병 저항성 검정을 실시하였다.
- ② 조사의 기준

저항성 기준	발병율 (%)
R	0 - 25%
MR	25 - 50%
$\mathbf{M}$	50 - 75%
S	75 - 100%

R; 저항성, MR; 중도저항성, M; 중도감수성, S; 감수성

#### ③ 결과

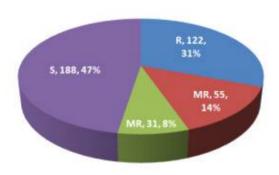


Fig. 2-7. 고추 역병에 대한 저항성 검정 결과

전체의 31%인 122계통에서 발병율이 25% 미만으로 나타났다.

④ 173계통에 대해서는 병리 검정과 마커 검정을 동시에 수행하였다. 마커 검정은 AC2258과 CM334 유래의 저항성 마커를 사용하였다.

A: AC2258 유래 저항성 마커를 지님

(감수성 품종과 마커 type이 같아서 저항성 구별이 안됨)

AR: AC2258유래 저항성마커와 CM334 유래 저항성 마커 둘 다 가짐

(감수성 품종과 마커 type이 같아서 저항성 구별이 안됨)

H: CM334 유래 저항성 마커가 헤테로 type으로 존재 (저항성과 감수성 계통이 모두 나타날 수 있음)

R: CM334 유래 저항성 마커를 지님

# ⑤ 병리 검정 결과

173계통은 병리 검정에서 57.3%가 R 또는 MR 반응을 보였다. 34.7%의 계통이 감수성 반응을 보였다.

#### ⑥ 마커 검정 결과

50.9%가 저항성 반응을, 22.0%가 감수성 반응을 나타내었다.

22.0%인 38계통이 헤테로 type을 보여 저항성/감수성 반응을 알 수 없었다.

저항성(R) 반응을 보인 88계통 중에서 77.3%인 68계통이 R 또는 MR 반응을 보였고, 22.7%인 20계통이 중도감수성(M) 또는 감수성(S) 반응을 보였다.

감수성 반응(S)을 보인 38계통 중에서 R과 MR은 모두 7계통으로 18.4%이었으며, M과 S는 각각 1계통과 30계통으로 81.6%이었다.

- ⑦ 현재 사용하고 있는 저항성 마커는 약간 효용성이 떨어지기 때문에 효용성이 큰 마커를 탐 색할 필요가 있다.
- ⑧ 또한 병리 검정과 마커 검정을 동시에 진행하며 선발 과정을 거칠 필요성이 대두된다.

## (4) 5차년도 (2015. 8 - 2016. 8)

- (가) 5차년도에는 1,565개 라인에 대한 저항성 정도를 조사하였다.
- (나) 저항성 라인은 138 라인, 중도 저항성 라인은 116 라인, 그리고 감수성 라인은 1311 라인이었다.

## 나. 탄저병에 대한 병리 검정

#### (1) 실험에 사용한 병원균

충북의 고추 재배 지역에서 탄저병균에 감염된 고추를 채집, 세척 후, 25℃의 습실에 보존하며 포자 형성을 유도하였다. 형성된 탄저병균의 포자를 살균 증류수에 100 ~ 200 개/ml의 밀도로 현탁한 후, 300 μg/ml의 streptomycin을 첨가한 감자 한천 배지(potato dextrose agar medium, PDA)에 0.1 ml씩 도말하였다. 도말한 배지를 25℃의 암 상태에서 3일간 배양한 후형성된 균총의 균사 선단 부위를 잘라 새로운 PDA에 이식하였다. 분리한 병원균은 형태・생리적인 특징과 ITS 영역 유전자 염기서열을 이용하여 동정하였으며, Colletotrichum acutatum으로 동정된 JC24 균주를 선발하였다. 순수 분리된 탄저병균은 PDA 사면 배지에 배양, 4℃에 보관하면서 실험에 사용하였고, 장기간 보관을 위하여 6%의 DMSO 용액에 넣어 -70℃에서 보관하였다.

#### (2) 접종원 준비

실험에 사용한 고추 탄저병균 *C. acutatum* JC24를 25℃, 암상태의 PDA 배지에서 10일간 배양한 후, 형성된 포자를 살균증류수를 이용하여 수확하였다. 수확한 포자는 멸균한 4겹의 cheese cloth에 여과하여 균사 조각 등을 제거한 후, 광학현미경으로 관찰하며 현탁액에서 밀

도를 1 x 10<sup>6</sup> 개/ml로 조절하여 사용하였다.

#### (3) 병원균의 접종 및 조사

포장에서 재배 중인 비슷한 크기의 고추 열매를 수확한 다음, 실험에 사용하였다. 병원균은 준비한 포자 현탁액을 상처 접종을 하였다. 고추 표면을 흐르는 물과 1% sodium hypochloride 용액으로 잘 닦은 다음 실험에 사용하였다. 상처 접종을 위해서 고추 표면에 핀으로 상처를 내고 준비한 포자현탁액을 상처 당 5 μl씩 점적하여 접종하였다. 접종한 열매는 25℃에서 5일 동안 습실 처리하고 계속해서 습실 처리를 제거하고 7일 후에, 병반의 길이를 조사하였다.

#### (4) 실험 결과

## (가) 3차년도(2013. 8 - 2014. 8) 실내 검정

실험 대조구로 사용한 녹광의 푸른고추와 붉은고추에서 병반의 크기는 각각 24.4와 12.3 mm 이었다. 실험에 사용한 30개의 라인 중에서 병반의 크기가 3 mm 이하가 되는 라인은 6820, T1-2, T57, T58-1, T58-2 등이 2.4, 0.0, 1.5, 2.7, 1.6 mm로 저항성 반응을 나타내는 라인들이 었다(Fig. 2-8.).

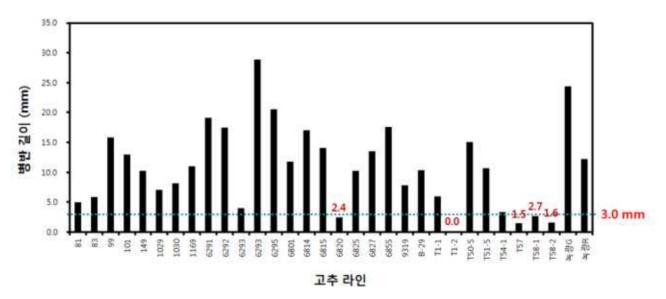


Fig. 2-8. 고추 탄저병균 *Colletotrichum acutatum* JC24를 상처 접종하였을 때 각 고추 라인에서 발생한 병반의 길이.

저항성 반응을 보이는 6820, T1-2, T57, T58-1, T58-2 등은 Fig. 2-9.에서 보는 것과 같이일반 고추 품종과는 다른 형태를 보였다. 아직까지는 육종의 과정을 통하여 저항성 유전인자의고정이 필요한 단계라고 생각한다.

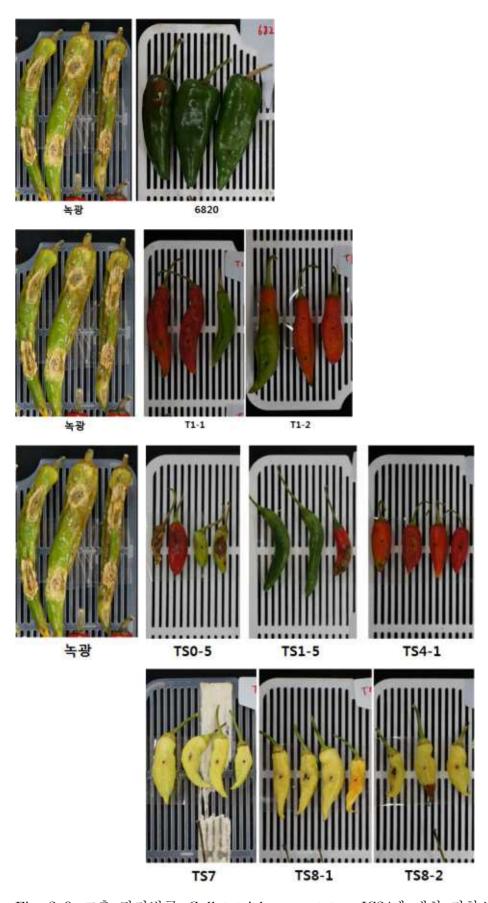


Fig. 2-9. 고추 탄저병균 Colletotrichum acutatum JC24에 대한 저항성 검정 결과.

#### (나) 4차년도 (2014. 8 - 2015. 8)

#### ① 실험에 사용한 병원균

탄저병균에 감염된 고추에서 분리한 C. acutatum 13CSBD5를 실험에 사용하였다. 병원균은 PDA 사면 배지에 배양, 4<sup> $\mathbb{C}$ </sup>에 보관하면서 실험에 사용하였고, 장기간 보관을 위하여 6%의 DMSO 용액에 넣어 -70<sup> $\mathbb{C}$ </sup>에서 보관하였다.

#### ② 접종원 준비

실험에 사용한 고추 탄저병균 C. acutatum 13CSBD5를  $25^{\circ}$ C, 암상태의 PDA 배지에서 10일간 배양한 후, 형성된 포자를 살균증류수를 이용하여 수확하였다. 수확한 포자는 멸균한 4겹의 cheese cloth에 여과하여 균사 조각 등을 제거한 후, 광학현미경으로 관찰하며 현탁액에서 밀도를  $1 \times 10^6$  개/ml로 조절하여 사용하였다.

## ③ 병원균의 접종 및 조사

포장에서 재배 중인 비슷한 크기의 고추 열매를 수확한 다음, 고추 표면을 흐르는 물과 1% sodium hypochloride용액으로 잘 닦은 다음 실험에 사용하였다. 접종원인 분생포자는 병원균을 25℃의 PDA배지에서 10일간 배양한 후, 멸균 증류수를 탄저병균의 균총에 붓고 균총 표면에 형성된 분생포자를 긁어서 수확하였다. 수확한 포자 현탁액은 4겹의 거즈에 여과하여 균사 조각 등을 제거하고 현탁액의 포자 밀도를 정해진 밀도로 조절하였다. 준비한 *C. acutatum* 13CSBD5의 포자 현탁액은 상처를 내지 않은 고추 열매 표면에 분무하여 접종하거나, 멸균한 핀으로 고추 열매에 상처를 내고 상처 위에 5 μL의 포자 현탁액을 점적하여 접종하였다. 각계통 당 3개씩의 푸른 고추와 붉은 고추를 사용하였다.

플라스틱 상자의 바닥에 2겹의 종이 타올을 깔고 100 mL의 증류수를 부어 습실을 유지할수 있게 준비한 후, 고추 열매를 놓고 병원균을 접종하였다. 이 때 병원균의 포자 농도는 1 x 10<sup>6</sup> 개 mL<sup>-1</sup>로 조절하여 분무 접종하였다. 병원균을 접종한 고추 열매는 25℃에서 5일간 습실처리 후에 플라스틱 상자 뚜껑을 열어서 보관하며 발병을 유도하였고, 병원균을 접종한 지 12일 후에 병 발생 정도를 조사하였다. 접종한 고추 열매를 습실 처리한 플라스틱 상자에 넣고 25℃에 보관하며 발병을 유도하였다. 이 때 병원균 포자현탁액의 포자 밀도를 1 x 10<sup>6</sup> 개 mL<sup>-1</sup>로 조절하여 분무 접종하였으며, 5일 동안 습실 처리하였다. 병 조사는 병원균을 접종하고 12일 후에 실시하였다. 모든 무상처 접종 실험구에서 병 발생 조사는 아래와 같은 발병지수를 사용하여(Table 2-1) 열매에서 발병 정도를 조사한 후, 다음과 같은 산출식에 의거 발병도를 계산하였다.

Disease incidence (%) =  $[(1 \times n_1 + 2 \times n_2 + 3 \times n_3 + 4 \times n_4)/4N] \times 100$ 

N; total number of fruits

n<sub>1</sub>; total numer of fruits evaluated as disease index 1

n<sub>2</sub>; total numer of fruits evaluated as disease index 2

n<sub>3</sub>; total numer of fruits evaluated as disease index 3

n<sub>4</sub>; total numer of fruits evaluated as disease index 4

Table 2-1. Anthracnose disease index on a pepper fruit

Disease index	Degree of diseased lesion				
0	no lesions on a fruit				
1	one or three small lesions				
2	lesion area ranging from 1 to 5%				
3	lesion area ranging from 5 to 25%				
4	lesion area above 25%				

상처 접종한 열매는 25℃에서 5일 동안 습실 처리하고 계속해서 습실 처리를 제거하고 7일 후에, 병반의 길이를 조사하였다.

# ④ 포장에서 탄저병 저항성 정도(FAT; field anthracnose tolerance) 조사

안성시 소재의 고추 포장에 1601번부터 1795번까지 총 91개 라인, 3701번부터 3826번까지 112라인, 그리고 34개 라인을 5주가 한 반복으로 모두 3반복으로 정식하여 재배하고 탄저병균에 대한 저항성 정도를 조사하였다. 포장에서 병 발생을 균일하게 하기 위해서 병원균 포자 현탁액(포자 밀도; 1 x 10<sup>6</sup> 개/ml)을 만들어 포장 전체적으로 분무 접종하였다. 병 발생을 확인한후에 포장에서 탄저병 발생률을 조사하였다. 포장 전체의 탄저병 발병과율을 조사하기가 어려워서 각 주 당 발병된 열매 수를 발병 지수로 조사하여 발병률을 구하였다. 조사한 고추는 포장의 모든 고추를 전수 조사하였으며, 발병지수는 아래 표와 같았다. 발병률은 조사한 발병지수를 가지고서 Table 2-2를 참고하여 구하였다.

Table 2-2. Anthracnose disease index on a pepper fruit

Disease index	Degree of diseased fruits of pepper
0	no diseased fruits per a pepper plant
1	less than 5% of diseased fruits
2	5 - 10% of diseased fruits
3	10 - 25% of diseased fruits
4	25 - 50% of diseased fruits
5	more than 50% of diseased fruits

Disease incidence (%) =  $[(0xn_0 + 1 \times n_1 + 2 \times n_2 + 3 \times n_3 + 4 \times n_4 + 5 \times n_5)/4N] \times 100$ 

N; total number of plants investigated for the development of anthracnose

n<sub>0</sub>; total numer of plants evaluated as disease index 0

n<sub>1</sub>; total numer of plants evaluated as disease index 1

n<sub>2</sub>; total numer of plants evaluated as disease index 2

n<sub>3</sub>; total numer of plants evaluated as disease index 3

n<sub>4</sub>; total numer of plants evaluated as disease index 4

n<sub>5</sub>; total numer of plants evaluated as disease index 5

# ⑤ 실내 검정 결과

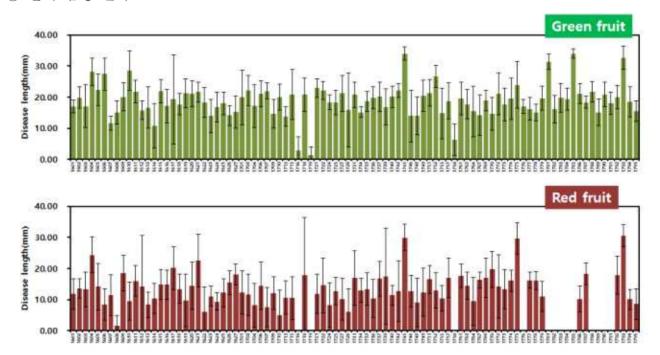


Fig. 2-10. Symptom length on a green or red fruit of pepper. To inoculate pathogen, Colletotrichum acutatum causing pepper anthracnose,  $5 \mu l$  of conidial suspension adjusted to  $1 \times 10^6$  conidia/ml was dropped onto a wound on a pepper fruit. Pepper fruits inoculated with the pathogen were kept into a humidity box for 5 days. Symptom length was measured 7 days after openning the cover of humidity box. This test was the experiment I with 91 clones from clone number 1601 to 1795.

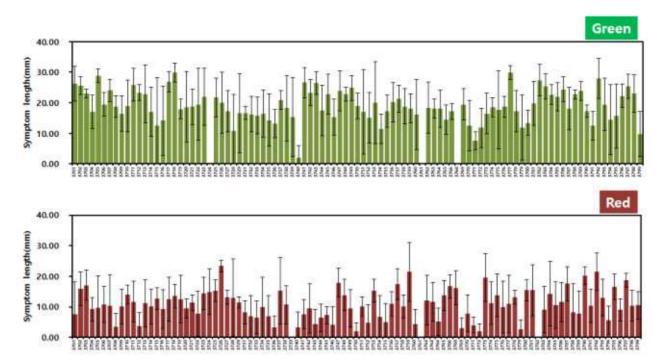


Fig. 2-11. Symptom length on a green or red fruit of pepper. To inoculate pathogen, *Colletotrichum acutatum* causing pepper anthracnose,  $5 \mu l$  of conidial suspension adjusted to  $1 \times 10^6$  conidia/ml was dropped onto a wound on a pepper fruit. Pepper fruits inoculated with the pathogen were kept into a humidity box for 5 days. Symptom length was measured 7 days after openning the cover of humidity box. This test was the experiment II with 146 clones from clone number 3701 to 3826 and others.

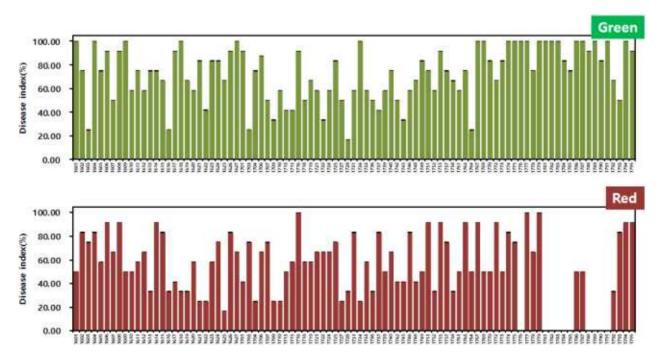


Fig. 2-12. Disease index on a green or red fruit of pepper. To inoculate pathogen, *Colletotrichum acutatum* causing pepper anthracnose, conidial suspension adjusted to 1 x

10<sup>6</sup> conidia/ml was sparayed on pepper fruits until just before droplets of conidial suspension falled on fruits. Pepper fruits inoculated with the pathogen were kept into a humidity box for 5 days. Disease index was evaluated 7 days after openning the cover of humidity box. This test was the experiment I with 91 clones from clone number 1601 to 1795.

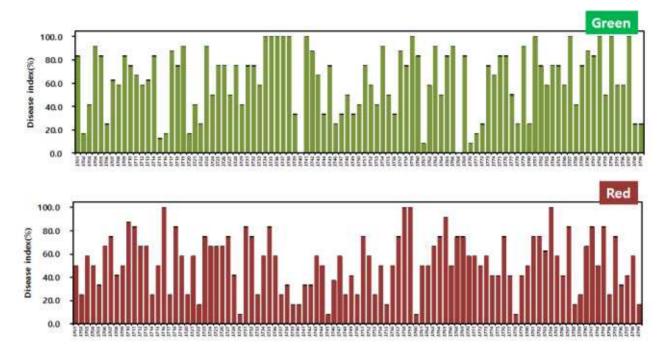


Fig. 2-13. Disease index on a green or red fruit of pepper. To inoculate pathogen, *Colletotrichum acutatum* causing pepper anthracnose, conidial suspension adjusted to 1 x 10<sup>6</sup> conidia/ml was sparayed on pepper fruits until just before droplets of conidial suspension falled on fruits. Pepper fruits inoculated with the pathogen were kept into a humidity box for 5 days. Disease index was evaluated 7 days after openning the cover of humidity box. This test was the experiment II with 146 clones from clone number 3701 to 3826 and others.

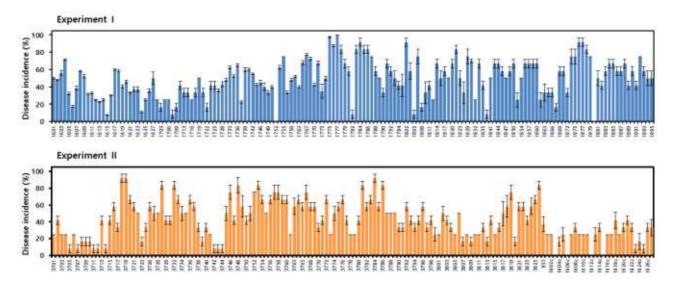
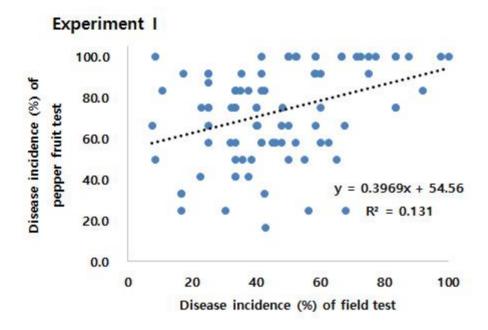


Fig. 2-14. Disease incidence of pepper clones in the fields against anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum*. To make pepper anthracnose developed uniformly in the field, conidial suspension prepared by harvesting conidia from 7-day colony of C. acutatum incubated on PDA  $25^{\circ}$ C and adjusted to  $1 \times 10^{6}$  conidia/ml was sprayed onto pepper fruits until just before droplets falled from fruits. After checking that anthracnose occurred in peppers, disease incidence was evaluated by disease index.



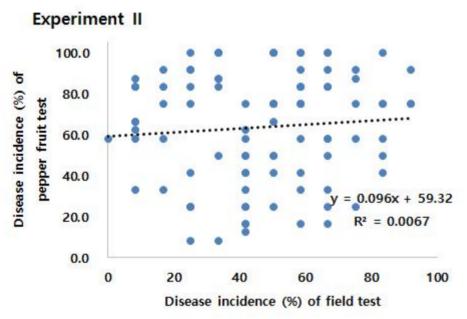


Fig. 2-15. Correlation of the disease incidence (%) between a pepper fruit test and a field test.

다. 풋마름병에 대한 병리 검정

(1) 세균병에 대한 저항성 라인 선발 지원: 세균풋마름병에 대한 저항성 검정

## 세균풋마름병에 대한 저항성 검정

- 접종 방법

뿌리 절단 또는 절단하지 않은 채 세균현탁액(세균 밀도; O.D.600 = 1.0)에 1시간 침지 병원균 접종 후 증류수에 침지하여 발병 유도

- 발병 조건

30°C(light for 12 hrs)/30°C(dark for 12 hrs)

- 대조 품종을 포함하여 25개 품종 또는 라인을 검정함
  - → D30 라인을 저항성 라인으로 선발하였음

## (가) 실험에 사용한 병원균

실험에 사용한 고추 풋마름병균(*Ralstonia solanacearum* GMI1000)은 서울대학교에서 분양받아 본 실험에 사용하였다.

#### (나) 고추 풋마름병에 대한 검정법 확립

고추(대조 품종; 왕대박)를 6엽기까지 온실에서 재배하여 실험에 사용하였다. *R. solanacearum* GMI-1000을 28℃의 TTC 배지에서 3일간 배양한 후, 원심분리하여 수확하고 살 균증류수로 2회 세척하였다. 병원균의 접종은 고추 유묘의 뿌리를 가위로 절단하고 병원균 현탁액에 1시간 침지하여 접종하는 접종구와, 유묘 뿌리에 상처를 내지 않고서 병원균의 현탁액에 1시간 침지하여 접종하는 접종구를 두었다. 이 때 병원균 현탁액의 흡광도는 O.D.600값이 1.0이 되도록 조절하여 사용하였다. 접종한 고추 유묘는 30℃인 항온기의 비닐 상장에 넣어 관리하였으며, 12시간 간격으로 광을 조사하였다. 병의 발생은 접종한 후부터 7일과 14일에 French의 발병지수를 가지고서 조사한 후에 발병도를 계산하였다. 또한 동일한 조사일자에 발병주율을 조사하였다.

Table 2-3. French의 발병지수

발병지수	병 징
1:	병징이 없음
2:	한 개의 잎 이상 또는 전체 잎의 $1/2$ 이상의 잎에서 시들음 증상이 보임
3:	전체 잎의 1/2 이상의 잎에서 시들음 증상이 보임
4:	전체의 잎이 시들음 증상을 보임
5:	식물체가 고사하여 죽음

## (다) 저항성 검정 결과

Table 2-4에서 보는 것과 같이 대조 품종인 왕대박의 경우 병원균을 접종하고 7일 후에 조사한 결과를 보면, 병원균을 뿌리 절단 또는 무절단 방법으로 접종하였을 때 발병주율은 각각 80과 50%이었으며, 14일 후에는 실험에 사용한 모든 유묘에서 풋마름병이 발생하였다. 저항성

대조 품종으로 사용한 무한질주는 병원균을 접종하고 7일 후에 뿌리 무절단 접종구에서는 병발생이 없었지만, 절단 접종구에서는 발병주율이 40%이었다. 하지만 14일 후에는 무절단과 절단 접종구에서 발병주율은 20과 40%로 상승하였다. D30은 아래 표와 그림에서 보는 것과 같이 저항성 대조 품종인 무한질주와 비슷한 정도의 저항성을 보이고 있었다.

Table 2-4. 고추 세균 풋마름병에 대한 저항성 검정

			7	7일 <sup>a</sup>			1	4일 <sup>b</sup>	
Exp. No.	Accession No.	 발병 <sup>2</sup>	주율	발병:	지수	발병	주율	발병?	 지수
INO.	110.	무절단 <sup>c</sup>	절단 <sup>d</sup>	무절단	절단	무절단	절단	무절단	절단
PS1	탄탄대목	22.2	33.3	8.3	11.1	66.7	66.7	44.4	50.0
PS2	강한뿌리	55.6	100.0	33.3	82.1	77.8	100.0	69.4	100.0
PS3	BTP3	44.4	55.6	33.3	55.6	100.0	88.9	75.0	72.2
PS4	D30	12.5	14.3	3.1	3.6	25.0	42.9	18.8	25.0
PS5	무한질주	0.0	40.0	0.0	10.0	20.0	40.0	20.0	20.0
PS6	TM999	_	_	-	_	_	_	_	_
PS7	염홍	83.3	60.0	16.7	45.0	83.3	100.0	70.8	100.0
PS8	2348	36.4	63.6	36.4	63.6	81.8	100.0	81.8	100.0
PS9	13TP4	22.2	37.5	22.2	37.5	88.9	75.0	72.2	50.0
PS10	13TP14	20.0	20.0	10.0	20.0	60.0	80.0	30.0	70.0
PS11	단상비홍	66.7	100.0	66.7	100.0	66.7	100.0	66.7	100.0
PS12	TINY1(소아1호)	25.0	57.1	25.0	46.4	100.0	100.0	100.0	100.0
PS13	TINY2(소아2호)	37.5	57.1	25.0	53.6	75.0	100.0	59.4	96.4
PS14	12TP6(TINY3)	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
PS15	K5(화전8호)	63.6	70.0	61.4	60.0	90.9	100.0	88.6	95.0
PS16	K7	40.0	50.0	30.0	47.5	70.0	100.0	65.0	100.0
PS17	PE2011C66	100.0	100.0	100.0	91.7	100.0	100.0	100.0	100.0
PS18	BPE23	75.0	100.0	43.8	100.0	100.0	100.0	75.0	100.0
PS19	PE2012C120	37.5	57.1	9.4	50.0	25.0	85.7	15.6	75.0
PS20	PE2012C127	71.4	100.0	57.1	96.4	100.0	100.0	100.0	100.0
PS21	PE2012C215	75.0	100.0	53.1	84.4	87.5	100.0	65.6	96.9
PS22	PE2012C216	100.0	100.0	78.1	93.8	100.0	100.0	96.9	100.0
PS23	PE2012C251	100.0	100.0	80.0	100.0	100.0	100.0	95.0	100.0
PS24	PE2012C139	80.0	100.0	60.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
	왕대박	50.0	80.0	45.0	72.5	100.0	100.0	100.0	100.0

a; 병원균을 뿌리 절단 또는 무절단 방법으로 접종하고 7일 후에 발병정도를 조사하였음.

b; 병원균을 뿌리 절단 또는 무절단 방법으로 접종하고 14일 후에 발병정도를 조사하였음.

- c; 풋마름병균의 현탁액(O.D.600 nm=1.0)에 유묘의 뿌리를 절단하지 않고 1시간 동안 침지 후 멸균증류수를 담은 일회용 폿트에 옮겨서 발병을 유도하였음.
- d; 풋마름병균의 현탁액(O.D.600 nm=1.0)에 유묘의 뿌리를 1 cm 정도 절단하여 1시간 동안 침지 후 멸균증류수를 담은 일회용 폿트에 옮겨서 발병을 유도하였음.

## 접종 7일 후



접종 14일 후



Fig. 2-16. 고추 풋마름병에 대한 저항성 검정

- (2) 4차년도 풋마름병에 대한 병리 검정
- (가) 병원균 접종
  - ▶ 병원균 Ralstonia solanacarum, GMI1000
  - ▶ 병원균 접종 밀도 O.D.600 = 1.0
  - ▶ 접종 방법 2 ml 씩 관주 접종 뿌리 상처
  - ▶ 식물체 준비 4엽기 고추 유묘 46 lines (대조구 왕대박)
  - ▶ 발병 온도 30℃, 12시간 광

## (나) 병 조사

병원균을 접종하고 7, 10, 14일째에 발병주율을 조사하였음

# (다) 결과

Table 2-5. 고추 계통에서 풋마름병균을 접종하였을 때 발병율

-J) E	조사 '	일자(접종 후	· 일자)	ᆌᄃ	조사 일	조사 일자(접종 후 일자)		
계통 -	7	10	14	계통 -	7	10	14	
PS003	0	0	0	PS031	0	25	50	
PS005	0	0	6.3	PS036	0	27.5	27.5	
PS004	0	0	10	PS041	0	27.5	33.3	
PS030	0	0	55.6	PS015	0	29.2	65	
PS002	0	7.5	30	PS018	0	32.1	70	
PS043	0	7.5	40	PS019	0	32.5	38.1	
PS014	0	8.3	42.9	PS027	0	32.5	30	
PS021	0	8.3	87.5	PS008	0	37.5	45	
PS010	0	10	20	PS042	0	38.9	40	
PS025	0	10	37.5	PS016	0	42.5	50	
PS033	0	10	40	PS045	0	60	60	
PS024	0	11.1	37.5	왕대박	0	61.1	100	
PS039	0	13.9	14.3	PS012	2.8	19.4	30.6	
PS009	0	13.9	22.2	PS046	5	20	60	
PS029	0	14.3	40	PS011	5	25	50	
PS007	0	14.3	50	PS037	5	25	50	
PS040	0	15	30	PS035	5	47.5	40	
PS020	0	15	82.1	PS034	5.6	10	44.4	
PS044	0	20	77.8	PS013	5.6	35	44.4	
PS032	0	22.2	25	PS028	6.3	8.3	56.3	
PS006	0	22.2	33.3	PS038	7.5	15	40	
PS023	0	25	11.1	PS017	12.5	18.8	50	
PS022	0	25	20	PS001	40.6	59.4	62.5	
PS026	0	25	41.7					

- ① 대조 품종으로 실험한 왕대박의 경우 병원균을 접종하고 10일과 14일 뒤의 발병율은 각각 61.1과 100%이었음. 탄탄대목 역시 접종 14일 후에 62.5%의 발병율을 보였음.
- ② 현재 사용하고 있는 품종 중에서 저항성이 가장 크다고 알려진 무한질주는 10일과 14일 후조사에서 각각 0과 10%의 발병율을 보였음.
- ③ 병원균 접종 14일 후에도 10% 미만의 발병율을 보이는 계통은 무한질주 이외에 PTB(PS-003)와 대세(PS-005)가 있음

## 라. 고추 계통의 field viral tolerance(FVT) 조사

안성 미양면 소재 포장(하나종묘 포장)에서 재배한 100개의 계통에 대한 병조사를 2014년 8월 28일에 실시하였다. 주요 병인 탄저병, 흰가루병에 대한 방제를 위해서 주기적으로 살균제

를 처리하였기 때문에 곰팡이병에 대한 조사는 불가능하였고, 바이러스 증상에 대한 조사만을 실시하였다.

## (1) 결과

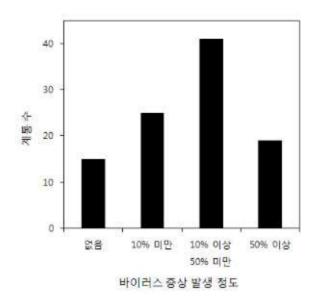


Fig. 2-17. 고추 계통의 포장 바이러스 내성(field viral tolerance, FVT) 조사

- (가) 100개의 고정 계통에 대한 FVT를 조사한 결과 바이러스 증상을 발견할 수 없었던 계통은 15계통, 바이러스 증상이 10% 미만으로 보이는 고추는 25계통, 바이러스 증상이 10% 이상, 50% 미만으로 보이는 계통은 41개, 그리고 50%이상의 고추에서 바이러스 증상 보이는 고추가 19계통이었다.
- (나) 선발한 계통의 병에 대한 저항성을 시기별로 조사할 필요가 있기 때문에 금년 연구기간 하반부에 계속적으로 조사하고자 한다.
- 3. 고추 주요 병원균의 특성 및 포장 병원균 집단 분석

## 가. 주요 병원균의 특성

(1) 탄저병균의 동정 및 특성 분석

Colletotrichum속의 병원균 중에서 고추에서 탄저병을 일으키는 병원균으로는 *C. acutatum, C. coccodes, C. gloeosporioides, C. dematium, C. capsici* 등이 알려져 있다. 본 실험에서는 이들 병원균에서 유전자 마커를 이용하여 계통 분석을 수행하였으며, 각 병원균의 균사 생장속도와 살균제에 대한 반응을 비교하였고, 고추 열매와 유묘에서의 병원성 등을 조사하였다.

(가) Genetic marker를 이용한 병원균의 계통 분석

실험에 사용한 7종의 Colletotrichum spp.를 PDA배지에 접종하여 25℃의 암상태에서 10일간

배양하였다. 배지 표면에서 *Colletotrichum* spp.의 균사를 긁어 수확한 후, 액체질소를 부어 마쇄하였다. CTAB 추출 용액(2.5M Nacl, 0.25M EDTA (pH8.0), 0.5M Tris-Hcl (pH8.0), 1% polyvinylpyrrolidone-10, 1% hexadecyl trimethyl ammonium bromide, 0.5% sodium dodesyl sulfate)을 첨가하여 65℃에서 1시간 처리한 후, 13,000 g로 10분간 원심분리하여 상징액만을 회수하였다. 상징액에 phenol/chloroform/IAA (v:v:v, 25:24:1) 혼합액을 처리하고 13,000 g로 15분간 원심분리하여 침전한 DNA를 회수하였다. 침전된 DNA는 70% ethanol을 첨가하여 13,000 g로 15분간 원심분리하여 세척한 후, 건조시켜 ethanol을 제거하였다. DNA는 멸균증류수로 용해시켜 -20℃에서 보관하며 PCR 실험에 사용하였다.

Colletotrichum spp.에서 ITS 영역 유전자를 증폭하기 위해서 ITS1과 ITS4를 쌍으로 각각 사용하여 PCR을 수행하였다. PCR 조건은 94℃에서 4분간 pre-denaturation을 실시하였고, denaturation, annealing, elongation 단계를 94℃에서 30초, 65℃에서 30초, 72℃에서 1분간을 30회 반복하였다. 마지막 elongation 단계는 72℃에서 7분간 실시하였다. PCR 산물은 2% agarose gel을 이용하여 100V에서 60분간 전기영동하여 확인하였다.

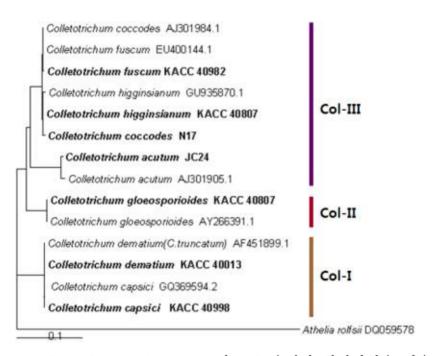


Fig. 3-1. Colletotrichum spp.의 ITS 유전자 염기서열을 이용한 계통분석

Fig. 3-1에서 보는 것과 같이 다양한 기주식물에서 탄저병을 일으키는 *Colletotrichum* spp. 의 ITS 유전자의 염기서열을 이용한 계통 분석 결과, *Colletotrichum* spp.는 3가지 그룹으로 구별할 수 있었다. *C. dematium*과 *C. capsici*를 포함하는 Col-I과 *C. gloeosporioides*를 포함하는 Col-II, 그리고 *C. acutatum*과 *C. coccodes*가 포한된 Col-III로 나눌 수 있었다. 특히 Col-I에 속하는 *C. dematium*과 *C. capsici*는 Col-II와 Col-III에 속하는 다른 *Colletotrichum*과는 분생포자의 형태가 매우 다른 균이었다.

## (나) Colletotrichum spp.의 균사 생장

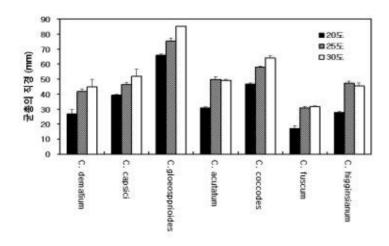


Fig. 3-2. PDA배지에 접종하여 각 온도별로 7일간 배양한 균총의 직경

Fig. 3-2에서 보는 것과 같이 *C. gloeosporioides*의 균사 생장이 가장 빨랐으며, Col-I과 Col-III에 속하는 *C. dematium, C. capsici, C. acutatum, C. coccodes* 등의 균사 생장이 서로 비슷하였다. 고추에서는 분리되지 않는 *C. fuscum*의 균사 생장이 모든 온도에서 가장 느렸다.

## (다) Colletotrichum spp.의 살균제에 대한 반응 조사

Colletotrichum 각 종의 살균제에 대한 반응을 알아보았다. Col-I에 속하던 C. dematium과 C. capsici와 Col-III에 속하는 C. acutatum이 다른 Colletotrichum종보다 보호용 살균제인 propineb와 iminoctadine에 대한  $EC_{50}$ 값이 높았다. Carbendazim과 diethofencarb 혼합제에 대해 서는 C. acutatum의  $EC_{50}$ 값이 다른 종보다 높았다. 이상이 결과를 보면 각 살균제에 대한 각종의 특징이 있지만, 그 특징과 ITS 유전자를 가지고 계통 분석한 결과가 부합하지는 않았다.

Table 3-1. Colletotrichum spp.의 살균제에 대한 반응

	Propineb	Iminoctadine	Hexaconazole	Tebuconazole	Prochloraz	Carbendazim + Diethofencarb
EC <sub>50</sub> 값						
C. dematium	270.01	421.56	0.77	67.12	0.0474	1.89
C. capsici	963.74	79.82	0.12	0.37	0.0266	0.09
C. gloeosporioides	51.06	0.03	0.52	0.49	0.0372	0.14
C. acutatum	360.10	89.97	0.50	0.27	0.0036	5.98
C. coccodes	22.92	5.24	10.51	0.24	0.0307	0.79
C. fuscum	12.85	7.28	0.42	0.16	0.0004	1.07
C. higginsianum	22.15	22.85	1.59	0.44	0.0686	0.94
EC90						
C. dematium	>1000.00	>1000.00	12.52	>1000.00	0.41	268.12
C. capsici	>1000.00	>1000.00	1.18	6.33	0.11	0.50
C. gloeosporioides	>1000.00	10.96	14.01	17.37	1.37	17.26
C. acutatum	>1000.00	>1000.00	6.03	5.05	0.63	>1000.00
C. coccodes	>1000.00	268.99	>1000.00	1.66	2.91	104.74
C. fuscum	333.46	285.06	13.64	1.94	0.53	82.65
C. higginsianum	288.24	>1000.00	59.02	16.74	1.49	150.44

a; PDA배지에 각 살균제를 첨가하고 실험에 사용한 *Colletotrichum* spp.에 대한 균사 생장 억제 효과를 조사하였다.

## (라) 고추 열매와 유묘 상에서 Colletotrichum spp.의 병원성 검정

고추의 열매와 유묘에 각각의 Colletotrichum spp.를 접종한 결과, 고추 열매에는 Colletotrichum acutatum만이 병원성을 나타내었고, 고추 유묘에서는 C. coccodes만이 병원성을 보였다. 고추 탄저병에 대한 저항성 검정을 열매에서 실시하기 위해서는 고추의 오랜 기간 재배해야하기 때문에 많은 시간이 소요되며, 동일한 고추 열매를 수확하기가 어려운 점으로 작용할 수 있다. 따라서 유묘를 사용하여 저항성 검정을 할 수 있다면 짧은 재배 기간 동안에 형태적으로 생리적으로 동일한 개체를 얻을 수 있기 때문에 대량 검정을 효율적으로 진행할 수 있을 것으로 생각하였다. 하지만 Colletotrichum의 각 종이 고추에서 보이는 병원성을 볼 때, 탄저병에 대한 저항성 검정을 C. acutatum이 아닌 C. coccodes를 사용하여 유묘에서 실시하는 것은 타당하지 않다는 결론을 얻었다.

b; EC50값은 각 병원균의 균사 생장을 50% 억제할 수 있는 살균제의 농도를 나타내고 있다.

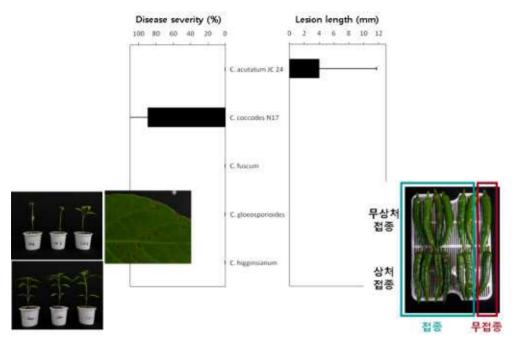


Fig. 3-3. 고추 열매와 유묘에서 Colletotrichum spp.의 병원성

# (2) 인도 고추 탄저병균의 분리, 동정 및 특성 규명

- o 인도의 고추 탄저병균은 Colletotrichum capsici로 동정됨.
- o 몇 가지 고추 품종을 대상으로 조사한 병원성 검정에서 국내에서 분리한 *C. acutatum*에 비하여 *C. capsici*의 병원성이 떨어짐.
- o 일부 C. capsici 균주는 고추의 유묘에 접종하였을 때, 잎에 반점을 형성함.

# (가) 고추 열매에서 병징 관찰 및 균학적 특징 비교

인도에서 채집한 고추 탄저병에 감염된 열매에서 병징은 국내에서 채집한 병든 열매에서 나타는 병징과는 차이가 있었다. 국내 고추 탄저병의 전형적인 병징은 열매 표면이 움푹 파이며 파인 병징 위에 주황색의 포자 덩이가 나타난다. 하지만 인도에서 채집한 병든 열매 표면에서는 움푹 파이는 병징이 나타나지 않았으며, 열매 표면에 흰색의 균사와 균사의 중앙부에는 검정색의 포자가 나타났다. 검정색의 포자 덩이를 긁어 현미경으로 관찰하면 길이가 26.7 ± 2.1 μm, 폭이 4.0 ± 0.5 μm의 초생달 모양의 포자를 확인할 수 있었다. 병징과 관찰한 포자의 형태는 국내의 우점종인 Colletotrichum acutatum과는 많이 달랐으며, 각 온도에서 균사 생장도차이가 있었다. C. acutatum과 인도 탄저병균은 20℃와 25℃에서는 생장 정도가 차이가 없었지만, 30℃에서 균사생장은 C. acutatum의 경우 25℃보다 느린 반면에 인도 탄저병균은 25℃와 비교하였을 때 차이가 없었다.

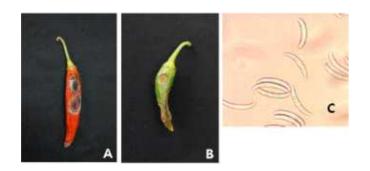


Fig. 3-4. Colletotrichum capsici에 감염된 인도 고추 열매(A)와 C. acutatum에 감염된 한국 고추 열매(B)의 병징 및 인도 고추 열매 표면에서 수거한 C. capsici의 분생포자 모습(C).

Table 3-2. Colletotrichum acutatum과 C. capsici의 포자 형태와 균사 생장 비교

Host Isolates		Country	Conidia size (µm) and shape <sup>a</sup>			Mycelial	Mycelial growth (mm/day) <sup>b</sup>		
	plant	-	Length	Width	Shape	20℃	25℃	30℃	
C. acutatum JC24	pepper	Korea	14.2±1.6	4.5±0.6	fusiform or cylinderical	5.1±0.8	7.9±1.2	5.6±0.8	
C. acutatum 12CS20	pepper	Korea	14.0±1.5	4.1±0.5	fusiform or cylinderical	7.2±0.1	8.6±0.2	5.0±1.0	
C. capsici ThSCc-1	pepper	India	26.7±2.1	4.0±0.5	falcate	6.9±1.2	8.8±0.9	8.0±1.5	
C. capsici I43	pepper	India	25.4±2.4	$3.8 \pm 0.5$	falcate	$7.4\pm0.9$	$8.7 \pm 0.5$	$8.5 \pm 0.4$	

a; 병원균 포자의 크기와 형태는 각각 3반복으로 조사하여 평균을 구하였으며, 각 반복 간에는 100개의 포자를 조사하였다.

b; 균사생장은 PDA 배지에 병원균을 접종하고 각각의 온도에서 배양하며 매일 균총의 직경을 측정함으로써 일일 균사 생장 정도를 조사하였다.

# (나) 병원균 진단을 위한 특이적 primer 제작

국내 고추 열매에서 탄저병을 일으키는 주된 병원균은 *C. acutatum*으로 판명되어 있으며, 일부 지역에서 *C. gloeosporioides*가 분리되고 있다. *C. capsic*i에 의한 탄저병은 인도와 동남 아시아 지역 일부에서 보고되고 있다. 하지만 인도와 동남아시아 지역 국가를 대상으로 수출용 맞춤 고추 품종을 육종하기 위해서는 지역 간의 주 병원균에 대한 검정이 진행되어야 하는 것은 말할 것도 없고, 병원균의 정확한 진단이 병행되어야 한다. 따라서 쉽고 정확하게 병원균을 진단할 수 있는 실용적인 특이적 primer의 개발이 필요하다. 본 실험에서는 *C. acutatum과 C. gloeosporioides*에 대한 primer는 본 실험실에서 개발하여 사용하던 primer를 사용하였고, *C. capsici*에 대해서는 Torres-Calzada 등(2011)의 primer를 사용하여 실험하였다.

Table 3-3. 각 탄저병균을 진단하기 위한 종 특이적 primer의 염기서열

Species of Colletotrichum	Primers	Sequence
C. acutatum	CA1-1	5'-CAG GGG AAG CCT CTC GCG GGC CT-3'
	ITS4-3	5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GCT TAA G-3'
C. gloeosporioides	CgInt ITS4-3	5'-GGC CTC CCG CCT CCG GGC GG-3' 5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GCT TAA G-3'
C. capsici	CcapF CcapR	5'-GTA GGC GTC CCC TAA AAA GG-3' 5'-CCC AAT GCG AGA CGA AAT G-3'

#### (다) 종 특이적 primer를 이용한 PCR

경북 청송의 고추 재배지에서 채집한 병든 고추에서 단포자 분리한 탄저병균 20균주와 인도에서 채집한 병든 고추에서 단포자 분리한 20개의 탄저병 균주에서 DNA를 추출하고, 준비한 종 특이적 primer를 이용하여 PCR을 수행하였다. 그 결과 청송 지역에서 분리한 20개의 탄저병균 중에서 3균주는 *C. gloeosporioides*로 17균주는 *C. acutatum*으로 동정되었다. 하지만 인도 고추에서 분리한 탄저병균은 실험에 사용한 20개의 균주 모두가 *C. capsici*로 동정되었다.

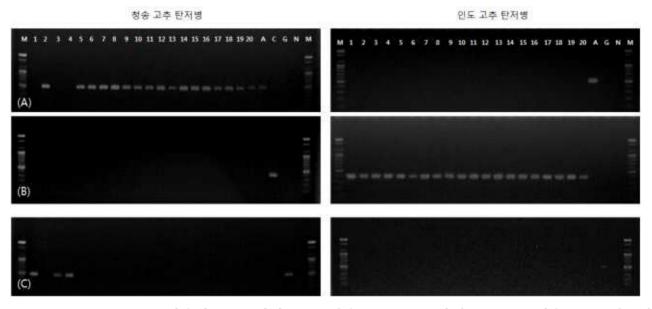


Fig. 3-5. 종 primer를 이용한 종 특이적 PCR 반응. M; DNA 마커, 1 - 20; 청송 또는 인도의 고추 재배지에서 채집한 병든 고추로부터 단포자 분리한 탄저병균, A; Colletotrichum acutatum, C; C. capsici, G; C. gloeosporioides.

Fig. 3-5에서 보는 것과 같이 실험에 사용한 3가지 종의 Colletotrichum 종 특이적인 primer 는 각 종에 대해서 특이적으로 반응하기 때문에 포장에서 병원균의 진단을 위해서 특이적으로 사용할 수 있었다.

# (라) ITS 영역의 염기서열을 이용한 Colletotrichum 속의 계통분류

Fig. 3-6에서 보는 것과 같이 한국과 인도에서 고추 열매에 탄저병을 일으킨 병원균들은 한국에서는 *C. acutatum*과 *C. gloeosporioides*로, 인도에서는 *C. capsici*로 구분되었다.

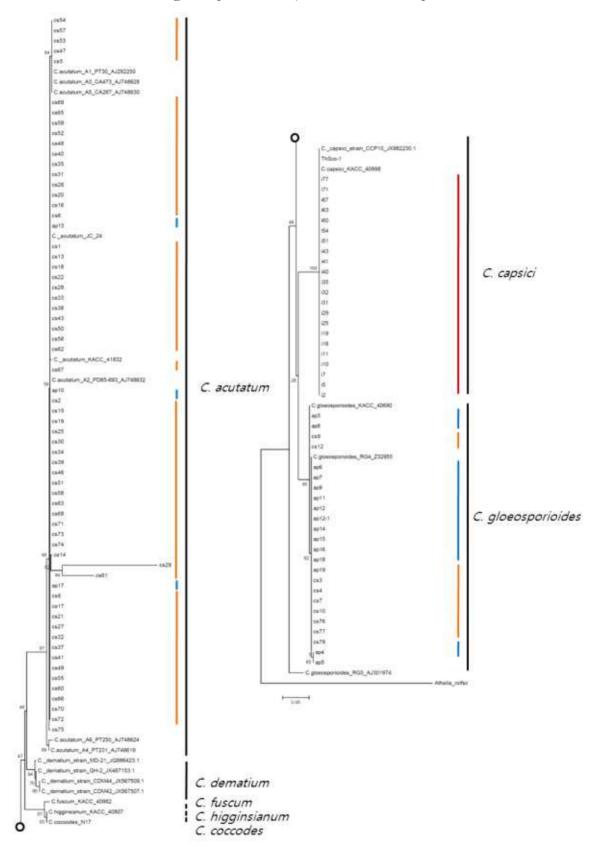


Fig. 3-6. 한국과 인도에서 고추 탄저병을 일으키는 Colletotrichum속 병원균의 ITS 영역 염기서열을 이용한 계통수.

분생포자의 모습이 비슷한 *C. capsici*와 *C. dematium*조차도 서로 다른 종으로 명확하게 분류되고 있다. *C. dematium*은 이미 국내에서도 고추에 탄저병을 일으키는 병원균으로 보고되어 있지만, 본 계통분석을 통해서 보면 다른 종으로 구분되는 것을 알 수 있었다.

#### (마) 병원성 검정

녹광, 청양, 퍼펙토 등의 고추에 대해서 병원성 검정을 실시하였다. 실험에 사용한 병원균은 C. acutatum JC24와 CS20, 그리고 C. capsici ThSCc-1과 I43을 사용하였으며, 각각의 균주는 상처와 무상처 접종 방법을 통하여 병원균을 접종하였다. 병 조사는 병원균을 접종하고 10일후에 상처 접종구에서는 병반의 장경을 측정하여 조사를 하였으며, 무상처 접종구에서는 발병면적율을 조사하였다. Table 3-4에서 보는 것과 같이 C. acutatum 균주는 모두 다 녹과과 청양에서 상처 또는 무상처 접종 모두에서 높은 병원성을 보였다. 하지만 아삭이 고추의 일종인퍼펙토에서는 상처접종에서는 다른 품종과 비슷한 병원성을 보였지만, 무상처 접종에서는 병원성이 매우 낮았다. C. capsici 두 균주는 고추 품종에 따라서 병원성이 다르게 나타났는데, 퍼펙토에 대해서는 상처와 무상처 접종 모두에서 매우 낮은 병원성을 보이거나 혹은 전혀 병원성을 나타내지 못하였다. 녹광과 청양에 대해서는 C. acutatum 균주들과 비교하여 병원성이낮았으나, 푸른 고추인데도 불구하고 모두 발병하였다.

Table 3-4. Colletotrichum acutatum과 C. capsici의 고추 품종에 대한 병원성

Incloton	Inoculation		Pepper cultivar	
Isolates	method	Nokgwang	Cheongyang	Perfecto
C. acutatum JC24	wound <sup>a</sup>	21.3±3.9	22.4±3.0	21.6±1.2
	$non-wound^b$	47.0±3.1	31.6±14.2	$7.0 \pm 3.4$
C. acutatum CS20	wound	$21.3 \pm 2.2$	23.0±0.8	$28.0\pm0.8$
	non-wound	72.6±13.7	65.0±9.2	$4.0 \pm 1.9$
C. capsici ThSCc-1	wound	$17.2 \pm 4.4$	$26.0 \pm 2.6$	$4.4 \pm 2.2$
	non-wound	$25.0 \pm 11.8$	$14.0 \pm 2.9$	$1.8 \pm 0.6$
C. capsici I43	wound	$8.7 \pm 3.9$	$13.0 \pm 3.5$	0.0
	non-wound	76.0±12.9	19.8±15.3	0.0

a; 발병 조사는 병원균을 접종하고 10일 후에 병반의 장경을 측정하였다.

고추 탄저병균으로 보고되어 있는 세 가지의 Colletotrichum속 균주를 선발하여 2 - 3엽기와 4 - 5엽기의 고추 유묘에 접종하고 병원성을 검정하였다. *C. coccodes* N17은 유묘에 병원균을

b; 발병 조사는 병원균을 접종하고 10일 후에 고추 열매 상의 병반 면적율을 조사하였다.

분무 접종하고 5일 후부터 유묘에 전체적으로 병이 발생하였다. *C. acutatum* JC24와 CS20 그리고 *C. capsici* I43 균주는 고추 유묘에서 병 발생이 거의 관찰되지 않았다. 하지만 *C. capsici* I77의 경우는 Fig. 3-7의 아래쪽 사진과 같이 잎에 반점을 형성하였다. *C. capsici*는 이미 121개 기주식물에서 병원성을 보인다고 알려져 있으며, 멕시코에서는 파파야의 잎에 반점을 일으키는 것으로 보고되어 있다. 하지만 동일하게 인도의 병든 고추에서 분리한 *C. capsici* I43은 유묘에서 병장이 거의 형성되지 않은 것을 보아 인도의 탄저병균들의 병원성이 다양하게 나타나는 것으로 추정된다. 계속해서 실험실에서 분리하여 가지고 있는 모든 균주들의 병원성 실험을 통해서 병원성의 다양성 정도를 조사하고자 한다.

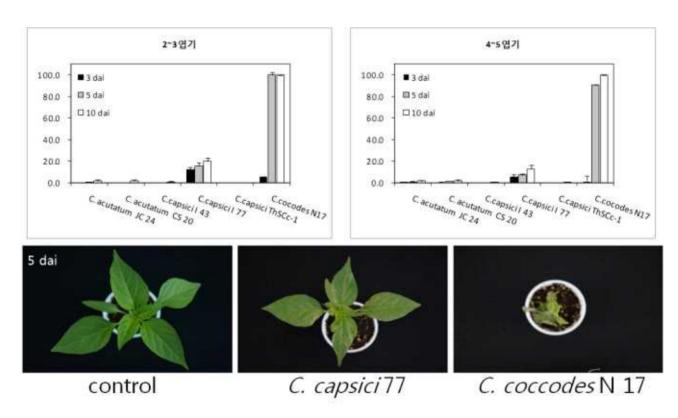


Fig. 3-7. Colletotrichum 속에 속하는 몇 가지 탄저병 균주의 고추 유묘에 대한 병원성. 각 균주의 포자현탁액(포자밀도; 1 x 10<sup>6</sup> 개/ml)을 잎에 분무접종하고 25℃에서 1일간 습실처리하였다. 습실처리한 유묘는 25℃의 항온항습실(습도; 80% 이상)에서 보관하며 발병을 유도하였고, 병원균을 접종하고 3. 5. 10일 후에 발병 정도를 조사하였다.>

#### (바) 고추 열매에서 침입 기구 형성

병원성 검정에 사용하였던, *C. acutatum* JC24와 CS20, 그리고 *C. capsici* I43, I77, ThSCc-1 등 5개 균주를 선발하여 고추 열매 상에서 포자 발아와 부착기 형성을 조사하였고, 최종적으로 병 발생 정도를 병반 면적율로 조사하였다. 실험에 사용한 균주의 포자 현탁액(포자밀도; 1 x 10<sup>6</sup> 개/ml)을 준비하여 녹광 고추 열매에 무상처 분무 접종하고, 20, 25, 30℃에서 5일간 습실처리하면서 포자발아와 부착기 형성을 현미경으로 관찰하였다. 모든 처리는 3반복으로 실험하

였으며, 각 반복당 100개의 포자를 조사하였다.

Fig. 3-8에서 보는 것과 같이 *C. acutatum*의 균주들보다 *C. capsici* 균주들이 열매 상에서 포자 발아와 부착기 형성율이 높았다. 하지만 고추에 대한 병원성은 *C. acutatum*의 균주들이 *C. capsici* 균주들보다 높게 나타났다. 이 결과는 국내 균주보다도 침입에 관련된 기구를 형성하는 능력이 *C. capsici*가 가지고 있지만 기주식물에 대한 선호도는 떨어지기 때문에 병 발생량도 감소하였다고 생각한다. 하지만 병원균의 포장 적응력을 조사하는 여러 가지 요인 중에서 기주식물에서의 포자발아와 부착기 형성 능력이 *C. acutatum*보다 *C. capsici*가 높은 점을 감안한다면 국내 포장에서 *C. capsici*에 대한 모니터링이 진행되어야 할 것으로 생각한다.

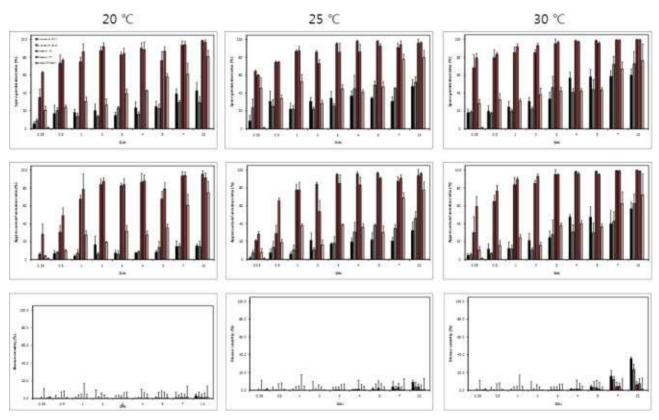


Fig. 3-8. 고추 열매 상에서 *Colletotrichum acutatum*과 *C. capsici*의 포자 발아와 부착기 형성 및 병 발생 정도.

## (2) 괴산 지역에서 분리한 고추 탄저병균의 동정 및 특성 조사

국내의 고추 탄저병균으로는 *C. gloeosporioides, C. acutatum, C. dematium, C. coccodes, Glomerella cingulata* 등이 보고되어 있다. 1992년에 국내의 고추 탄저병균은 *C. gloeosporioides*가 주된 병원균으로 보고되어 알려져 왔으나, 2008년 국내의 주된 탄저병균집단이 *C. acutatum*으로 변화되어 있음이 보고되었다. 하지만 동남아 국가와 인도의 주된 탄저병균으로는 *C. capsici*가 보고되어 있으나, 국내에서는 공식적인 *C. capsici*의 보고가 없는 상태이다. 하지만 국내 괴산에서 분리한 탄저병균에서 *C. capsici*가 분리되어, 병원균에 대한

정확한 동정과 특성을 조사하였다.

- o 괴산에서 분리한 고추 탄저병균은 형태적 특징과 유전자 염기서열 분석을 통하여 *Colletotrichum capsici*로 동정되었음.
- o 녹광 품종을 대상으로 푸른 고추와 붉은 고추에서 조사한 병원성 검정에서 *C. capsici*는 *C. acutatum*에 비하여 병원성이 현저히 떨어짐.
- o C. capsici 균주는 C. acutatum에 비해서 고온에서 균사생장과 포자형성이 우세하였음.

## (가) 고추 열매에서 병징 관찰 및 균학적 특징 비교

괴산에서 분리한 탄저병균을 광학 현미경으로 관찰하면 길이가  $26.7 \pm 2.1$  µm, 폭이  $4.0 \pm 0.5$  µm의 초생달 모양의 포자를 확인할 수 있었다(Fig. 3-9). PDA배지 상에서 자란 균총의 모습과 포자의 형태는 국내의 우점종인 *C. acutatum*과는 많이 달랐다. 각 온도에서 균사 생장도 차이가 있었는데, *C. acutatum*은 25℃에서 생장 정도가 30℃에서 균사생장보다 우세하였던 반면에 국내에서 채집한 *C. capsici* 13CcGS는 25℃와 30℃의 균사생장 정도에 차이가 없었다 (Fig. 3-10).

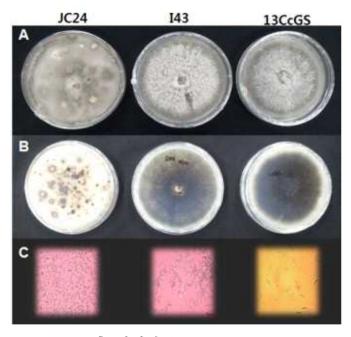


Fig. 3-9. 고추 탄저병균 *Colletotrichum acutatum*과 *C. capsici*의 균학적 특징. 실험에 사용한 탄저병균; *C. acutatum* JC24; 충북 진천에서 분리한 탄저병균, *C. capsici* I43; 인도의 고추에서 분리한 탄저병균, *C. capsici* 13CcGS; 충북 괴산에서 분리한 탄저병균. A; PDA배지에서 자란 균총의 모습, B; PDA배지의 뒷면 모습, C; 각 탄저병균의 포자 모습

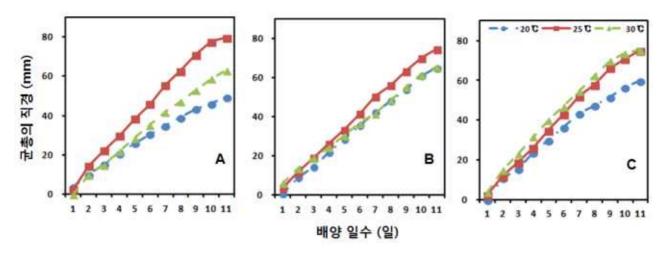


Fig. 3-10. PDA배지에서 각 고추 탄저병균의 균사 생장. A; *C. acutatum* JC24, B; *C. capsici* I43, C; *C. capsici* 13CcGS

세 종류의 균주를 PDA배지에서 접종하고 서로 다른 환경에서 배양하며 형성되는 포자량을 조사하였다. 아래 표에서 보는 것과 같이 *C. acutatu*m JC24는 25℃와 28℃ 모두에서, 25℃의 경우에는 광 조사 여부와 관계없이 비슷한 포자 형성량을 보였다. 하지만 국내에서 분리한 *C. capsici* 13CcGS는 인도에서 분리한 *C. capsici* I43과 같이 25℃보다는 28℃의 고온에서, 암상태보다는 12시간 광을 조사하였을 때 더 많은 포자를 형성하였다(Table 3-5).

Table 3-5. PDA배지에서 형성하는 포자량

		Spore production	
Isolates	25℃	25℃	28℃
	(dark for 24 hrs)	(L/D,12/12  hrs)	(L/D, 12/12 hrs)
C. acutatum JC24	1120	1407	1407
C. capsici I43	33	261	1265
C. capsici 13CcGS	21	253	550

#### (나) 병원균의 동정

종 특이적 primer를 이용한 PCR 방법과 ITS 영역의 염기서열을 이용한 계통분석을 통해서 병원균의 동정을 실시하였다.

## ① gDNA 추출

멸균한 셀로판지를 PDA 배지에 올려놓고 병원균을 접종하여 25℃에서 2주일간 배양한 후, 셀로판지 위에 형성된 균사체를 멸균된 슬라이드 글라스로 긁어 수확하여 -70℃에서 12시간 동안 동결건조를 하였다. 동결 건조한 균사체를 유리봉으로 분쇄한 다음 1.7 ml microtube에 넣고 0.5% SDS-CTAB(2.5 M NaCl, 0.25 M EDTA (pH8.0), 0.5 M Tris-HCl (pH7.5), 1% polyvinylpyrrolidone-10, 1% hexadecyl trimethyl ammonium bromide, 0.5% sodium dodesyl sulfate)를 1.5 ml 첨가한 후, 65℃에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응액은 10분간 12,000 g로 원

심분리를 하였고 상징액을 수거하였다. 상징액에 500 μl의 phenol을 첨가하여 5분간 하얗게 될때까지 교반을 한 후에 12,000 g로 10분간 원심분리를 하였다. 다시 상징액을 수거하여 동일한과정을 한 번 더 반복하였다. 원심분리 후 수거한 상징액에 동량의 chloroform을 첨가하여 완전히 섞이도록 5분간 위 아래로 뒤집어 잘 흔들어준 후, 반응액을 12,000 g로 10분간 원심분리를 하고 상징액을 수거하였다. 수거한 상징액에 동량의 100% isopropanol을 첨가하여 DNA 침전물이 보일 때 까지 위 아래로 뒤집어 잘 흔들어준 후, 반응액을 12,000 g로 10분간 원심분리를 하여 상징액을 제거하였다. 남은 DNA 침전물에 70% ethanol 500 μl를 넣고 1분간 위 아래로 뒤집어 잘 흔들어준 후, 반응액을 12,000 g로 10분간 원심분리를 하여 상징액을 제거하였다. 남은 DNA 침전물에 70% ethanol 500 μl를 넣고 1분간 위 아래로 뒤집어 잘 흔들어준 후, 반응액을 다시 12,000 g로 10분간 원심분리를 하여 상징액을 제거하고, microtube의 뚜껑을 열어 실온에서 충분히 건조시킨 후, 50 μl의 멸균증류수를 부어 용해시켰다. 용해 된 DNA 용액에 1 mg/ml RNase A (Qiagen)를 5 μl 첨가하여 37℃의 30분간 반응시키고, 다시 65℃에서 1시간 반응시킨 다음, -20℃에서 보관하며 실험에 사용하였다. 또한 DNA를 1.5% agarose gel을 사용하여 1X TAE buffer상에서 100 V/cm3의 전원으로 30분간 전기영동 후 UV illuminator에서 λ DNA를 기준으로 농도를 확인하였고, 확인된 DNA는 다시 0.01 μg/ml로 정량하여 실험에 사용하였다.

## ② 종 특이적 primer를 이용한 PCR

Colletotrichum의 중 동정을 위하여 *C. acutatum*에 특이적인 primer인 CA1-1(5'-CAG GGG AAG CCT CTC GCG GGC CT-3')과 reverse primer로 ITS4-3(5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GCT TAA G-3')을 사용하였고, *C. gloeosporioides*에 특이적인 primer인 Cglnt(5'-GGC CTC CCG CCT CCG GGC GG-3')와 reverse primer로 ITS4-3을 사용하였다. *C. capsici*의 특이적 primer로는 CcapF(5'-GTA GGC GTC CCC TAA AAA GG-3')와 CcapR(5'-CCC AAT GCG AGA CGA AAT G-3')를 사용하였다. PCR 반응액(50 μl)은 희석된 gDNA 0.05 μg에 10X KAPA Taq buffer with dye 5 μl, dNTP 5 μl(10 mM), CA1-1 primer(10 μM) 또는 Cglnt primer(10 μM) 3 μl, ITS4-3 primer(10 μM) 3 μl, Taq polymerase(5 units/μl, Kapabiosystems) 0.25 μl, 멸균증류수 28.75 μl를 참가하여, 4분간 94℃에서 pre-denaturation한 후, 30초 동안 94℃에서 denaturation, 30초 동안 65℃에서 annealing, 1분 동안 72℃에서 extension을 30회 반복하였으며 72℃에서 7분 동안 반응을 시킨 후 4℃에서 반응을 종료시켰다. 여기에서 얻어진 PCR 산물들은 TAE buffer(1 M Tris-HCl(pH8.0), 0.25 M EDTA)를 이용하여 제작한 1.5% agarose gel을 사용하여 100 V에서 30분간 전기영동한 후 UV illuminator를 이용하여 band를 확인하였다.

## ③ ITS 영역과 β-tubulin 영역의 염기서열 분석

5.8s-ITS 영역을 증폭하기 위해 White 등(1990)이 사용한 ITS5(5'-GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G-3')와 ITS4(5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3')를 primer로 사용하여 PCR을 수행하였다. 반응액(50 μl)은 희석된 gDNA 0.05 μg에 10X KAPA Taq buffer

with dye 5 µl, dNTP 5 µl(10 mM), ITS5 primer(10 µM) 3 µl, ITS4 primer(10 µM) 3 µl, Taq polymerase(5 units/µl, Kapabiosystems) 0.25 µl, 멸균증류수 28.75 µl를 첨가하여, 4분간 95℃에서 pre-denaturation 수행 후, 30초 동안 94℃에서 denaturation, 1분 동안 55℃에서 annealing, 1분 동안 72℃에서 extension을 30회 반복하였으며 72℃에서 7분 동안 반응을 시킨후 4℃에서 반응을 종료시켰다. 여기에서 얻어진 PCR 산물들은 TAE buffer(1 M Tris-HCl(pH8.0), 0.25 M EDTA)를 이용하여 제작한 1.5% agarose gel을 사용하여 100 V에서 30분간 전기영동 한 후 UV illuminator를 이용하여 band를 확인하였다. 시료들은 Expin™ PCR SV kit(GeneAll, Seoul, South Korea)를 사용하여 정제하고 Macrogen(Daejeon, South Korea)에 DNA 염기서열 해독을 의뢰하였다.

해독한 염기서열은 BioEdit ver. 7.0.9.0의 clustal X(Thomson 등., 1997)을 이용하여 정리한 후 MEGA ver. 5.2.1에서 Maximum Composite Likelihood Estimator(MCLE)의 분석법에 General Time Reversible model로 ITS5-5.8s-ITS4 영역을 이용한 계통수를 작성하고 2,000회의 bootstrap 분석을 통해 신뢰도를 평가하였다. 분류학적 위치를 비교하기 위해 NCBI GenBank의 염기서열을 획득하여 함께 유연 관계도를 작성하였다.

종 특이적 primer를 이용한 PCR의 결과, 각각의 특이적 primer는 각각의 Colletotrichum의 종과 반응하였다. 괴산에서 분리한 Colletotrichum은 *C. capsici* 특이적인 primer와 반응하여 PCR 산물을 나타내었다. 또한 각 균주의 ITS 영역을 증폭하고 얻은 염기서열을 계통분석한 결과, 괴산 지역에서 분리한 균주는 *C. capsici*로 동정되었다.

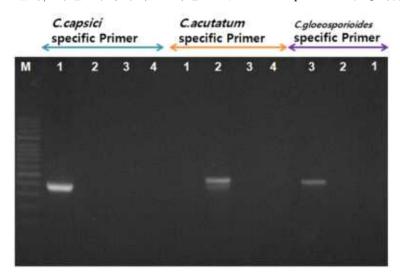


Fig. 3-11. 종 특이적 primer를 이용한 PCR 결과. 1; Colletotrichum capsici 13CcGS, 2; C. acutatum JC24, 3; C. gloeosporioides KACC40690

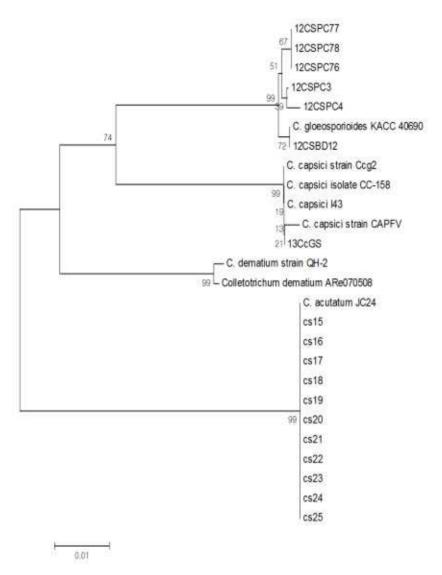


Fig. 3-12. rDNA-ITS 영역 염기서열을 이용하여 작성한 계통수를 이용한 Colletotrichum 종의 동정

# (다) 병원성 검정

실험에 사용한 모든 병원균을 '녹광' 품종의 푸른 고추와 붉은 고추 열매에 접종하여 병원성 검정을 실시하였다. PDA배지에 배양한 병원균의 균총에 멸균 증류수를 붓고 포자를 수확한 후, 현탁액을 3,500 g로 10분간 2회 원심분리하여 포자를 세척하였다. 포자현탁액의 포자 밀도는  $1 \times 10^6$  개/ml로 조정하여 실험에 사용하였다. 병원균 접종을 위해 준비한 고추(품종; 녹광)열매는 1% NaClO 용액을 사용하여 1분간 표면을 세척하고 증류수로 씻은 후 실험실 내에서 풍건하여 사용하였다. 병원균을 고추 열매에 접종할 때, 열매 표면에 인위적으로 상처를 내고 상처 위에 병원균을 접종한 상처 접종과 상처를 내지 않고서 병원균의 포자현탁액을 분무 접종한 무상처 접종 방법으로 병원균을 접종하였다. 상처 접종을 위해서 열매 표면에 혈당측정계 (ACCU-CHEK, softclix®)를 사용하여 상처를 내고, 상처 위에 준비한 병원균의 포자 현탁액을 5 山씩 점적하여 접종하였다. 무상처 접종은 상처를 내지 않은 열매 위에 준비한 병원균의 포

자 현탁액을 고르게 분무하여 접종하였다. 접종한 고추 열매는 플라스틱 용기(30 × 20 × 10 cm, W×L×H)에 넣고, 5일간 포화습도가 유지되는 상태로 25℃에서 보관 한 다음, 꺼내어 뚜껑을 열고, 상온에서 7일간 보관하며 병 발생 정도를 조사를 하였다. 플라스틱 용기 내부의 습도를 포화 상태로 유지하기 위해서 플라스틱 상자 바닥에 키친 타올을 깔고 100 ml의 증류수를 부어 주었다. 병 발생 정도를 조사하기 위해서 상처 접종의 경우에는 접종 부위에서 발생한 탄저병 병반의 장경을 측정하였고, 무상처 접종을 하기 위해서 분무 접종한 열매에서는 각 열매당 병반면적률을 조사하였다. 모든 처리는 3반복으로 실험하였다.

Table 3-6 Colletotrichum 균주의 병원성 검정

· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	상처 접종 (mm)			무상처 접종 (%)		
신 구	푸른고추	붉은고추		푸른고추	붉은고추	
C. acutatum JC24	28.0	12.8		50.0	46.7	
C. capsici 143	0.7	1.9		0.0	0.0	
C. capsici 13CcGS	3.3	1.7		0.0	6.7	

#### (3) 세균병의 병원균 동정

병원균 동정을 위해서 fliC 단편의 유전자 유래 RsolfliC primer를 사용하는 것이 효율적이었음

RsolfliC primer로 진단한 경우, 병징 발현이 없는 인공접종한 고추에서도 R. solanacearum 이 검출되었음

#### (가) 병원균 분리

충남 태안군, 전북 임실군, 경북 영양과 청송군에서 시들음 증상을 보이는 고추 식물체를 채집하여 병원균을 분리하였다. 채집한 고추의 지제부와 줄기 부분을 두께 1 mm 정도로 잘라서 1 mL의 멸균수에 넣고 30분간 진탕한 후, 세균이 누출된 현탁액을 TTC 배지(casamino acid; 1 g, peptone; 10 g, glucose; 5 g, 1% 2,3,5-triphenyltetrazolium; 5 ml, agar; 15 g, distilled water; 1 L)에 도말하여 단콜로니 분리를 통하여 병원균을 분리하였다. *R. solanacearum*은 TTC 배지 상에서 붉은 콜로니 색을 띄기 때문에 구별하기가 용이하였다(Fig. 3-13).



Fig. 3-13. TTC 배지에서 생장한 Ralstonia solanacearum의 모습

## (나) 분리한 병원균의 동정

R. solanacearum의 마커 유전자를 사용하여 유전자 수준에서의 동정을 실시하였다. Table 3-7과 같은 primer를 사용하여 병원균의 동정을 실시하였다.

Table 3-7. 실험에 사용한 Ralstonia solanacearum 특이적 유전자의 primer

	primer	sequencing	product size
1 <sup>st</sup> Primer	RS-F	5'-TTA CAC ATG CAA GTC GAA CG -3'	401bp
	RS-R	5'-TCT TTC CGG ACA AAA GTG CT-3'	
2 <sup>nd</sup> Primer	RS-ne-F	5'- ACG ACC TGA GGG TGA AAG TG -3'	131 bp
	RS-ne-R	5'-GCT GAT CGT CCT CTC AGA CC -3'	

위 primer를 이용한 PCR의 조건은 다음과 같았다. 94℃에서 10분간 pre-denaturation을 실시하였고, denaturation, annealing, elongation 단계를 94℃에서 30초, 58℃에서 30초, 72℃에서 30초간을 30회 반복하였다. 마지막 elongation 단계는 72℃에서 15분간 실시하였다. PCR 산물은 2% agarose gel을 이용하여 100 V에서 60분간 전기영동하여 확인하였다.

병원균의 동정이 정확하였는 지를 비교하기 위해서 fliC 단편 유전자 유래 RsolfliC primer를 이용하여 분리한 균주들의 진단을 시도하였다. primer의 염기서열과 PCR 조건은 아래와 같았다.

primer

Rsol fliC forward: 5'-GAA CGC CAA CGG TGC GAA CT-3'
Rsol fliC Reverse: 5'-GGC GGC CTT CAG GGA GGT C-3'

PCR reaction

 $94^{\circ}\text{C}$ ,  $5' \rightarrow (94^{\circ}\text{C}, 30'' \rightarrow 63^{\circ}\text{C}, 2' \rightarrow 72^{\circ}\text{C}, 1') \times 25 \rightarrow 72^{\circ}\text{C}, 10' \rightarrow 4^{\circ}\text{C}, \infty$ 

위와 같은 방법으로 병든 고추 식물체로부터 Ralstonia solanacearum을 분리하였다. 선택배지인 TTC 배지에서 분리된 균주수는 충남 태안군이 5균주, 전북 임실군이 17균주, 경북 영양군이 10균주, 경북 청송군에서 4균주가 분리되었다. 좀 더 정확한 동정을 위해서 R. solanacearum의 특이적 primer(식물병연구 11권)를 사용하여 PCR을 실시하였다. 그 결과 RS primer로 진단하였을 경우에는 Fig. 3-14에서 보는 것과 같이 총 9개의 균주가 R. solanacearum로 동정되었다. 하지만 RsolfliC primer로 진단하였을 경우에는 총 14개의 균주가 R. solanacearum로 동정되었다(Fig. 3-15). R. solanacearum는 유전적 다양성이 매우 높은 병원세균으로 알려져 있다. 추후 좀 더 다양한 primer를 사용하여 더 효율적인 진단 방법을 비교해 보아야 할 것 같다.

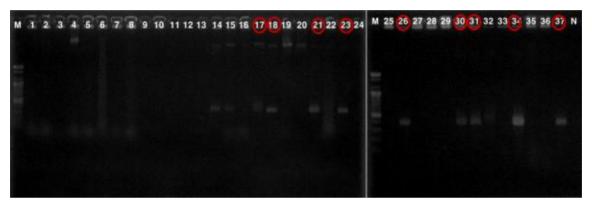


Fig. 3-14. 시들음 증상을 보이는 병든 고추에서 분리한 균주들의 RS primer를 이용한 PCR 진단. 붉은 원의 균주가 PCR 양성 반응이 나온 균주임. 실험에 사용한 37개의 균주는 시들음 증상을 보이는 병든 고추를 TTC 배지에 치상한 후 나온 붉은 색의 콜로니를 형성하는 세균임.

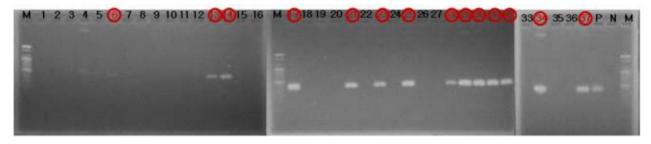


Fig. 3-15. 시들음 증상을 보이는 병든 고추에서 분리한 균주들의 RsolfliC primer를 이용한 PCR 진단. 붉은 원의 균주가 PCR 양성 반응이 나온 균주임. 실험에 사용한 37개의 균주는 시들음 증상을 보이는 병든 고추를 TTC 배지에 치상한 후 나온 붉은 색의 콜로니를 형성하는 세균임.

#### (다) 시들음 증상을 보이는 고추 식물체에서 풋마름병균 검출

고추 품종의 저항성 정도를 비교하기 위해서 실험에 사용하였던, 탄탄대목, 독야청청, 예쁜독 야청청을 사용하여 고추 유묘에서 병원균의 존재 유무를 알아보았다. 세 가지 품종의 고추 유 묘에서 병난 줄기와 뿌리, 병원균을 접종하였으나, 병장이 보이지 않았던 줄기와 뿌리, 병원균을 접종하지 않은 건전 식물의 줄기와 뿌리를 채취하고, RsolfliC primer로 진단하였다. Fig. 3-16에서 보는 것과 같이 R. solanacearum GMI1000에서는 R. solanacearum 특이적인 band가나타났다. 하지만 negative control과 병원균을 접종하지 않았던 건전식물의 조직에서는 병원균특이적인 band를 확인할 수 없었다. 물론 육안으로도 병장이 뚜렷하였던 병든 조직에서는 줄기와 뿌리 모두에서 병원균 특이적인 band를 확인하였다. 특이했던 것은 병원균을 접종하였지만, 육안으로 건전한 상태를 유지하던 고추 유묘의 줄기와 뿌리에서 조차 병원균 특이적인 band가 관찰되었다. 식물체 조직으로부터 DNA를 분리할 때 식물체 표면을 충분히 세척하고 조직을 잘라서, PCR 검정에 사용하였기 때문에 검출된 병원 세균이 식물체의 겉표면에 존재한다고 보기보다는 식물체 물관부에 존재할 것으로 생각하고, 본 실험에서 저항성 반응을 보이는품종도 발병 조건의 변화에 따라서는 충분히 풋마름병이 발생할 가능성이 있음을 시사하는 결과라고 생각한다.

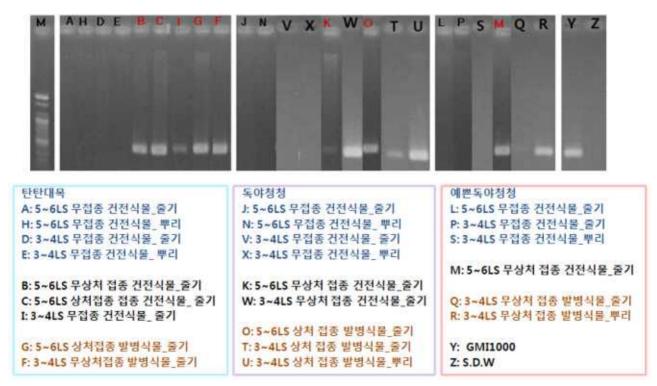


Fig. 3-16. 병원세균 Ralstonia solanacearum GMI1000을 접종한 고추 유묘에서 병원세균의 PCR 검출. PCR에 사용한 고추 조직은 병원세균을 접종하고 육안 검정하였을 때 병든 고추와 건전한 고추의 줄기와 뿌리 조직을 사용하였음. 조직을 확보하기 전에 고추 표면을 최대한 세척한 후 사용하였음. 대조구로 병원균을 접종하지 않은 건전한 고추의 조직을 확보하여 사용하였음.

### 나. 포장 병원균 집단 분석

(1) 한국과 중국의 고추 바이러스 집단 변화

한국과 중국의 고추 포장에서 발생한 바이러스 증상을 보이는 고추로부터 RNA를 분리하여 바이러스의 동정을 실시하였다. RNA의 분리 방법은 아래와 같이 실시하였다.

### (가) 바이러스의 total RNA 분리

- ① 1.5 ml tube에 100 mg의 고추 조직과 1 ml의 RiboExTM 넣어 주었음
- ② 상온에서 5분간 반응 시켰음
- ③ 200 µl chloroform을 넣고 15초 동안 각반한 후, 2분간 상온에서 보관하였음.
- ④ 상온에서 반응시킨 용액을 4℃에서 12,000 g로 15분간 원심분리한 후 상징액을 새로운 1.5 ml tube로 옮김
  - ⑤ RBI buffer 1 ml 넣어주고 잘 혼합하였음
- ⑥ 상징액 700 μl를 mini spin column으로 옮긴 후, 상온에서 30초 동안 10,000 g로 2회 원 심분리하였음
- ⑦ 침전물을 SWI buffer 500  $\mu$ l에 현탁한 후, 다시 상온에서 10,000~g로 30초 동안 원심분 리하였음
- - ⑨ 다시 10,000 g로 상온에서 1분간 원심분리하여 남아있는 wash buffer를 제거하였음
- ⑩ Column의 아래 부분을 새로운 1.5 ml tube로 교체하고, 50 ~ 100 μl RNase-free water 를 column의 막 가운데에 첨가하였음.
  - ① 상온에서 1분간 10,000 g로 원심분리하여 RNA를 분리하였음

### (나) 한국과 중국의 바이러스 비교

한국에서는 바이러스 증상을 보이는 85개의 샘플을 청송 지역에서 채집하여 분석하였으며, 중국에서는 시설 재배지에서 바이러스 증상을 보이는 샘플을 채집하여 분석하였다.



Fig. 3-17. 한국과 중국에서 분리한 바이러스 증상을 보이는 고추에서 바이러스 동정

Fig. 3-17에서 보는 것과 같이 중국 시설재배지보다 한국의 노지에서 바이러스 증상을 보이는 고추에 감염된 바이러스의 종류가 훨씬 다양하였다. 한국의 고추 샘플에서는 6가지의 바이러스가 검출된 반면에 중국의 고추 샘플에서는 3종의 바이러스가 검출되었다. 주된 바이러스의 양상도 차이가 있었다. 한국의 샘플에서는 CMV와 BBWV2가 각각 92.9%와 72.9%를 차지하고 있는 반면에 중국에서는 PMMoV와 CMV가 각각 100%와 70%를 차지하였다. 반면 BBWV2는 23.3%를 차지하여 한국처럼 높은 비율로 검출되지는 않았지만, 곤충에 의해서 전파되는 CMV가 70% 검출되고 있는 것을 보아 계속적으로 증가할 것으로 예상하였다. 한국과 크게 다른 점은 토양이나 종자를 통해서 전반되는 PMMoV가 한국에서는 3%의 샘플에서 검출된 반면에 중국의 샘플에서는 모든 샘플에서 검출되었다. 이는 중국 시설재배지에서는 토양과 종자의 관리가 바이러스병 방제에 절대적으로 필요한 것임을 보여주고 있는 결과라고 생각한다. 하지만 CMV의 검출율도 70%에 달하고 있기 때문에 진딧물의 방제에 주의를 기울여야 할 것으로 생각한다.

### (2) 경북 지역의 바이러스 발생 양상

### (가) 바이러스 동정

고추 포장에서 바이러스 증상을 보이는 고추 잎을 채집하여 RNA를 분리하고, reverse transcription PCR를 통하여 바이러스를 동정하였다. RNA의 분리 방법은 아래와 같이 하였다.

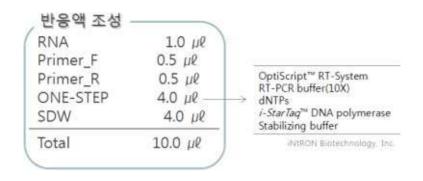
## ① 바이러스의 total RNA 분리

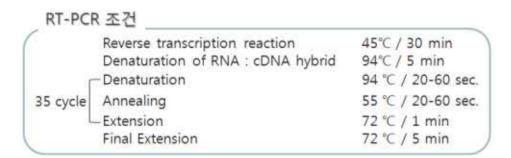
- · 1.5 ml tube에 100 mg의 고추 조직과 1 ml의 RiboEx™ 넣어 주었음
- 상온에서 5분간 반응 시켰음
- · 200 ul chloroform을 넣고 15초 동안 각반한 후, 2분간 상온에서 보관하였음.
- · 상온에서 반응시킨 용액을 4℃에서 12,000 g로 15분간 원심분리한 후 상징액을 새로운 1.5 ml tube로 옮김
- ·RBI buffer 1 ml 넣어주고 잘 혼합하였음
- · 상징액 700 μl를 mini spin column으로 옮긴 후, 상온에서 30초 동안 10,000 g로 2회 원 심분리하였음
- · 침전물을 SWI buffer 500  $\mu$ l에 현탁한 후, 다시 상온에서 10,000~g로 30초 동안 원심분리 하였음
- · 상징액을 버리고 RNW buffer 500  $\mu$ l를 첨가한 후, 상온에서 10,000~g로 30초간 원심분리하였음
  - ·다시 10,000 g로 상온에서 1분간 원심분리하여 남아있는 wash buffer를 제거하였음
  - · Column의 아래 부분을 새로운 1.5 ml tube로 교체하고, 50 ~ 100 µl RNase-free water 를 column의 막 가운데에 첨가하였음.
  - · 상온에서 1분간 10,000 g로 원심분리하여 RNA를 분리하였음

### ② RT-PCR

Table 3-8. 실험에 사용한 primer

Primer	Sequence	Product(bp)
Tylev - 1f Tylev -1-2r	5'- GTC AAC CAA TCA AAT TGC ATC CTC AA -3' 5'- GTC CAA AAT CCA TTG GGC -3'	712
TMGM-C2 TMGM-N1	5'- GTC CAC TAG CAG TCT CAA AGC CTG C -3' 5'- AAT CTA AGT GAT GAC GAG TCT ATC G -3'	501
_	5'- AAT GGC ACG TCC CCA AA -3' 5'- TCT CTC TCA TGC CAA CTA CGA -3'	705
CMV 3F CMV 3R	5'- TGG TCG TCC AAC TAT TAA CCA C -3' 5'- TAC TGA TAA ACC AGT ACC GGT GA -3'	320
PMMo-C30 PMMo-N50	5'- GCT CCG AGA AGT GCC GAC A -3' 5'- ATT GGG CAG AAC TCG GAG TCA TCG G -3'	310
TSWV 6F TSWV 6R	5'- GAG ATT CTC AGA ATT CCC AGT -3' 5'- AGA GCA ATC GTG TCA ATT TTA TTC -3'	459
BBWV2 1-1u BBWV2 1R	5'- AAA CAA ACA GCT TTC GTT CCG -3' 5'- GCC ATC TCA TTG GCA TGG A -3'	350
PY-C50(-) PY-N10(+)	5'- AAA CTT TGT ATC TAG CAC TGA TCA -3' 5'- ATT TCA ATC CTT TTT CAT TCG TAG A -3'	588





# (나) 결과

① 바이러스에 감염된 고추의 아래 그림에서 보는 것과 같이 증상은 매우 다양하였다. 하나의 증상만을 보여주는 것이 아니라 여러 가지의 증상이 복합적으로 나타나기도 하였다.



Fig. 3-18. 포장에서 분리한 바이러스에 감염된 고추의 증상. A; 경북 청송군 진보면에서 채집한 모자이크 증상을 보이는 고추 잎(샘플 번호; 14V-1030), B; 청송읍에서 채집한 녹화된 엽맥 증상을 보이는 고추 잎(샘플 번호; 14V-911), C; 청송읍에서 채집한 모자이크, 로제트화, 잎말이 증상을 보이는 고추 잎(샘플 번호; 14V-903), D; 파천면에서 채집한 모자이크와 괴저 증상을 보이는 고추 잎(샘플 번호; 14V-321).

② 샘플 14V-321와 같이 모자이크와 괴저 증상을 보이는 고추에서는 RT-PCR을 통해서 CMV가 단독감염한 것으로 나타났다. 하지만 많은 샘플들은 한 종류의 바이러스만이 아니라서로 다른 바이러스가 복합적으로 감염된 것으로 나타났다. 샘플 14V-903, 샘플 14V-911, 샘플 14V-1030은 바이러스 검출을 한 결과, 14V-903과 14V-911에서 CMV, BBWV2, PepMoV,

14V-1030에서 CMV와 PMMOV가 각각 검출되었다.

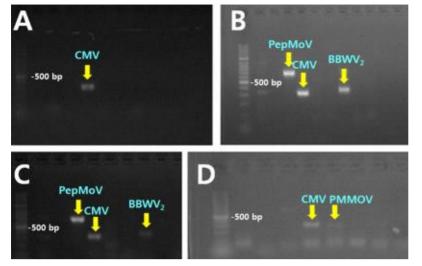


Fig. 3-19. RT-PCR을 통해서 증폭한 바이러스 산물. A; 14V-321, B; 14V-903, C; 14V-911, D; 14V-1030 (윗 그 림에서 바이러스에 감염된 고추 샘플 번호와 동일함)

③ 채집한 바이러스 증상을 보이는 고추에서 바이러스를 검출한 결과, 80% 이상되는 샘플에서 여러 가지 바이러스가 복합 감염한 것으로 나타났다. 생육 초기에는 복합 감염된 샘플이 바이러스 감염 증상을 보이는 샘플의 70% 정도 였으나, 시간이 지나면서 90%에 가깝게 그 비율이증가하였다. 반면 재배 초기에 30% 정도로 나타났던 단독 감염된 샘플의 비율을 재배 후기로 가면서 감소하였다.

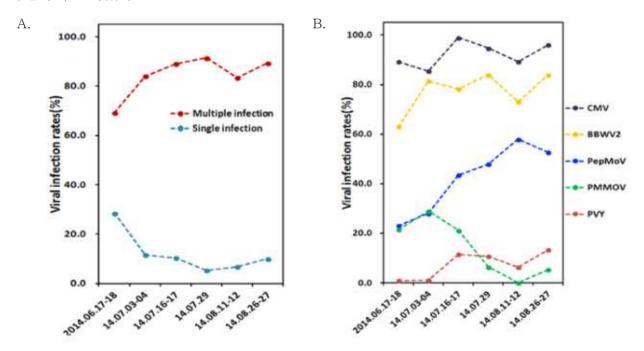


Fig. 3-20. A; 바이러스 감염 증상을 보이는 고추에서 바이러스의 단독 또는 복합 감염 비율의 변화, B; 고추 생육기에 따라 검출되는 바이러스 종류의 변화.

④ 채집한 고추 샘플에서는 CMV가 채집한 시기와 관계없이 모든 시기에서 80% 이상의 검출 빈도로, 가장 많이 검출되었으며, 다음으로는 BBWV2가 많이 검출되었다. 진딧물에 의해서 전 반되는 것으로 알려진 이 두 종류의 바이러스는 전 생육기에 걸쳐서 가장 많이 검출되는 바이러스이며, 생육 후기에는 두 종류 모두 80% 이상의 검출율을 보여, 고추에 가장 많이 감염되는 바이러스임을 알 수 있었다. 고추 생육 초기에 20% 내외로 검출되던 PepMoV는 생육 후기가 되면서 50% 이상으로 검출되는 빈도가 증가하는 것으로 나타났다. 반면 생육 초기 20 - 30% 사이의 검출율을 보이던 PMMOV는 8월 이후 생육 후기에는 10% 미만으로 검출율이 감소하였다. 특이한 점은 거의 검출되지 않던 PVY가 7월 중순 이후인 생육 중기부터 10% 이상으로 검출율이 증가하였다.

## (3) 하늘초 고추에 발생하는 탄저병의 병원균 집단 분석

### (가) 병원균의 분리

그림에서와 같이 하늘초의 이병과를 채집하고, 병반 상에 형성된 포자를 단포자 분리하여 실험에 사용하였다.



Fig. 3-21. 탄저병균에 감염된 하늘초와 일반형 고추 열매

### (나) gDNA의 분리

멸균한 셀로판지를 PDA 배지에 올려놓고 병원균을 접종하여 25℃에서 2주일간 배양한 후, 셀로판지를 균사체와 같이 수확하여 -70℃에서 12시간 동안 동결건조를 하였다. 동결 건조한 균사체를 1.7 ml microtube에 넣고 유리봉으로 분쇄한 다음 0.5% SDS-CTAB(2.5 M NaCl, 0.25 M EDTA (pH8.0), 0.5 M Tris-HCl (pH7.5), 1% polyvinylpyrrolidone-10, 1% hexadecyl

trimethyl ammonium bromide, 0.5% sodium dodesyl sulfate)를 1.5 ml씩 첨가하여 65℃에서 1시간동안 반응시켰다. 반응액은 12,000 g로 10분간 원심분리하고 상징액을 수거하였다. 상징액에 500 μl의 phenol을 처리하고 하얗게 될 때까지 교반한 후에 다시 12,000 g로 10분간 원심분리하였다. 다시 상징액을 수거하여 동일한 과정을 한 번 더 반복하였다. 원심분리 후 수거한 상징액에 동량의 chloroform을 처리하여 완전히 섞이도록 5분 동안 뒤섞은 후, 반응액을 12,000 g로 10분간 원심분리하고 상징액을 수거하였다. 원심분리 후 수거한 상징액은 동량의 100%의 isopropanol을 첨가하여 DNA 침전물이 보일 때까지 뒤섞은 후, 반응액을 다시 12,000 g로 10분간 원심분리하여 상징액을 제거하였다. DNA 침전물에 70% ethanol을 500 μl를 넣고 1분간 잘 섞은 후, 반응액을 12,000 g로 10분간 원심분리하여 상징액을 제거하였다. 상징액을 제거한 침전물은 실온에서 충분히 건조시키고 50 μl의 멸균증류수를 첨가하여 용해시켰다. 용해된 반응액에 1 mg/ml RNase A (Qiagen)를 5 μl를 넣은 후 37℃에서 30분간 반응시키고, 다시 65℃에서 1시간 반응 시킨 다음, -20℃에서 보관하며 실험에 사용하였다. 또한 분리한 DNA는 1.5% agarose gel을 사용하여 1X TAE buffer상에서 100 V/cm³의 전원으로 30분간 전기영동하고, UV illuminator에서 λ DNA를 기준으로 DNA의 농도를 확인하였으며, 확인된 DNA는 다시 0.01 μg/ml으로 정량하여 실험에 사용하였다.

## (다) 5.8s-ITS 영역의 증폭

5.8s-ITS 영역을 증폭하기 위해 White 등(1990)이 사용한 ITS5(5'-GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G-3')와 ITS4(5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3')를 사용하여 PCR을 수행하였다. PCR 반응액(50 μl)에는 희석된 gDNA 50 ng에 10X KAPA Taq buffer with dye 5 μl, dNTP 5 μl(10 mM), ITS5 primer(10 μM) 3 μl, ITS4 primer(10 μM) 3 μl, Taq polymerase(5 units/μl, Kapabiosystems) 0.25 μl, 멸균증류수 28.75 μl를 첨가하여, 4분간 95℃에서 pre-denaturation 수행 후, 30초 동안 94℃에서 denaturation, 1분 동안 55℃에서 annealing, 1분 동안 72℃에서 extension을 30회 반복하였으며 72℃에서 7분 동안 반응을 시킨후 4℃에서 반응을 종료시켰다. 여기에서 얻어진 PCR 산물들은 TAE buffer(1 M Tris-HCl(pH8.0), 0.25 M EDTA)를 이용하여 제작한 1.5% agarose gel을 사용하여 100 V에서 30분간 전기영동 한 후 UV illuminator를 이용하여 band를 확인하였다. 시료들은 Expin™ PCR SV kit(GeneAll, Seoul, South Korea)를 사용하여 정제하고 Macrogen(Daejeon, South Korea)에 DNA 염기서열 해독을 의뢰하였다.

### (라) RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA)-PCR

청송에서 사과와 고추에서 분리한 94개의 탄저병 균주와 경북대학교에서 분양 받은 34균주, 실험실에서 대표 균주로 사용하는 *C. acutatum* JC24에 대해서 RAPD-PCR을 수행하였다. 사용된 primer는 Xiao 등(2004)이 사용한 OPC-5(5'-GAT GAC CGC C-3')와 OPC-2(5'-GAG AGG CGT C-3')를 사용하였고, 반응액(30 山)에는 gDNA 30 ng에 10X KAPA Tag buffer with dye 3 μl, dNTP 3 μl(10 mM), primer 3 μl, Taq polymerase(5 units/μl, Kapabiosystems) 0.12 μl, 100X BSA(10 mg/ml) 0.3 μl, 멸균증류수 17.58 μl를 넣어 실시하였다. PCR 반응조건은 5분간 94℃에서 pre-denaturation 수행 후, 94℃에서 30초간 denaturation, 35℃에서 1분간 annealing, 72℃에서 2분간의 extension을 38회 반복한 후 72℃에서 7분 동안반응시키는 것으로 설정하였다.

### (마) RAPD 결과

하늘초의 경우 단화방, 복화방, 탄두형 하늘초에서 분리한 탄저병균은 ITS 영역의 DNA 염기서열을 분석한 결과, 모두 Colletotrichum acutatum으로 동정되었다.

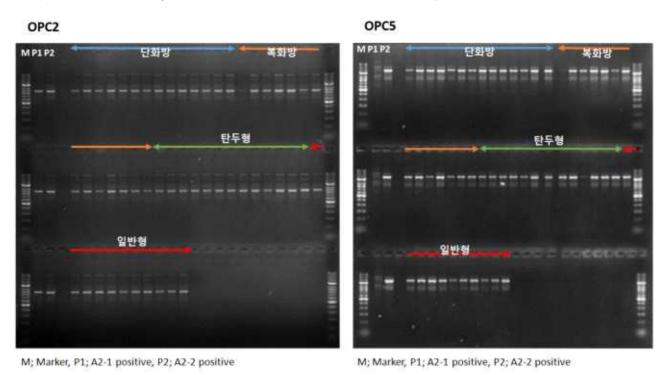


Fig. 3-22. OPC2와 OPC5 primer를 사용하여 진행한 RAPD 결과

분리한 병원균에서 추출한 DNA를 OPC2와 OPC5를 이용하여 RAPD한 결과, 하늘초와 일반형 고추 열매에서 분리한 탄저병균은 모두 A2-2 group에 속하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 하늘초 역시 일반형 고추와 같이 국내에서 탄저병을 일으키는 주요 원인균은 *C. acutatum*임을 보여주고 있으며, 병 저항성 검정을 위해서도 기존의 방법에서 충분히 검정할수 있음을 보여 주고 있다.

### (4) 청양 지역 고추와 구기자에서 분리한 탄저병균의 동정 및 균학적 특징

구기자 탄저병은 Colletotrichum gloeosporioides와 C. dematium 등이 일으키는 것으로 보고되어 있으며, C. gloeosporioides가 C. dematium보다 발생빈도가 많고 병원성도 강하다 (Park와 Kim, 1988). 하지만 Lee(2003)는 탄저병 병반에서 분리한 Colletotrichum spp. 균주의

형태적, 배양적, 분자생물학적 특징을 조사하여 동정한 결과, 우점종을 *C. acutatum*으로 발표하였다. 구기자와 마찬가지로 가지과에 속하는 고추 역시 탄저병에 대한 피해가 심한 작물로서, 탄저병을 일으키는 병원균으로 *C. gloeosporioides, C. dematium, C. coccodes, C. acutatum, Glomerella cingulata* 등 5종이 보고되어 있다(Park와 Kim, 1992). 이러한 고추 탄저병균 역시 과거에 우점종이었던 *C. gloeosporioides*가 포장에서의 우점종이 *C. acutatum*으로 변화하였다 (Kim et al., 2008).

Colletotrichum속은 주로 열대, 아열대와 온대 지역에 발생하며 곡류, 두류, 채소류, 과수 등 넓은 기주에 침입하여 탄저병을 일으키며(Freeman et al., 1996), 균학적인 형태와 기주 식물에 대한 병원성(Freeman과 Shabi, 1998), 살균제에 대한 반응(Adaskaveg와 Hartin, 1997) 등이 속 내에서도 다양하게 보고되어 있다. 고추와 구기자와 같이 한 종류의 기주 식물을 서로 다른 Colletotrichum의 종이 침입하기도 하고(Adaskaveg와 Hartin, 1997; Zulfiqar et al., 1996), *C. acutatum*과 같이 아보카도, 아몬드, 딸기, 사과, 복숭아 등 여러 기주를 침입하기도 한다 (Adaskaveg와 Hartin, 1997; Bernstein et al., 1995; Freeman과 Shabi, 1998). 뿐만 아니라 Colletotrichum은 종에 따라 침투이행성 살균제인 benomyl에 대한 감수성이 달라서 *C. gloeosporioides*은 감수성, *C. acutatum*은 비감수성의 반응을 보인다(Adaskaveg와 Hartin, 1997). Chung 등(2006)도 *C. acutatum*은 benomyl과 diethofencarb에 대한 반응에서도 모두 비감수성을 보인다고 하였고, *C. gloeosporioides*는 두 살균제에 대하여 역상관 교차 저항성을 보여 탄저병균 종간에 살균제에 대한 반응의 차이가 있다고 보고하였다.

탄저병균인 Colletotrichum spp.의 전통적 동정 방법에서는 분생포자의 형태와 크기, 강모의유무, 균핵 형성의 유무, 부착기의 형태, 기주범위 등을 가지고 탄저병균을 동정하였다 (Freeman et al., 1998). 그러나 형태적 특성을 가지고서 병원균을 동정하고자 할 때, 그 특징이서로 중첩되거나, 배양하는 배지 등에 따라 같은 균주라도 형성되는 분생포자의 크기와 모양이다를 경우도 있고, 강모의 형성 역시 일관성이 없는 경우가 발생하기 때문에 최근에는 탄저병균이 갖는 다양한 형태·생리적 특징을 조사하거나, 다양한 분자생물학적인 방법을 이용해서유전자 수준에서 탄저병균을 정확하게 동정하고 있다(Adaskaveg와 Hartin, 1997).

따라서 본 논문에서는 고추와 구기자를 근접한 포장에서 재배하고 있는 충남 청양 지역에서 고추와 구기자에서 탄저병균을 분리하여, 정확한 동정을 하기 위해서 병원균의 ITS 영역의 염기서열을 분석하여 동정함과 동시에, 분생포자의 형태, 온도별 균사생장 정도 등을 조사하였다.

### (가) 재료 및 방법

### ① 병원균의 채집 및 분리

2011년 8월 충청남도 청양군의 고추와 구기자 포장에서 탄저병의 전형적인 병반을 보이는 고추와 구기자의 열매를 채집하였다. 병반 부위에서 탄저병균 포자가 형성된 발병조직을 적당한 크기(5 × 5 mm)로 잘라 멸균수 1 ml가 담긴 microtube에 넣고 잘 흔들었다. 살균증류수를 사용하여 1/10로 희석을 한 다음, 포자현탁액에  $300~\mu g/ml$ 의 streptomycin을 첨가하였다. 희석

한 포자현탁액에서  $100~\mu$ \ell의 현탁액을 취하여 PDA(potato dextrose agar, Difco) 배지에 고르 게 접종하고, 25  $^{\circ}$  C에서 1일간 배양하였다. 형성된 단균총을 분리하여  $300~\mu$ g/mℓ의 streptomycin 이 첨가된 PDA 배지에 접종하고 25  $^{\circ}$  C에서 배양하였다.

분리한 균주들은 새로운 PDA 배지에 옮겨서 25℃ 항온기에서 10일간 배양하고 균총의 균사선단부에서 지름 5 ㎜의 균사 조각을 떼어내어 CryotubeTM vial(직경; 12 ㎜, 높이; 48 ㎜, Nunc co. Ltd)에 10조각씩 넣고 1 ㎖의 멸균수를 넣어 상온에서 보관하였다. 또한 장기간 보관을 위해서 5% DMSO(dimetyl sulfoxide)가 첨가된 멸균수에 넣어 -70℃에 보관하였다.

## ② 유전자 수준에서 병원균의 동정

PDA 배지에 병원균을 접종하여 25℃에서 1주일간 배양한 후 균사체를 수확하여 12시간 동안 동결건조를 하였다. 동결건조한 시료는 유리봉으로 분쇄한 다음 0.5% SDS-CTAB(2.5 M NaCl, 0.25 M EDTA(pH8.0), 0.5 M Tris-HCl(pH7.5), 1% polyvinylpyrrolidone-10, 1% hexadecyl trimethyl ammonium bromide, 0.5% sodium dodesyl sulfate)를 1.5 ㎡씩 첨가하고, 65℃에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응액은 12,000 g에서 10분간 원심분리를 하였고 상징액을 수거하였다. 상징액에 500 №의 phenol을 처리하고 하얗게 될 때까지 잘 흔들어준 후에 12,000 g에서 10분간 원심분리를 하였다. 다시 상징액을 수거하여 500 №의 phenol을 처리하고 동일한 과정을 1회 더 반복하였다. 원심분리 후 수거한 상징액에 동량의 chloroform을 처리한 후, 12,000 g에서 원심분리를 하였다. 상징액은 4℃에서 70% ethanol을 500 №를 넣고 침전물을 세척하였으며 ethanol을 충분히 건조시킨 후, 50 №의 살균증류수에 용해시켜 -20℃에서 보관하며 실험에 사용하였다. 또한 DNA를 1.5% agarose gel을 사용하여 1X TAE buffer상에서 100 V/cm의 전원으로 30분간 전기영동 후 UV illuminator에서 λ DNA를 기준으로 농도를 확인하였고, 확인된 DNA는 다시 0.01 ₩g/㎡으로 정량하여 실험에 사용하였다.

ITS 영역의 DNA를 증폭하기 위해 primer ITS5(5'-GGA AGT AAA AGT CGT AAC AA-3')와 ITS4(5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3')를 사용하여 PCR을 수행하였다. 반응조건은 희석된 DNA 5 세에 10X KAPA Taq buffer(dye 5 세), dNTP 5 세, ITS5 primer(10 pmoles/세) 3 세, ITS4 primer(10 pmoles/세) 3 세, Taq polymerase(5 units/세, KAPABIOSYSTEMS) 0.25 세, 살균증류수 28.75 세를 참가하여, 4분간 95℃에서 pre-denaturation 과정을 수행 후, 30초 동안 94℃에서 denaturation, 1분 동안 55℃에서 annealing, 1분 동안 72℃에서 extension 과정을 30회 반복하였으며, 최종적으로 72℃에서 7분 동안 반응을 시킨 후 반응을 종료시켰다. 여기에서 얻어진 PCR 산물들은 TAE buffer(1 M Tris-HCl(pH8.0), 0.25 M EDTA)를 이용하여 제작한 1.5% agarose gel을 사용하여 100 V에서 30분간 전기영동 한 후 UV illuminator를 이용하여 band를 확인하였다. 시료들은 PCR purification kit(GeneAll, Seoul, South Korea)를 사용하여 정제하고 SolGent(Daejeon, South Korea)에 DNA 염기서열 해독을 의뢰하였다.

해독한 염기서열은 PHYDIT ver. 3.1의 clustal X와 chromosome(Mccacthy, 1998)을 이용하

여 정리한 후 Neighbor-Joining(NJ)의 방법(Kumar 등, 2004)으로 ITS1-5.8s-ITS2 영역을 이용하여 계통수를 작성하고 1,000회의 bootstrap 분석을 통해 신뢰도를 평가하였다. 실험균주의 분류학적 위치를 비교하기 위해 NCBI GenBank의 염기서열을 획득하여 함께 유연 관계도를 작성하였다.

#### ③ 탄저병균의 형태적 특징 조사

본 실험에서 분리한 47균주들을 25℃의 PDA 배지에서 10일간 배양한 후, 배양된 균주들의 균총의 색깔을 조사하였다. 분생포자의 크기 및 형태를 관찰하기 위해 고추와 구기자에서 분리한 균주를 각각 3균주씩 선발하고, 각각의 분생포자를 수확하였다. 선발한 탄저병균은 25℃의 PDA 배지에서 10일간 배양한 후 살균증류수를 붓고 균총의 표면을 멸균한 붓으로 긁어서 분생포자를 수확하였다. 분생포자 현탁액은 4겹의 거즈를 사용하여 여과해서 균사조각을 제거한 후, 광학현미경으로 관찰하며 포자의 형태와 크기를 조사하였다. 각 균주 당 100개의 분생포자의 크기와 모양을 3반복으로 조사하였다.

## ④ 배양온도에 따른 균사 생장 조사

온도에 따른 균사의 생장속도를 보기 위해 고추와 구기자에서 분리한 Colletotrichum속에 속하는 47개 균주를 PDA 배지에 접종하고, 25℃와 30℃에서 배양하면서 2일마다 균총의 직경을 측정하였다.

# (나) 결과 및 고찰

### ① ITS영역 염기서열 분석을 통한 병원균의 종 동정

ITS5와 ITS4 primer로 사용하여 ITS 영역을 증폭한 결과, 550 bp의 PCR 산물을 얻을 수 있었다. 증폭한 PCR산물을 클로닝하여 얻은 DNA 염기 서열을 분석하여 병원균의 동정을 수행하였다. 청양 지역의 고추와 구기자에서 총 47개의 Colletotrichum속 균주를 분리하였다. 청양군 운곡면의 구기자시험장에서 채집한 16개의 균주 중에서 10CMCT1-1과 10CMCT1-2를 제외한 나머지 균주는 *C. gloeosporioides* RG4 Z32955와 같이 그룹을 형성하며 DNA 염기서열이 98%이상 일치하여 *C. gloeosporioides*로 동정하였다(Fig. 3-23). 구기자시험장의 병든 구기자 열매에서 분리한 10CMCT1-1과 10CMCT1-2, 운곡면에서 분리한 10CMCU1-1, 10CMCU1-2, 10CMCU1-3, 10CMCU2-1, 10CMCU2-2, 10CMCU2-3 등 6균주, 청양읍에서 분리한 10CMCC2와 10CMCC3, 청남면에서 분리한 10CMCCN1과 10CMCCN2, 비봉면에서 분리한 10CMCB1, 10CMCB2, CMCB3는 *C. acutatum*의 A1 그룹에 속하는 *C. acutatum* PT30 AJ292250와 동일한 그룹을 형성하였다. 또한 청남면에서 분리한 10CMCCN3과 비봉면에서 분리한 10CMCB4부터 10CMCB9까지 6 균주는 A3 그룹에 속하는 *C. acutatum* CA473 AJ748628과 동일한 그룹을 형성하며, DNA 염기서열은 99.8% 이상의 상동성을 보였다. 청양군 4개 지역에서 채집한 병든 고추에서 분리한 11개의 균주들은 모두 A2 그룹에 속하는 *C. acutatum* 

PD85-694 Aj748632와 같은 그룹을 형성하였으며, 상동성은 99.8%이었다. Sreenivasaprasad와 Talhinhas(2005)는 *C. acutatum*을 형태적인 특징과 유전적 다양성을 조사하여 A1부터 A8까지 8개의 그룹으로 분류하였다. 본 실험에서 분리하여 동정한 고추는 Sreenivasaprasad와 Talhinhas(2005)의 분류와 동일하게 A2 그룹으로 분류되었으나, 동일하게 가지과 작물에 속하는 구기자에서 분리한 탄저병균은 A1과 A3 그룹으로 나누어졌다. 이러한 결과는 구기자에서 분리한 탄저병균의 집단이 고추 탄저병균 집단보다 유전적으로 다양하다는 것을 보여준다.

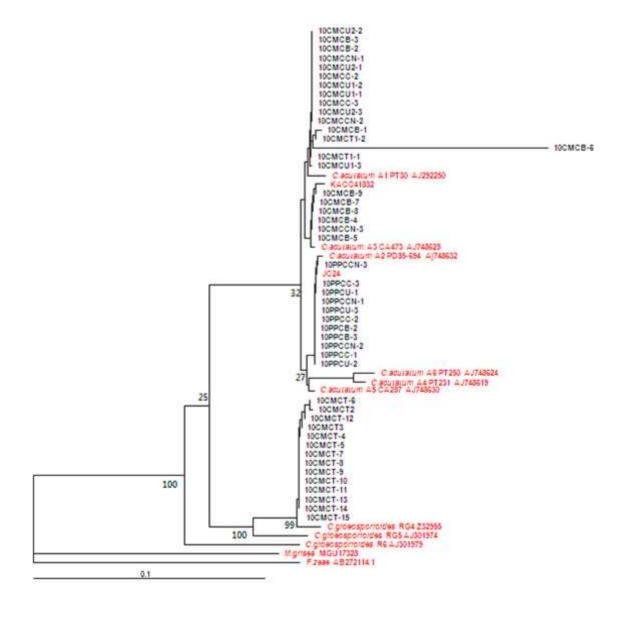


Fig. 3-23. Phylogenetic tree based on the sequence of a 550 bp PCR product of 5.8s-ITS region. Numbers on nodes are bootstrap values, the frequency (%) with which a cluster appeared in a bootstrap test of 1000 runs.

② 탄저병균 균총의 색깔과 분생포자의 형태 및 크기 고추에서 분리한 *C. acutatum*의 균주들은 대부분 회백색을 띠고 있는 반면에, 구기자에서

분리한 *C. acutatum*과 *C. gloeosporioides*의 균주들은 균총의 중앙 부위는 주황색을 띄지만, 주변은 주황색과 회백색이 혼재되어 있는 모습이었다(Table 3-9과 Fig. 3-24). 탄저병균의 균총의 색깔이 병원균의 동정을 위한 기준으로 사용될 수는 없으나, 고추와 구기자 탄저병균의 균총의 색깔이 다르다는 것은 두 병원균 집단에 다양한 차이가 있음을 보여주고 있다. 고추에서 분리된 *C. acutatum* KACC40690은 PDA 배지에서 배양할 경우 흰색을 나타내기도 하고, 사과에서 분리한 *C. acutatum*의 경우에는 주황색, 흰색 또는 회색을 띄는 경우도 있는데(Kim et al., 2008), 구기자 탄저병균의 경우는 중앙 부위의 주황색이 균사 선단으로 가면서 회백색과 혼합되는 양상을 보여주고 있었다.

Table 3-9. Isolates used in this study, host plnats, and colony colour of *Colletotrichum* spp. obtained from infected fruits of pepper and boxthorn cultivated in Cheongyang

Host	Pathogen	Isolation	Colony colour <sup>a</sup>
Boxthorn	Colletotrichum gleosporioides	10CMCT2	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCT3	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCT-4	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCT-5	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCT-6	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCT-7	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCT-8	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCT-9	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCT-10	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCT-11	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCT-12	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCT-13	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCT-14	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCT-15	orange in the center, grayish white in the periphery
	Colletotrichum acutatum	10CMCU1-1	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCU1-2	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCU1-3	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCC-2	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCC-3	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCU2-1	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCU2-2	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCU2-3	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCCN-1	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCCN-2	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCCN-3	grayish white
		10CMCB-1	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCB-2	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCB-3	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCB-4	grayish white
		10CMCB-5	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCB-6	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCB-7	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCB-8	orange in the center, grayish white in the periphery
		10CMCB-9	orange in the center, grayish white in the periphery
pepper	Colletotrichum acutatum	10PPCC-1	grayish white
		10PPCC-2	grayish white
		10PPCC-3	grayish white
		10PPCU-1	grayish white
		10PPCU-2	grayish white
		10PPCU-3	grayish white
		10PPCCN-1	grayish white
		10PPCCN-2	grayish white
		10PPCCN-3	grayish white
		10PPCB-2	grayish white
		10PPCB-3	grayish white

a; Colony color of Colletotrichum isolates was investigated 10 days after incubation on PDA at  $25\,^{\circ}$ C.

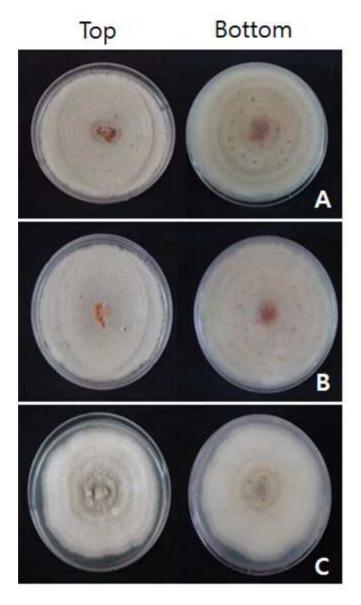


Fig. 3-24. Morphological characteristics of colonies of *C. gloeosporioides* 10CMCT-9 (A) and *C. acutatum* 10CMCU2-3 (B) isolated from boxthorn, and *C. acutatum* 10PPCU-2 (C) isolated from pepper, which were inoculated on PDA and incubated at 25°C for 10 days under the dark condition.

구기자에서 분리한 36균주 중에서 *C. acutatum* 10CMCU1-1, 10CMCC2, 10CMCU2-3 등 3 개 균주와, 11개의 고추 균주 중에서 *C. acutatum* 10PPCU1, 10PPCU2, 10PPCCN1 등 3개 균주를 선발하여 분생포자의 크기와 형태를 조사하였다(Table 3-10). 구기자에서 분리한 병원균의 분생포자 장경과 단경은 (10.09 ± 2.03) × (4.10 ± 0.71) µm이었으며, 고추에서 분리한 병원균의 장경과 단경은 (10.34 ± 1.84) × (4.56 ± 0.71) µm로 두 그룹 간에 유의성 있는 차이는 없었다. 분생포자의 모양을 조사한 결과, 고추에서 분리한 균주와 구기자에서 분리한 균주 간에 차이가 있었다. 고추에서 분리한 *C. acutatum* 균주는 Kim 등(2008)의 보고와 같이 양끝이 등

근 원통형 포자의 비율이 평균 95%인 반면, 구기자에서 분리한 *C. acutatum* 균주는 원통형인 포자의 비율이 75%로 고추에 비하여 낮았다. 구기자 탄저병균의 경우 방추형 포자의 비율은 15.3%, 한 쪽만이 뾰족한 형태를 갖는 포자는 9.7%로, 고추 균주보다 높은 비율로 나타났다.

아몬드에서 분리한 *C. acutatum*의 분생포자 형태를 관찰하면 최소한 한 쪽 끝이 뾰족한 형태로 나타난다(Adaskaveg와 Forster, 2000). 하지만 고추에서 분리한 *C. acutatum*은 대부분의 포자의 끝이 둥근 원통형이었으며, 구기자 탄저병균은 75%가 고추 탄저병균과 같은 원통형태이었다. 결국 포자의 끝이 뾰족하다는 *C. acutatum*의 형태적 특징이 탄저병균 동정의 기준이되기에는 여러 가지 예외적인 균주들의 출현으로 불가능할 것으로 생각한다.

Table 3-10. Size and shape of conidia of *Colletotrichun acutatum* isolated from infected fruits of pepper and boxthorn in Cheongyang

Llosts	Isolates	Size of	Shape of conidia			
Hosts	isolates	Length (µm)	Width (µm)	fusiform	mixed	cylindrical
Boxthorn	10CMCU1-1	10.66 ± 2.37	4.13 ± 0.79	17ª	13	70
	10CMCC-2	9.69 ± 2.12	$3.90 \pm 0.76$	17	6	77
	10CMCU2-3	9.93 ± 1.60	4.28 ± 0.58	12	10	78
Pepper	10PPCU-1	10.19 ± 1.53	4.37 ± 0.73	3	3	94
	10PPCU-2	10.60 ± 2.26	$4.75 \pm 0.72$	0	2	98
	10PPCCN-1	10.23 ± 1.72	4.57 ± 0.69	1	6	93

a; Figures indicated the composition ratio (%) of each type of conidial shape.

## ③ 탄저병균의 온도별 균사 생장

본 실험에서 사용한 47개의 모든 균주는 Colletotrichum의 종에 관계없이 30℃보다는 25℃에서 균사 생장이 더 빨랐다. 고추와 구기자 탄저병균을 25℃의 PDA 배지에서 배양하며 일일 균사생장률을 조사한 결과, 고추에서 분리한 *C. acutatum* 균주의 일일 평균 균사생장률은 7.1 mm/일이었으며, 구기자에서 분리한 *C. acutatum* 균주들의 일일 평균 균사생장율은 6.9 mm/일, *C. gloeosporioides* 균주의 경우에는 6.6 mm/일로 나타나, 분리된 기주와 각 병원균의 종간에 균사생장률에는 차이가 없었다(Table 3-11). 30℃에서 세 그룹에 속하는 탄저병균의 일일 평균 균사생장률은 2.6 mm/일로 동일하였다. 구기자에서 분리한 *C. gloeosporioides* 10CMCU1-1 등 4균주와 *C. acutatum* CMCT3 등 4균주를 선발하여 고추에서 분리한 *C. gloeosporioides* 

b; Conidia were harvested from each colony of *C. acutatum* isolates, which were incubated on PDA at 25°C for 10 days. One hundred of conidia of each isolate were observed under a light microscope, to investigate size and shape.

KACC40690과 20, 25, 30℃의 PDA 배지에서 일일 평균 균사생장률을 조사하였다. Fig. 3-25에서 보는 것과 같이 고추에서 분리한 *C. gloeosporioides* KACC40690은 청양의 구기자에서 분리한 *C. acutatum*와 *C. gloeosporioides*의 8균주보다 모든 배양 온도에서 빠르게 생장하였다. 구기자에서 분리한 *C. acutatum*와 *C. gloeosporioides*의 총 8개의 균주 모두는 25℃에서 균사가 가장 빠르게 생장하였으며, 배양 온도가 20℃로 낮아지거나, 30℃로 높아질 경우에는 생장이 늦어지는 반면, 고추에서 분리한 *C. gloeosporioides* KACC40690은 25℃보다도 30℃에서일일 평균 균사생장율이 11.98 ± 1.53 mm/일로 가장 빨랐다.

Table 3-11. Mycelial growth rate of *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* isolated from infected fruits of pepper and boxthorn in Cheongyang

Hosts	Pathogens	Number of isolates used in	Range of growth rate (mm/day)		Mean of growth rate (mm/day)	
		this study	25℃	30℃	25℃	30℃
Boxthorn	C. gleosporioides	22	3.7 ~ 7.3	1.7 ~ 3.1	6.6	2.6
	C. acutatum	14	4.0 ~ 7.9	1.6 ~ 3.4	6.9	2.6
Pepper	C. acutatum	11	4.9 ~ 8.4	2.1 ~ 3.5	7.1	2.6

a; Each isolate was incubated on PDA at the indicated temperature under a dark condition.

b; Colony diameter of each isolate was investigated everyday, to calculate the mycelial growth rate per one day.

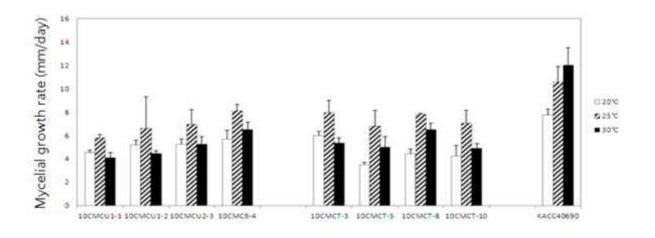


Fig. 3-25. Mycelial growth of *Colletotrichum gloeosporioides* (10CMCT-3, 10CMCT-5, 10CMCT-8 and 10CMCT-10) and *C. acutatum* (10CMCU1-1, 10CMCU1-2, 10CMCU2-3 and 10CMCB-4) at each temperature, such as 20, 25, and 30°C. Except for KACC40690 which was isolated from infected pepper fruit and identified as *C. gloeosporioides*, all isolates were obtained from boxthorn collected in Cheongyang. For calculating mycelial growth rate per one day, everyday was investigated the colony diameter of each isolate on PDA at the indicated temperature.

Adaskaveg와 Forster(2000)는 *C. acutatum*과 *C. gloeosporioides*를 비교할 때, *C. acutatum* 의 생장 적온은 25℃인데, 적온에서 배양할 경우도 일일 균사 생장이 10 mm이하로 느린 생장을 보인다고 하였다. 반면에 *C. gloeosporioides*는 30℃가 적온이며, 적온에서 배양할 경우 일일 균사생장이 10 mm가 넘게 빠르게 생장하였다. 하지만 구기자에서 분리한 탄저병균 중 *C. gloeosporioides*는 *C. acutatum*과 동일하게 생장적온이 25℃로, 고추에서 분리된 *C. gloeosporioides* KACC40690와는 다른 양상을 보이고 있었다. 이는 구기자에서 탄저병을 일으키는 *C. gloeosporioides*의 생리적 변화가 일어났을 가능성을 보여주는 결과라고 생각한다. 이러한 생리적 변화는 병원균의 포장 다양성으로 이어질 수 있기 때문에 다양한 형질의 조사가 필요할 것으로 본다.

### (5) 청송 지역 고추와 사과 탄저병균의 균학적, 유전학적 특성 비교

가지과에 속하는 고추는 인류가 고추를 먹기 시작한 기원전 9000년 전부터 야생종을 개량해 사용해 온 고추는 매운 맛과 향, 크기에 따라 그 가짓수가 무려 200여 가지나 된다(전, 2011). 현재 국내에서 재배되는 주요 종은 *Capsicum annuum*으로 2012년 재배면적이 50,454 ha에 달해 전체 조미채소의 약 43%를 차지하며, 생산량이 전체 조미채소에 13%에 달하는 경제적 가치가 큰 작물이다(통계청, 2012). 이러한 대단위 노지 재배를 하는 고추는 병해충의 피해가 커서, 전체 생산량의 30~50%가 병해충에 의해서 감소된다. 국내에서 고추에 발생하는 병해로는 34종이 보고가 되어 있으며(한국식물병명목록, 2009), 그 중 고추 탄저병은 고추 열매에 병이 발생하기 때문에 직접적인 수량 감소에 큰 영향을 주고 있다.

사과(Malus pumila)는 국내에서 100여 년 전부터 재배하기 시작한 것으로 추정되고 있으며 (이, 1981), 2013년 현재 재배 면적이 30,449 ha로 전체 노지 과수 재배면적의 약 20%를 차지하는 가장 넓은 면적에서 재배되는 과수이다(통계청, 2013). 국내에 재배되는 품종은 선홍, 쓰가루, 홍로, 감홍, 양광, 후지, 추광, 홍옥, 홍월, 화홍 등이 있으며 이중 홍옥과 후지가 혼식되어 많이 재배되고 있다. 국내 사과나무에 발생하는 병해는 1928년에 32종으로 기록되었다가 1986년에 41종(한국식물병해충잡초명감, 1986)으로 증가되었고 최근 2009년 한국식물병명록에따르면 49종이 보고되어 있다. 그 중 사과에 발생하는 탄저병은 갈색무늬병 및 겹무늬썩음병과함께 사과 생산량에 직접적으로 영향을 미치는 중요한 병이다.

현재 탄저병균은 유성세대는 Glomerella, 무성세대가 Colletotrichum 속으로 세계적으로 가장파괴적인 식물 병원균 중 하나이며(Bailey 등, 1992), 세계에서 경제적인 부분으로 여덟 번째로 중요하게 여겨지는 식물병원균이다(Dean 등, 2012). 주로 온대, 아열대 그리고 열대지역에서 병을 일으키는 주요병원균으로, 곡류, 두류, 채소류, 과수 등 넓은 기주에 탄저병을 일으키며 감염 결과 수량, 품질에 심각한 손실을 초래한다(Holliday 등, 1980; Naqvi 등, 1996; Pletz, 2003). 현재 국내에는 Colletotrichum gloeosporioides, Colletotrichum dematium, Colletotrichum coccodes, Colletotrichum acutatum, Glomerella cingulata 등 5종의 고추 탄저병균이 알려져 있으며(박과 김, 1992), 포장에서 방제는 주로 살균제를 사용하는 화학적 방법이 사용되고 있으나, 최근 경종적 방제 방법으로 비 가림 재배와 저항성 품종의 개발이 시도되고 있다. 국내 사과 탄저병균으로는 C. gloeosporioides, C. acutatum, G. cingulata 등 3종이 보고되어 있으며, 사과 품종에 따라 발병률이 크게 차이를 보인다(이, 1994; 유, 2008).

C. acutatum은 세계적으로 다양한 기주를 침해하는 식물병원균으로 잘 알려져 있으며 (Sutton, 1992), 유럽의 경우 딸기, 체리 등에서 경제적으로 큰 피해를 입히는 중요한 병원균으로 유럽에서는 검역 미생물(EPPO)로 등록되어 관리되고 있다(de los Santos Gracía de Paredes 등, 2002; Børve 등, 2008). C. acutatum은 1891년 미국에서 포도 열매에 병을 일으키는 병원균으로 처음 보고되었으며, Simmonds(1965)는 포도와 파파야 등의 열매를 가해하는 병원균이라고 발표하였다. 이전까지는 포도, 사과 등 과수에서 발생하는 탄저병균은 주로 C. gloeosporioides라고 알려져 있었으나, 근래에 들어 북유럽에서 우점 탄저병균이 C. gloeosporioides를 대신하여 C. acutatum으로 보고되고 있다(Vinnere 등, 2002). 미국 서부의 경우에도 사과에 부패를 일으키는 주된 병원균으로 C. acutatum이 많이 보고되고 있다(Shi 등, 1996). 국내에서도 고추를 침입하여 가해하는 주된 병원균이 C. gloeosporioides라고 알려져 있었으나(Kim 등, 1986; Park 등, 1989; 박과 김, 1992), 최근에는 우점한 병원균이 C. gloeosporioides가 아닌 C. acutatum이라고 수정되어 보고되었다(김와 김, 2004; 강 등, 2005; 김 등, 2008). 2006년도에 분리한 고추 탄저병균의 98.8%가, 최근 2010년에는 100%가 C. acutatum으로 동정되었다(김, 2013).

사과 탄저병의 경우 1856년 Berkeley에 의해서 영국에서 최초로 보고가 되었다. 국내는 뚝섬과 수원 등지에서 발생이 처음 보고한 후 점차 증가하였고, 1960년대까지 사과 탄저병에 의한 과실의 손실이 전국적으로 컸다. 1986년부터 1988년까지 이(1994)는 사과 탄저병균을 형태적인 분류로 Glomerella cingulata가 65.4%, C. gloeosporioides가 26.9%이었고, C. acutatum은 7.7%로 가장 낮게 분리 되었다고 보고했고, 근래에 들어 2002년 전(2010)은 benzimidazole계살균제를 이용한 종 동정법으로 동정하여 C. gloeosporioides가 57.8%, C. acutatum은 42.2%로, 2006년 C. acutatum 비율은 17.7%, 2008년 비율은 18.7%로 C. acutatum 비율이 낮아지고 C. gloeosporioides 분리 비율이 높아 졌음을 보고하였다. 이러한 C. acutatum 비율의 감소는 2003년경부터 국내 농가에서 benzimidazole계 살균제의 사용을 자제했기 때문이라고 추정하고 있다(전, 2010).

Colletotrichum속의 곰팡이를 전통적으로 분류하는 기준으로는 분생포자의 형태와, 강모와 균핵 형성 유무, 부착기의 형태, 배양적 특성, 기주범위와 병원성 등의 차이를 들 수 있으며, 이런 기준을 가지고 Colletotrichum속에 속하는 38종의 곰팡이가 보고되어 있다(Freeman 등, 1998). 하지만, 같은 종 내에서와 종간에서도 분생포자와 부착기의 형태적 특징에서 겹치는 부분이 있으며, 계통발생적으로 나누는 그룹 간을 비교해 봐도 기주에 따른 병원성의 차이가 계통발생적으로 나뉘는 그룹과 연관 짖기 어렵고, 배지에 따라 분생포자의 크기와 모양이 다르고, 강모의 차이도 일관성이 없어, 이런 형태적인 특징이 분류의 정확한 기준이 될 수 없다 (Adaskaveg와 Hartin, 1997; Than 등, 2008). 또한 Colletotrichum속은 기주 식물에 대한 병원성이 매우 다양하기 때문에 병원성이 분류의 기준이 되기는 어려움이 있다(정 등, 1992; Freeman 등, 1998). 이런 이유 때문에 탄저병균의 분류 동정은 표식 유전자의 염기서열을 분석해서 결정하거나, 분자생물학적 방법인 RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA)법, RFLP(Restriction Fragment Length Polymorphisms)법, AFLP(Amplified Fragment Length Polymorphism)법 등을 이용해서 분류하고 있다(Braithwaite 등, 1990; Sreenivasaprasad 등, 1992; Wang 등, 1993; Sherriff 등, 1994; Mackill 등, 1996; Noli 등, 1997; Rusell 등, 1997; Vos 등, 1995; Mesquita 등, 1998; Dresler-Nurmi 등, 2000).

최근에는 여러 개의 표식 유전자를 이용한 종 수준에서 계통 발생 분석이 이루어지고 있는 데, Lee 등(2007)은 ITS, TUB2를 이용하여 사과의 탄저병균을 동정하였고, Talhinhas(2002)의 경우 ITS, TUB2, HIS4를 이용하여 병원균을 분류 동정하였다. 그 외에도 CHS-1(chitin synthase I), CAL(calmodulin), ACT(actin), EF1a(elongation factor 1-a), APN2(DNA lyase), SOD2(manganese superoxide dismutase) 유전자 등의 염기서열이 병원균의 분류 동정에 이용 되고 있다(Cannon, 2012). 또한 성공적으로 이루어지는 유전자 분석은 분자생물학적 분석에 그 치지 않고, 형태적, 생리적, 병원성 등과 같은 특징을 결합시켜 그룹을 나누는데 사용되고 있 다. RAPD와 형태적, 생리적 특징을 조합하여 C. acutatum을 7개의 그룹으로 구분하거나 (Lardner 등, 1999), ITS 영역과 TUB2의 염기서열 분석 결과와 기주와 병원성 등을 고려하여 A1부터 A9까지의 그룹으로 보고하였다(Sreenivasaprasad와 Talhinhas, 2005; Whitelaw-Weckert 등, 2007).

우리나라에서 중요한 탄저병균인 *C. acutatum*과 *C. gloeosporioides*는 부착기 크기나, 분생 포자의 형태적 구별이 어렵고, 종간에도 일부 살균제에 대한 반응이 다르며, 포장에서 집단의 밀도 변화도 감지된다. 그런데 두 가지의 식물병원균은 기주 범위가 넓어 다양한 기주를 침입하는 것으로 알려져 있으며, 특히 구기자와 고추, 감과 고추 등과 같이 동일한 지역에서 혼작하거나 근접한 거리에서 동시에 재배하는 여러 작물에서는 *C. acutatum*과 *C. gloeosporioides* 가 동시에 탄저병을 일으키는 것으로 보고되어 있다.

사과와 고추는 국내에서 높은 생산액을 보이는 중요한 과수와 채소작물인데, 두 작물 모두 탄저병에 의한 피해가 큰 것으로 보고되어 있으며, 탄저병균으로 *C. acutatum*과 *C. gloeosporioides*가 보고되어 있고(한국식물병명목록, 2009), 지금까지의 보고에 의하면 동일한 기주 내에서 포장 병원균 집단의 밀도의 변화가 예상되어 왔다. 포장에서 병원균 집단의 특징과 변화 양상을 조사하는 것은 병원균의 방제 전략을 수립하는데 매우 중요한 정보를 제공할수 있기 때문에, 중요한 작물의 주 병원균 집단의 변화를 조사할 필요가 있다. 고추와 사과에서도 탄저병을 일으키는 병원균으로 *C. acutatum과 C. gloeosporioides*가 보고되어 있는데, 앞에서 기술한 것과 같이 두 종류의 병원균은 균학적인 특징과 살균제에 대한 반응이 서로 다르며, 포장에서 집단의 밀도 변화가 진행되고 있거나 된 것으로 보고되어 있음에도 불구하고 동일한 지역의 근접한 거리에서 또는 동일한 지역에서 혼작하는 두 기주식물 사이에 교차 감염 발생할 수 있는 가능성이 존재하기 때문에 포장에서 병원균 집단에 대한 연구가 필요하다.

경상북도 청송군의 경우 고추와 사과가 주산물이며, 두 작물의 재배지가 매우 근접하거나 혼작재배를 많이 하고 있다. 더불어 청송군은 태백산맥과 보현산맥에 의해 산악지형으로 둘러싸여 타 지역과 이동이 어려운 환경조건을 가지고 있다. 이러한 특이적 재배지인 청송에서 고추와 사과 탄저병균의 분류적인 특징과 기주식물에 대한 병원성, 그리고 병원균의 균학적, 생리적 특징과 살균제에 대한 반응 양상을 조사하여 비교함으로써 포장에서 병 방제의 전략을 세우는데 필요한 정보를 제공할 필요가 있다. 따라서 본 연구는 청송에서 분리한 고추와 사과 탄저병균과 경북대학교에서 분양받은 사과에서 분리한 탄저병균을 표식 유전자의 염기서열 분석을 통하여 정확하게 동정하고, 각 병원균 집단의 균학적 특징과 유전적 다양성, 기주식물에 대한 병원성과 병원성에 영향을 미치는 요인 그리고 DMI계, benzimidazole계, strobilurin계 살균제에 대한 반응 조사를 수행하여 고추와 사과 탄저병균 집단의 특성을 조사하고, 그 결과를 각탄저병의 방제를 위해서 이용하고자 하였다.

# (가) 재료 및 방법

- ① 실험에 사용된 병원균
- ② 병반 채집과 병원균의 분리

2012년 8월 경상북도 청송군의 사과와 고추 재배지에서 전형적인 탄저병 증상을 보이는 열매를 각각 채집하였다. 탄저병균 포자가 형성된 열매의 병반 조직을 적당한 크기(5 × 5 mm)로 잘라 멸균증류수(300  $\mu$ g/mℓ의 streptomycin을 첨가)에 넣고 교반하여 포자 현탁액을 만들었다. 포자 현탁액에서 포자 밀도를 1 ×  $10^3$  개/mℓ로 조절한 후 10  $\mu$ ℓ를 PDA(potato dextrose agar; Becton, Dickinson and Company, DifcoTM) 배지에 도말하여, 25℃에서 3일간 배양하였다. 형성된 균총의 선단에서 균사 조각을 떼어내어 300  $\mu$ g/mℓ의 streptomycin이 첨가된 PDA 배지에다시 한 번 접종하고 25℃에서 배양하여 세균에 오염되었는지의 여부를 확인하였다.

### ① 보관 균주의 제작

분리한 균주들은 PDA 배지에 옮겨서 25℃ 항온기에서 7일간 배양하고 균총의 균사 선단부에서 지름 5 mm의 균사 조각을 떼어내어 CryotubeTM vial(직경; 12 mm, 높이; 48 mm, Nunc co. Ltd)에 10조각씩 넣고 300 μg/ml의 streptomycin이 첨가된 1 ml의 멸균증류수를 넣어 상온에서

보관하였다. 또한 장기간 보관을 위해서 5% DMSO(dimethyl sulfoxide)를 사용하여 -70℃에 보관하였다.

### 따 실험에 사용한 병원균

실험에는 고추에서 단포자 분리한 76개의 균주와 사과에서 분리한 18개 균주 그리고 경북대학교에서 2007년, 2008년, 2010년에 사과에서 분리한 34개의 균주를 사용하였다. 특히 경북대학교에서 분양받은 균주는 병원균의 유전적 다양성과 약제 반응을 조사하는데 사용하였다.

### ② 균학적 특징 조사

#### ⑦ 형태적 특징

병원균의 균총의 색과 형성된 분생포자의 크기를 조사하였다. 병원균의 균총 색은 실험에 사용한 균주를 PDA에 접종하고, 25℃의 암상태에서 2주일 간 배양한 후 균총의 앞면과 뒷면의색을 조사하였다. 분생포자의 크기 및 형태를 관찰하기 위해 병원균을 25℃의 PDA에서 1주일간 배양한 뒤, 멸균된 백금이로 공중 균사를 제거한 후, 다시 1주일간 25℃에서 12시간씩 형광등을 조사하며 배양하였다. 배양된 균주들의 배지에 멸균증류수를 붓고, 균총의 표면을 잘 긁어 포자를 수확한 후, 4겹의 거즈에 여과해서 균사조각을 제거하였다. 각 균주 당 100개의 분생포자를 광학현미경으로 관찰하며 크기와 모양을 조사하였다. 분생포자의 크기는 SAS ver. 9.3(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 통계프로그램을 사용하여 Tukey's studentized range test로 통계처리를 하였다.

### 나 배양적 특성

25℃의 PDA배지에서 7일간 배양한 병원균의 균총 선단부에서 지름 5 mm 의 균사 조각을 떼어내어 새로운 PDA 배지 위에 다시 접종하였다. 접종한 병원균은 25℃와 30℃에서 배양하면서 Dial caliper(Asimeto<sup>®</sup>)를 사용하여 매일 균총의 길이를 조사하였다.

### ③ gDNA의 분리

멸균한 셀로판지를 PDA 배지에 올려놓고 병원균을 접종하여 25℃에서 2주일간 배양한 후, 셀로판지 위에 형성된 균사체를 멸균된 슬라이드 글라스로 긁어 수확하여 -70℃에서 12시간 동안 동결건조를 하였다. 동결 건조한 균사체를 유리봉으로 분쇄한 다음 1.7 ㎖ microtube에 넣고 0.5% SDS-CTAB(2.5 M NaCl, 0.25 M EDTA (pH8.0), 0.5 M Tris-HCl (pH7.5), 1% polyvinylpyrrolidone-10, 1% hexadecyl trimethyl ammonium bromide, 0.5% sodium dodesyl sulfate)를 1.5 ㎖ 첨가한 후, 65℃에서 1시간동안 반응시켰다. 반응액은 10분간 12,000 g로 원심분리를 하였고 상징액을 수거하였다. 상징액에 500 灺의 phenol을 첨가하여 5분간 하얗게 될때까지 교반을 한 후에 12,000 g로 10분간 원심분리를 하였다. 다시 상징액을 수거하여 동일한 과정을 한 번 더 반복하였다. 원심분리 후 수거한 상징액에 동량의 chloroform을 첨가하여 완전히 섞이도록 5분간 위 아래로 뒤집어 잘 흔들어준 후, 반응액을 12,000 g로 10분간 원심분리를 하고 상징액을 수거하였다. 수거한 상징액에 동량의 100% isopropanol을 첨가하여 DNA 침

전물이 보일 때 까지 위 아래로 뒤집어 잘 흔들어준 후, 반응액을 12,000 g로 10분간 원심분리를 하여 상징액을 제거하였다. 남은 DNA 침전물에 70% ethanol 500 μℓ를 넣고 1분간 위 아래로 뒤집어 잘 흔들어준 후, 반응액을 다시 12,000 g로 10분간 원심분리를 하여 상징액을 제거하고, microtube의 뚜껑을 열어 실온에서 충분히 건조시킨 후, 50 μℓ의 멸균증류수를 부어 용해시켰다. 용해 된 DNA 용액에 1 mg/mℓ RNase A (Qiagen)를 5 μℓ 첨가하여 37℃의 30분간 반응시키고, 다시 65℃에서 1시간 반응시킨 다음, -20℃에서 보관하며 실험에 사용하였다. 또한 DNA를 1.5% agarose gel을 사용하여 1X TAE buffer상에서 100 V/c㎡의 전원으로 30분간 전기영동 후 UV illuminator에서 λ DNA를 기준으로 농도를 확인하였고, 확인된 DNA는 다시 0.01 μg/mℓ으로 정량하여 실험에 사용하였다.

## ④ 유전자 수준에서 동정 및 분석

# ② 종 특이적 primer를 이용한 PCR

Colletotrichum의 종 동정을 위하여 *C. acutatum*에 특이적인 primer인 CA1-1(5'-CAG GGG AAG CCT CTC GCG GGC CT-3')과 reverse primer로 ITS4-3(5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GCT TAA G-3')을 사용 하였고, *C. gloeosporioides*에 특이적인 primer인 Cglnt(5'-GGC CTC CCG CCT CCG GGC GG-3')와 reverse primer로 ITS4-3을 사용하였다. PCR 반응액(50 μℓ)은 희석된 gDNA 0.05 μg에 10X KAPA Taq buffer with dye 5 μℓ, dNTP 5 μℓ(10 mM), CA1-1 primer(10 μΜ) 또는 Cglnt primer(10 μΜ) 3 μℓ, ITS4-3 primer(10 μΜ) 3 μℓ, Taq polymerase(5 units/μℓ, Kapabiosystems) 0.25 μℓ, 멸균증류수 28.75 μℓ를 첨가하여, 4분간 94℃에서 pre-denaturation한 후, 30초 동안 94℃에서 denaturation, 30초 동안 65℃에서 annealing, 1분 동안 72℃에서 extension을 30회 반복하였으며 72℃에서 7분 동안 반응을 시킨후 4℃에서 반응을 종료시켰다. 여기에서 얻어진 PCR 산물들은 TAE buffer(1 M Tris-HCl(pH8.0), 0.25 M EDTA)를 이용하여 제작한 1.5% agarose gel을 사용하여 100 V에서 30분간 전기영동 한 후 UV illuminator를 이용하여 band를 확인하였다.

Ψ ITS 영역과 β-tubulin 영역의 염기서열 분석

### o 5.8s-ITS 영역의 증폭

5.8s-ITS 영역을 증폭하기 위해 White 등(1990)이 사용한 ITS5(5'-GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G-3')와 ITS4(5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3')를 primer로 사용하여 PCR을 수행하였다. 반응액(50 μℓ)은 희석된 gDNA 0.05 μg에 10X KAPA Taq buffer with dye 5 μℓ, dNTP 5 μℓ(10 mM), ITS5 primer(10 μM) 3 μℓ, ITS4 primer(10 μM) 3 μℓ, Taq polymerase(5 units/μℓ, Kapabiosystems) 0.25 μℓ, 멸균증류수 28.75 μℓ를 첨가하여, 4분간 95℃에서 pre-denaturation 수행 후, 30초 동안 94℃에서 denaturation, 1분 동안 55℃에서 annealing, 1분 동안 72℃에서 extension을 30회 반복하였으며 72℃에서 7분 동안 반응을 시킨후 4℃에서 반응을 종료시켰다. 여기에서 얻어진 PCR 산물들은 TAE buffer(1 M Tris-HCl(pH8.0), 0.25 M EDTA)를 이용하여 제작한 1.5% agarose gel을 사용하여 100 V에서

30분간 전기영동 한 후 UV illuminator를 이용하여 band를 확인하였다. 시료들은 Expin™ PCR SV kit(GeneAll, Seoul, South Korea)를 사용하여 정제하고 Macrogen(Daejeon, South Korea)에 DNA 염기서열 해독을 의뢰하였다.

### o β-tubulin을 이용한 DNA의 증폭

β-tubulin 유전자를 증폭하기 위해 T1(5'-AAC ATG CGT GAG ATT GTA AGT-3'(O'Donnell 와 Cigelnik, 1997)과 Bt2b(5'-ACC CTC AGT GTA GTG ACC CTT GGC-3') primer를 사용하였다(Glass 와 Donaldson, 1995). 반응액(50 μℓ)은 희석된 gDNA 0.05 μg에 10X KAPA Taq buffer with dye 5 μℓ, dNTP 5 μℓ(10 mM), T1 primer(10 μM) 3 μℓ, Bt2b primer(10 μM) 3 μℓ, Taq polymerase(5 units/μℓ, Kapabiosystems) 0.25 μℓ, 멸균수 28.75 μℓ를 첨가하여, 4분간 95℃에서 pre-denaturation 수행 후, 95℃에서 1분간 denaturation, 64℃에서 1분간 annealing, 72℃에서 2분간의 extension을 35번 반복한 후 72℃에서 7분 동안 반응을 시킨 후 4℃에서 반응을 종료시켰다. 여기에서 얻어진 PCR 산물들은 TAE buffer(1 M Tris-HCl(pH8.0), 0.25 M EDTA)를 이용하여 제작한 1.5% agarose gel을 사용하여 100 V에서 30분간 전기영동 한 후 UV illuminator를 이용하여 band를 확인하였다. 시료들은 ExpinTM PCR SV kit(GeneAll, Seoul, South Korea)를 사용하여 정제하고 Macrogen(Daejeon, South Korea)에 DNA 염기서열 해독을 의뢰하였다.

## ⓒ 증폭산물의 분석

해독한 염기서열은 BioEdit ver. 7.0.9.0의 clustal X(Thomson 등, 1997)을 이용하여 정리한 후 MEGA ver. 5.2.1에서 Maximum Composite Likelihood Estimator(MCLE)의 분석법에 General Time Reversible model로 ITS5-5.8s-ITS4 영역과 β-tubulin2 부분을 이용한 계통수를 작성하고 2,000회의 bootstrap 분석을 통해 신뢰도를 평가하였다. 분류학적 위치를 비교하기위해 NCBI GenBank의 염기서열을 획득하여 함께 유연 관계도를 작성하였다.

### ⑤ RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA)-PCR

청송에서 사과와 고추에서 분리한 94개의 탄저병 균주와 경북대학교에서 분양 받은 34균주, 실험실에서 대표 균주로 사용하는 *C. acutatum* JC24를 가지고 RAPD-PCR을 수행하였다. 사용한 primer는 Xiao 등(2004)이 사용한 OPC-5(5'-GAT GAC CGC C-3')와 OPC-2(5'-GAG AGG CGT C-3')를 사용하였고, 반응액(30 μℓ)은 gDNA 0.03 μg에 10X KAPA Taq buffer with dye 3 μℓ, dNTP 3 μℓ(10 mM), primer 3 μℓ, Taq polymerase(5 units/μℓ, Kapabiosystems) 0.12 μℓ, 100X BSA(10 mg/mℓ) 0.3 μℓ, 멸균증류수 17.58 μℓ를 실시하였다. PCR 반응조건은 5분간 94℃에서 pre-denaturation 수행 후, 94℃에서 30초간 denaturation, 35℃에서 1분간 annealing, 72℃에서 2분간의 extension을 38회 반복한 후 72℃에서 7분 동안 반응시키는 것으로 설정하였다.

### ⑥ RAPD-PCR 유연관계 분석

RAPD를 수행한 후 동일크기의 band 존재 유무에 따라 증폭 pattern을 비교하였고, 같은 크기의 band는 동일한 것으로 취급하였다. Pearson product-moment correlation coefficient를 이용하여 계산하였다. 균주간의 유사도(similarity coefficient)는 다음의 공식으로 계산하였다.

### F=2NXY/(NX+NY)

F: Similarity coefficient.

NXY: The number of PCR products shared by isolates X and Y.

NX+NY: Total number of PCR products in isolates X and Y, respectively.

Dendrogram은 위의 유사도 값을 근거로 Unweighted Paired Group Methods with Arithmetic Average(UPGMA)법으로 작성하였으며 유사도와 dendrogram의 작성은 Gelcompar II program ver. 4.5를 이용하였다.

## ⑦ 고추와 사과의 열매에 대한 병원성 검정

실험에 사용한 모든 병원균을 '녹광' 품종의 푸른 고추 열매에 접종하여 병원성 검정을 실시 하였다. 또한 청송군에서 분리한 고추와 사과 탄저병균과 경북대학교에서 분양받은 사과 탄저 병균 중에서 동정된 종과 유전형에 따라 각 8균씩 총 40개의 균을 사과 열매(품종; 홍로)에 접 종하여 고추에서의 병원성과 비교하였다. PDA에서 포자현탁액은 멸균 증류수를 사용하여 3,500 g로 10분간 2회 원심분리하여 포자를 세척하였다. 포자현탁액의 포자 밀도는 1×106 spore/ml으로 조정하여 실험에 사용하였다. 병원균 접종을 위해 준비한 고추(품종; 녹광)와 사 과(품종; 홍로) 열매는 1% NaClO 용액을 사용하여 1분간 표면을 세척하고 증류수로 씻은 후 실험실 내에서 풍건하여 사용하였다. 병원균을 고추 열매에 접종할 때, 열매 표면에 인위적으 로 상처를 내고 상처 위에 병원균을 접종한 상처 접종과 상처를 내지 않고서 병원균의 포자현 탁액을 분무 접종한 무상처 접종 방법으로 병원균을 접종하였다. 상처 접종을 위해서 열매 표 면에 혈당측정계 $(ACCU\text{-}CHEK, softclix^{@})$ 를 사용하여 상처를 내고, 상처 위에 준비한 병원균 의 포자 현탁액을  $5 \mu \ell$ 씩 점적하여 접종하였다. 무상처 접종은 상처를 내지 않은 열매 위에 준 비한 병원균의 포자 현탁액을 고르게 분무하여 접종하였다. 사과의 경우도 상처 접종의 경우에 는 위에서 설명한 것과 동일한 방법으로 열매 위에 상처를 내고 병원균을 접종하였으며, 무상 처 접종은 상처를 내지 않은 열매에 포자 현탁액을  $20~\mu$ 씩 점적한 멸균한 paper disc(6~m)Advantec<sup>®</sup>)를 붙인 후, 투명테이프로 열매에서 떨어지지 않도록 부착하였다. 탄저병균을 접종 한 고추와 사과 열매는 플라스틱 용기(30 × 20 × 10 cm, W×L×H)에 넣고, 5일간 포화습도가 유지되는 상태로 25℃에서 보관 한 다음, 꺼내어 뚜껑을 열고, 상온에서 5일간 보관하며 병 발 생 정도를 조사를 하였다. 플라스틱 용기 내부의 습도를 포화 상태로 유지하기 위해서 플라스 틱 상자 바닥에 키친 타올을 깔고 100 ㎖의 증류수를 부어 주었다. 병 발생 정도를 조사하기 위해서 상처 접종의 경우에는 접종 부위에서 발생한 탄저병 병반의 장경을 측정하였고, 무상처 접종을 하기 위해서 분무 접종한 열매에서는 각 열매 당 병반면적률을 조사하였다. 모든 처리는 3반복으로 실험하였다.

또한 실험에 사용한 균주의 푸른 고추와 붉은 고추에서 병원성 정도를 비교하기 위해, 위에서 기술한 것과 같은 방법으로 푸른 고추와 붉은 고추 모두에서 상처와 무상처 접종하였다. 실험에는 청송군 지역의 고추에서 분리한 균주들 중에서 *C. acutatum* A2-2 group에 속하는 12CSnaBD39, 12CSnaTW65와 *C. gloeosporioides*로 동정된 12CSTW7, 12CSTW9, 12CSBD12, 12CSPC76를 선발하여 사용하였다. 청송 지역의 사과 열매에서 분리한 Colletotrichum 균주 중에서 *C. acutatum* A2-1 group에 속하는 12CSApTW13, 12CSApTW17 균주와 경북대학교에서 분양받은 AD-F 08001, AD-F 08006, 그리고 *C. acutatum* A3 group에 속하는 GW-F 08005, KJ-F 08009, YC-F 08003B, YJ-SH 10002를 선발하였고, 청송 지역 사과 열매에서 분리한 *C. gloeosporioides* 12CSApTW6, 12CSApTW8 균주를 선발하여 병원성을 비교하였다.

- ⑧ 탄저병균의 병원성에 영향을 미치는 요인 조사
- ② 열매 표면에서 탄저병균 분생 포자의 발아와 부착기 형성

청송군지역의 고추에서 분리한 *C. acutatum, C. gloeosporioides*에서 각각 2개의 균주와 사과에서 분리한 *C. acutatum, C. gloeosporioides*에서 각각 2개의 균주, 그리고 경북대학교에서 분양받은 *C. acutatum*에서 A3 group으로 동정된 2개의 균주, 충북 진천의 고추에서 분리한 *C. acutatum* JC24 균주를 사용하여 푸른 고추와 붉은 고추 열매 표면에서 포자 발아율과 부착기형성률을 조사하였다. 실험에 사용된 모든 균주는 위에서 설명한 방법과 동일한 방법으로 분생 포자를 수확하여 포자현탁액(1×10<sup>6</sup> 개/元)을 준비하였다. 실험에 사용한 모든 균주는 상처를 내지 않은 고추와 사과의 열매의 표면에 고르게 분무 접종하였고, 접종한 열매는 100% 습도가유지되는 플라스틱 상자에 넣어 습실 처리하면서, 포자현탁액을 분무하고 6시간, 12시간, 1일, 3일째에 포자 발아율과 부착기 형성률 정도를 조사하였다. 열매의 표면에 분생포자의 발아와부착기를 형성은 투명한 셀로판테이프를 열매의 표면에 붙였다가 떼어내어 셀로판테이프에 붙어 있는 분생포자를 현미경으로 관찰하였다. 분생포자의 발아는 발아관의 길이가 포자의 장경의 절반보다 길게 형성된 경우만을 인정하였다. 모든 처리는 3반복으로 실험하였으며, 각 반복당 100개의 포자를 조사하였다. 분석은 SAS ver. 9.3(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 통계프로그램을 사용하여 Duncan's multiple range test로 통계처리를 하였다.

### ④ ABA(abscisic acid)가 병원성에 미치는 영향

식물 호르몬인 ABA를 사용해 호르몬이 탄저병균의 병원성에 미치는 영향에 대해 조사하였다. 실험에는 푸른 고추와 붉은 고추에 대한 병원성 검정에 사용하였던 16개의 균주를 사용하였다. 준비한 포자현탁액에 99.99% methyl alcohol(SK chemical)에 녹인 200 mM의 (±) abscisic acid(Sigma aldrich, inc.)를 첨가하여, 최종 ABA 농도가 2 mM, methyl alcohol이 1%가 되도록 조절하였으며, 이 때 접종원의 밀도는 1×10<sup>6</sup> 개/ml로 조정하였다. 열매 표면에 혈당

측정계(ACCU-CHEK, softclix<sup>®</sup>)를 이용하여 푸른 고추와 붉은 고추에 각각 상처를 내고, 열매위에 포자 현탁액을 5 μℓ씩 점적하여 접종하였다. 탄저병균을 접종한 고추와 사과열매는 플라스틱 용기(30×20×10 cm, W×L×H)에 넣고, 25℃의 포화습도 상태에서 5일간 보관한 다음, 꺼내어 뚜껑을 열고 다시 5일간 보관한 후 형성된 병반의 길이를 측정하였다.

## 대 열매 표면 wax 층 제거가 병원성에 미치는 영향

물리적 방어벽인 wax 층의 유무가 병원성에 미치는 영향을 조사하기 위해서 푸른 고추와 붉은 고추에서 wax 층을 제거한 고추와 제거하지 않은 고추에 탄저병균을 무상처 접종하여 병원성의 차이를 비교하였다. 위에서 설명한 방법으로 준비한 접종원의 밀도는 1×10<sup>6</sup> 개/㎡로 조정하였다. 열매 표면에 wax층을 제거하기 위하여 푸른 고추와 붉은 고추를 chloroform에 3초 동안 담그고 증류수로 씻어 낸 다음, 1% NaClO 용액을 사용하여 1분간 표면을 세척하고 멸균증류수로 다시 세척한 후 실험실 내에서 풍건시켜 실험에 사용하였다. 준비한 병원균의 포자 현탁액을 열매에 분무 접종하고, 접종한 고추 열매를 습실 처리한 플라스틱 용기(30×20×10 cm, W×L×H)에 넣고, 25℃에서 5일간 보관한 다음, 뚜껑을 열고 다시 5일간 보관하면서 발병을 유도하였다. 병발생 정도는 열매에 형성된 병반의 면적률을 측정하였다.

### (나) 결과

## ① 병원균의 분리 및 동정

청송군의 청송농업기술센터, 청송읍, 파천면, 진보면, 부동면 외 기타지역에서 고추와 사과의 열매를 채집하여 병원균을 분리하였다(Fig. 3-26). 청송군 고추와 사과의 포장에서 채집한 병든 열매로부터 단포자 분리하여 고추에서 76개의 균주, 사과에서 18개의 균주를 분리하였다. 종 특이적 primer를 사용하여 청송지역에서 분리한 모든 균주와 경북대학교에서 분양받은 사과 탄저병 균주, *C. acutatum* JC24, *C. gloeosporioides* KACC 40690 그리고 다른 종인 *C. capsici* ThSCc-1을 가지고 PCR을 한 결과, 종에 따라 확인되는 약 500 bp 크기의 밴드를 통해 *C. acutatum*과 *C. gloeosporioides*로 동정하였다(Fig. 3-27). 또한 rDNA-ITS 영역부분과 β-tubulin2 유전자의 염기서열을 분석하여 *C. acutatum*과 *C. gloeosporioides*임을 확인하였다. 고추에서 분리한 76개의 균주 중, 2012년 청송지역의 고추에서 분리된 탄저병균은 *C. acutatum*이 89.5%, *C. gloeosporioides*가 10.5%의 비율로 균주가 분리 되었고, 사과에서 분리된 탄저병균은 *C. gloeosporioides*가 88.9%, *C. acutatum*이 11.1%로 동정 되었다. 경북대학교에서 분양받은 사과 탄저병균은 3개의 균주가 *C. gloeosporioides*, 31개의 균주가 *C. acutatum*로 동정 되었다(Table 3-14).

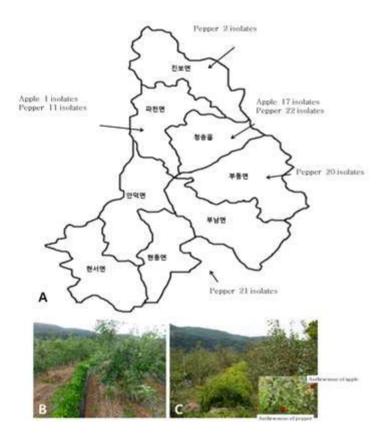


Fig. 3-26. Isolation region obtaining *Colletotrichum* spp. from anthracnose each infected fruit of apple and pepper in Cheongsong through a single spore isolation method (A). Mixed plantation of pepper and apple in june (B) and september (C).

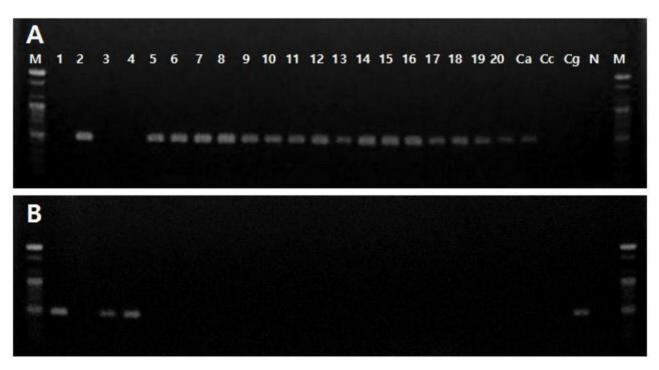


Fig. 3-27. Agarose gel electrophoresis of PCR products, obtained with DNA *C. acutatum*, *C. gloeosporioides* isolated from pepper and apple using *C. acutatum*-Specific primers (A),

C. gloeosporioides-Specific primer (B). M; 100bp marker, Ca; C. acutatum JC24, Cc; C. capsici ThSCc-1, Cg; C. gloeosporioides KACC 40690, N; negative test.

**Table 3–14.** Isolate, geographical origin, host, mixed crop, colony color, molecular identification of species and genotype analysis from pepper from pepper and apple, used in this study

No.	Isolate	Geographical origin	Host	Colony color <sup>a</sup>	Identification <sup>b</sup>	Genotype <sup>c</sup>	Source
1	12CSPC1	Pacheon-myeon, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory~Light gray	C. acutatum	A2-2	This study
2	12CSPC2	Pacheon-myeon, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory	C. acutatum	A2-2	This study
3	12CSPC3	Pacheon-myeon, Cheongsong-gun	Pepper	White~Gray	C. gloeosporioides		This study
4	12CSPC4	Pacheon-myeon, Cheongsong-gun	Pepper	Cron silk∼Gray	C. gloeosporioides		This study
5	12CSPC5	Pacheon-myeon, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory~Gray	C. acutatum	A2-2	This study
6	12CSPC6	Pacheon-myeon, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory ~ Gray	C. acutatum	A2-1	This study
7	12CSTW7	Cheongsong-eup, Cheongsong-gun	Pepper	White~Gray	C. gloeosporioides		This study
8	12CSTW8	Cheongsong-eup, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory~Dark khaki	C. acutatum	A2-1	This study
)	12CSTW9	Cheongsong-eup, Cheongsong-gun	Pepper	Cron silk~Gray	C. gloeosporioides		This study
10	12CSTW10	Cheongsong-eup, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory~Gray	C. acutatum	A2-2	This study
11	12CSBD11	Budong-myeon, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory~Gray	C. acutatum	A2-2	This study
12	12CSBD12	Budong-myeon, Cheongsong-gun	Pepper	White~Dark khaki	C. gloeosporioides		This study
13	12CSBD13	Budong-myeon, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory~Light gray	C. acutatum	A2-2	This study
14	12CSBD14	Budong-myeon, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory~Light gray	C. acutatum	A2-2	This study
15	12CSBD15	Budong-myeon, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory~Brown	C. acutatum	A2-2	This study
16	12CSPC16	Pacheon-myeon, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory~Light gray	C. acutatum	A2-1	This study
17	12CSPC17	Pacheon-myeon, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory~Dark khaki	C. acutatum	A2-1	This study
18	12CSZB18	Jinbo-myeon, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory~Light gray	C. acutatum	A2-2	This study
9	12CSZB19	Jinbo-myeon, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory~Gray	C. acutatum	A2-2	This study
20	12CS20	Cheongsong-eup, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory~Gray	C. acutatum	A2-2	This study
21	12CS21	Cheongsong-eup, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory~Grav	C. acutatum	A2-2	This study
22	12CS22	Cheongsong-eup, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory~Gray	C. acutatum	A2-2	This study
23	12CS23	Cheongsong-eup, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory~khaki	C. acutatum	A2-2	This study
24	12CS24	Cheongsong-eup, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory~Gray	C. acutatum	A2-2	This study
25	12CS25	Cheongsong-eup, Cheongsong-gun	Pepper	Cron silk~Grav	C. acutatum	A2-2	This study
26	12CS26	Cheongsong-eup, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory~Gray	C. acutatum	A2-2	This study
27	12CS27	Cheongsong-eup, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory~Grav	C. acutatum	A2-2	This study
28	12CS28	Cheongsong-eup, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory~Gray	C. acutatum	A2-2	This study
29	12CS29	Cheongsong-eup, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory~Gray	C. acutatum	A2-2	This study
30	12CS30	Cheongsong-eup, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory~Grav	C. acutatum	A2-2	This study
31	12CS31	Cheongsong-eup, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory~Gray	C. acutatum	A2-2	This study
32	12CSnaBD32	Budong-myeon, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory ~ Gray	C. acutatum	A2-2	This study
33	12CSnaBD33	Budong-myeon, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory~Gray	C. acutatum	A2-2	This study
34	12CSnaBD34	Budong-myeon, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory ~ Khaki	C. acutatum	A2-2	This study
35	12CSnaBD35	Budong-myeon, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory~Light gray	C. acutatum	A2-2	This study
36	12CSnaBD36	Budong-myeon, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory~Light gray	C. acutatum	A2-2	This study
37	12CSnaBD37	Budong-myeon, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory ~ Grav	C. acutatum	A2-2	This study
38	12CSnaBD38	Budong-myeon, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory ~ Gray	C. acutatum	A2-2	This study  This study
39	12CSnaBD39	Budong-myeon, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory ~ Light gray	C. acutatum	A2-2	This study This study
40	12CSnaBD40	Budong-myeon, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory ~ Grav	C. acutatum	A2-2	This study This study
11	12CSnaBD40 12CSnaBD41	Budong-myeon, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory Gray Ivory ~ Grav	C. acutatum	A2-2	This study This study
42	12CSnaBD41	Budong-myeon, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory ~ Gray	C. acutatum	A2-2	This study  This study
43	12CSnaBD42	Budong-myeon, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory Gray Ivory ~ Grav	C. acutatum	A2-2	This study This study
43 44	12CSnaBD43	Budong-myeon, Cheongsong-gun	Pepper	Ivory ~ Gray	C. acutatum C. acutatum	A2-2	This study This study

- a Investigating of top, isolates were incubated for two weeks at 25°C, on PDA.
- b Analysis methods were β-tubulin2 gene and rDNA-ITS sequences and *Colletotrichum* spp.-Specific primers reported by 강범관 (2006).
- c Isolates of *Colletotrichum acutatum* were divided into several groups reported by Sreenivasaprasad and Talhinhas (2005).
- e Cheongsong Agricultural Technology Center(CATC).

**Table 3–14.** Isolate, geographical origin, host, mixed crop, colony color, molecular identification of species and genotype analysis from pepper from pepper and apple, used in this study

Geographical origin Host Colony color<sup>a</sup> Identification<sup>b</sup> 45 12CSnaBD46 Budong-myeon, Cheongsong-gui Ivory~Gray C. acutatum A2-2 This study Budong-myeon, Cheongsong-gun  $Ivory \sim Gray$ 12CSnaBD47 C. acutatum Δ2-2 This study Pepper Ivory~Gray 47 12CSnaTW48 Cheongsong-eup, Cheongsong-gun C. acutatum A2-2 This study Pepper Ivory~Gray 12CSnaTW50 Cheongsong-eup, Cheongsong-gun C. acutatum A2-2 This study Pepper 12CSnaTW51 Cheongsong-eup, Cheongsong-gun Ivory ~ Gray C. acutatum A2-2 This study 12CSnaTW52 Cheongsong-eup, Cheongsong-gun C. acutatum A2-2 This study Pepper Ivory~Gray 12CSnaTW53 Cheongsong-eup, Cheongsong-gun C. acutatum A2-2 This study 12CSnaTW54 Cheongsong-eup, Cheongsong-gun C. acutatum A2-2 This study Pepper 12CSnaTW55 Cheongsong-eup, Cheongsong-gun Ivory ~ Salmon C. acutatum A2-2 This study 12CSnaTW56 Cheongsong-eup, Cheongsong-gun C. acutatum A2-2 This study Pepper Ivory~Gray C. acutatum 12CSnaTW57 A2-2 This study Cheongsong-eup, Cheongsong-gun 12CSnaTW58 CATC C. acutatum A2-2 Ivory~Gray This study 12CSnaTW59 CATC C. acutatum A2-2 This study 12CSnaTW60 CATC C. acutatum A2-2 This study Pepper Light gray 12CSnaTW61 CATC C. acutatum A2-2 Pepper Ivory~Gray This study 12CSnaTW62 A2-2 CATC Pepper C. acutatum This study 12CSnaTW63 CATC Pepper A2-2 This study 12CSnaTW64 CATC A2-2 Pepper Ivory ~ Gray C. acutatum This study 12CSnaTW65 CATC Pepper Ivory ~ Gray C. acutatum A2-2 This study 12CSnaTW66 Pepper Ivory~Gray C. acutatum A2-2 This study 12CS67 Cheongsong-eup, Cheongsong-gun Pepper Ivory ~ Gray C. acutatum A2-2 This study 12CS68 Cheongsong-eup, Cheongsong-gun Pepper Ivory ~ Gray C. acutatum A2-2 This study 12CS69 Cheongsong-eup, Cheongsong-gun Pepper Ivory~Gray C. acutatum A2-2 This study 12CS70 Cheongsong-eup, Cheongsong-gun Pepper Ivory~Gray C. acutatum A2-2 12CS71 Cheongsong-eup, Cheongsong-gun Ivory ~ Gray C. acutatum Pepper 12CS72 Cheongsong-eup, Cheongsong-gun Pepper Ivory ~ Gray C. acutatum A2-2 This study 12CS73 Cheongsong-eup, Cheongsong-gun Pepper Ivory ~ Grav C. acutatum A2-2 12CS74 Cheongsong-eup, Cheongsong-gun Pepper Ivory~Gray C. acutatum Cheongsong-eup, Cheongsong-gun Pepper Ivory C. acutatum A2-2 This study 12CSPC76 Pacheon-myeon, Cheongsong-gun White~Light gray C. gloeosporioides This study Pepper 12CSPC77 Pacheon-myeon, Cheongsong-gun C. gloeosporioides This study Pepper 12CSPC78 Pacheon-myeon, Cheongsong-gun White~Light gray C. gloeosporioides This study Pepper 12CSApTW3 Apple Light gray C. gloeosporioides This study 12CSApTW4 CATC Apple Cron silk C. gloeosporioides This study 12CSApTW5 CATC C. gloeosporioides This study Apple Light gray This study 12CSApTW6 Cheongsong-eup, Cheongsong-gun White~Gray C. gloeosporioides Apple 12CSApTW7 Cheongsong-eup, Cheongsong-gun Apple White~Khaki C. gloeosporioides This study 12CSApTW8 Cheongsong-eup, Cheongsong-gun C. gloeosporioides This study Apple Light gray White~Gray 12CSApTW9 Cheongsong-eup, Cheongsong-gun C. gloeosporioides This study Apple This study 12CSApTW10 Ivory~Gray C. gloeosporioides Cheongsong-eup, Cheongsong-gun Apple 12CSApTW11 White~Gray Cheongsong-eup, Cheongsong-gun Apple C. gloeosporioides This study 12CSApTW12 Cron silk C. gloeosporioides Cheongsong-eup, Cheongsong-gun Apple This study

a Investigating of top, isolates were incubated for two weeks at 25°C, on PDA.

White~Gray

Apple

b Analysis methods were β-tubulin2 gene and rDNA-ITS sequences and *Colletotrichum* spp.-Specific primers reported by 강범관 (2006).

C. gloeosporioides

This study

- c Isolates of *Colletotrichum acutatum* were divided into several groups reported by Sreenivasaprasad and Talhinhas (2005).
- e Cheongsong Agricultural Technology Center(CATC).

Cheongsong-eup, Cheongsong-gun

12CSApTW12-1

**Table 3-14.** Isolate, geographical origin, host, mixed crop, colony color, molecular identification of species and genotype analysis from pepper from pepper and apple, used in this study

No.	Isolate	Geographical origin	Host	Colony color <sup>a</sup>	Identification <sup>b</sup>	$Genotype^{c}$	Source
88	12CSApTW13	Cheongsong-eup, Cheongsong-gun	Apple	Ivory~Dark khaki	C. acutatum	A2-1	This study
89	12CSApTW14	Cheongsong-eup, Cheongsong-gun	Apple	Cron silk	C. gloeosporioides		This study
90	12CSApTW15	Cheongsong-eup, Cheongsong-gun	Apple	Light gray	C. gloeosporioides		This study
91	12CSApTW16	Cheongsong-eup, Cheongsong-gun	Apple	Cron silk	C. gloeosporioides		This study
92	12CSApTW17	Cheongsong-eup, Cheongsong-gun	Apple	Ivory~Gray	C. acutatum	A2-1	This study
93	12CSApTW18	Cheongsong-eup, Cheongsong-gun	Apple	White~khaki	C. gloeosporioides		This study
94	12CSApBD19	Budong-myeon, Cheongsong-gun	Apple	White~Gray	C. gloeosporioides		This study
95	AD-F 08001	Andong-si	Apple	Ivory	C. acutatum	A2-1	Kyungpook Univ
96	AD-F 08003	Andong-si	Apple	Ivory	C. acutatum	A2-1	Kyungpook Univ
97	AD-F 08006	Andong-si	Apple	Ivory~Dark khaki	C. acutatum	A2-1	Kyungpook Univ
98	AD-F 08008	Andong-si	Apple	Dark salmon	C. acutatum	A3	Kyungpook Univ
99	AD-F 08009	Andong-si	Apple	Ivory~Dark khaki	C. acutatum	A2-1	Kyungpook Univ
.00	AD-F 08010	Andong-si	Apple	Ivory~Dark khaki	C. acutatum	A2-1	Kyungpook Univ
101	AD-F 08011	Andong-si	Apple	Ivory	C. acutatum	A2-1	Kyungpook Univ
102	AD-F 08012	Andong-si	Apple	Ivory	C. acutatum	A2-1	Kyungpook Univ
103	AD-F 08013	Andong-si	Apple	Salmon	C. acutatum	A3	Kyungpook Univ
104	CS-F 08001	Cheongsong-gun	Apple	Salmon	C. acutatum	A3	Kyungpook Univ
.05	CS-F 08004	Cheongsong-gun	Apple	Ivory ~ Gray	C. acutatum	A2-1	Kyungpook Uni
.06	CS-F 08005	Cheongsong-gun	Apple	Ivory~Dark khaki	C. acutatum	A2-1	Kyungpook Uni
.07	GW-F 08001	Gunwi-gun	Apple	Ivory~Dark khaki	C. acutatum	A2-1	Kyungpook Uni
.08	GW-F 08003	Gunwi-gun	Apple	Dark salmon	C. acutatum	A3	Kyungpook Uni
.09	GW-F 08004	Gunwi-gun	Apple	Salmon	C. acutatum	A3	Kyungpook Uni
10	GW-F 08005	Gunwi-gun	Apple	Salmon ~ Gray	C. acutatum	A3	Kyungpook Uni
11	KJ-F 08006	Gyeongju-si	Apple	Ivory	C. acutatum	A2-1	Kyungpook Uni
12	KJ-F 08007B	Gyeongju-si	Apple	Ivory	C. acutatum	A2-1	Kyungpook Uni
.13	KJ-F 08008	Gyeongju-si	Apple	Dark salmon	C. acutatum	A3	Kyungpook Uni
14	KJ-F 08009	Gyeongju-si	Apple	Salmon ~ Gray	C. acutatum	A3	Kyungpook Uni
15	KJ-F 080098	Gyeongju-si	Apple	Dark salmon	C. acutatum	A3	Kyungpook Uni
16	KJ-F 08011B	Gyeongju-si	Apple	Salmon~Gray	C. acutatum	A3	Kyungpook Uni
17	KJ-F 08012	Gyeongju-si	Apple	Dark salmon	C. acutatum	A3	Kyungpook Uni
18	KJ-F 08014	Gyeongju-si	Apple	Salmon ~ Gray	C. acutatum	A3	Kyungpook Uni
19	KJ-F 08029	Gyeongju-si	Apple	Ivory~Dark khaki	C. acutatum	A2-1	Kyungpook Uni
.20	YC247	Yecheong-gun	Apple	Dark khaki	C. gloeosporioides		Kyungpook Uni
21	YChongok07	Yecheong-gun	Apple	Ivory ~ Gray	C. gloeosporioides		Kyungpook Uni
22	YC-F 08001B	Yecheong-gun	Apple	Ivory ~ Salmon	C. acutatum	A3	Kyungpook Uni
.23	YC-F 08003B	Yecheong-gun	Apple	Salmon	C. acutatum	A3	Kyungpook Uni
24	YC-F 08004A	Yecheong-gun	Apple	Salmon	C. acutatum	A3	Kyungpook Uni
.25	Andonghook2010	Andong-si	Apple	Ivory~Dark khaki	C. gloeosporioides		Kyungpook Uni
26	YJ-SH 10002	Yeongju-si	Apple	salmon	C. acutatum	A3	Kyungpook Uni
27	YJ-SH 10003	Yeongju-si	Apple	Ivory~Gray	C. acutatum	A2-1	Kyungpook Uni
.28	YJ-SH 10004	Yeongju-si	Apple	Salmon	C. acutatum	A3	Kyungpook Uni
29	JC24	Jincheon-gun, Chungcheongbuk-do	Pepper	Ivory ~ salmon	C. acutatum	A2-2	This laboratory
130	KACC40690	Cheongsong-gun	Pepper	White~khaki	C. gloeosporioides		KACC

- a Investigating of top, isolates were incubated for two weeks at 25°C, on PDA.
- b Analysis methods were β-tubulin2 gene and rDNA-ITS sequences and *Colletotrichum* spp.-Specific primers reported by 강범관 (2006).
- c Isolates of *Colletotrichum acutatum* were divided into several groups reported by Sreenivasaprasad and Talhinhas (2005).
- e Cheongsong Agricultural Technology Center(CATC).

## ② 균학적 특징

⑦ 탄저병균의 균총과 분생포자의 특징

고추와 사과에서 분리한 탄저병균의 균총은 매우 다양하였다(Table 3-14와 Fig. 3-28). 고추에서 분리한 *C. acutatum*에서 Fig. 3-28C와 같이 Ivory와 Gray가 섞인 크림색이 가장 많았고, *C. gloeosporioides*는 대체로 Fig. 3-28D와 같은 Gray, Dark khaki 또는 Corn silk가 섞인 색을 띄었고, 몇 균주의 경우 Fig. 3-28E처럼 White와 Light gray의 색을 띄어 2가지 형태로 나

눠졌다. 경북대학교에서 분양받은 사과 탄저병균과 청송에서 채집한 병든 사과에서 분리한 *C. gloeosporioides*는 대부분 고추에서 분리한 균과 유사한 Gray와 Dark khaki 또는 Corn silk가섞인 색을 띄었고, *C. acutatum*에서는 Fig. 3-28F처럼 Ivory와 Gray가 섞인 크림색 균총과 Fig. 3-28G와 같은 Salmon 또는 Dark salmon의 색을 띄는 균총 형태로 나뉘어졌다.

고추와 사과에서 분리한 C. acutatum의 유전형별로, 그리고 C. gloeosporioides중에서 각각 3 균주씩을 선발하여 분생포자의 크기와 형태를 조사하였다(Table 3-25). 고추에서 분리한 *C.* acutatum A2-2 group의 균주들은 분생포자의 평균 크기는 장경과 단경이 10.50 μm과 3.82 μm 였으며, 고추에서 분리한 *C. gloeosporioides*는 장경과 단경이 16.53 μm과 5.34 μm이었다. 사과 에서 분리한 *C. acutatum* A2-1 group의 분생포자 평균 크기는 장경과 단경이 11.98  $\mu$ m과 4.29 μm이고, C. acutatum A3 group의 분생포자 평균 크기는 장경과 단경이 14.62 μm과 4.97 μm이었으며, 사과에서 분리한 C. gloeosporioides의 분생포자 평균 크기는 장경과 단경이 15.20 μm과 5.56 μm이었다. Table 3의 결과를 보면 C. gloeosporioides 분생포자의 크기가 C. acutatum에 비하여 큰 것을 알 수 있었고, 기주가 같더라도 C. acutatum의 genotype에 따라 A2-1 group보다 A3 group의 분생포자 크기가 큰 것으로 나타났다. 분생포자의 형태를 조사한 결과, 기주가 고추인 C. acutatum A2-2의 분생포자의 형태는 한쪽이 뾰족하고 한쪽이 둥근 혼 합형이 가장 많이 관찰되었으며, 고추에서 분리한 C. gloeosporioides는 양쪽이 둥근 간상형이 70~100%로 높은 비율로 나타났다. 사과에서 분리한 *C. acutatum* A2-1 group은 혼합형의 분 생포자가 68~72%로 다른 형태에 비해 높은 비율을 나타내었다. C. acutatum A3 group은 선 발된 다른 그룹의 균주들과는 달리 양쪽이 뾰족한 방추형의 형태가 92~98%로 매우 높은 비 율을 나타내었고, 사과에서 분리한 C. gloeosporioides는 양쪽이 둥근 간상형이 100%의 비율 을 보였다(Table 3-15과 Fig. 3-29).

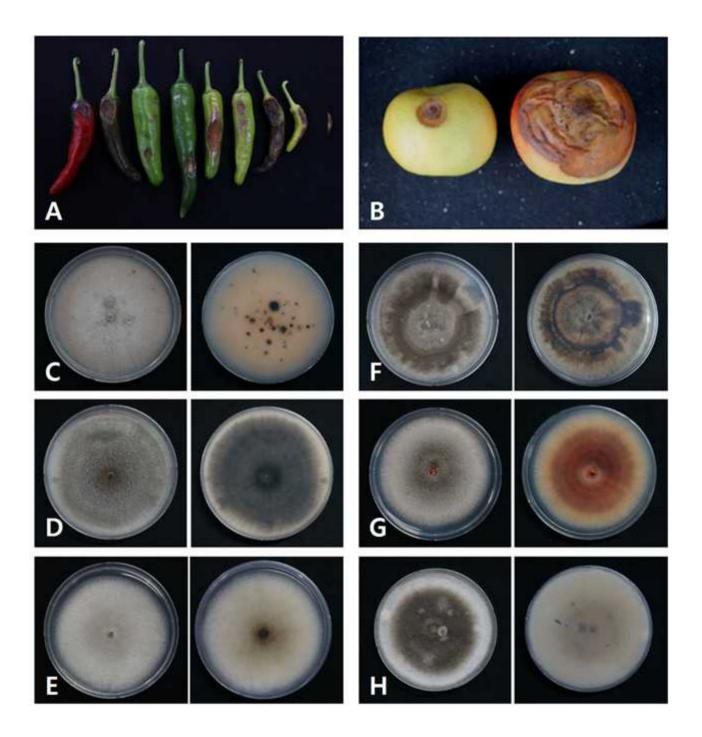


Fig. 3–28. Natural symptoms of pepper and apple stunt anthracnose (A, B). Mycelium of C. acutatum (C, F, G) and C. gloeosporioides (D, E, H), cultured for 2 weeks at  $25\,^{\circ}$ C on PDA medium plates. C; 12CSnaBD36, D; 12CSTW7, E; 12CSPC77, F; 12CSApTW13, G; GW-F 08004. H; 12CSApTW7.

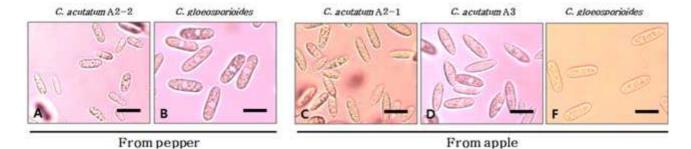


Fig. 3-29. Morphology of conidia of *C. acutatum* and *C. gloeosporioides* isolated from infected fruit of pepper (A, B) and apple (C, D, E), cultured for 2 weeks at 25°C on PDA plates. 12CSPC1 (A), 12CSPC3 (B), 12CSApTW13 (C), AD-F 08003 (D), 12CSApTW4 (E), Bar = 10  $\mu$ m.

**Table 3-15**. Size and shape of conidia of *Colletotrichum* spp. isolated from infected fruits of apple and pepper in Cheongsong-gun

			Morphology of conidia <sup>b</sup>						
Hos	Pathogen (genotype)	Isolate <sup>a</sup> -	Size	(µm)	,	Shape (%)			
t			Length	Width	Fusifor	Mixed	Cylind		
				· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	m	WIIACU	ric		
	Colletotrichum	12CSPC1	$10.93 \pm 1.49 \text{ h}^{\text{c}}$	$4.03 \pm 0.64 \text{ hi}$	34	40	26		
		12CSnaBD34	$10.26 \pm 2.06 \text{ h}$	$3.93 \pm 0.60 i$	17	81	2		
Pep	acutatum (A2-2)	12CS70	$10.31 \pm 1.30 \text{ h}$	$3.49 \pm 0.61 \text{ j}$	10	51	39		
per	Colletotrichum	12CSPC3	$17.80 \pm 1.26$ a	$5.72 \pm 0.55$ ab	0	0	100		
		12CSTW9	$15.78 \pm 1.16 \text{ bc}$	$5.95 \pm 0.55$ a	1	0	99		
	gloeosporioides	12CSPC78	$16.02 \pm 1.89 \text{ b}$	$4.34 \pm 0.67 \text{ fg}$	1	29	70		
	Colletotrichum acutatum (A2-1)	12CSApTW13	12.36 ± 1.71 g	$4.30 \pm 0.59$	15	72	13		
		12CSAp1 W13		f-h		72	13		
		19CCA - TW17	10.83 ± 1.48 h	$4.04 \pm 0.58$	7	83	1.0		
		12CSApTW17		g-i			10		
		CS-F 08004	$12.75 \pm 1.51 \text{ g}$	$4.54 \pm 0.80 \text{ f}$	22	68	10		
Appl	Colletotrichum	AD-F 08008	14.78 ± 1.25 e	4.91 ± 0.61 e	93	4	3		
Appl		AD-F 08013	$15.03 \pm 1.29 \text{ ed}$	$5.11 \pm 0.71 \text{ de}$	98	1	1		
е	acutatum (A3)	YJ-SH 10004	$14.05 \pm 1.22 \text{ f}$	$4.88 \pm 0.61 e$	92	5	3		
		10004 7774	$15.65 \pm 0.91$	5.70 L 0.50 L	0	0	100		
	C 11 1	12CSApTW4	b-d	$5.79 \pm 0.58 \text{ ab}$	0	0	100		
	Colletotrichum	12CSApTW6	$14.77 \pm 1.30 e$	$5.32 \pm 0.61$ cd	0	0	100		
	gloeosporioides	10004 7747	$15.19 \pm 1.71$			0	100		
		12CSApTW7	c-e	$5.57 \pm 0.72$ bc	0	0	100		

a Isolate of *Colletotrichum acutatum* and *Colletotrichum gloeosporioides* were incubated at 25℃ for 10days, to harvest conidia produced on PDA.

<sup>&</sup>lt;sup>b</sup> One hundred of conidia of each isolate were observed under a light microscope, to investigate the size and the shape.  $\pm$  = Standard deviation.

 $<sup>^{\</sup>rm c}$  The means followed by the same letter in the same column are not significantly different  $P{<}0.05$  by Tukey's studentized range test (SAS Institute, 2010)

U 배양온도에 따른 균사 생장

실험에 사용된 모든 균주를 25℃와 30℃의 암조건의 인큐베이터에서 배양하였을 때, 고추에서 분리한 *C. acutatum* 균주들은 25℃에서 8.43 mm/day, 30℃에서 6.60 mm/day, *C. gloeosporioides* 균주들은 25℃에서 13.33 mm/day, 30℃에서 14.24 mm/day를 나타내었고, 사과에서 분리한 *C. acutatum* 균주들은 25℃에서 8.28 mm/day, 30℃에서 6.44 mm/day, *C. gloeosporioides* 균주들은 25℃에서 12.82 mm/day, 30℃에서 12.16 mm/day를 나타내어, 고추에서분리한 *C. acutatum* 균주들과 사과에서 분리한 *C. acutatum* 균주들의 일일 균사생장률은 분리기주에 따른 차이가 없었고, 25℃에서 30℃보다 높은 균사생장률을 보였다. 청송군 고추에서분리한 *C. gloeosporioides* 균주들도 일일 균사생장률의 유의차가 없었으며, 25℃와 30℃의 균사 생장에도 차이가 없었다(Fig. 3-30와 Fig. 3-31).

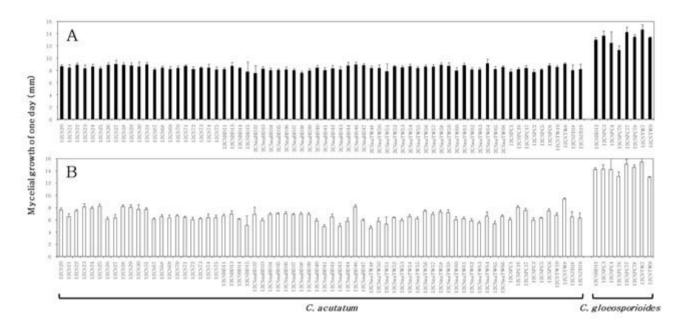


Fig. 3–30. Mycelial growth of each isolate of *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* collected from infected fruits of pepper at  $25^{\circ}$ C (A) and  $30^{\circ}$ C (B) for 5 days. Colony diameter of each isolate was investigated incubation without light irradiation on PDA.  $\pm$  = Standard error.

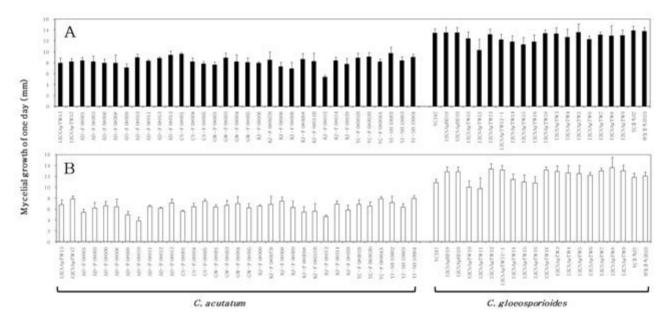


Fig. 3–31. Mycelial growth of each isolate of *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* collected from infected fruits of apple at  $25^{\circ}$ C (A) and  $30^{\circ}$ C (B) for 5 days. Colony diameter of each isolate was investigated incubation without light irradiation on PDA.  $\pm$  = Standard error.

### ③ 유전적 다양성

### ⑦ rDNA-ITS 영역과 β-tubulin2 유전자의 분석

ITS 영역을 증폭한 결과, 약 550 bp의 PCR 산물을 얻을 수 있었고, β-tubulin2 유전자를 증 폭한 결과 약 740 bp의 PCR 산물을 얻었다(Fig. 3-32). PCR 산물의 염기서열을 분석한 결과, 모든 균주들은 C. acutatum과 C. gloeosporioides로 뚜렷하게 분리되었다(Fig. 3-33). C. acutatum 균주들의 ITS 영역을 분석했을 때, 고추에서 분리한 C. acutatum 균주들의 경우  $96.3 \sim 100\%$ 의 상동성을 보였고, 평균 99.9%의 상동성을 나타내었다. 사과열매에서 분리한 C. acutatum 균주들의 경우 99.3~100%의 상동성을 보였고, 평균 99.6%의 상동성을 나타내었다. Sreenivasaprasad와 Talhinhas (2005)가 구분한 genotype에 따라 사과에서 분리한 33개의 균주 들 중 17개의 균주가 *C. acutatum* A3 group으로 나누어졌고, 사과열매에서 분리한 16개의 균 주와 고추에서 분리한 68개의 C. acutatum 균주들은 A2 group에 속하였다(Fig. 3-34). β -tubulin2 유전자를 분석한 결과, 고추에서 분리한 *C. acutatum* 균주들은 98.2~100%의 상동성 을 보였고, 평균 99.8%의 상동성을 나타내었다. 사과열매에서 분리한 C. acutatum 균주들의 경 우 95.5~100%의 상동성을 보였고, 평균 98.0%의 상동성을 나타내었고, A2 group이 계통분류 학적으로 A2-1과 A2-2로 분리되었다. 고추에서 분리한 C. acutatum의 경우 68개의 균주 중 64개의 균주가 A2-2 group으로 나누어 졌고, 고추에서 분리한 4개의 균주와 및 사과열매에서 분리한 16개의 탄저병 균주는 A2-1 group에 속하였다. ITS 영역과 β-tubulin2 유전자 분석에 서처럼 C. acutatum A2 group은 A2-1과 A2-2 group으로 나눌 수 있었다(Fig. 3-36). C. *gloeosporioides*<sup>♀</sup> 경우 rDNA-ITS 영역을 분석하였을 때. 고추에서 분리한 gloeosporioides 균주들의 경우 98.7~100%의 상동성을 보였고, 평균 99.3%의 상동성을 나타 내었다. 사과열매에서 분리한 C. gloeosporioides 균주들의 경우 98.7~100%의 상동성을 보였 고, 평균 99.7%의 상동성을 나타내었다. β-tubulin2 유전자를 분석하였을 때, 고추에서 분리한 C. gloeosporioides 균주들의 경우 93.8~100%의 상동성을 보였고, 평균 97.0%의 상동성을 나 타내었다. 사과열매에서 분리한 C. gloeosporioides 균주들의 경우 99.2~100%의 상동성을 보 였고, 평균 99.7%의 상동성을 나타내었다. 두 결과 모두 기주에 따른 group이 나누어지지 않았 다(Fig. 3-37).

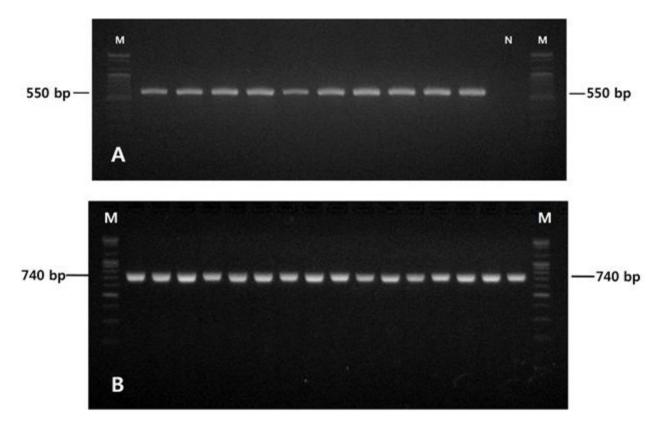


Fig. 3-32. Agarose gel electrophoresis of amplified ITS region (A) and  $\beta$ -tubulin2 gene (B), obtained with DNA of *C. acutatum*, *C. gloeosporioides* isolated from pepper and apple using ITS4, ITS5 primers (A) and T1, Bt2b primers (B). M; 100 bp marker, N; negative test.

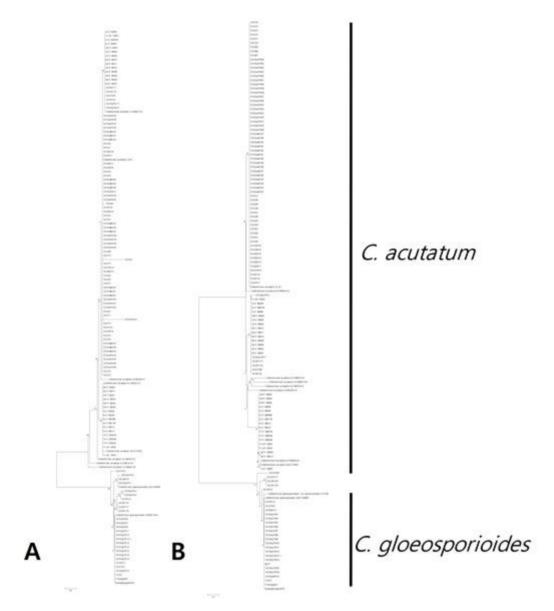


Fig. 3–33. Identification of species using phylogenetic tree derived from rDNA-ITS (A) and  $\beta$ -tubulin2 gene (B) sequences of *C. acutatum* and *C. gloeosporioides*, statistical Analysis method was used the Neighbor-joining and substitution model was used the Kimura 2-parameter model. Bootstrap test of 2000 runs.

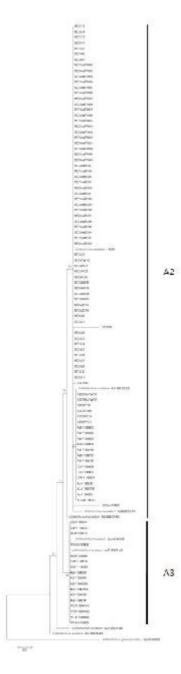


Fig. 3-34. Phylogenetic tree derived from rDNA-ITS sequences of *C. acutatum.* statistical Analysis method was used the Maximum Likelihood and substitution model was used the General Time Reversible model. Bootstrap test of 2000 runs.



Fig. 3–35. Phylogenetic tree derived from  $\beta$ -tubulin2 gene of C. acutatum. statistical Analysis method was used the Maximum Likelihood and substitution model was used the General Time Reversible model. Bootstrap test of 2000 runs.

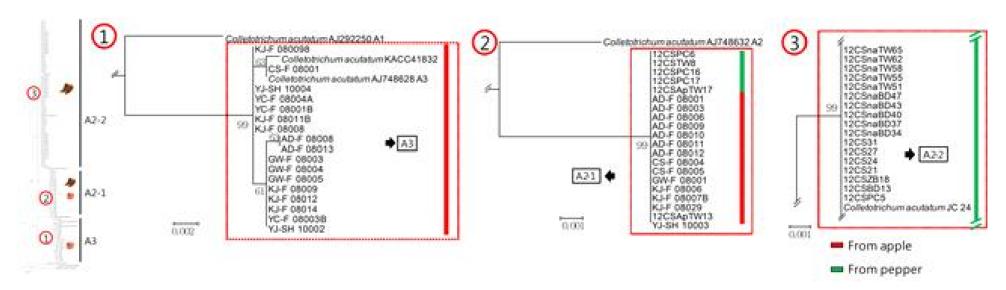


Fig. 3–36. Phylogenetic tree derived from rDNA-ITS sequences and β-tubulin2 from representative collected isolates and sequences showing separation into *C. acutatum* groups of Sreenivasaprasad and Talhinhas (2005). statistical Analysis method was Maximum Likelihood and substitution model was used the General Time Reversible model. Bootstrap test of 2000 runs. Red line; isolated from apple, Green line; isolated from pepper.

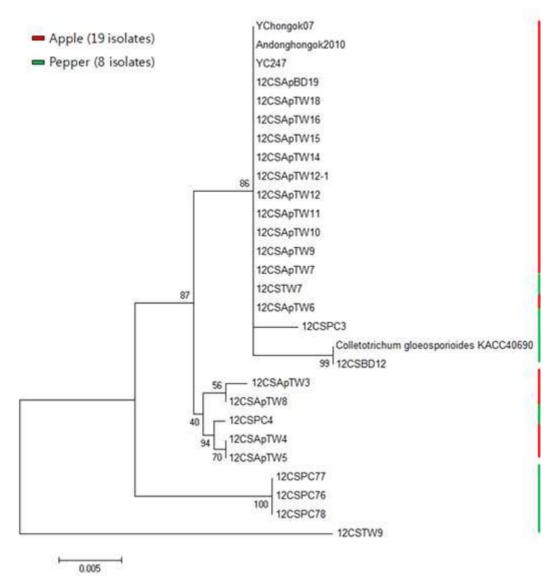


Fig. 3–37. Phylogenetic tree derived from rDNA-ITS sequences and β-tubulin2 of *Colletotrichum gloeosporioides*. statistical Analysis method was used the Maximum Likelihood and substitution model was used the General Time Reversible model. Bootstrap test of 2000 runs. Red line; isolated from apple, Green line; isolated from pepper.

#### 따 RAPD-PCR 분석 결과

실험에 사용한 128개 탄저병 균주의 rDNA를 OPC-2와 OPC-5 primer를 가지고 RAPD-PCR을 수행한 결과, 약 225-2000 bp 사이에 존재하는 다양한 크기의 밴드들을 얻을 수 있었다(Fig. 3-38). GelCompar Ⅱ를 사용하여 분석한 결과, *C. acutatum*은 세 가지 group으로 나누어졌다(Fig. 3-38). 병원성의 차이와 genotype이 구분되어 있고, 기주의 차이가 구분되어 나누어져 *C. acutatum*은 A2-1, A2-2 그리고 A3의 3개의 group으로 분류할 수 있었고, 각각 집단은 Fig. 3-38②(78%), Fig. 3-38③(76%)와 Fig. 3-38①(79%)의 similarity correlation값을 가졌다. 고추의 품종인 '녹광'의 푸른 고추에 대해 A3 group에 속하는 균주의 대부분이 비

병원성을 띄고 두개의 균주가 저병원성을 띄며, 사과의 품종인 '홍로'에 대해 중간병원성을 띄었다. 청송군에서 분리한 *C. acutatum*의 경우 A3 group에 포함된 균주는 분리되지 않았다. 고추에서 분리한 *C. acutatum*은 A2-1 group 그리고 A2-2 group에 속해 있으며, A2-1 group 보다는 A2-2 group에 더 많은 균주가 포함되었다(Fig. 3-39). A2-2 group은 고추에 대해서 중간병원성과 높은 병원성을 보였고, A2-1 group에 속하는 균주들은 저병원성이거나 대부분이 비병원성을 띄었다. 고추에서 분리한 *C. gloeosporioides*의 경우, 다양하게 나누어 졌지만, similarity correlation값이 높아 각각의 기주에 따라 분류 되지 않았다(Fig. 3-40).

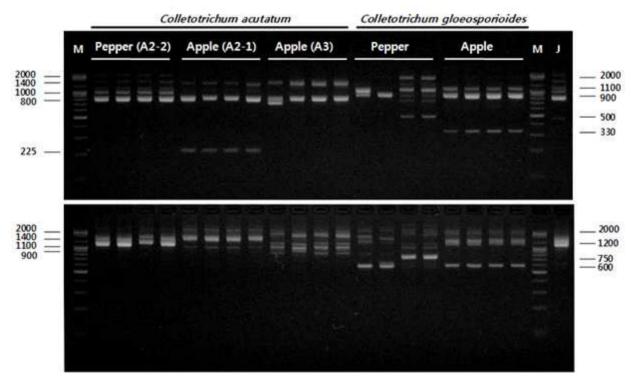


Fig. 3-38. RAPD fingerprints obtained with the arbitrarily selected primers OPC-2 (A) and OPC-5 (B).

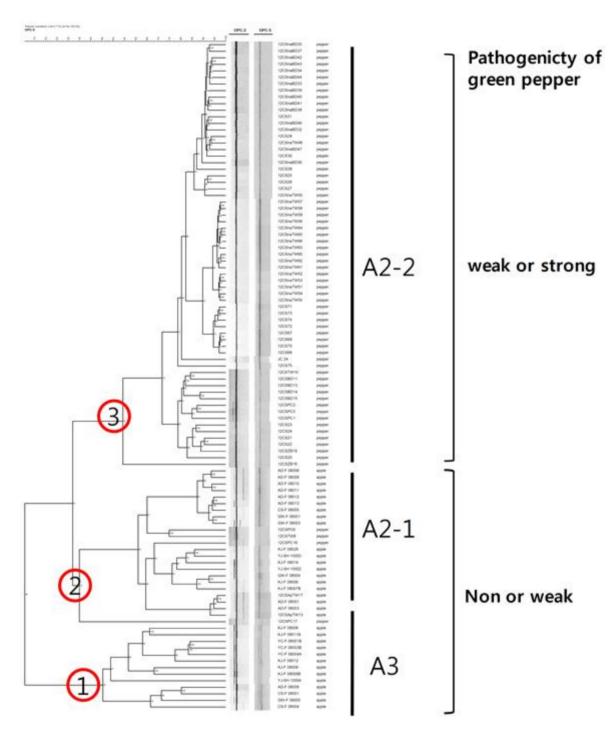


Fig. 3–39. Dendrogram of 70 isolates of *C. acutatum* in Cheongsong and 31 isolates of the other sources from infected fruits of apple and pepper constructed from the RAPD similarity matrix obtained by the similarity coefficient, using the Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages (UPGMA). Bootstrap test of 2000 runs.

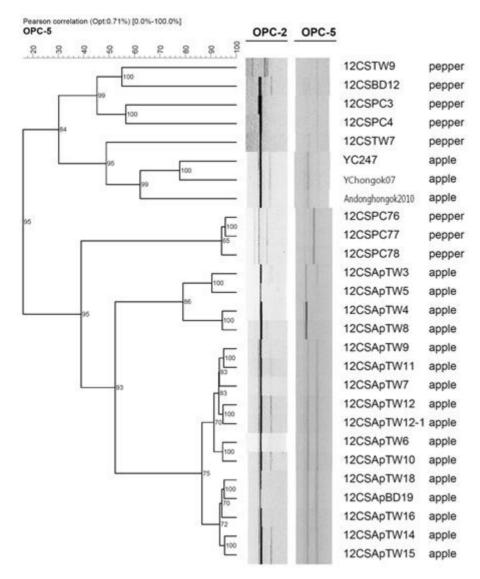


Fig. 3-40. Dendrogram of 24 isolates of *C. gloeosporioides* in Cheongsong and 3 isolates of the other sources from infected fruits of apple and pepper constructed from the RAPD similarity matrix obtained by the similarity coefficient, using the Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages (UPGMA). Bootstrap test of 2000 runs.

#### ④ 열매에 대한 병원성

#### ⑦ 고추와 사과 열매에 대한 병원성 검정

김(2013b)이 기술한 병원성 판단의 기준과 비교하였을 때, 고추에 상처 접종한 결과, 고추에서 분리한 C. acutatum의 경우,  $\geq$ 30 mm이상의 병정과  $10\sim20$  mm의 병정으로 고병원성과 중간병원성을 나타내다(Table 3-16). 하지만 A2-1 group에 속하는 12CSPC6, 12CSPC16, 12CSPC17은 고추에서 분리되었음에도 불구하고 병정이 나타나지 않았으며, 12CSTW8은 상처접종에서 4.17 mm의 병정을 나타내어 저병원성 균주임을 알 수 있었다. 고추에서 분리한 C. gloeosporioides는 2개의 균주가 <10 mm 정도의 병정을 보이는 저병원성 균주이었고, 나머지

8개의 균주는 0 ㎜의 병징을 보이는 비병원성 균주임을 알 수 있었다. 사과에서 분리한 *C. acutatum* A2-1 group은 고추에 대해 약하거나 대부분이 병원성이 없었고, *C. acutatum* A3도 동일한 결과를 보였다. 사과에서 분리한 *C. gloeosporioides* 역시 고추에는 병을 일으키지 못하였다. 고추에 대한 무상처접종의 결과, 고추에서 분리한 *C. acutatum* A2-2의 경우 몇 균주만이 중간병원성(25~50%)을 지니고 25개의 균주가 ≥50%의 병징으로 고병원성을 나타내었다. A2-1에 속한 네 균주의 경우에도 0.0~1.0%의 없거나 낮은 발병률을 나타내었다. 고추에서 분리한 *C. gloeosporioides*는 무상처접종에서 0.0~1.7%의 발병률을 나타내어 저병원성이거나 대부분이 비병원성을 띄었다. 사과에서 분리한 *C. acutatum* A2-1은 고추에 대해 0.0~15.0%의 발병률을 보여 저병원성이거나 대부분이 비병원성이었으며, A3 집단의 경우 전혀 병을 일으키지 못하는 비병원성 균주로 나타났다.

사과에 상처접종 결과, 고추에서 분리한 *C. acutatum* A2-2 group은 <10 mm와 10≤x<30 mm의 병장이 형성되어 저병원성이거나 중간병원성을 나타내었다. 고추에 대해 비병원성 균주이면서, 고추에서 분리된 *C. acutatum* A2-1 집단에 속하는 12CSPC16 균주는 저병원성 나타내었다. 고추에서 분리한 *C. gloeosporioides*는 고추에서 분리한 *C. acutatum*과 유사하게 중간병원성이거나 저병원성을 보였다. 사과에서 분리한 *C. acutatum* A2-1도 고추에서 분리한 *C. gloeosporioides*와 마찬가지의 결과를 나타냈고, *C. acutatum* A3경우 2개의 균을 제외한 나머지 6개의 균주는 중간병원성을 보여 일반적으로 A2-1 group보다 높은 병원성 결과를 보였다. 사과에서 분리한 *C. gloeosporioides*는 접종 실험에 사용된 모든 균주가 ≥30 mm이상의 병장과 10~30 mm의 병장으로 고병원성과 중간병원성을 나타내었다. 사과열매에 대한 무상처접종의 결과, 사과열매에서 분리한 *C. gloeosporioides*는 저병원성이거나 비병원성을 띄었고, 나머지 사과와 고추에서 분리한 종들은 사과에 대해 비병원성을 보였다(Table 3-16).

## wound non-wound wound

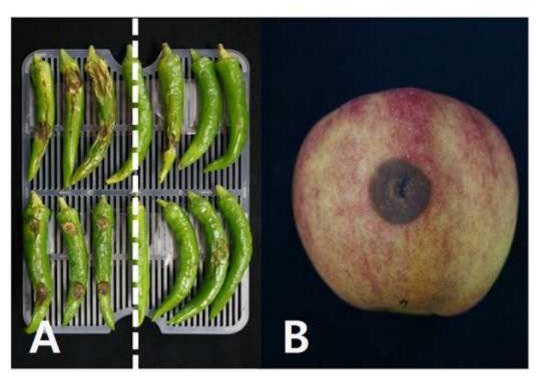


Fig. 3-41. Inoculation test of anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum* and *Colletotrichum gloeosporioides* from apple and pepper. A; test used pepper (left; wound inoculation, Right; non-wound inoculation) B; test used apple (wound inoculation).

**Table 3–16.** Pathogenicity about pepper and apple of *C. acutatum* and *C. gloeosporioides* isolates from apple and

pepper

TT /	Species	T 1.	Greer	n pepper	Apple
Host	(genotype)	Isolates -	Wound (mm)	Nonwound (%)	Wound (mm)
		JC24	$23.13 \pm 2.49^{b}$	38.33 ± 37.80	13.49 ± 6.88
		12CS27	$27.20 \pm 1.24$	$40.00 \pm 28.28$	$7.80 \pm 7.79$
		12CS28	$27.20 \pm 1.24$	$5.29 \pm 3.74$	$5.92 \pm 7.25$
	Colletotrichum	12CSnaBD38	$7.40 \pm 9.06$	$1.67 \pm 2.04$	$5.75 \pm 5.31$
	acutatum ( A2-2)	12CSnaBD39	$30.43 \pm 5.75$	$75.00 \pm 9.35$	$17.87 \pm 1.60$
		12CSnaTW65	$21.33 \pm 0.53$	$41.67 \pm 5.40$	$16.63 \pm 3.99$
		12CSnaTW66	$30.43 \pm 1.76$	$68.33 \pm 5.40$	$15.49 \pm 7.89$
		12CS72	$29.67 \pm 3.02$	$55.00 \pm 18.37$	$8.85 \pm 6.21$
Pepper	(A2-1)	12CSPC16	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$3.20 \pm 0.93$
		12CSPC3	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$4.65 \pm 0.62$
		12CSPC4	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$14.29 \pm 6.81$
		12CSTW7	$0.67 \pm 0.82$	$0.33 \pm 0.41$	$13.80 \pm 12.00$
	Colletotrichum	12CSTW9	$5.27 \pm 1.45$	$1.67 \pm 1.08$	$8.27 \pm 2.63$
	gloeosporioides	12CSBD12	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$18.17 \pm 2.20$
		12CSPC76	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$19.74 \pm 1.04$
		12CSPC77	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$19.36 \pm 7.58$
		12CSPC78	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$12.37 \pm 8.16$
		12CSApTW13	3.00 ± 3.67	$2.67 \pm 3.27$	$7.62 \pm 6.72$
		12CSApTW17	$7.00 \pm 2.55$	$15.00 \pm 3.54$	$3.62 \pm 0.42$
		AD-F 08001	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$2.40 \pm 1.53$
	Colletotrichum	AD-F 08006	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$4.05 \pm 0.09$
	acutatum (A2-1)	AD-F 08010	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$13.67 \pm 9.20$
		GW-F 08001	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$23.03 \pm 5.97$
		KJ-F 08007B	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$17.35 \pm 5.28$
		KJ-F 08029	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$
		CS-F 08004	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	9.71 ± 7.19
		GW-F 08004	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$20.23 \pm 3.23$
		GW-F 08005	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$14.44 \pm 9.20$
A 1	Colletotrichum	KJ-F 08009	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$11.02 \pm 8.29$
Apple	acutatum (A3)	KJ-F 08012	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$13.39 \pm 6.57$
		KJ-F 08014	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$7.93 \pm 4.95$
		YC-F 08003B	$1.60 \pm 1.96$	$0.00 \pm 0.00$	$14.11 \pm 6.96$
		YJ-SH 10002	$12.43 \pm 8.02$	$0.00 \pm 0.00$	$10.17 \pm 8.11$
		12CSApTW4	0.00 ± 0.00	$0.00 \pm 0.00$	25.71 ± 4.02
		12CSApTW5	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$32.91 \pm 0.89$
		12CSApTW6	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$26.69 \pm 1.56$
	Colletotrichum	12CSApTW8	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$35.00 \pm 3.80$
	gloeosporioides	12CSApTW9	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$28.55 \pm 6.80$
		12CSApTW16	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$27.24 \pm 4.66$
		YC247	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$24.30 \pm 0.67$
		Andonghonok 2010	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$24.30 \pm 1.52$

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> Non-wound method was dropped the inoculum on 6mm filter paper and then attached.

### (J) 푸른 고추와 붉은 고추에 대한 병원성 차이

푸른 고추와 붉은 고추에 대한 병원성을 비교 해보았다. 상처접종 결과, 고추에서 분리한 C. acutatum A2-2 균주들은 고추에 대해서 성숙도와 상관없이  $21 \, \mathrm{mm}$  이상의 병징으로 중간병원 성이거나 고병원성임을 보여주었다. 고추에서 분리한 C. gloeosporioides 균주는 푸른 고추에

<sup>&</sup>lt;sup>b</sup> ± = Standard error.

저병원성이거나 비병원성이었지만, 붉은 고추에 대해서 중간병원성을 보여주었다. 사과에서 분리한 C. acutatum A2-1 균주는 고추에서 분리한 C. acutatum A2-2 균주들과는 다르게 붉은 고추에서 중간병원성을 보인 반면, 푸른 고추에서 저병원성과 비병원성을 나타내었다. 사과에서 분리한 C. acutatum A3 균주는 푸른 고추에 대해서 비병원성, 저병원성과 중간병원성을 보여주었고, 붉은 고추와 사과에 대해서 중간병원성과 비병원성을 보여주었다. 사과에서 분리한 C. gloeosporioides 균주들은 푸른 고추에 대해서 비병원성을 나타내었지만, 붉은 고추에 대해서 중간병원성을 보였다. 무상처접종 결과, 고추에서 분리한 C. acutatum A2-2 균주들은 푸른 고추에 대해서 병원성이 아주 낮게 나왔다. 고추에서 분리한 C. gloeosporioides 균주들은 푸른 고추와 붉은 고추 모두에서 병을 일으키지 못하거나 병이 발생하더라도 발생 정도가 매우 미미하였다. 사과에서 분리한 C. acutatum C0 감사과에서 분리한 C0 있다는 C1 교육 기가 매우 미미하였다. 사과에서 분리한 C2 모두들을 무른 고추와 붉은 고추에 무상처 접종하였을 경우에 병원성이 없거나 매우 미미하였다. (Table C3-17, Fig. 3-42).

**Table 3-17.** Pathogenicity of *Colletotrichum acutatum* and *Colletotrichum gloeosporioides* for the difference about mature degree of the pepper fruits

	gioeosporioid	es for the till	referice about	mature degree	or the pepper	11 uits				
	Species		Pathogenicity of fruits							
Host	(genotype)	Isolates	Green	pepper	Red	pepper				
	(genotype)		Wound(mm) <sup>a</sup>	Non-wound(%)b	Wound (mm)	Non-wound (%)				
		12CSnaBD39	$30.43 \pm 5.75^{\circ}$	75.00 ± 9.35	$21.04 \pm 1.40$	8.33 ± 10.21				
	Colletotrichum acutatum (A2-2)	12CSnaTW65	$21.33 \pm 0.53$	$41.67 \pm 5.40$	$23.19 \pm 7.15$	$3.33 \pm 4.08$				
	acutatum ( $A2^{-}2$ )	JC24	$23.13 \pm 2.49$	$38.33 \pm 37.80$	$19.67 \pm 5.42$	$8.00 \pm 1.87$				
Pepper		12CSTW7	$0.67 \pm 0.82$	$0.33 \pm 0.41$	14.87 ± 3.21	$0.00 \pm 0.00$				
	Colletotrichum	12CSTW9	$5.27 \pm 1.45$	$1.67 \pm 1.08$	$17.50 \pm 4.12$	$0.00 \pm 0.00$				
	gloeosporioides	12CSBD12	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$17.68 \pm 1.60$	$4.00 \pm 2.45$				
		12CSPC76	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$11.36 \pm 5.29$	$4.00 \pm 3.67$				
		12CSApTW13	$3.00 \pm 3.67$	$2.67 \pm 3.27$	$10.08 \pm 2.37$	2.67 ± 3.27				
	Colletotrichum	12CSApTW17	$7.00 \pm 2.55$	$15.00 \pm 3.54$	$12.55 \pm 6.67$	$6.67 \pm 4.08$				
	acutatum (A2-1)	AD-F08001	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$19.84 \pm 7.46$	$5.00 \pm 3.24$				
		AD-F08006	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$6.90 \pm 1.32$	$4.33 \pm 2.68$				
Apple		GW-F 08005	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$0.67 \pm 0.82$				
	Colletotrichum	KJ-F 08009	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$9.81 \pm 1.79$	$2.33 \pm 1.08$				
	acutatum (A3)	YC-F 08003B	$1.60 \pm 1.96$	$0.00 \pm 0.00$	$13.40 \pm 3.49$	$1.67 \pm 2.04$				
		YJ-SH 10002	$12.43 \pm 8.02$	$0.00 \pm 0.00$	$11.28 \pm 3.72$	$4.00 \pm 1.22$				
	Colletotrichum	12CSApTW6	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	19.31 ± 2.58	$1.67 \pm 2.04$				
	gloeosporioides	12CSApTW8	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$23.20 \pm 8.04$	$0.00 \pm 0.00$				

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> Wound method was dropped the spore suspension.

<sup>&</sup>lt;sup>b</sup> Spray inoculation method was used. wax-removed by dipping in chloroform for 3sec.

c ± = Standard error.

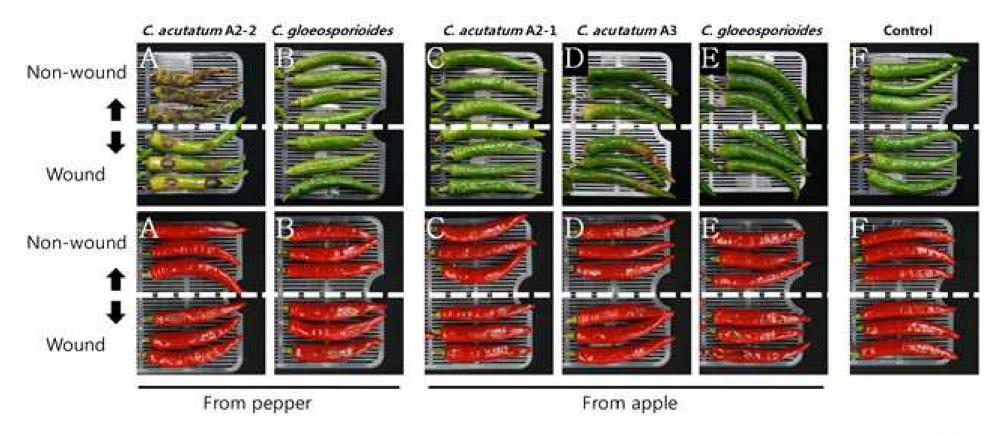


Fig. 3–42. Disease symptoms by wound and non-wound inoculation used green and red pepper fruits of *C. acutatum* A2–2 (A), *C. acutatum* A2–1 (C), *C. acutatum* A3 (D) and *C. gloeosporioides* (B, E) isolates used in this study. Isolated from pepper (A, B); 12CSnaBD39 (A), 12CSTW9 (B). Isolated from apple (C–E); 12CSApTW13 (C), YJ–SH 10002 (D), 12CSApTW12–1 (E). Control (F); Sterile distilled water.

- ⑤ 탄저병균의 병원성에 영향을 미치는 요인
- ② 고추 열매 표면에서 탄저병균의 포자 발아와 부착기 형성

'녹광' 고추와 '홍로' 사과 표면에서 탄저병균을 무상처 분무접종하고 72시간 후에 열매 표 면상에서 분생포자의 발아율과 부착기 형성률을 광학현미경으로 조사되었다. 고추와 사과열매 에서 분리한 *C. gloeosporioides*의 경우 25℃에서 푸른 고추 위에서 발아율은 78.5%와 84.3%, 부착기 형성률은 74.0%와 81.2%를 보였고, 붉은 고추에서는 발아율이 84.7%와 90.5%, 부착기 형성률이 47.3%와 84.5%를 보여, *C. acutatum* 균주들보다 높은 부착기 형성률을 보여주었다 (Fig. 3-43 and Fig. 3-44). 하지만 푸른 고추와 붉은 고추의 차이가 병원균의 발아율과 부착기 의 형성률에 유의성 있는 차이를 보이지 않았다. C. acutatum 균주들의 경우 고추 열매의 표 면에 대해 genotype에 따른 차이가 보이지 않고 병원성과 관계없이 비슷한 포자 발아율과 부 착기 형성률을 보였다. 25℃와 30℃의 온도에 대해서 발아율과 부착기 형성률은 거의 차이를 나타내지 않았다. 25℃의 온도 조건에서 사과의 표면에서 발아율과 부착기 형성률을 보았을 때, 고추에서 분리한 *C. acutatum* A2-2 균주들의 경우 발아율이 평균 79.2%, *C.* gloeosporioides의 균주들은 87.5%를 나타내었고, 부착기 형성률이 평균 33.8%과 30.5%를 나 타내었고, 사과열매에서 분리한 *C. acutatum* A2-1 균주들의 경우 발아율이 평균 95.7%, *C.* acutatum A3 균주들은 86.2, C. gloeosporioides의 균주들은 92.7%를 나타내었고, 부착기 형성 률은 평균 72.5%, 34.8%, 58.3%를 나타내었지만 발병률과는 유의 차이가 없었다. 30℃의 사과 의 표면에서 부착기 형성률을 조사 하였을 때 사과에서 분리한 C. gloeosporioides의 균주들과 다른 균주들 간의 유의성 있는 차이가 확인되었다(Fig. 3-45). 고추 열매의 성숙, 접종 온도 등 과 관계없이 실험에 사용한 모든 균주들은 높은 발아율과 부착기 형성률을 보여주었으며, C. gloeosporioides 12CSApTW6 균주는 기주와 관계없이 높은 발아율과 부착기 형성률을 보여주 었다(Fig. 3-43 and Fig. 3-44).

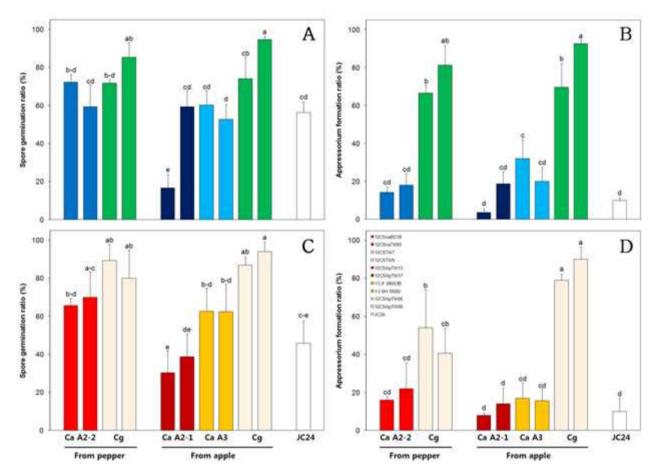


Fig. 3-43. Spore germination and appressorium formation ratio (%) of *Colletotrichum acutatum* A2-2 and A2-1, *C. acutatum* A3 and *C. gloeosporioides* at humidity periods on immature (A, B) and mature (C, D) pepper fruits 'Nokgwang' and under the different temperatures at 3 day after inoculation on  $25^{\circ}$ C. Ca A2-2; *C. acutatum* A2-2 group, Ca A2-1; *C. acutatum* A2-1 group, Cg; *C. gloeosporioides.*  $\pm$  = Standard error. The same letter over the bar are not significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test (SAS Institute, 2010).

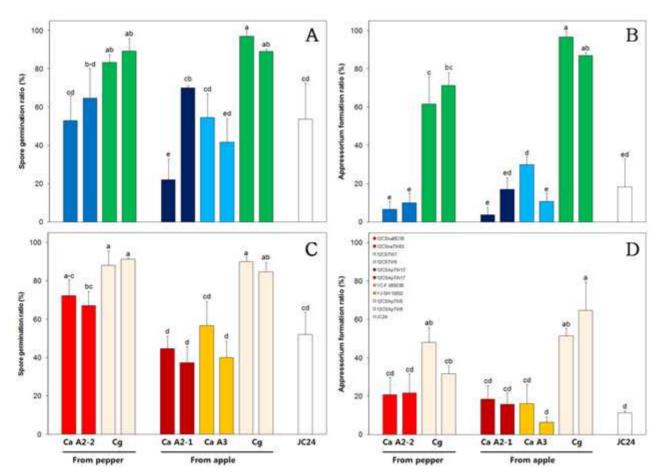


Fig. 3-44. Spore germination and appressorium formation ratio (%) of *Colletotrichum acutatum* A2-2 and A2-1, *C. acutatum* A3 and *C. gloeosporioides* at humidity periods on immature (A, B) and mature (C, D) pepper fruits 'Nokgwang' and under the different temperatures at 3 day after inoculation on  $30^{\circ}$ C. Ca A2-2; *C. acutatum* A2-2 group, Ca A2-1; *C. acutatum* A2-1 group, Cg; *C. gloeosporioides*.  $\pm$  = Standard error. The same letter over the bar are not significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test (SAS Institute, 2010).

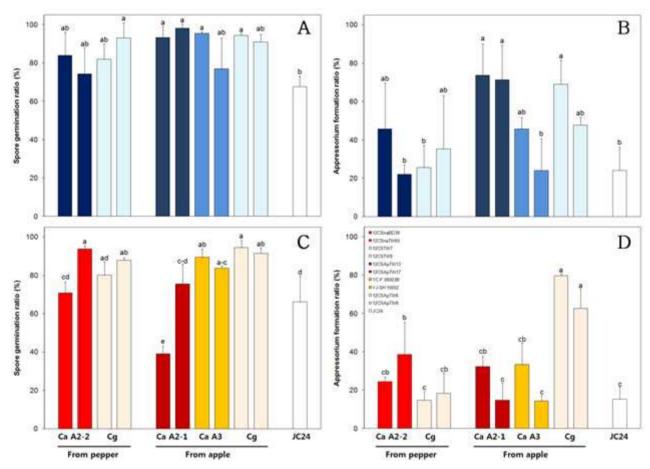


Fig. 3–45. Spore germination and appressorium formation ratio (%) of *Colletotrichum acutatum* A2–2 and A2–1, *C. acutatum* A3 and *C. gloeosporioides* at humidity periods on mature apple fruits 'Hongro' and under the different temperatures at 3 day after inoculation on  $25^{\circ}$ C (A, B) and  $30^{\circ}$ C (C, D). Ca A2–2; *C. acutatum* A2–2 group, Ca A2–1; *C. acutatum* A2–1 group, Cg; *C. gloeosporioides*.  $\pm$  = Standard error. The same letter over the bar are not significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test (SAS Institute, 2010).

### ( ) ABA 처리와 열매의 Wax 층 제거가 병원성에 미치는 영향

병원균을 상처접종하면서 2 mM의 ABA를 첨가하여 ABA가 탄저병균의 병원성에 미치는 영향을 조사하였다(Table 3-8). 그 결과, 고추에서 분리한 *C. acutatum* A2-2 균주들은 ABA를 처리하였을 때, 약간의 병원성이 증가되었다. 푸른 고추에 대해서 비병원성을 보였던 고추에서 분리한 *C. gloeosporioides* 균주들은 붉은 고추에 상처 접종하였을 경우 병원성이 증가하였을 뿐만 아니라, 푸른 고추에도 ABA를 첨가하여 상처 접종할 경우 병원성이 증가하였다. 사과에서 분리한 *C. acutatum* A2-1 균주는 ABA 첨가한 푸른 고추와 ABA 첨가 없이 붉은 고추에 상처접종을 하면, 푸른 고추에서 미미하거나 나타나지 않았던 병원성이 나타나며 상승하는 것을 확인하였다. 하지만, AD-F 08006 균주의 경우 ABA를 첨가하였음에도 불구하고 푸른 고추에서 병원성이 나타나지 않았다. 사과열매에서 분리한 *C. acutatum* A3 균주와 *C. gloeosporioides* 균주들은 푸른 고추에 대해서 비병원성이 없거나 미미하였더라도 ABA를 첨가하여 상처 접종하거나, 붉은 고추에 상처 접종하였을 경우에는 병원성이 전반적으로 상승하였다.

고추 열매에서 wax 층 제거가 병원균의 병원성에 미치는 영향을 조사하였다. 푸른 고추와 붉은 고추를 chloroform에 3초간 담가 왁스 층을 제거하고 병원균을 무상처 접종하였을 때, 열매 모두 발병률이 증가하였다. 특히, A2-2 group에 속하는 균주의 경우 chloroform 처리를 하지 않은 붉은 고추에서 발병률이 푸른 고추에 비해 감소하지만, 붉은 고추에 chloroform을 처리하여 was 층을 제거한 후에 무상처 분무접종을 하면 발병률이 증가하였다(Fig. 3-46, Table 3-18).

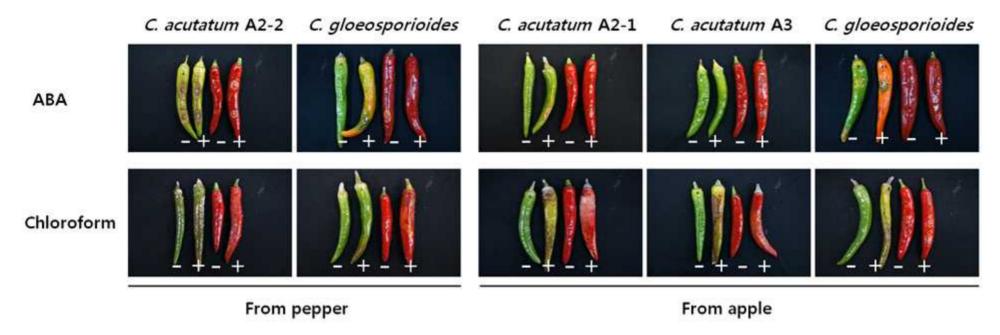


Fig. 3-46. Effect of wound inoculation by abscisic acid (ABA) treatment and non-wounded inoculation by wax-removed by dipping in chloroform for 3sec on pathogenicity of *C. acutatum* A2-2 (A), *C. acutatum* A2-1 (C), *C. acutatum* A3 (D) and *C. gloeosporioides* (B, E) isolates used from pepper and apple. Isolated from pepper (A, B); 12CSnaBD39 (A), 12CSTW9 (B). Isolated from apple (C-E); 12CSApTW13 (C), YJ-SH 10002 (D), 12CSApTW12-1 (E). Control (F); Sterile distilled water.

Table 3-18. Pathogenicity of C. acutatumand C. gloeosporioides about difference treatment that the ABA and chloroform

						Trea	tment					
Host	Species	cies Isolates -		ABA (1	nm) <sup>a</sup>		Chloroform (%) <sup>b</sup>					
11051	(genotype)	isolates	Green pepper Red pepper			Green		Red pepper				
			Non-treat	Treat	Non-treat	Treat	Non-treat	Treat	Non-treat	Treat		
	Colletotrichum	12CSnaBD39	$26.93 \pm 2.23^{\circ}$	$30.85 \pm 1.35$	$25.68 \pm 1.19$	$31.52 \pm 1.73$	$60.00 \pm 12.25$	$80.00 \pm 7.07$	$36.67 \pm 4.08$	$93.33 \pm 2.04$		
	acutatum	12CSnaTW65	$29.60 \pm 3.08$	$27.47 \pm 5.88$	$19.69 \pm 1.70$	$20.91 \pm 3.71$	$50.00 \pm 0.00$	$70.00 \pm 7.07$	$30.00 \pm 14.14$	$95.00 \pm 3.54$		
Pepper	(A2-2)	JC24	$20.32 \pm 5.39$	$32.25 \pm 4.63$	$19.67 \pm 5.42$	$22.41 \pm 5.09$	$65.00 \pm 21.51$	$93.33 \pm 8.16$	$40.00 \pm 9.35$	$51.67 \pm 5.40$		
		12CSTW7	$0.00 \pm 0.00$	$3.36 \pm 4.11$	$13.43 \pm 3.79$	$14.05 \pm 2.04$	$0.00 \pm 0.00$	$11.67 \pm 2.04$	$5.00 \pm 6.12$	$10.00 \pm 0.00$		
	Colletotrichum	12CSTW9	$0.00 \pm 0.00$	$7.70 \pm 6.86$	$7.57 \pm 4.86$	$18.18 \pm 5.16$	$0.00 \pm 0.00$	$38.33 \pm 23.54$	$0.00 \pm 0.00$	$35.00 \pm 27.61$		
	gloeosporioides	12CSBD12	$0.00 \pm 0.00$	$2.53 \pm 1.56$	$17.68 \pm 1.60$	$23.72 \pm 7.91$	$3.33 \pm 4.08$	$51.67 \pm 24.07$	$20.00 \pm 12.25$	$33.33 \pm 4.08$		
		12CSPC76	$0.00 \pm 0.00$	$1.40 \pm 1.71$	$11.36 \pm 5.29$	$11.60 \pm 4.04$	$1.00 \pm 1.22$	$33.33 \pm 16.33$	$20.00 \pm 18.37$	$53.33 \pm 30.07$		
		12CSApTW13	0.97 ± 1.18	15.35 ± 2.46	16.96 ± 5.63	11.73 ± 1.07	3.33 ± 2.04	60.00 ± 7.07	6.67 ± 2.04	31.67 ± 15.94		
	Colletotrichum	12CSApTW17	$1.14 \pm 1.40$	$16.30 \pm 6.51$	$26.37 \pm 7.11$	$17.12 \pm 5.36$	$0.00 \pm 0.00$	$55.00 \pm 9.35$	$18.33 \pm 7.36$	$66.67 \pm 22.73$		
	acutatum (A2-1)	AD-F08001	$0.00 \pm 0.00$	$12.73 \pm 7.40$	$19.81 \pm 7.45$	$9.83 \pm 4.99$	$0.00 \pm 0.00$	$65.00 \pm 3.54$	$25.00 \pm 16.20$	$63.33 \pm 17.44$		
		AD-F08006	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$6.89 \pm 1.30$	$10.15 \pm 5.56$	$0.00 \pm 0.00$	$36.67 \pm 2.04$	$21.67 \pm 13.39$	$78.33 \pm 14.72$		
Apple		GW-F 08005	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	21.67 ± 2.04	$3.33 \pm 4.08$	76.67 ± 14.72		
	Colletotrichum	KJ-F 08009	$0.00 \pm 0.00$	$1.67 \pm 1.04$	$9.81 \pm 1.79$	$8.03 \pm 3.36$	$0.00 \pm 0.00$	$36.67 \pm 2.04$	$11.67 \pm 5.40$	$56.67 \pm 10.80$		
	acutatum (A3)	YC-F 08003B	$4.85 \pm 1.77$	$13.93 \pm 4.93$	$23.03 \pm 5.80$	$27.58 \pm 3.34$	$0.00 \pm 0.00$	$43.33 \pm 17.80$	$21.67 \pm 5.40$	$46.67 \pm 32.85$		
		YJ-SH 10002	$0.00 \pm 0.00$	$8.29 \pm 6.45$	$11.83 \pm 0.20$	$16.42 \pm 1.06$	$0.00 \pm 0.00$	$80.00 \pm 0.00$	$18.33 \pm 13.39$	$21.67 \pm 2.04$		
	Colletotrichum	12CSApTW6	$0.00 \pm 0.00$	11.81 ± 1.83	$13.97 \pm 4.58$	10.25 ± 2.99	$0.00 \pm 0.00$	50.00 ± 0.00	$28.33 \pm 14.72$	53.33 ± 29.44		
	gloeosporioides	12CSApTW8	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$7.27 \pm 0.92$	$17.44 \pm 4.73$	$0.00 \pm 0.00$	$45.00 \pm 6.12$	$1.67 \pm 2.04$	$26.67 \pm 2.04$		

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> Wound method was dropped the spore suspension.

<sup>&</sup>lt;sup>b</sup> Spray inoculation method was used.

c ± = Standard error.

### (다) 고 찰

기주의 범위가 넓은 탄저병균에 대해 집단 간의 관계 및 차이를 분석하는 실험이 활발히 이루어지고 있다(김, 2013a; Jelev, 2008; Than, 2008). 청송군처럼 사과와 고추가 전국에서 높은 비중을 차지하며, 재배지역이 가깝거나 혼합재배가 많은 지역에서의 탄저병균 집단 분석이 이루어져야 할 필요가 있어 본 실험을 진행하였다. 고추 탄저병균의 발생기간은 6월에서 8월경에 주로 *C. acutatum*에 의해서 열매에 탄저병이 발생하고(김, 2013a), 사과 탄저병은 7월 하순부터 수확기까지 감염되며 8월 하순 이후에는 감염이 크게 둔화되는 것으로 알려져 있다(엄과이, 2000). 따라서 탄저병에 의해 많은 피해가 발생되는 8월과 9월에 청송군에서 고추와 사과의 전형적인 탄저병 병반에서 탄저병균을 분리하였다.

최근 많은 보고에서 탄저병균인 Colletotrichum의 동정을 위해, 전통적인 분류에서 분생포자의 형태와 크기, 균사 생장 속도를 기준으로 비교 하고, 유전적 방법인 specific primer에 의한 동정, rDNA-ITS 영역과 β-tubulin 유전자의 염기서열을 가지고 동정하고 있다 (Afanador-Kafuri 등, 2003; Jelev 등, 2008; Than 등, 2008). 본 실험에서도 이와 같이 실시하였고, 그 결과, 청송지역에서 분리한 고추와 사과 탄저병은 *C. acutatum*과 *C. gloeosporioides* 의 두 종이 동정되었고, 고추 탄저병에서는 *C. acutatum*이 89.5%를 차지하며, 사과 탄저병에서는 *C. gloeosporioides*가 88.9%를 차지하여 청송에서 발생되는 고추와 사과에서 탄저병균의 우점종이 다르다는 것을 알 수 있었다.

고추와 사과에서 분리한 균주들의 분생포자 형태적 특징을 비교하였을 때, *C. acutatum*과 *C. gloeosporioides*는 이전의 보고와 특징이 유사하였다(Than 등, 2008; 김, 2013a). 일반적으로 기주와 관계없이 *C. gloeosporioides*는 *C. acutatum*에 비해 분생포자의 평균크기가 컸다. 또한, 대부분의 *C. gloeosporioides*의 분생포자는 cylindric 형태를 보였다. 고추와 사과에서 분리한 *C. acutatum* A2 group의 경우 기주와 관계없이 유사한 형태를 보였다. 이와는 반대로 *C. acutatum* A3 group은 양쪽 모서리가 뾰족한 fusiform 형태가 많은 비율을 나타내냈고, 분생포자의 크기가 양쪽 종의 중간 크기에 위치하여 전혀 다른 집단인 것을 형태적으로 알 수 있었다.

고추와 사과에서 분리한 균주들의 균사생장도 마찬가지로 이전보고와 특성이 유사하였는데, 청송지역 고추에서 분리한 *C. acutatum*에 비해 *C. gloeosporioides*는 균사생장속도가 빨랐고, 고추와 유전적으로 먼 거리에 있는 사과에서 분리한 두 종 역시 앞선 결과와 유사하였다. 이러한 결과는 김(2013a)이 보고한 고추와 가까운 열매인 구기자에서 분리한 *C. gloeosporioides*와 *C. acutatum*의 균사생장속도 보고와는 다른 결과를 보여주었다. PDA에서 배양된 균총의 색깔은 청송에서 분리한 균주의 경우 기주가 다르더라도 종에 따라 색이 구분되었다. 고추와 사과에서 분리한 *C. gloeosporioides*는 Gray와 Darkkhaki 또는 Cornsilk가 섞인 색을 보였고, 고추와 사과에서 분리한 *C. acutatum*은 Ivory와 Gray가 섞인 크림색 균총을 나타내었다. 하지만, 경북대에서 분양받은 균주 중 Sreenivasaprasad와 Talhinhas(2005)가 보고한 *C. acutatum*의

genotype의 A3 group에 속한 균주들의 경우 균총의 색깔이 전혀 다른 Salmon 또는 Darksalmon의 색을 보였으며, 고추에서 분리한 *C. gloeosporioides* 중 몇몇 균은 White와 Ligthgray의 색을 띄어, 고추와 사과에 발생하는 탄저병균은 기주에 따라 우점종의 경우 동질 성을 띈다는 것을 알 수 있었다.

고추와 사과 탄저병균에 대해 유전적으로 분석하기 위하여, 분리한 모든 rDNA-ITS 영역과 β-tubulin2 유전자의 염기서열로 phylogenetic tree를 작성하여 분석을 하 고, RAPD를 통한 패턴의 비교로 dendrogram을 작성하여 분석하였다. ITS 영역을 분석한 결 과 Whitelaw-Weckert 등(2007)이 나눈 genotype에 따라, 청송지역 고추에서 분리한 균주들 중 68균주는 C. acutatum A2 group이었고, 8개의 균주는 C. gloeosporioides로 나뉘었다. 경북대 에서 분양 받은 34개의 균주들 중 14개의 균주는 C. acutatum A2 group이었고, 17개의 균주는 C. acutatum A3 group이었으며, 3개의 균주가 C. gloeosporioides로 나뉘었다. 청송지역 사과 에서 분리한 18개의 균주들 중 2개의 균주가 *C. acutatum* A2 group이었고, 16개의 균주는 *C.* gloeosporioides로 나뉘었지만, 기주와 병원성에 따라 나눠지지 않았다. β-tubulin 유전자의 염 기서열의 결과 C. acutatum에서 먼저 genotype이 분류되어 지고 C. acutatum A2 group이 A2-2와 A2-1집단으로 나누어 졌다. A2-1과 A2-2 group의 구분은 ITS 영역의 tree보다 β -tubulin 유전자의 염기서열로 분석하였을 때 더 명확하게 나타났다. C. gloeosporioides는 ITS결과와 유사하게 나타났다. 두 가지 유전자를 함께 분석한 결과, Sreenivasaprasad와 Talhinhas(2005)가 보고한 C. acutatum의 genotype A2 집단에서 기주가 사과인 A3 집단과의 중간 단계인 A2-1이 있으며, A2-1 집단에서는 두 가지의 기주가 있고, 고추를 기주로 하는 균 주들이 포함된 A2-2 집단으로 나누어지는 것을 볼 수 있었다. C. gloeosporioides의 결과 고추 에서 분리한 12CSTW9 균주가 먼저 분류되어 지고, 고추가 기주인 group과 기주가 혼합된 group이 나누어 졌지만, C. acutatum처럼 확연한 차이를 보이지 않았다. RAPD의 결과 ITS 영 역과, β-tubulin 유전자 분석의 결과처럼, 종과 genotype이 명확하게 구분되었으며, 기주에 따 라 분리되는 것을 볼 수가 있었다. 또한, 크게 C. acutatum에서 3개의 group을 통해 병원성의 차이가 구분되는 것을 알 수 있었다. rDNA-ITS 영역, β-tubulin 유전자, RAPD의 결과를 통 해, 사과에서 분리한 C. acutatum과 C. gloeosporioides, 고추에서 분리한 C. acutatum과 C. gloeosporioides로 나눠지는 것을 알 수가 있고, 병원성의 정도에 따라 나눠진다는 것을 알 수 있었다. 계통발생적으로 비교하였을 때, C. acutatum의 경우 사과가 기주인 A3 집단에서 A2-1 의 집단이 발생하고, 고추가 기주인 A2-2가 나중에 분화된 것으로 보여 *C. acutatum*의 집단이 사과에서 고추로 기주가 이동된 것으로 생각된다. C. gloeosporioides의 경우 기주에 따라 나 눠지지 않았다.

다른 기주에 속한 집단 간의 분석은 딸기에서 분리한 탄저병균을 블루베리와 비교하거나 망고, 토마토, 사과, 복숭아, 아카시아나무 그리고 고추에서 분리한 탄저병균을 두 기주 또는 여러 기주에 대해 병원성을 비교하는 등의 집단에 대한 비교 실험들이 많이 이루어지고 있다 (Kim, 2003; Jelev, 2008; MacKenzie, 2009; Than, 2008). 이와 같은 병원성의 비교는 병원균

집단의 교차 감염을 확인하기 위해 많이 이루어지고 있다. 최근 김(2013a)은 고추와 유전적으로 가까운 구기자의 탄저병균에 대해 병원성의 차이를 조사하였으며, 고추와 구기자에서 분리한 탄저병균이 모두 구기자에 병원성을 일으켰지만 병원성 정도의 차이는 있다고 보고하였다. 본 실험에서는 고추와 사과에서 각각 분리한 균주를 수확기의 두 기주에 대하여 병원성 실험과 부착기 실험을 하였다. 고추의 경우 녹광 품종의 푸른 고추와 붉은 고추, 사과의 경우 홍로를 사용하였다. 사과열매에 상처접종 결과 고추에서 분리한 *C. acutatum*과 *C. gloeosporioides* 는 사과에 대해서 일반적으로 중간병원성이상을 나타내고 있는 것을 확인하였다. 반면, 고추에서 분리한 *C. gloeosporioides* 12CSTW9의 경우 사과열매에 대해 저병원성을 띄었다. 사과에서 분리한 *C. acutatum* A2-1 집단의 경우 사과에 대해 중간병원성을 나타내었고, 사과에 분리한 *C. gloeosporioides*는 사과에 대해서 고병원성을 나타내었다.

푸른 고추에 상처접종 결과 고추에서 분리한 *C. acutatum* A2-2는 푸른 고추에 대해 높은 병원성을 확인하였고, 고추에서 분리했음에도 불구하고 *C. acutatum* A2-1의 경우 비병원성과 저병원성을 나타내었다. 고추에서 분리한 *C. gloeosporioides* 12CSTW9는 고추에 대해서 저병원성을 나타내었고, 나머지 균주들의 경우 대부분이 비병원성을 나타내고 있는 것을 확인하였다. 사과에서 분리한 *C. acutatum* A2-1 또한 고추 열매에 대해 저병원성과 비병원성을 나타내었고, 사과에서 분리한 *C. gloeosporioides*는 푸른 고추에 대해서 비병원성을 나타내었다. 이와 같은 결과는 분리한 작물에 대해 병원성이 크다는 Adaskaveg와 Hartin(1997)의 보고와 부합되었다. 병원성의 결과는 계통발생적으로 나눈 group과 관계가 있었으며, 실제 재배지역에서의 두 기주에 대한 자연적인 교차 감염의 가능성을 말해준다고 생각된다.

감염은 포자의 발아와 부착기 형성이 관여하는 것으로 알려져 있다. 일부 식물병원균의 부착기는 병원균이 기주식물을 침투하는데 요소 중 하나로, 부착기의 멜라닌화로 인해 압력이 발생하고, 기계적 침입을 가능하게 해주며, 발아관을 통해 기공이나 상처를 침입하여 감염시킨다 (Wharton과 Diéguez- Uribeonodo, 2004). 기주에 따른 균주들의 병원성의 차이가 나타나기 때문에 기주와 발아율, 부착기 형성률간의 비례적인 연관성이 있는지 알아보았다. 그 결과, 포자의 발아율과 부착기 형성률은 푸른 고추에 대해 병원성이 낮거나 없던 *C. gloeosporioides*에서 열매의 종류와 관계없이 발아율과 부착기 형성률이 높았다. 일반적으로 *C. acutatum*의 경우 *C. gloeosporioides*에 비해 낮은 비율을 나타내었지만, 성숙도에 따른 차이는 보이지 않았다. 고추에서 분리한 *C. acutatum* genotype에 따른 포자의 발아율과 부착기 형성률은 유의적인 차이가 없었다. 이 결과를 통해, 포자의 발아율과 부착기 형성률 그리고 병원성은 상관관계가 없었으며, 종과 계통발생에 따른 병원성의 차이는 침입 후 식물체의 인식으로 인한 저항성 반응과 세포내 물질이 관련된다고 생각된다.

열매의 경우 성숙도에 따라 페놀류, 당류, 아미노산 등의 변화가 나타난다. 고추의 경우, 푸른 고추가 sucrose의 성분 비율이 높은 반면, 붉은 고추의 경우 glucose와 fructose의 성분 비율이 높고, 일반적으로 페놀류가 붉은 고추에 대해 일반적으로 높게 나타난다(Park 등, 1988; Park 등, 1989). 하지만, Park 등(1989)은 앞선 구성성분의 차이보다 붉은색으로 변하며 생성되

는 glycoprotein의 차이로 인한 세포막의 인식작용이 고추에서 분리한 C. gloeosporioides 병원 성의 차이를 만든 것으로 보고 있다. 본 실험에서 성숙도에 따른 병원성 실험결과, 일반적으로 붉은 고추에 상처접종을 하였을 때, 실험에 사용된 대부분의 균주들이 기주와 종에 관계없이 병원성을 나타내었다. 병원성 차이를 노화와 전신획득저항성(SAR) 유도를 억제하는 데 관련이 있는 호르몬인 abscisic acid(ABA)를 인위적인 처리를 통한 고추의 감수성 정도의 변화를 유 발시켜 고추 탄저병균의 병원성을 높이는 보고가 있다(Hwang 등, 2008). 앞선 상처접종결과의 성숙도 차이에 따른 병원성 발현 및 증가를 확인해보기 위해, ABA 호르몬을 포자현탁액과 함 께 처리하여 푸른 고추와 붉은 고추에 상처접종을 실시하였다. 그 결과 ABA 첨가에 따라 성 숙된 붉은 고추에 대해서 일반적으로 병원성이 약간 증가하거나 차이는 거의 없이 유사하게 나타났고, 푸른 고추에 대해서는 사용된 균주들 중 병원성이 증가되어 붉은 고추와 유사한 결 과를 나타내거나 비병원성 균주들이 병원성을 나타내었다. 하지만, 일부 12CSATW8, GW-F 08005균의 경우 ABA를 처리 하였음에도 불구하고 푸른 고추에서 병원성을 나타내지 않았으 며, GW-F 08005균주는 붉은 고추에서도 ABA 처리의 차이가 없이 비병원성을 나타내었다. 이 결과를 통해, ABA 호르몬이 병원성 발현 및 증가의 영향을 주며, ABA처리에도 불구하고 비 병원성을 나타낸 균주에는 병원성에 관여하는 또 다른 물질이 있거나 식물체가 보이는 저항성 반응과 관련이 있을 것이라고 생각한다.

붉은 고추에 대해 무상처접종을 실시한 결과, 상처접종결과와는 다르게 일반적으로 저병원성이거나 비병원성을 보였다. 붉은색고추에 대하여 무상처접종은 높은 병원성을 나타냈던 고추에서 분리한 *C. acutatum* A2-2 균주들의 경우 저병원성을 나타내었고, 붉은색 고추에 대해 모든 균주들이 병원성이 떨어졌다. Kim 등(1999)은 고추의 표면의 wax 층의 차이로 인한 물리적방어가 병원성의 차이를 만들며, chloroform으로 제거하였을 경우 병원성이 증가한다고 보고하였다. 본 실험에서 마찬가지로 chloroform을 사용하여 붉은 고추의 wax 층을 제거하고, 무상처접종을 실시하였다. 병원성 결과, 실험에 사용된 모든 균주에 대해서 chloroform을 처리한 붉은색의 고추와 푸른 고추에서 병원성이 증가하거나 비병원성균주들이 병원성을 나타내었다. 이결과로 물체가 가지는 물리적 방어의 제거가 병원성과 연관이 있음을 알 수 있지만 푸른 고추에 대한 병원성 결과에서 상처접종과 상의하게 차이를 나타내었는데, 실험의 방법적인 측면의차이가 있기 때문이라고 생각되며, 식물체의 인식에 따른 저항성발현과 관련이 깊다고 생각된다.

# 4장. 목표달성도 및 관련분야 기여도

## 1절. 목표달성도

세부프로젝트명	세부연구목표	가중치 (%)	달성도 (%)	연구개발 수행내용
	○유전자원 수 집 및 평가	10	100	<ul> <li>▶ 매년 인도 및 중국 수집재료평가 및 신규재료수집</li> <li>○ 고신미 Carolina Reaper 등 12계통, 하늘초 82점 인도에서 34 점수집재료 세대진전 및 특성조사.</li> <li>○ 수집재료들 임성관련 인자분석실시</li> <li>-대부분 RfRf type, 회복친으로 활용 중임.</li> </ul>
	○재료육성	20	100	<ul> <li>▶하늘초x남방계: 고신미 계통으로 선발</li> <li>▶고색소계는 중국 색소추출용 품종 신강철피, 철판초등을 이용하여 CMV+역병 복합내병계 육성.</li> <li>○ 역병생물검정: 1,560점 실시</li> <li>○ 고색소CMV내병계 MS계통육성 61계통세대진전</li> <li>○ 바이러스내병계 세장과형, 건고추형, 색소용계통바이러스 포장저항성 선발 진행</li> <li>○ 인도 고색소 품종(D.Delux)등 후대 F5선발</li> <li>▶ MAS</li> <li>○ 역병 1,950점, CMV 1,328점, BS₂ 32점 마커분석.</li> </ul>
제1세부 -인도남동부 (Guntur)및 북서부지역 (Rajasthan) 수출용 품종개발	○품종육성	40	100	<ul> <li>▶국내 조합성능검정에서 1차선발</li> <li>▶인도 동남부 Guntur (AP주)에서 재배시험실시</li> <li>▶인도 북서부 풋고추 시교사업(현지거래처)</li> <li>○건고추 : ECO870, ECO871(F-3871)가 바이러스 강, 건과양호, 수량성 양호 성능 재확인되어 17kg시교를 생산하여 본격적인 마케팅 시작함.</li> <li>○풋고추:ECO1208, ECO205, F-4337, F-4392 선발 담록, 착과양호, 내서성, 바이러스 강</li> <li>○ 풋고추/건고추 겸용 : ECO4286, F4289, F4322, F4325, F5519, F5523 등 선발함.</li> <li>▶품종보호등록완료 : ECO870</li> <li>▶품종보호출원 중 : ECO871, ECO1208, ECO205, ECO4286</li> </ul>
	○ 종자수출	30	100	▶ 2014: F392, F699: Royalty 8,000-USD      ▶ 2015: F337, F392: 1Royalty2,000-USD      ▶ 2016: ① Royalty: 22,000USD
	소계	100	100	

세부프로젝트명	세부연구목표	가중치 (%)	달성도 (%)	연구개발 수행내용					
	○유전자원 수 집 및 평가	10	100	▶매년 중=	국 수집재료평	불가 및 신규재료수집			
제2세부 -중국 수출용 선초품종개발	○재료육성	20	100	계통육· - 노지에/ - 하우스 - A line ○ 역병 1	성 시험 수행 너 FVT 계통 시험에서 저 육성을 위한 ,950점, CM	- 선발 온신장성선발 여교잡실시 V 1,328점, BS <sub>2</sub> 32점 마커·	분석.		
· 선소품 중개 발	○품종육성	40	100	-하나에스	출원목표 : 5 스1호,2호,3호, 기탁 17점 왼	· · ·	<u></u> 보료		
	○ 종자수출	30	100	목표 : 40만	·불>43만불	불 수출 달성			
	소계	100	100						
				도입성능검	정내역				
	○유전자원 수 집 및 평가	10	100	년차	수집유전자원	비고			
				1년차	76점	단화방(건고추, 남방계), 복화방			
				2년차	222점	단화방 3점, 복화방 1점 등			
				3년차	402점	단화방: 23점, 복화방: 1점 등 분리계통 3	포함		
				4년차 5년차	39점 59점	단화방 남방계23 점, 복화방 3점 등 단화방 남방계 37점, 복화방 9점 등			
	○재료육성	20	100	○매년 한국과 중국 해남도 농장을 이용하여 세 수행함.			 H촉진		
제3세부 -중국 수출용 하늘초형 (upright type)품종개발	○품종육성	)품종육성 40 100		- 복화방 ○ 2015년 - 단화방 남 - 단화방 참	하늘초 1 품 남방계 하늘초 건고추형 하늘	도초 1 품종보호출원 품종보호출원 존 1 품종보호출원 도초 2 품종보호출원 보호출원 등록			
					종지	자수출액(USD)			
	○ 종자수출	30	100	구분 3년차 4년차 5년차	수출국 중국 중국(파키스틴 중국(파키스틴 계				
	소계	100	100						

세부프로젝트명	세부연구목표	가중치	달성도			연구개발 수행내용			
		(%)	(%)	연구기간	내 실적	분자마커	18,020		
					1	병저항성 분자마커	2,946		
				   1년차	2	회복인자 분자마커	77		
				16/1		합계	3,023		
					1	병저항성 분자마커	2.606		
					2	회복인자 분자마커	445		
				2년차 -	3	신미관련 분자마커	34		
						합계	3.085		
	( H 3) -1 -1 H				1	병저항성 분자마커	3,351		
	○분자마커 분	50	100	013-1	2	신미관련 분자마커	778		
	석지원		100	3년차	3	순도검정	1,209		
					1	합계	5,338		
					1	병저항성 분자마커	2,661		
제4세부					2	회복인자 분자마커	376		
-바이러스저항				4년차	3	신미관련 분자마커	131		
1					4	순도검정	1,918		
성 마커개발 및						합계	5,086		
7]					1	병저항성 분자마커	1,282		
· ·				5년차	2	신미관련 분자마커	206		
개발마커(역병,G						합계	1,488		
MS,회복인자등)				○ 분자미	<b>나커 특허</b>	출원 2건			
분석지원	○ 분 자 마 커 개 발			<ul> <li>1. 고추역병균 저항성 고추 품종 선별용 양적형질좌위 연관 분자마 커 및 그를 이용한 고추역병균 저항성 고추 품종 판별방법</li> <li>2. 고추 흰가루병 저항성 식물체 검출용 유전자 마커 및 검출방법</li> <li>○ 청고병, TSWV, 흰가루병(목표추가) 저항성 마커 개발</li> <li>- TSWV 저항성 분자마커의 유용성 검정 및 이를 이용한 내병성 계통 육성</li> <li>- 흰가루병 저항성 F3 유전집단에 대한 분자마커 분석 및 병저항성 검정, 이를 이용한 내병성 계통 육성 (특허출원 1건)</li> <li>- 청고병 F2 유전집단(최소 90주)의 병리검정 및 다형성 분석,</li> </ul>					
	소계	100	100	QIL	마커 개발				
	그게	100	100	- 12 12 43					
	○ 병 리 검 정 지 원	50	100	<ul> <li>○ 실내와 온실에서 실시한 검정</li> <li>- 역병: 5,093라인</li> <li>- 탄저병: 267라인</li> <li>- 풋마름병: 71라인</li> <li>○ 포장에서 내성 검정</li> <li>- 바이러스(field virus tolerance; FVT): 100라인</li> <li>- 탄저병(field anthracnose tolerance; FAT): 237라인</li> </ul>					
제5세부 -중국, 인도 주요병원균 병리분석및 검정지원	○병리 검정법 의 표준화 ○포장 병원균 집단의분석	30	100	○ 고추 탄저병 열매를 이용하여 상처와 무상처 접종을 실시함 ○ 고추 역병 ○ 고추 역병 ○ 강병원성과 저병원성의 균주를 선발하여 각 계통의 성 정도를 조사함 ○ 풋마름병과 세균점무늬병   저항성 계통 선발을 위한 저항성 스크리닝 실시. ○ 특히 지난 5년간 본 과제를 통하여 수집한 균주는 30 균주를 상회함 ○ 2011년 이전부터 수집하여 보관하는 역병균 30여 균대양한 실험을 하기 위한 자료로 사용이 가능					
	소계	100	100						

### 2절. 관련분야 기여도

- 세부프로젝트간 협력을 위하여 매년 연차실적 계획서 제출 전에 자체적인 연구결과발표회를 개최하여 상호 의견교환 및 차년도 연구계획 수립 시 상호 협조 요청사항을 취합하여 계획에 반영하고 있으며 특히 품종개발 세부프로젝트 연구책임자들은 수시로 모임을 갖고 상호 정보교환 및 연구진행상황에 대한 의견을 나누고 있음.
- 품종개발과제인 제 1, 2, 3 세부과제와 지원과제인 제4세부(분자마커), 제5세부(병리)간에 긴밀히 협조하여 적기에 분자마커 분석 및 병리검정 업무를 수행하여 연구 효율성을 높히고 있음.
- 본 연구는 경쟁력 있는 인도 수출용 품종을 개발하여 종자수출 확대에 기여하기 위하여 수행되어졌으며 이를 위하여 인도용 고추를 시장 및 기호, 재료에 따라 풋고추, 건고추, 겸용 등으로 나누어 진행하였는데 특히 인도 현지에서 수집한 시장정보, 재료 등은 향후 인도시장 진출을 위해서 유용한 정보로 활용 가능함.
- 본 연구과제의 연구결과물, 특히 지금 까지 육성된 많은 계통들을 활용하여 고부가가치 품 종육성이 가능할 것으로 기대됨.
- 인도용 품종은 기후조건 등이 유사한 동서남 아시아 주변국에도 적응성이 높아 향후 수출을 확대하는데 본 연구 결과물이 활용될 것임.
- 국내 회사들에게 불모지나 다름없던 선초 육종 분야에 뛰어들어 많은 시행 착오도 겪었지만, 지난 5년간 많은 성과가 있었다.
- 그 주요 성과와 관련분야 기여도는 다음과 같이 요약할 수 있다.
  - 지난 5년간 선초의 육종을 하면서 산지에 대한 많은 정보와 유전자원을 수집하였고, 이는 향후 육종의 중요한 토대가 될 것으로 확신한다.
  - 그간 품종으로 발표된 양친 외에도 많은 우수 계통을 선발하였고, 선발된 이들 계통들이 향후 선초 육성에 아주 유용한 재료로 사용될 것으로 기대된다.
  - 중국의 든든한 거래처를 확보하였으며, 이 거래처를 통하여 안정적인 시험포를 확보하게 되었다. 이 시험포에서 선발된 조합은 즉시 상품화가 가능할 것으로 사료된다.
  - 안정적인 육종을 위한 기반이 되는 세대진전, 역병접종, 분자마커 이용 system을 확립하여, 향후 육종을 보다 효율적으로 할 토대를 마련하였다.
- 본 연구는 경쟁력 있는 하늘초 품종을 개발하여 중국 및 기타 지역에 수출함으로서 종자수출에 기여하기 위하여 수행되어졌으며 이를 위하여 하늘초 품종을 시 장 및 기호, 재료에따라 단화방 건고추 하늘초 품종, 단화방 남방계 하늘초 품종, 복화방 하늘초 품종 등 3개의 품종군(Segments)으로 나누어 각 각 과제를 수행하였다.
- 남방계 하늘초는 국내에서 육성하기 어려운 여건으로 중국 남방지역인 하이난도 산야에서 재료 육성 및 계통선발을 수행하여 남방계 하늘초 CMS(웅성불임)계통을 육성하여 앞으로 새로운 남방계 하늘초 품종 육성에 새로운 소재로 활용할 수 있을 것으로 예상됨.
- 단화방건고추 하늘초 품종은 많은 CMS계통과 임성회복계통 등을 이용하여 많은 신품종 (K7, 화전 111, k10, TINY1 등)을 육성할 수 있었으며 이를 통하여 누적 매출 421,090\$의 종자를 수출을 달성하는데 기여하였음. 지금 까지 육성된 많은 계통들을 활용하여 고부가가 치 품종육성이 가능할 것으로 기대됨.

- 복화방 하늘초 품종은 임성회복 계통이 적어 새로운 복화방 품종 육성에 많은 제약이 있었으나 본 연구과제를 통하여 우수한 임성회복 복화방 계통을 육성하였으며 이를 활용하여 만들어진 신품종을 통해 5년 차부터 19,720\$의 종자 수출을 달성하였으며 계속적으로 중국, 파키스탄 등 주요 복화방 하늘초 시장에 신품종을 공급함으로서 고추종자 수출에 증대에 기여할 수있다.
- 연구내용 : 고추 탄저병균의 포장 집단에 대한 병원성, 유전적 다양성, 기주 범위 등에 대한 보고는 국내에서 처음임
- 특히 지난 5년간 본 과제를 통하여 수집한 균주는 300여 균주를 상회함. 하지만 본 연구실에서는 2001년부터 지금까지 매년 탄저병 균주를 수집하고 있기 때문에 다양한 특성을 지닌고추 탄저병균의 균주는 타 연구실과는 비교할 수 없을 정도로 많음
- 역병균 균주 수집 : 2011년 이전부터 수집하여 보관하는 역병균 30여 균주는 다양한 실험을 하기 위한 자료로 사용이 가능함
- 청양 지역의 고추와 구기자 탄저병균의 유전적 다양성을 비교하였음.

## 5장. 연구결과의 활용 계획

## 1절. 추가 연구의 필요성

- 지금까지의 연구결과로 이제 품종들이 개발되기 시작하고 있으며 또한 신규개발 품종들은 아직 본격적으로 수출궤도에 오르지 못한 상태이므로 지금까지 육성된 육성소재들을 활용하 여 각 수출국들의 시장 수요에 맞게 맞춤형 품종을 개발할 수 있도록 지속적인 품종연구개발 이 필요함.
- 지금까지 육성된 각 Segment별 육성소재들을 활용하여 각 수출국들의 시장 수요에 맞게 맞춤 형 품종을 개발할 수 있도록 지속적인 품종연구개발이 필요함.
- 전 세계적인 기후변화로 가뭄과 폭우 등 작물재배에 불리한 변화가 많이 발생하므로 종자 수출 확대를 위해서는 지속적으로 환경적응성이 좋은 품종의 연구개발이 필요함.
- 글로벌 종자기업들의 M&A로 규모화하여 종자산업에서 경쟁력을 높혀가고 있는 지금 이들과 경쟁해 나가기 위해서는 효율적인 육종 및 품종의 개발을 위하여 필요한 MAB, MAS등 기술개발과 활용을 위한 연구도 꼭 필요한 시점이다.
- 선발된 조합중 하나에스3호와 4호, 5호는 향후 남방용 품종으로 적극적으로 개발을 할 계획에 있다. 이를 위하여 구이저우貴州 스추안四川 등지에 전시포를 마련하고 중국측 파트너와 연합 하여 적극적인 홍보 플랜을 만들 계획임
- 남방계 하늘초는 제한된 육성소재와 환경적인 어려움으로 우수한 계통육성에 많은 시간이 소요되어 5년 차부터 품종이 개발되었기 때문에 앞으로 지속적인 연구를 통하여 기 개발된 육성 계통 및 재료를 활용하여 중국 남부지역 및 동남아(베트남, 태국, 라오스 등) 국가에 종자를 수출할 수 있도록 연구지원이 필요함(환경적 요인으로 현지연락시험 및 재료 육성에 많은 시간과 비용이 소요됨)
- 효율적인 계통 육성 및 품종의 개발을 위하여 필요한 지속적인 병리검정 및 마커검정 지원을 통하여 많은 우수한 품종을 개발할 수 있다.(연구지원 협업을 통한 신품종 효율 극대화)

## 2절. 타 연구에의 응용

- 본 과제를 통하여 축적된 시장정보나 관련 네트워크는 타 작물의 육종에도 충분히 활용할 가치가 있음.
- 본 협동과제를 통해 이룰 수 있는 기술로는 고추의 분자마커와 이를 이용한 분석기술로, 개 발된 분자마커 기술을 특허 출원하고, 종자회사와 마커분석기관에 기술이전 및 분석서비스 함으로써 산업화 함
- 본 과제를 통하여 육성된 많은 하늘초 계통들을 활용하여 다른 품종군(Segment)과의 교배 및 조합을 통하여 일시 수확형 품종의 개발도 가능하고 병리검정 및 셔틀 브리딩 등 농식품 부, 농진청 차원에서 정책적 지원이 필요하며 경우에 따라 농진청 등 연구기관과 공동연구도 필요함.

- 고추 역병 저항성에 주동 유전자 및 미동 유전자가 관여하고 육성재료에 따라 그 위치 및 수가 다르기 때문에, 선행문헌의 경우 유전자형으로는 감수성으로 나타난 경우 실제 중간 정도의 역병균 저항성을 나타내는 경우가 있고, 유전자형으로 감수성/저항성 이형접합인 경우 실제 역병균 감수성을 나타내는 경우가 존재하여 역병균 저항성 여부 판별에 한계가 존재하므로, 이를 보완하기 위하여 본 과제에서 개발된 역병균 저항성 식물체를 선별하기 위한 분자마커를 활용할 수 있음
- 흰가루병 저항성 신품종을 육성하기 위해 흰가루병 저항성 인자를 신속하고 정확하게 검출할 수 있는 분자마커를 개발하였으며, 육종과정에서 선발된 계통에 대하여 그 유용성을 확인하였으므로 육종에 활용가능함
- 분자마커 기술은 궁극적으로 신품종 개발을 위한 육종 과정 중에 지원되는 기술로 육종에 소요되는 기간 및 비용을 절감할 수 있기 때문에 현재 그 활용도가 높이 평가되고 있음. 형 질관련 분자마커 뿐만 아니라 순도검정 등에서도 분자마커를 활용함으로써 육종을 지원함
- 병원균의 연구에 이용
- 가. 병리 검정법의 표준화
  - (1) 고추 주요 병해에 대해서 저항성인 품종 육종을 위한 스크리닝에 사용할 수 있음
  - (2) 고추 주요 병해 방제제 개발을 위한 스크리닝 방법으로 사용할 수 있음
  - (3) 신규 병 저항성 분자마커의 개발이 가능항 것임

### 나. 포장 병원균 집단의 분석

- (1) 포장 병원균 집단의 변화
  - (가) 포장의 병원균 집단의 유전적 다양성을 조사하여, 집단의 변화를 예측함
  - (나) 포장 집단을 유전적 다양성 그룹으로 구분하여 대표 균주를 선발함으로써, 저항성 품종 육종을 위한 병리검정에 사용할 수 있음
  - (다) 새로운 병 발생을 모니터링함으로써 저항성 육종의 방향 결정할 수 있음
- (2) 방제의 새로운 전략 수립이 가능
  - (가) 다범성 병원균의 기주식물 선호도를 조사하여, 기주-병원균 간의 병원성 기작 연구가 가능해짐
  - (나) 고추 주요 병원균의 밀도 변화와 기상과 관계를 규명함으로써 새로운 방 제의 방법을 사전에 제공할 수 있을 것으로 생각함

#### ○ 논문 발표

- 가. 고추 풋마름병균에 대한 저항성 검정 방법의 표준화
- 나. 고추 흰비단병 방제를 위한 살균제 선발
- 다. Dimethomorph의 고추 역병 방제 효과에 미치는 영향
- 라. Genetic diversity of *Colletotrichum acutatum* isolated from pepper and apple in Cheongsong
- P. Factors affecting on the pathogenicity of Colletotrichum acutatum isolated from pepper and apple
- 바. Diversity of fungicidal sensitivity of Colletotrichum acutatum isolated from

#### pepper

- 농민 교육에 활용
  - 가. 새로운 병원균의 출현에 대한 정보 제공
  - 나. 병원균의 살균제 저항성 정도를 조사하여 지역간 방제의 기본 정보로 제공

## 3절. 사업화 추진 방안

- 현지 마케팅 가능 회사와 업무협약을 통해 현재 개발되어 판매 중인 품종들에 대한 수출 다변화를 위하여 동남아, 아프리카 시장 등지에 지속적인 마케팅을 강화할 예정임.
- 선발되어 현지 재배시험 결과 우수한 신 조합은 반드시 현지에서 확대 재배되어 평가받을 수 있도록 소량 생산을 진행한다.
- 선발된 F1에 대하여는 주요 재배지역에서 연락시험 및 확대재배시험을 진행 중에 있음
- 2021년 목표를 달성하기 위해서는 매년 발생 수익 전액을 확대 재생산하는데 투여한다.
- 선발된 조합중 하나에스3호와 4호, 5호는 향후 남방용 품종으로 적극적으로 개발을 할 계획에 있다. 이를 위하여 구이저우貴州 스추안四川 등지에 전시포를 마련하고 중국측 파트너와 연 합하여 적극적인 홍보 플랜을 만들 계획임
- 현재 개발되어 판매 중인 품종들에 대한 수출 다변화를 위하여 동남아, 아프리카 시장 등지 에 지속적인 마케팅을 강화할 예정임.
- 선발되어 현지 재배시험 결과 우수한 신 조합은 소량 생산(50kg)을 진행하여 판매를 계획하고 있음.
- 선발된 F1에 대하여는 주요 재배지역에서 연락시험 및 확대재배시험을 진행 중에 있음.

## 6장. 연구과정에서 수집한 해외과학기술 정보

	코드번호	D-08
○ 해당사항 없음		

## 7장. 연구개발결과의 보안등급

	코드번호	D-09
○일반과제		

## 8장. 국가과학기술종합정보시스템에 등록한 연구시설·장비 현황

		코드번	호	D-10					
구입 기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	2	구입 가격 (천원)	구입: (전화번	비고 (설치 장소)	NTIS장비 등록번호
	해당사항없음								

## 9장. 연구개발과제수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적

	코드번호	D-11
○해당사항없음		

## 10장. 연구개발과제의 대표적 연구실적

							코드번호	D	D-12
번호	구분 (논문 /특허 /기타	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국 가	Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/인 용횟수 등)
1	품종	ECO870	에코씨드		한국		2014.1.7		
2	품종	ECO1208	에코씨드		한국		2015.8.19		
3	품종	ECO871	에코씨드		한국		2016.1.20		
4	품종	ECO205	에코씨드		한국		2016.1.20		_
5	품종	ECO4286	에코씨드		한국		2016.1.20		_

번호	구분 (논문 /특허 /기타	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국 가	Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/인 용횟수 등)
6	품종	하나에스1호	하나종묘		한국		2015.5.22		
7	품종	하나에스2호	하나종묘		한국		2015.5.22		
8	품종	하나에스3호	하나종묘		한국		2016.8.17		
9	품종	하나에스4호	하나종묘		한국		2016.8.17		
10	품종	하나에스5호	하나종묘		한국		2016.8.17		
11	품종	SJSKY-7	에스제이그린		한국		2014.5.15		
12	품종	SJSKY-111	에스제이그린		한국		2014.5.18		
13	품종	SJSKY-4229	에스제이그린		한국		2015.5.18		
14	품종	SJSKY-2402	에스제이그린		한국		2016.5.3		
15	품종	SJSKY-6334	에스제이그린		한국		2016.5.2		
16	품종	SJSKY-6360	에스제이그린		한국		2016.5.2		
17	논문	살균제 효과 검정을 위한 고추탄저병의 실내열매검정법	충북대	교신저 자	농약과학회 지		2014.06.30	단독	нJSCI
18	논문	고추 탄저병에대한 보르도액의방제효과	충북대	교신저 자	농약과학회 지		2014.09.30	단독	н]SCI
19	<b>특</b> 허 출원	고추역병균 저항성 고추 품종 선별용 양적형질좌위 연관 분자마커 및 그를 이용한 고추역병균 저항성 고추 품종 판별방법	(주)에프 앤피	발명자	대한민국 10-2016- 0076604	-	출원일자 2016.06.20	중복	-
20	투 청 출	고추 흰가루병 저항성 식물체 검출용 유전자 마커 및 검출방법	(주)에프 앤피	발명자	대한민국 10-2016- 0119860	_	2016.09.dd	중복	-

## 11장. 기타사항

	코드번호	D-13
○해당사항 없음		

## 12장. 참고문헌

코드번호 D-14

- 채소종자시장조사보고서-인도 (2012.농촌진흥청 국립원예특작과학원)
- 중국 운남성채소종자시장조사보고서(2010,농촌진흥청 국립원예특작과학원)
- 중국 광동성채소종자시장조사보고서(2010.농촌진흥청 국립원예특작과학원)
- Baek. U. D. 2008. Multiple utilization of male sterility in capsicum annuum L. and breeding variety using antherless male sterility. Ph.D. Thesis, Chungnam Nam Univ.
- A. Palloix, A.M. Daubeze, T. Phaly & E. Pochard 1990. Breeding transgressive line of pepper for resistance to phytophthora capsici in a recurrent selection system. Euphytica 51:141–150, 1990
- Paul G. Smith, K. A. Kimble, R.G. Gnoggan, and A. H. Millett 1966. Inheritance of Resistance in peppers to phytophthora root rot. SMITH et al.: PEPPER ROOT ROT
- Stephanie J. Walker and Paul W. Bosland 1999. Inheritance of phytophthora root rot and foliar blight resistance in pepper. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 124(1): 14–18. 1999
- Allard, R. W. 1960. Principles of plant breeding. Wiley, New York.
- Goldman, I.I. 1999. Teaching recurrent selection in the classroom with wisconsin fast plants. HortTechnology 9 (4):579–584
- Jundae Lee. Linkage analysis between the partial restoration(pr) and the restorer-of-fertility(Rf) loci in pepper cytoplasmic male sterility. Theor Appl Genet DOI 10. 1007/s00122-008-0782-7
- 차재순, 기운주, 조백호, 김기청. 1980. 고추에 발생하는 흰가루병. 한식보호지 19: 241-243.
- Correll, J. C. 1986. The epidemiology of tomato powdery mildew (Leveillula taurica) in relation to host growth and development. Ph. D. Dissertation, University of California, Berkely. 143 pp.
- Heffer, V., Johnson, K. B., Powelson, M. L. and Shishkoff, N.2006. Identification of powdery mildew fungi. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-I-2006-0706-01.
- 권 등, 1998; Beris와 Hormattallah, 1985; Diop-Bruckler, 1989
- 김대현, 박종한, 이중섭, 한경숙, 한유경, 황정환. 2009. 고추 흰가루병(Leveillula taurica) 의 발아특성 및 접종법
- 강길진, 정지현, 조정일. 2000. Bacillus subtilis가 생산하는 길항물질에 의한 아플라톡신 생성균의 억제. 한국식품위생안정성학회지. 15; 122-127.
- 강범관, 민지영, 김윤식, 박성우, Nguyen, V. B., 김흥태. 2005. 고추 탄저병균 Colletotrichum acutatum의 포장 밀도 조사를 위한 반선택 배지의 확립 및 활용. Res. Plant Dis. 11(1): 21-27.
- 고추재배전서 2008 경상북도 농업기술원 영양고추 시험장 채소종자 협회자료, http://www.gba.go.kr
- 김가혜. 2013. 청양지역에서 분리한 고추와 구기자 탄저병균의 형태, 병원성 및 유전적 특성. 충북대학교 석사학위논문.

- 김경희, 오순옥, 허재선, 염규진, 고영진. 2006. 차나무 겹둥근무늬병 방제용 미생물제제 개발을 위한 길항세균 Bacillus subtilis BD0310의 대량배양 최적 조건. 한국식물병리학회지. 12(2): 85-90.
- 김상달. 고추역병 길항미생물로부터 생물방제용 항진균성 항생물질의 분리 및 특성에 관한 연구. 기초과학연구사업 학술기사.
- 김아형. 2012. 잿빛곰팡이병균의 살균제 저항성 모니터링. 충북대학교 석사학위논문.
- 김용기, 이승돈, 류재기, 류재당. 2003. Bacillus spp. 및 Serratia marcescens에 의한 사과 푸른곰팡이병의 생물적 방제. 한국식물병리학회지. 9(4): 229-236.
- 김주형. 2008. Carbendazim과 diethofencarb에 대한 인삼 잿빛곰팡이병균의 저항성 및 분자 생물학적 분석. 충북대학교 석사학위논문.
- 김주형. 2013. 고추 포장에서 Colletotrichum acutatum의 집단 변이 및 고추 탄저병 방제력 개발. 충북대학교 박사학위논문.
- 김준태, 이경희, 민지영, 강범관, 노창우, 홍성택, 김홍태. 2005. 보호용 살균제와 ergosterol 생합성 저해 살균제에 대한 고추 탄저병균의 약제 반응. Res. Plant Dis. 11(2):185-192.
- 김준태, 민지영, 김흥태. 2006. 다양한 작물로부터 분리한 탄저병균(Colletotrichum spp.)의 살균제에 대한 반응. Res. Plant Dis. 12(1):32-39.
- 김흥태, 김윤식. 2004. 우리나라 주요 고추 탄저병균의 변화. p181-206. 한국 고추의 분자유 전과 육종. pp522.
- 박경석, 김충회. 1992. 국내 고추 탄저병균류의 동정, 분포 및 병원학적 특성. 한국식물병리 학회지. 8:61-69.
- 박성민, 정혁준, 유대식. 2006. 고추 탄저병균 Colletotrichum gloeosporioides의 방제를 위한 길항 미생물의 분리 및 항진균 활성. Journal of Life Science. 16(3): 420-426
- 박숙영, 정희정, 김가영, 고영진, 1996. Colletotrichum gloeosporioides에 의한 난 탄저병의 발생 특성. 한국식물병리학회지 12:455-458.
- 박창석. 생물적 방제제의 근원정착과 기존 토양미생물과의 관계. 기초과학연구사업 학술기 사.
- 양현숙, 손황배, 정영륜. 2002. Bacillus stearothermophilus YC4194에 의한 Pythium 모잘록 병의 생물학적 방제. 한국식물병리학회지. 8(4):234-328.
- 엄재열. 2009. 저농약 고효율 사과 병해충 방제 기술. 경북대학교 사과 연구소. p. 23-81.
- 엄재열, 이동혁. 2000. 사과 병해에 대한 IPM 기술 개발, 농림기술개발 연구보고서. p. 3-8
- 유인철. 2008. 사과 탄저병균의 유전적 분화 가능성. 경북대학교 석사학위논문.
- 이경원. 2008년. 농촌진흥청 생물농약 등록현황.
- 이두형. 1994. 사과에서 분리한 Colletotrichum acutatum, C. gloeosporioides 및 Glomerella cingulata의 병원학적 특징. Korean J. Plant Pathol. 10(2):105-111.

- 이용선, 심송보. 2007. 농업·농촌경제동향 2006년 겨울호.
- 장병춘, 이주영, 이상엽, 권장식, 김완규. 2006. 유용미생물에 의한 작물체 양분 및 토양 이화학성 변화 구명. 농업과학기술원
- 전경진. 2010. 사과탄저병의 균종분포비율의 변천 및 살균제에 대한 감수성의 균종간 차이. 경북대학교 석사학위논문.
- 전도근. 2011. 고추는 나의 힘. 북오션. p.10-12
- 정희정, 고영진. 1992. Colletotrichum gloeosporioides Penz.에 의한 유자탄저병. 한국식물병 리학회지. 8:70-74.
- 정희경, 김상달. 2003. 고추역병균 Phytophthora capsici를 방제하는 길항균주 Bacillus megaterium KL39의 선발과 길항물질. Kor. J. Microbiol. Biotechnol. 31(3): 235-241.
- 조용섭, 박창석, 이순구, 이영근, 임춘근, 차재순, 최용철, 최재을, 허성기, 황인규. 1999. 식물세균병학. 서울대학교출판부.
- 지형진. 2004. 국내 발생 고추 역병균의 특성. 207~218
- 최용호, 김흥태, 김진철, 장경수, 조광연, 최경자. 2006. 고추 탄저병균에 대한 13종 살균제의 살균 활성. 한국농약과학회지. 10:36-42
- 황병국. 2002. 고추 역병 저항성과 방제에 대한 연구. 식물병 연구8(3):131-145
- 황지영, 심창기, 류경열, 최두희, 지형진. 2006. 상추 균핵병 생물적방제를 위한 Brevibacillus brevis B23과 Bacillus stearothermophilus B42의 선발. 한국식물병리학회지. 12(3):254-259.
- Adaskaveg, J. E. and H. Forster (2000) Occurrence and management of anthracnose epidemics caused by Colletotrichum species on tree fruit crops in California. In Colletotrichum; host specification, pathology and host-pathogen intraction, Prusky, D., S. Freeman and M. B. Dickman, pp317–336. eds by APS press, St. Paul, Minnesota.
- Adaskaveg, J. E. and R. J. Hartin (1997) Characterization of Colletotrichum acutatum isolates causing anthracnose of almond and peach in California. Phytopathology 87:979–987.
- Afanador-Kafuri, L., Minz, D., Maymon, M. and Freeman, S. 2003. Characterization of Colletotrichum isolates from tamarillo, passiflora and mango in Colombia and identification of a unique species from the genus. Phytopathology 93:579–587.
- Agrios, G. N. 1997. Plant Pathology, 4th. Academic press. 525B st. suite 1900, San Diego, CA92101-4495, USA. pp635
- Albertini, C., Gredt, M., and Leroux, P. 1999. Mutations on the β-tubulin gene associated with benzimidazole resistance in the cereal eyespot fungi Tapesia yallundae and Tapesia acuformis. Pestic. Biochem. Physiol. 64:17–31.

- Amponsah, N. T., E. Jones, H. J. Ridgway and M. V. Jaspers (2012) Evaluation of fungicides for the management of Botryosphaeria dieback diseases of grapevines. Pest Manag. Sci. 68:676–683.
- Avila-Adame, C. and Koller, W. 2003. Impact of alternative respiration and target-site mutations on responses of germinating conidia of Magnaporthe grisea to Qo-inhibiting fungicides. Pest Manag. Sci. 59:303-309.
- Bae, M. 1978. Present status and future of antibiotics of agriculture. Kor. J. Microbiol. Biotechnol. 20, 141–148.
- Bae, Y.-S. K. Park and C.-H. Kim. 2004. Bacillus spp. as biocontrol agents of root Rot and phytophthora Blight on Ginseng. Plant Pathology. J. 20: 63-66
- Baker, C. J., Stavely, J. R., Thomas, C. A., Saser, M. and MacFall, J. S. 1983. Inhibitory effect of Bacillus subtilis on Uromyces phaseoli and on development of rust pustules on bean leaves. Phytopathology 73: 1148–1152.
- Becker, J. O. 1993. Control of soil-borne pathogens with living bacteria and fungi: status and outlook. Pestic. Sci. 37: 355-363.
- Bernstein B., E. I. Zehr and R. A. Dean (1995) Characteristics of Colletotrichum from Peach, Apple, Pecan, and Other Hosts. Plant Dis. 79:478-482.
- Bisbort S., Schlosser E. 1991. Sensitivity of Plasmopara viticola to dimethorph. Mededelingen Faculteis Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent, 56(2b): 559–568.
- Boukaew, S., S. Chuenchit and V. Petcharat (2011) Evaluation of Streptomyces spp. for biological control of Sclerotium root and stem rot and Ralstonia wilt of chili pepper. BioControl 56:365–374.
- Braithwaite, K. S., Irwin, J. A. G. and Manners, J. M. 1990. Restriction fragment length polymorphism in Colletotrichum gloeosporioides infecting Stylosanthes spp. in Australia. Mycol. research 94:1129–1137
- Cannon, P. F., Damm, U., Johnston, P. R., Weir, B. S. 2012. Colletotrichum current status and future directions. Studies in Mycology. 73:181–213.
- Chang, J. Y., H. H. Lee, I. C. Kim and H. C. Chang. 2001. Characterization of a bacteriocin produced by Bacillus licheniformis cy2. J. Korean Soc. Food. Sci. Nutr. 30, 227–233.
- Chet, I. and Inbar, J. 1994. Biological control of fungal pathogens. Appl. Biochem. Biotechnol. 48: 37–43.

코드번호

D-14

- Cho, S. J., S. K. Lee, B. J. Cha, Y. H. Kim and K. S. Shin. 2003. Detection and characterization of the Cloeosporium gloeosporioides growth inhibitory compound irurin A from Bacillus subtilis strain KS03. FEMS Microbiol. Lett. 223, 47–51.
- Chung, W. H., H. Ishii, K. Nishimura, M. Fukaya, K. Yano and Y. Kajitani (2006) Fungicide sensitivity and phylogenetic relationship of anthracnose fungi isolated from various fruit crops in Japan. Plant Dis. 90:506-512.
- Chung, B. K. and S. B. Lee. 1986. Effects fo conidial number and nutrition on the germination of conidia in Colletotrichum dematium f. sp. capsium causing red pepper anthracnose. Kor. J. Plant Prot. 25, 41–46.
- Cohen, Y., Baider, A., and Cohen, B. H. 1995. Dimethomorph activity against oomycete fungal plant pathogens. Phytopathology 85:1500-1506.
- Cohen, Y., Gisi, U., 2007. Differential Activity of Carboxylic Acid Amide Fungicides Against Various Developmental Stages of Phytophthora infestans. The american Phytopathological Society. Vol.97,No.19. 1274–1283
- Cohen, Y., Rubin, A., Gotlieb, D., 2008. Activity of carboxylic acid amide (CAA) fungicides against Bremia lactucas. Eur J Plant Pathol 122: 169–183.
- Copping. L. G. 2004. The manual of biocontrol agents. The third edition of the biopesticide manual. BCPC. UK. 702.
- Davidse, L. C. 1986. Benzimidazole fungicides: Mecahnism of aciton and biological impact. Ann. Rev. Phytopathol. 24:43-65.
- de los Santos Gracía de Paredes, B., Romero Munoz, F. 2002. Effect of different fungicides in the control of Colletotrichum acutatum, causal agent of anthracnose crown rot in strawberry plants. Crop Prot. 21(1):11–5.
- Dean, R., Van Kan JAL, Pretorius, ZA., Hammond-Kosack, KE., Di Pietro, A. 2012. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. Molecular Plant Pathol. 13:414-430.
- Dey, R., K.K. Pal, D.W. Bhatt and S.M. Chauhan. 2004. Growth promotion yield enhancement of peanut(Arachis hyprogaea L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. Microbiological research 159: 371-394.
- Dresler-Nurmi, A., Terefework, Z., Kaijalainel, S., Lindstrom, K. and Hatakka, A. 2000. Silver stained polyacrylamide gels and fluorescence-based automated capillary electrophoresis for detection of amplified fragmaent length polymorphism patterns obtained from white-rot fungi in the genus trametes. J. Microbiol. Methods 41:161-172.

코드번호 D-14

- Emmett, R. W. and D. G. Parbery (1975) Appressoria. Annu. Rev. Phytopathol. 13:147–167.
- Erwin, D, C and Ribeiro, O, K. 1996. Phytophthora disease worldwide. APS press, st. Paul. Minnesota, USA. pp562
- Fernando, T. H. P. S., C. K. Jayasinghe and R. L. C. Wijesundera (2000) Factors affecting spore production, germination and viability of Colletotrichum acutatum isolates from Hevea brasiliensis. Mycol. Res. 104:681-685.
- Fraaije B. A., Butters, J. A., Jones, D. R. and Hollomon, D. W. 2002. Following the dynamics of strobilurin resistance in Blumeria gramins f. sp. tritici using quantitative allele-specific real-time PCR measurements with the fluorescent dye SYBR Green 1. Plant Pathology. 51:45-54.
- Fraaije B. A. Cools, H. J., Fountaine, J., Lovell, D. J., Motteram, J., West, J. S. and Lucas, J. A. 2005. Role of ascospores in further spread of Qol–Resistant Cytochrome b Alleles (G143A) in field population of Mycosphaerella graminiccola.. Phytopathology. 95:933–941.
- Fravel, D. R. 2005. Commercialization and implementation of biocontrol. Annu. Rev. Phytopathol. 43: 337–359.
- Freeman S., T. Katan and E. Shabi (1996) Characterization of Colletotrichum gloeosporioides isolates from avocado and almond fruits with molecular and pathogenicity tests. Appl. Environ. Microbiol. 62:1014–1020.
- Freeman, S. and E. Shabi (1998) Cross-infection of subtropical and temperate fruits by Colletotrichum species from various hosts. Physiol. Molecular Plant Pathol. 49:395 404.
- Galhano, R. and N. J. Talbot (2011) The biology of blast: Understanding how Magnaporthe oryzae invades rice plants. Fungal Biol. Rev. 25:61-67.
- Gamalero, E.,L. Fracchia, M. Cavaletto, J. Garbaye, P. Frey-Klett, G.C. Varese, M.G. Martinotti. 2003. Characterization of functional traits of two fluorescent pseudomonads isolated from basidiomes of ectomycorrhizal fungi. Soil Biology & Biochemistry. 35: 55-63.
- Genin, S. (2010) Molecular traits controlling host range and adaptation to plants in Ralstonia solanacearum. New Phytol. 187:920 928.
- Gisi, U. 2002. Chemical control of downy mildews. Pages 119-159 in: Advances in Downy Mildew Research. P. T. N. spencer-Phillips, U. Gisi, and A. Lebeda, eds. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.

- Gisi, U., Waldner, M., Kraus, N., Dubuis, P, H., and Sierotzki, H., 2007. Inheritance of resistance to carboxylic acid amide (CAA) fungicides in Plasmopara viticola. Plant Pathology(2007) 56. 199–208
- Hayward, A. C. (1991) Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by Pseudomonas solanacearum. Annu. Rev. Phytopathol. 29:65 87.
- Hoffland, E., Pieterse, C. M. J., Bik, L., and van P炅, J. A. 1995. Induced systemic resistance in radish is not assaociated with accum- ulation of pat thogenesis-related proteins. Physiological and Molecular Plant Pathology 46:309–320.
- Hong, J. K. and B. K. Hwang (1998) Influence of inoculum density, wetness duration, plant age, inoculation method, and cultivar resistance on infection of pepper plants by Colletotrichum coccodes. Plant Dis. 82:1079–1083.
- Howksworth, D. L., Kirk, P. M., Sutton, B. C. and Pegler, D. N. 1995. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi. 8th ed. IMI. CAB International.
- Huet, G. (2014) Breeding for resistances to Ralstonia solanacearum. Front. Plant Sci. 5:1-5.
- Ishii, H., Iwamoto, S., and Nichimura, K. 1998. Comparative studies on fungicide sensitivity and other characteristics in Colletotrichum isolated from various plant species. The 1998 Brighton Conference-Pests and Disease pp. 184-188.
- Jee, Hyeong-Jin., Cho, Weon-Dae., Kim, Choong-Hoe., 2000. Phytophthora Diseases in Korea. pp17-92
- Jelev, Z. J., Bobev, S. G., Minz, D., Maymon, M. and Freeman, S. 2008. Characterization of Colletotrichum species causing strawberry anthracnose in Bulgaria. Phytopathology. 156:668-677.
- Jensen CB., Lundsgard J. 1999. ACROBAT R WG a new fungicide against downy mildew in onions and late blight in potatoes. 16th Danish Plant Protection Conference. Crop protection in organic farming. Pests and diseases. DJF Rapport, Markbrug10: 213-225.
- Jeon, Y. H., S. P. Chang, I. Hwang and Y. H. Kim. 2003. Involvement of growth-promoting Rhizobacterium Paenibacillus polymyxa in root rot of stored korean ginseng. J. Microbiol. Biotechnol. 13, 881–891.
- Jeong, Y., J. Kim, Y. Kang, S. Lee and I. Hwang (2007) Genetic Diversity and Distribution of Korean Isolates of Ralstonia solanacearum. Plant Dis. 91:1277–1287.
- Ji, P., M. T. Momol, S. M. Olson, P. M. Pradhanang and J. B. Jones (2005) Evaluation of thymol as biofumigant for control of bacterial wilt of tomato under field conditions. Plant Dis. 89:497–500.

- Joo, G. J., Lee, I. H. and Kim, J. H. 2002. Chitinase production and Isolation of Serratia plymuthica AL-1 antagonistic to white rot fungi Allium fistulosum roots. Kor. j. Microbiol. Biotechol. 30: 135-141.
- Jung, B. K. and S. H. Chang. 1984. An etiological study on the anthracnose fungus of pepper caused by Colletotruchum dematium in Korea. Kor. J. Mycol. 12, 153–157.
- Jung, H. K. and S. D. Kim. 2003. Purification and chracterization of an antifungal antibiotic from Bacillus megaterium KL 39, a biocontrol agent of red-pepper phytophthora blight disease. Kor. J. Mircobiol. Biotechnol. 31, 235–241.
- Katz, E. and Demain, A. 1977. The peptide antibiotics of Bacillus: chemistry, biogenesis, and possible function. Bacteriol. Rev. 41: 449-474.
- Kim, B-S., J-D. Cheong, Y-S. Cha and H-S. Hwang (1998) Resistance to bacterial wilt of introcuced peppers. Korean J. Plant Pathol. 14:217–219.
- Kim, C. H. and K. S. Park (1988) A predictive model of disease progression of red-pepper anthracnose. Kor. J. Plant Pathol. 4:325-331.
- Kim, G. W., Cho, E. K., Lee, E. J. 1986. Two Strains of Colletotrichum gloeosporioides Penz. Causing Anthracnose on Pepper Fruits. Korean J. Plant Pathol. 2(2):107–113.
- Kim, H. T., Y. R Chung and K. Y. Cho (1991) Factors affecting the activity of benomyl against cucumber anthracnose caused by Colletotrichum lagenarium. Korean J. Plant Pathol. 7:153–158 (in Korean).
- Kim, J. N., Choi, S. H., Do, Y. S., Uhm, J. Y., Shin, J. S., Yeo, M. I. 2003. Genetic Relationship of Colletotrichum gloeosporioides and C. acutatum Isolated from Apple, Pepper and Black locust. Kyungpook National Unibersity. Daegu.
- Kim, J. T., S. K. Park, W. Choi, Y. H. Lee and H. T. Kim (2008) Characterization of Colletotrichum isolates causing anthracnose of pepper in Korea. Plant Pathol. J. 24:17–23.
- Kim, J. Y., E. A. Bae, M. J. Han and D. H. Kim. 1999. Inhibitory activity of Bacillus licheniformis AJ on the growth of diarrheal pathogens. J. Appl. Pharm. 7, 385–389.
- Kim, K. D., Oh, B. J. and Yang, J. 1999. Differential interations of a Colletotrichum gloeosporioides isolate with green and red pepper fruits. Phytoparasitica. 27(2):97–106.
- Kim, S. G., N-Y. Ro, O-S. Hur, H-C. Ko, J-U. Gwang and Y-C. Huh (2012) Evaluation of resistance to Colletotrichum acutatum in pepper genetic resources. Res. Plant Dis. 18:93-100. (In Korean)
- Kim, S. H., J. B. Yoon, J. W. Do and H. G. Park (2007) Resistance to anthracnose caused by Colletotrichum acutatum in chili pepper (Capsicum annuum L.). J. Crop Sci. Biotech. 10:277–280.

- Kim, S. H., Y. D. Lee, W. S. Ha and H. M. Ro. 1998. A study on the transport phenomena of hydrophobic pesticides influenced by the interfaces of groundwater in unsaturated inorganic porous media. J. of KSEE. 20, 1545–1553.
- Lamberth, C., Cederbaum, F., Jeanguenat, A., Kempf, H. J., Zoller, M., and Zeun, R. 2006. Synthesis and fungicidal activity of N-2-(3-methoxy-4-propagyloxy) phenylethyl amides. Part II: Anit-oomycetic mandelamides. Pest Manage. Sci. 62:446-451.
- Lamour, K. H., Hausbeck, M. K. 2000. Mefenoxam insensitivity and the sexual stage of Phytophthora capsici in Michigan cucurbit fields. Phytopathology. 90: 396-400
- Lange, L., Breinholt, J., Rasmussen, F. W. and Nielsen, R. I. 1993. Microbial fungicide—the natural choice. Pestic. Sci. 39: 155–160.
- Leandro, L. F. S., M. L. Gleason, F. W. Nutter, Jr., S. N. Wegulo and P. M. Dixon (2003a) Influence of temperature and wetness duration on conidia and appressoria of Colletotrichum acutatum on symptomless strawberry leaves. Phytopathology 93:513–520.
- Leandro, L. F. S., M. L. Gleason, F. W. Nutter, Jr., S. N. Wegulo and P. M. Dixon (2003b) Strawberry plant extracts stimulate secondary conidiation by Colletotrichum acutatum on symptomless leaves. Phytopathology 93:1285–1291.
- Lee, B. H. (2003) Morphology, pathogenicity and molecular phylogenetic analysis of Colletotrichum spp. associated with anthracnose of Chinese matrimony (Lycium chinense Mill.). MS thesis, chungnam National University, Daejeon, Korea
- Lee, D. H., Kim, D. H., Jeon Y. A., Uhm J. Y., Hong S. B. 2007 Molecular and cultural characterization of Colletotrichum spp. causing bitter rot of apples in Korea. Plant Pathol. 23:37–44.
- Lee, E. T. and S. D. Kim. 2000. Selection and antifungal activity of antagonistic bacterium Pseudomonas sp. 2112 against red-pepper rotting Phytophthora capsici. Kor. J. Microbiol. Biotechnol. 28, 334–340.
- Lee, K. M., O. M. Lee, M. S. Cha, E. H. Park, G. T. Park, H. J. Son and S. J. Lee. 2002. Production and characteristics of environment friendly antimicrobial substance by Pseudomonas aeruginosa EL-KM. J. of the Environmental Science. 11, 33–40.
- Lee, K. S. 1997. Evaluation on the effects of pesticide residues to agroecosystem in Korea. Kor. J. Environ. Agric. 16, 80–93.
- Lee, W. J., J. H. Lee, K. S. Jang, Y. H. Choi, H. T. Kim and G. J. Choi (2015) Development of efficient screening methods for melon plants resistant to Fusarium oxysporum f. sp. melonis. Kor. J. Hort. Sci. Technol. 33:70–82 (in Korean).

- Lee, H. J., E. J. Jo, N. H. Kim, Y. Chae and S-D. Lee (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).
- Lee, Y. H., C. W. Choi, S. H. Kim, J. G. Yun, S. W. Chang, Y. S. Kim and J. K. Hong (2012) Chemical Pesticides and Plant Essential Oils for Disease Control of Tomato Bacterial Wilt. Plant Pathol. J. 28:32–39.
- Lemessa, F. and W. Zeller (2007) Pathogenic characterization of strains of Ralstonia solanacearum from Ethiopia and influence of plant age on susceptibility of hosts against R. solanacearum. J. Plant Dis. Protect. 114:241–249.
- Lim, T. H., Lee, J. M., Chang, T. H. and Cha, B. J. 2000. Antifungal activity and identification of an Actinomycetes strain isolated from mummified peaches. Kor. j. Appl. Microbiol. Biotechnol. 28: 161–166.
- Lim, T. H. 2005. Antifungal activity of streptomyces griseofuscus 200401 against pathogens causing late blight and anthracnose on pepper. Korean J. Pestic. Sci. 9: 102–107.
- Mackill, D. J., Zhang, Z., Renona, E. D. and Colowit, P. M. 1996. Level of polymorphism and genetic mapping of AFLP markers in rice. Genome 39:969–977.
- Malamy, J., Sanchez-Casas, P., Henning, J., Guo, A., and Klessing, D. F. 1996. Dissection of the salicylic acid signaling pathway in tobacco. Molecular plant-Microbe Interactions 9:474-482.
- Manandhar, J. B., G. L. Hartman and T. C. Wang (1995) Anthracnose development on pepper fruits inoculated with Colletotrichum gloeosporioides. Plant Dis. 79:380–383.
- Mansfield, J., S. Genin, S. Magori, V. Citovsky, M. Sriariyanum, P. Ronald, M. Dow, V. Verdier, S. V. Beer, M. A. Machado, I. Toth, G. Salmond and G. D. Foster (2012) Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. Mol. Plant Pathol. 13:614 629.
- Matheron, M. E., Porchas, M. 2000. Impact of azoxystrobin, dimethomorph, fluazinam, fosetyl-Al, and metalaxyl on growth, sporulation, and zoospore cyst germination of three Phytophthora spp. Plant Dis. 84:454-458.
- Mesquita, A. G. G., Paula, T. J. Jr., Moreira, M. A. and de Barros, E. G. 1998. Identification of races of Colletotrichum lindemuthianum with the aid of PCR-based molecular markers. Plant Disease 82:1054-1087.
- Michel, V. V., J.-F. Wang, D. J. Midmore and G. L. Hartman (1997) Effects of intercropping and soil amendment with urea and calcium oxide on the incidence of bacterial wilt of tomato and survival of soil-borne Pseudomonas solanacearum in Taiwan. Plant Pathol. 46:600–610.

코드번호

D-14

- Michel, V. V. and T. W. Mew (1998) Effect of a soil amendment on survival of Ralstonia solanacearum in different soils. Phytopathology 88:300–305.
- Mimura, Y., T. Kageyama, Y. Minamiyama and M. Hirai (2009) QTL analysis for resistance to Ralstonia solanacearum in Capsicum accession ''LS2341''. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 78:307–313.
- Mimura, Y. and M. Yoshikawa (2009) Pepper accession LS2341 is highly resistant to Ralstonia solanacearum strains from Japan. Hortscience 44:2038 -2040.
- Mondal, S. N., A. Vicent, R. F. Reis and L. W. Timmer (2007) Efficacy of pre- and postinoculation application of fungicides to expanding young citrus leaves for control of melanose, scab, and Alternaria brown spot. Plant Dis. 91:1600-1606.
- Moore. M. S., G. B. Follas., G. C. Hagerty., R, M. Beresford, 2008. Carboxylic acid amide (CAA) fungicide resistance prevention strategy. New Zealand Plant Protection 61: 134–136
- Nagano, M. M., Marahiel, M. A. and Zuber, P. 1988. Identification of a genetic locus required for biosynthesis of the lipopeptide antibiotic surfactin in Bacillus subtilis. J. Bacteriol. 170: 5622–5668.
- Naqvi, S. A. M. H., ed. 2004. Diseases of Fruits and Vegetables-Diagnosis and Management, Volume II. Kluwer Academic Publishers, Dordecht, The Netherlands.
- Newhook, F. J., Waterhouse, G. M., and Stamps, D. J. 1978. Tebualr key to the specise of Phytophthora de Bary. Mycol. Pap. 143. Commonw. Mycol. Inst. Kew. Surrey. UK. pp20
- Nguyen Thi Thu Hang, Soon-Ok Oh, Gyoung Hee Kim, Jae-Seoun Hur and Young Jin Koh. 2005. Bacillus subtilis S1-0210 as a biocontrol agent against Botrytis cinerea in Strawberries. Plant Pathology. J. 21: 59-63.
- Nielands, J. B. and S. A. Leong. 1986. Siderophores in relation to plant growth and disease. Annu. rev. Plant Physiol. 37, 187–208.
- Noli, E., Salvi, S. and Tuberosa, R. 1997. Comparative analysis of genetic relationships in barley based on RFLP and RAPD markers. Genome 40:607–616.
- Oh, I. S., M. S. In, I. S. Woo, S. K. Lee and S. H. Yu. 1998. Anthracnose of pepper seedling caused by Colletotrichum coccodes(wallr.) hughes. Kor. J. Mycol. 16, 151–156.
- Oh, Y. K. and J. H. Kim. 1997. Effects of residual organochlorine pesticides in the coastal environment on the Cheju Island. J. KSWQ 13, 317-324.

- Oh, Y. J. 1992. Studies on the optimization of media conposition and cultural conditions for kasugamycin production by Streptomyces kasugansis. Kor. J. Microbiol. Biotechnol. 20, 583-587.
- Okon, Y., and Y. Kapulnik 1986. Development and function of Azospirillum inoculated root., Plant and Soil. 90:3–16.
- Pan, B., Y. M Bai, S. Leibovitch and D. L. Smith. 1999. Plant-growth-promoting rhizobacteria and kinetin as ways to promote com growth and yield in a short-growing-season area. European Journal of Agronomy, 11:179--186.
- Pradhanang, P. M., P. Ji, M. T. Momol, S. M. Olson, J. L. Mayfield and J. B. Jones (2005) Application of acibenzolar–S-methyl enhances host resistance in tomato against Ralstonia solanacearum. Plant Dis. 89:989–993.
- Park, K. S. and C. H. Kim (1992) Identification, distribution and etiological characteristics of anthracnose fungi of red pepper in Korea. Kor. J. Plant Pathol. 8:61–69.
- Park, R. D., K. J. Jo., Y. L. Jin, K. Y. Kim, J. H. Shim and Y. W. Kim. 2002. Variation of antifungal activities of chitosans on plant pathogens. J. Microbiol. Biotechnol. 12, 84–88.
- Park, S. B. and D. W. Kim. 1995. Screening for phyllospheral antagonistic microorganism for control of red-pepper anthracnose (Colletotrichum gloeosporioides). Kor. J. Myco; 23, 190-195.
- Park, S. M., H. J. Jung., S. H. Han, S. H. Yeo, Y. W. Kim, H. G. Ahn, H. S. Kim and T. S. Yu. 2005. Antifungal activity of extract from Xanthium strumarium L. against plant pathogenous fungi. J. of Life Science 15, 692–695.
- Park, S. M., S. H. Han and T. S. Yu. 2005. Culture conditions and antifungal activity of Bacillus licheniformis KMU-3 against crop pathogenic fungi. Kor. J. Microbiol. Biotechol. 33, 112-116.
- Park, S. K. and K. C. Kim (1988) Virulence of anthracnose fungi to local varieties of Chinese matrimony vine and varietal resistance. Korean J. Plant Pathol. 4:95–102.
- Park, W. M., Y. S. Lee, S. H. Kim and Y. H. Ko. 1988. Biochemical investigation of resistance of green pepper fruit to Colletotrichum gloeosporioides Penz. Kor. J. Plant Pathol. 4, 290–296.
- Park, W. M., Kim, S. H., Ko, Y. H. 1989. Susceptibilization of Red Pepper(Capsicum annuum L.) to Colletotrichum gloeosporioides Penz. in Relatino to the Ripening of Fruits. Korean J. Plant Pathol. 5(3):262–270.

코드번호 D-14

- Peres, N. A. R. and Souza, N. L., Peever, T. L. and Timmer, L. W. 2004. Benomyl Sensitivity of Isolates of Colletotrichum acutatum and C. gloeosporioides from Citrus. Plant Dis. 88:125–130.
- Rajapakse, R. G. A. S. and J. A. D. A. R. Ranasinghe (2002) Development of variety screening method for anthracnose disease of chilli (Capsicum annum L.) under field conditions. Trop. Agri. Res. Ext. 5:7-11.Seoung-Hee Lee and Jae-Soon Cha. 1999. Ethyl Acetate Extract of Bacillus.
- Rampersad, S. N. 2012. Multiple application of Alamar Blue as an indicator of metabolic function and cellular health in cell viability bioassays. Sensors. 12(9):12347–12360.
- Rampersad, S. N. and Teelucksingh, L. D. 2012. Differential Responses of Colletotrichum gloeosporioides and C. truncatum isolates from different hosts to multiple fungicides based on two assays. Plant Dis. 96:1526–1536.
- Ran, L. X., C. Y. Liu, G. J. Wu, L. C. V. Loon and P. A. H. M. Bakker (2005) Suppression of bacterial wilt in Eucalyptus urophylla by fluorescent Pseudomonas spp. in China. Biol. Control 32:111–120.
- Rusell, J. R., Fuller, J. D., Macaulay, M., Hatz, B. G., Jahoor, A., Powell, W. and Waugh, R. 1997. Direct comparison of levels of genetic variation among barley accessions detected by RFLPs, AFLPs, SSRs and RAPDs. Theor. Appl. Genet. 95:714–722.
- Seo, S-T., J-H. Park, K-S. Han, S-R Cheong and S. Lee (2007) Genetic diversity of Ralstonia solanacearum strains isolated from pepper and tomato plants in Korea. Res. Plant Dis. 13:24–29 (in Korean).
- Seon-Hee Park, Dong-Won Bae, Joon-Taek Lee, Sung-Ok Chung and Hee Kyu Kim. 1999. Integration of Biological and Chemical Methods for the Control of Pepper Gray Mold Rot Under Commercial Greenhouse Conditions. Plant Pathology. J. 15(3): 162–167
- Sherrif, C., Whelan, M. J., Arnold, G. M., Lafay, J. F., Brygoo, Y. and Bailey, J. A. 1994. Ribosomal DNA sequence analysis reveals new species groupings in the genus Colletotrichum. Exp. Mycol. 18:121–138.
- Shi, Y., Correll, J. C., Guerber, J. C., Rom, C. R. 1996. Frequency of Colletotrichum species causing bitter rot of apple in the Southeastern United States. Plant Dis. 80(6):692-6.
- Shun-Shan S. Ok-Hee Choi. Sun-Mi Lee. Chang-Seuk Park. 2002. In vitro and In vivo Activities of a Biocontrol Agent, Serraria plymu-thica A21-4, Against Phytophthora capsici. Plant Pathology Journal. 18(4): 221-224.

- Shun-Shan S. Ok-Hee Choi. Sun-Mi Lee. Chang-Seuk Park. 2005. Root Colonizing and Biocontrol Competency of Serraria plymuthica A21-4 against Phytophthora Blight of pepper. Plant Pathology Journal. 21(1): 64-67.
- Smith, J. J., L. C. Offord, G. N. Kitaba, Z. K. Murimi, A. Trigalet and G. S. Saddler (1998) The development of biological control agents against Ralstonia solanacearum race 3 in Kenya. Pages 306–308 in: Bacterial Wilt Disease: Molecular and Ecological Aspects. P. Prior, C. Allen, and J. Elphinstone, eds. INRA Editions, Paris.
- Sreenivasaprasad, S. and P. Talhinhas (2005) Genotypic and phenotypic diversity in Colletotrichum acutatum, a cosmopolitan pathogen causing anthracnose on a wide range of hosts. Molecular Plant Pathology 6:361–378.
- Sticher, L., Mauch-Mani, B., and Metraus, J. P. 1997. Systemic acquired resistance. Annu. Rev. Phytopathol. 35:235–270.
- Sunwoo, J. Y., Lee, Y. K., and Hwang, B. K. 1996. Induced resistance against Phytophthora capsici in pepper plants in respose to DL-β--amino-n-bityric acid. European J. Plant Pathology. 102:663-670.
- Susheela, K. (2012) Evaluation of screening methods for anthracnose disease in chilli. Pest Manag. Hort. Ecosys. 18:188–193.
- Sutton, B. C. 1992. The genus Glomerella and its anamorph Colletotrichum. CAB Stamps, D. J., Waterhouse, G. M., Newhook, F. J. and Hall, G. S. 1990. Revised tabularkey to the species of Phytophthora. Mycological Papers. No. 162.
- Shin, H. J., Z. J. Chen, J. M. Hwang and S. G. Lee (1999) Comparison of pepper anthracnose pathogen from Korea and China. Plant Pathol. J. 15:323-329.
- Talhinhas, P., Sreenivasaprasad, S., Neves-Martins, J., Oliveira, H. 2002. Genetic and morphological characterization of Colletotrichum acutatum causing anthracnose of lupin. Phytopathology. 92:986–996.
- Than, P. P., Jeewon R., Hyde K. D., Pongsupasamit S., Mongkolporn O. and Taylor P. W. J. 2008 Characterization and pathogenicity of Colletotrichum species associated with anthracnose on chilli(Capsicum spp.) in Thailand. BSPP. 57: 562–572.
- Uknes, S., Winter, A. M., Delaney, T., Vernooij, B., Morse, A., Friedrich, L., Nye, G., Potter, S., Ward, E., and Ryals, J. 1993. Biological induction of systemic acquired resistance in Arabidopsis. Molecular Plant Microbe Interaction 6:692–298.
- Veraverbeke, E. A., Bruaene, N. V., Oostveldt, P. V., Nicolaï, B. M. 2001. Non destructive analysis of the wax layer of apple (Malus domestica Borh.) by means of confocal laser scanning microscopy. Planta. 213:525–533.

- Vinnere, O., Fatehi, J., Wright, S. A. L., Gerhardson, B. 2002. The causal agent of anthracnose of Rhododendron in Sweden and Latvia. Mycol Res. 106(1):60-9.
- Vos, P., Hogers, R., Beeker, M., Reijans, M., van de Lee, T., Hornes, M., Frijter, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. and Zabeau, M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Research 23:4407-4414.
- Wang, H., Qi, M. and Cutler, A. J. 1993. A simple method of preparing plat samples for PCR. Nucleic Acids Research 21:4153-4154.
- Warton, P. S. and Diéguez-Uribeonodo, J. 2004. The biology of Colletotrichum acutatum. Anales del Jardín Botánico de Madrid 61(1):3-22
- Waterhouse, G. M. 1963. Key to the species of Phytophthora de Bary. Mycol. Pap. 92. p22. Commonw. Mycol. Inst. Kew. UK.
- Wenneker, M., M. Verdel, R. Groeneveld, C. Kempenaar, A. van Beuningen and J. Janse (1999) Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum race3 (biovar2) in surface water and natural weed hosts: first report on stinging nettle (Urtica dioica). Eur. J. Plant pathol. 105:307 315.
- Whitelaw-Weckert, M. A., Curtn, S. J., Huang, R., Steel, C. C., Blanchard, C. L. and Roffey, P. E. 2007. Phylogenetic relationships and pathogenicity of Colletotrichum acutatum isolates from grape in subtropical Australia. Plant Pathology. 56:448–463.
- Wilson, L. L., L. V. Madden and M. A. Ellis (1990) Influence of temperature and wetness duration on infection of immature and mature strawberry fruit by Colletotrichum acutatum. Phytopathology 80:111–116.
- Yamaguchi, I. and Fujimura, M. 2005. Recent topics on action mechanisms of fungicides. J. Pestic. Sci. 30:67–74.
- Yarden. O., and Katan, T. 1993. Mutations leading to substitutions at amino acids 198 and 200 of beta-tubulin that correlate with benomyl-resistance phenotypes of field strains of Botrytis cinerea. Phytopathology 83:1478–1483.
- Young DH., Spiewak SL., Slawecki RA. 2001. Laboratory studies to assess the risk of development of resistance to zoxamide. Pest Management Science 57(11): 1081–1087.
- Yun, G. S., S. Y. Park, H. J. Kang, K. Y. Lee and J. S. Cha (2004) Contamination level of Ralstonia solanacearum in soil of greenhouses cultivating tomato plants in Chungbuk province and characteristics of the isolates. Res. Plant Dis. 10:58–62 (in Korean).
- Zulfiqar M., R. H. Brlansky and L. W. Timmer (1996) Infection of flower and vegetative tissues of citrus by Colletotrichum acutatum and C. gloeosporioides. Mycologia 88:121-128.

## 주 의

- 1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 GSP (Golden Seed Project) 사업의 연구보고서입니다.
- 2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 GSP 사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
- 3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.