

감자 바이러스의 血清學的 同定에 關한 연구

羅 瑢 俊*

Serological Identification of Potato Viruses in Korea

La, Yong-Joon*

접수일자: 4月 20日

Abstract

A total of 290 apparently healthy looking potato stocks and 80 potato stocks with symptoms of virus infection were collected from various seed potato farms in Korea and the incidence of potato virus X (PVX), potato virus S (PVS), potato virus M (PVM) and potato virus Y (PVY) was determined by serological microprecipitin tests. Results obtained are as follows.

1. Serological microprecipitin test revealed the presence of PVX, PVS, PVM and PVY in a number of potato stocks grown for the production of seed potatoes in Korea.
2. The occurrence of potato virus M is reported here for the first time in Korea with experimental evidence.
3. Practically 100% (290 stocks) of the apparently healthy looking potato stocks were demonstrated to be infected with both PVX and PVS. The infection percentages of potato stocks with combination of PVX, PVS, PVM and PVY were as follows. PVX+PVS+PVM:10.3%, PVX+PVS+PVY:4.5%, PVX+PVS+PVM+PVY:1.03%.
4. Irish Cobbler and Shimabara, which are the two major potato varieties in Korea, appear to be symptomless carriers of PVX and PVS. However, when these varieties were infected additionally with PVY, usually severe symptoms resulted.
5. Serological microprecipitin technique appears to be highly suitable for early, quick and reliable diagnosis of PVX, PVS, PVM and PVY. It is particularly suited for large scale testing of seed potato stocks for the presence of viruses mentioned above.

緒 論

營養繁殖作物인 감자(*Solanum tuberosum* L.)는各種 바이러스病에 의한 높은 退化率때문에 自家採種한 감자를 씨감자로 使用하는 것은 매우 非經濟的이며 每年 更新된 無바이러스病 씨감자를 栽培함으로써만 所期の 收量を 얻을 수 있다. 따라서 無바이러스病 씨감자의 生産 普及은 감자의 單位收量 增大와 直結되며, 이러한 無바이러스病 씨감자 生産過程의 根幹을 이루는 것은 바이러스의 迅速, 正確한 檢定이다. 다시 말해 無病

씨감자의 質은 얼마나 바이러스 檢定을 철저히 하였느냐에 左右된다고 할 수 있다.

現在 世界的으로 감자에 發生하는 바이러스는 20餘種에 達하는데¹⁾ 이 가운데는 Potato Virus X (PVX), Potato Virus S (PVS), Potato Virus M (PVM), 그리고 Potato Virus Y (PVY)의 mild strain 등과 같이 뚜렷한 病徵을 나타내지 않고 潛伏感染을 하는 바이러스가 있으며 이들은 肉眼的 觀察에 의한 檢定이 困難하다. 따라서 오늘날 和蘭을 비롯한 世界 여러나라에서는 감자 바이러스 檢定手段의 한 方法으로 血清反應檢定法을 開發 乃至 導入하여 이와같은 潛伏性 바이러스의 檢

*Plant Virus Laboratory, Dept. of Agricultural Biology, College of Agriculture, Seoul National University, Suwon, Korea

서울大學校 農科大學 植物바이러스病學 研究室

定에 活用함으로써 우량한 無바이러스病 씨감자生産에 큰 成果를 올리고 있으며 血清學的 檢定方法은 無病씨감자生産의 主軸이 되고 있다. (1, 2, 9, 10, 11)

그러나 우리나라에서는 아직까지 감자바이러스 檢定에 血清學의 方法이 積極的으로 活用되지 않고 있으며 現在 實施되고 있는 肉眼的 觀察에 依한 圃場檢定란으로 앞서 말한 潛伏性 바이러스가 檢出되지 않기 때문에 이들 바이러스의 大部分이 그대로 씨감자를 통해 繼續次代로 傳染되면서 감자 收量減少의 原因이 되고 있다.

本實驗은 血清學的 微量沈降法으로 우리나라의 씨감자 生産圃場에 發生하고있는 潛伏性 바이러스의 種類를 檢定하고 그 感染相을 調査하여 앞으로 보다 優良한 無病씨감자를 生産하는데 必要한 基礎資料를 얻을 目的으로 實施해다.

本實驗에 必要한 供試材料 蒐集에 協助해준 高嶺地試驗場 姜應禧 研究官과 濟州試驗場 姜光倫 研究士에게 感謝한다.

材料 및 方法

1. 供試 바이러스源

本實驗에 供試한 감자잎은 1972年 6月에서 1973年 7月 사이에 江原道 大關嶺 所在 高嶺地試驗場 原原種圃와 江原道 감자原種場 그리고 園藝試驗場에서 採取했으며 外觀上 病徵을 찾아 볼 수 없는 健全한 個體와 各種 바이러스病徵이 뚜렷한 個體를 區分해서 各各 採取하였다. 이때 잎은 바깥쪽 줄기의 끝에서부터 3~4번째 아랫쪽에 있는 部分의 것을 採取하였다. 個體別로 採取한 잎은 各各 폴리에칠렌 주머니에 넣어 4°C로 維持된 냉장고에 저장해 둔 다음 5日 以內에 血清反應試驗에 供試하였다.

2. 供試抗血清

本實驗에 使用한 抗血清은 PVX, PVS, PVM, PVY 等 4種 바이러스의 單價抗血清과 PVX+PVS+PVM의 多價抗血清이며 和蘭 Lisse 에 있는 Flower Bulb Research Center 의 van Slogteren 博士로 부터 分讓받았다. 이들 抗血清은 冷凍乾燥된 狀態로 암퇘에 들어 있었는 데 암퇘에 明示된 稀釋倍數에 따라 稀釋하여 使用하였다

3. 바이러스 檢定方法

van Slogteren 의 微量沈降法^{1,10}을 若干 修正한 方法에 依해 바이러스의 檢定을 實施하였으며 이 方法의 概要는 아래와 같다.

가. 抗原 바이러스液의 準備

감자잎 2~3枚를 함께 포개어, 한접의 가-제로 찌 다

을 搾汁하여 얻은 粗汁液(約 1.5~2.0ml 정도)에 酸化를 막기위해 同量의 1% NaHSO₃ 水溶液을 加한다. 이것을 3,000 r.p.m.에 10分間 遠心分離한 다음, Pasteur pipette 로 沈澱이 흔들리지 않도록 少量의 上清液(1.5~2.0ml)만을 떠낸다.

이 上清液에 同量의 磷酸緩衝生理食鹽水(0.01M, pH 7.0)를 加하여 搾汁液의 最終濃도가 1/4이 되도록 한다.

對照抗原은 감자의 實生을 殺菌土壤에 播種하여 網室에서 키운 植物의 잎에서 搾汁한 粗汁液을 위에서와 같은 方法으로 處理하여 使用하였다.

나. 血清反應實驗

1% Formvar (Polyvinyl formaldehyde)의 Chloroform 溶液으로 Petri접시의 內側 밑바닥에 疎水性被膜을 입힌다. 여기에 가느다란 Pasteur pipette 로 먼저 所定의 抗血清을 微量(0.007~0.01ml) 滴下한 다음 그 위에 同量의 抗原바이러스液을 加해준다. 곧 이어 抗原液과 抗血清이 蒸發되지 않도록 pipette 를 使用해서 paraffin oil 로 被覆하고 室溫 또는 30~35°C에 저장해 두었다가 1時間 및 3時間後에 低倍率(X10)의 解剖顯微鏡下에서 反應與否를 觀察한다. 이때 Petri접시는 검은 背景에 올려 놓고 斜光을 使用하여 觀察하는 것이 좋다

다. 抗原液과 抗血清의 配置

다음 그림 1과 같은 樣式으로 Petri접시上에 抗原液과 抗血清을 配置했다. 또한 바이러스와 抗體間의 特異反應과 偶發的反應을 識別하기 위해 反應系列마다 對照抗血清區와 對照抗原區를 包含시켰다.

		Antisera for:					
		X+S +M	PVX	PVS	PVM	PVY	Normal serum
Antigen samples	1						
	2						
	3						
	4						
	5						
	6						
Normal antigen							

Fig. 1. Model of the microprecipitin reaction areas used in this experiment.

結果 및 考察

감자의 PVX, PVS 및 PVM은 微量沈降反應法에 따라 抗原液과 抗血清을 混合한지 1時間內에, 그리고 PVY 는 3時間內에 各各 特異反應을 이르게 이들 바이러스

의 正確한 檢定이 可能하였다.

한편 對照抗原區와 對照抗血清區는 모두 陰性反應을 보여 偶發的인 反應은 觀察되지 않았다.

微量沈降法에 依해 우리나라 씨감자 生産地에 發生하고 있는 PVX, PVS, PVM, PVY를 檢定한 結果는 表 1 및 表 2와 같다.

Table 1. Results of microprecipitin tests to determine the incidence of PVX, PVS, PVM and PVY in apparently healthy looking potato stocks.

Place of collection	Variety	No. of plants indexed	No. of plants infected with:				
			PVX	PVS	PVM	PVY	X+S+M+Y
Alpine Exp. Station	Irish Cobbler Shimabara	50	50	50	6	2	1
		20	20	20	3	1	0
Kangwon-do Registered Seed Potato Station	Irish Cobbler	120	120	120	17	5	2
Horticultural Exp. Station	Irish Cobbler Shimabara	50	50	50	8	2	0
		50	50	50	5	3	1
Total		290	290	290	39	13	4
% infection			100	100	10.3	4.5	1.4

Table 2. Results of microprecipitin tests to determine the incidence of PVX, PVS, PVM and PVY in potato stocks with symptoms of virus infection.

Place of collection	Variety	No. of plants indexed	No. of plants infected with:				
			PVX	PVS	PVM	PVY	X+S+M+Y
Alpine Exp. Station	Irish Cobbler Shimabara	10	10	10	2	8	1
		10	10	10	1	7	0
Kangwon-d Registered Seed Potato Station	Irish Cobbler	20	20	20	2	17	2
Horticultural Exp. Station	Irish Cobbler Shimabara	20	20	20	3	16	2
		20	20	20	2	17	1
Total		80	80	80	10	65	6
% infection			100	100	10	81	7.5

表 1을 보면 감자原種圃場, 原種圃場 및 園藝試驗場圃場 등에서 蒐集한 外觀上 健全하게 보이는 감자의 100%가 實際로는 PVX와 PVS에 複合感染되어 있고, 이 가운데 約 10.3%가 PVX, PVS, PVM에, 約 4.5%가 PVX, PVS, PVY에, 그리고 約 1%가 PVX, PVS, PVM 및 PVY에 混合感染되어 있는 것을 알 수 있다.

表 2를 보면 바이러스 病徵이 뚜렷한 감자도 100%가 PVX와 PVS에 複合感染되어 있고 PVM의 感染率도 外觀上 健全하게 보이는 감자의 경우와 別差異가 없으나 PVY의 感染率은 81%라는 높은 數值를 나타내고 있다.

따라서 PVX, PVS 및 PVM 등에 混合感染된 상태로 病徵이 은폐되어 있다해도 일단 PVY에 感染하게 되면

뚜렷한 病徵이 發現됨을 알 수 있다.

本實驗에서 나타난 바와 같이 우리나라에서 生産되는 씨감자의 거의 100%가 PVX와 PVS에 複合感染되어 있는 것은 첫째로 이들 바이러스가 潛伏性이기 때문에 肉眼的인 觀察에 依한 罹病株 除去가 어렵기 때문이며, 둘째로 PVX와 PVS가 가지고 있는 高度의 汁液傳染性 때문이라고 생각된다.

그리고 PVM과 PVY의 傳染率이 낮은 것은 이들 바이러스를 媒介하는 진딧물類의 對한 薬剤防除가 철저할뿐만 아니라 PVX와 PVS에 이미 感染된 감자에 PVM이나 PVY가 複合感染될 경우는 植物이 充分한 生育을 하기 前에 죽어버리거나, 病徵이 뚜렷이 나타나므로 肉眼的인 觀察에 依해 罹病株가 除去할 수 있기 때문에 해석

된다.

한편 PVX, PVS, PVM, 그리고 PVY 등에 混合感染되어 있는데도 不拘하고 外觀上으로 罹病與否를 識別할 수 없는 個體가 血清學的인 方法에 依해 檢定되었는데 (表 1) 이러한 病徵陰蔽現象이 PVM과 PVY의 後期感染이 依한 것인지, 아니면 PVM과 PVY의 mild strain에 感染된 때문인지, 또는 其他 環境要因에 依한 것인지에 對해서는 今後 보다 精밀한 調査를 必要로 한다.

PVX, PVS, PVM에 依한 被害는 이들 바이러스의 潛伏性때문에 오랫동안 잘 알려지지 않고 看過되어 왔는데, 最近의 研究報告에 依하면 이들 각 바이러스에 依한 감자의 年間 減收는 各各 15% 程度로 推算되고 있다. ”

우리나라의 경우 現在 씨감자의 거의 100%가 PVX와 PVS에 걸려 있으므로 이들 두 바이러스에 依한 감자의 年間 減收만도 30%以上에 達하고, 더구나 PVM, PVY 그리고 其他 未檢定 바이러스가 混合感染되어 있을 경우를 생각하면 그被害는 훨씬 더 클 것으로 推定된다.

따라서 우리나라 감자의 單位收量增大를 위해서는 우선 씨감자에서 이들 바이러스를 除去하여 보다 優良한 無바이러스 씨감자를 生産하는 것이 急先務인 것을 알 수 있다.

現在 生産되고 있는 씨감자의 거의 100%가 PVX와 PVS에 걸려 있는 만큼 씨감자에서 이들 바이러스를 完全히 除去하려면 外國에서 이들 바이러스에 걸려 있지 않는 優良品種의 씨감자를 導入해서 增殖하거나, 또는 既存品種으로부터 生長點組織培養을 통해 無病個體를 育成해야 하므로 相當한 時間이 所要되리라고 본다.

그러나 우선 血清學的 檢定方法을 活用해서 씨감자圃場에 發生하고 있는 PVM과 PVY의 罹病株를 完全除去하는 일부터 着手하고 점차적으로 PVX와 PVS, 그리고 其他의 未檢定 바이러스를 除去하는 方向으로 努力하면 우리나라 씨감자의 質은 現在水準 以上으로 크게 向上되고 結果적으로 감자 增産에 크게 이바지하게 될 것으로 믿는다.

摘 要

우리나라 씨감자에 發生하고 있는 潛伏性바이러스의 種類와 이들의 感染狀態를 調査하기 위하여 감자 原原種圃, 原種圃 그리고 園藝試驗場 등에서 蒐集한 外觀上 無病 健全하게 보이는 감자와 外觀上 바이러스病徵이 뚜렷한 감자를 對象으로 血清學的方法에 依해 바이러스 檢定을 實施했다. 檢定對象 바이러스는 Potato Virus X (PVX), Potato Virus S (PVS), Potato Virus M (PVM), 그리고 Potato Virus Y (PVY)의 4種이며, 바

이러스의 檢定은 van Slogteren의 微量沈降法에 따라 實施했다. 結果는 다음과 같다.

1. 씨감자 生産圃場에서 蒐集한 감자에서 PVX, PVS, PVM, 그리고 PVY가 檢出되었는데 우리나라 감자에서 PVM이 檢出되었다는 實驗의 報告는 이것이 처음이다.

2. 外觀上 健全하게 보이는 씨감자의 거의 100%가 PVX와 PVS에, 約 10%가 PVX+PVS+PVM에, 約 4.5%가 PVX+PVS+PVY에, 그리고 1% 정도가 PVX+PVS+PVM+PVY에 各各 混合感染되어 있었다.

3. PVX와 PVS만이 檢出된 植物은 大部分 病徵이 省略되어 있었으나 PVX, PVS와 함께 PVY가 檢出된 植物은 大部分 뚜렷한 病徵을 나타내고 있었다.

4. 血清學的 微量沈降法은 肉眼的인 觀察만으로는 檢定이 어려운 PVX, PVS, PVM 및 mild strain의 PVY를 씨감자 生産地에서 大規模의 植物을 對象으로 迅速 正確히 檢定하는데 매우 便利한 方法으로 생각된다.

引 用 文 獻

1. Ball, E.M. 1961. Serological tests for the identification of plant viruses. American Phytopathological Society. 16 p.
2. Ball, E.M. 1964. Serology: Techniques used in plant virus research, p. 235-252. In M.K. Corbett and H.D. Sisler (ed.) Plant Virology. University of Florida Press, Gainesville.
3. Campbell, D.H., Garvey, J.S., Cremer, N.E., and D.H., Sussdorf. 1964. Qualitative and quantitative precipitation. p. 136-141. In: Methods in Immunology. W.A. Benjamin, Inc., New York.
4. 崔廷一, 姜應禧, 1971. 감자바이러스병에 관한 연구 1. Potato virus X의 분리와 항혈청제조. 고령 지시험장창립 10주년 기념논문집 p. 19-32.
5. Committee on Virus Type Culture Collection. American Phytopathological Society. 1960. Serological studies of commercially produced plant virus antisera. Phytopathology 50:428-431.
6. de Bokx, J. A. 1972. Viruses of potatoes and seed-potato production. Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, the Netherlands. 233p.
7. Matthews. R. E. F., 1957. Chapter IV, Routine testing for virus infection, In: Plant Virus Serology. Cambridge Univ. Press.
8. 朴相允, 蘇仁永, 1965. 韓國産 감자바이러스병에 관

하여, 韓國微生物學會誌 Vol. 3. No. 2. p. 1-8.

9. van Slogteren, E. 1955. Serological diagnosis of plant virus diseases. *Ann. Appl. Biol.* 42:122-128.
10. van Slogteren, D.H.M., 1955. Serological micro-reactions with plant viruses under paraffin oil. *Proc. of the 2nd Conference on Potato Virus Diseases.* Lisse-Wageningen, p. 51-54.
11. van Slogteren, E. and D. H. M. van Slogteren. 1957. Serological identification of plant viruses and serological diagnosis of virus diseases of plants. *Ann. Rev. Microbiol.*, 11:149-164.