

시금치 바이러스病에 관한 研究

II. 시금치에 發生하는 Broad Bean Wilt Virus (BBWV)의 分類同定

李 淳 炯* · 李 起 運** · 鄭 鳳 朝*

Investigations on the Virus Diseases in Spinach (*Spinacia oleracea* L.)

II. Identification of Broad Bean Wilt Virus Occuring Spinach

Lee, S. H.,* K. W. Lee,** B. J. Chung*

ABSTRACT

Spinaches showing dark green mosaic symptoms were used for identification of broad bean wilt virus.

In host reaction test, that virus caused local lesions on the inoculated leaves and mosaic symptoms on upper leaves of *Chenopodium amaranticolor*, *Chenopodium quinoa* and *Vicia faba*, and developed mosaic symptoms on *Physalis floridana*, *Spinacia oleracea*, *Nicotiana tabacum*, (White burley, Bright yellow) *Nicotiana glutinosa*.

In agar gel-diffusion test, the virus showed positive reaction with broad bean wilt virus antiserum. Spherical virus particles with size of 25nm in diameter were observed in electron microscope.

緒 言

시금치 栽培圃場에서 모자익 病徵을 나타내는 바이러스病이 많이 發生하고 있으나 지금까지 우리나라에서는 순무모자익바이러스(TuMV)에 의한 시금치의 모자익病⁹⁾ 이외에는 어떤 바이러스가 感染되어 있는지 調査한 바 없다.

시금치에는 大體로 CMV, TuMV, BBWV, BMV 등의 바이러스病이 發生한다고 한다.⁴⁾ 오스트레일리아의 南西部와 美國 New York地方⁸⁾, 日本埼玉縣에서 BBWV의 被害가 심하였다.^{14,7)} Broad bean wilt virus (BBWV)는 stubbs(1960)¹³⁾에 의하여 처음 記述된 以來 오스트레일리아, 美國, 日本, 유럽 등에 分布하며 寄主는 14個 科, 43個 種에 이른다고 하였다.¹⁰⁾ Schroeder (1970)⁸⁾ 등은 모자익을 나타내는 시금치 罹病株에서

BBWV를 分離하였고 Taylor(1968)¹²⁾ 등은 BBWV의 血清學的 試驗을 實施하였으며 岩木滿郎(1972) 등³⁾이 電子顯微鏡에서 바이러스의 粒子를 觀察하였다.

本 試驗에서는圃場에서 모자익 病徵을 나타내는 시금치를 採集하여 指標植物, 抗血清, 電子顯微鏡 등으로 시금치에 感染된 Broad bean wilt virus를 分類同定하고 地域別 感染率을 調査하였다.

材料 및 方法

1. 病徵觀察

水原, 安養, 大邱, 晉州 等地에서 採集한 罹病 시금치를 비닐포트에 옮겨 심고 病徵을 계속 觀察하였다.

2. 指標植物 反應

各 地域에서 採集한 罹病 시금치를 病徵別로 명아주 (*Chenopodium amaranticolor*)를 비롯한 數種의 指標

* 農村振興廳 農業技術研究所(Institute of Agr. Sciences, O.R.D., Suweon Korea)

** 慶北大學校 農科大學 農生物學科(Dep. of Agr. Biology, Coll. of Agr., Kyungpook National University)

植物에 汁液接種하여 그病徵을 調査하였다.

3. 血清學的 檢定

Broad bean wilt virus (BBWV)의 檢定은 罹病 시금치로 부터 分離한 病原 바이러스를 抗原으로하고 美國 ATCC에서 구입한 BBWV의 抗血清을 1/8배로 稀釋하여 寒天內擴散法⁹⁾(組成: pH 7.0, 0.01M phosphate buffer, 寒天粉末 1%, sodium azide 0.02%)으로 檢定하였다.

4. 電子顯微鏡 檢鏡

罹病 시금치 잎을 Dip法¹⁰⁾으로 試料을 製作하여 電子顯微鏡에서 바이러스 粒子를 觀察하였다.

5. 바이러스의 分布調査

水原1, 水原2, 安養, 大邱, 晉州의 栽培園場에서 秋播, 春播別로 50株씩 感染率을 調査하였으며 罹病株는 採集 同定하여 Broad bean wilt virus 病입을 確認하였다.

結果 및 考察

1. 病徵

一般的으로 莖은 綠色에 弱한 모자익으로 나타나며

Table 1. Host reactions incited by BBWV which isolated from spinach.

Indicator plant	(<i>C. amaranticolor</i>)	(<i>C. quinoa</i>)	(<i>P. floridana</i>)	(<i>S. oleracea</i>)	(<i>N. glutinosa</i>)	(<i>V. sinensis</i>)	(<i>V. faba</i>)	(<i>N. tabacum</i> (W.B.))*
Inoculated leaves	L	L	—	—	—	—	L	—
upper leaves	M	M	M	M	M	—	M	M

L; Local lesion, M; Mosaic

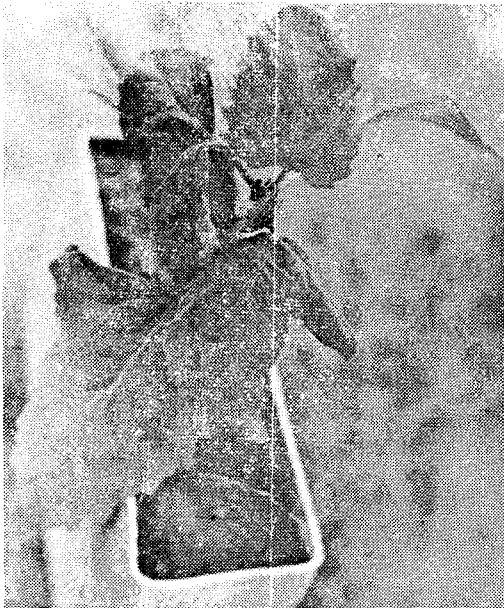


Fig. 1. Symptom of BBWV on *Chenopodium amaranticolor* by sap inoculation.

특히 葉脈周圍가 綠色으로 된다. 品種과 感染時期에 따라 多少 病徵의 差異가 있으며 病徵이 進展되면 萎縮되고 잎이 마르게 된다. schroeder와 provvidenti¹¹⁾는 BBWV에 罹病된 시금치는 甚한 萎黃과 壞疽를 나타내는 일록 斑點이 CMV에依해서 일어나는 것과 分辨하기가 어렵고 심하면 말라 시든다고 하였다. 向秀夫 等¹²⁾은 1965~1966년에 靖玉縣에서 葉脈透明한 모자익을 나타내는 시금치가 BBWV에 罹病된것 같다고 하였다.

2. 指標植物 反應

水原, 安養, 大邱, 晉州 等地에서 36株의 罹病 시금치를 採集하여 8種의 指標植物에 汁液 接種한 結果 *C. amaranticolor*와 *C. quinoa*에서는 接種 4~5日後 接種葉에 黃色의 局部病斑이 形成되고 1週日後부터는 上葉에 葉脈을 따라 모자익이 나타나고 萎縮되어 生長이 中止되었다. (Fig. 1) *Physalis floridana*와 시금치에서는 接種上葉에 모자익이 나타나며 *Vicia faba*에서는 接種葉에 褐色의 局部病斑과 上葉에 모자익이 나타났으며 病徵이 進展되면 壞疽 斑點이 생기기도 하였다. *Nicotiana glutinosa*와 *Nicotiana tabacum*(W.B)에서는 上葉에 모자익으로 나타났다. *Vigna sinensis*에서는

전혀 病徵이 나타나지 않았다(Table 1).

Chenopodium amaranticolor, *Chenopodium quinoa*, *Vicia faba*, *Nicotiana tabacum* *(W.B.: White burley, Bright yellow) 에서의 反應은 Taylor와 stubbs¹³⁾의 結果와 一致하였으나 *Vigna sinensis*에서 反應이 나타나지 않은것은 strain에 依한 것으로 思料 된다. 岩木과 小室³⁾, 森田 等⁶⁾도 *Chenopodium amaranticolor*의 接種葉에서는 5日後에 局部病斑이 생기고 그 上葉에서 곧 全身感染을 나타내어 萎縮되고 *Vicia faba*에서는 接種葉에 局部病斑이 생기며 그後 全身感染되어 많은 壞疽가 나타나 枯死한다고 하였다.

3. 血清學的 檢定

全身感染된 명아주(*C. amaranticolor*) 잎을 磨碎窄 汁한 것을 抗原으로 하고 抗血清을 1/8배로 稀釋하여 寒天內擴散法으로 血清反應을 檢定한 結果 抗原이 1/2배와 1/4배로 稀釋한것에서 陽性反應이 나타났다(Fig. 2) Taylor 等¹²⁾과 岩木 等³⁾은 寒天內擴散法(agar gell-diffusion test)에서 鮮명한 反應이 나타난다고 하였으며 抗原과 寒天組成의 buffer에 따라 反應에 差異가 있

다고 하였다. 寒天組成은 pH7.6, 0.05M phosphate buffer, 0.1M EDTA의 組成이 效果的이라고 하였다. Schroeder과 provvidenti⁸⁾는 BBWV의 抗血清과 New York地方의 시금치에서 分離한 바이러스와 陽性反應이 나타남으로서 이 바이러스가 BBWV라고 밝혔다. 또한 血清學的으로 BBWV는 cowpea mosaic virus group 과 關連性이 있다고 하였다.²⁾

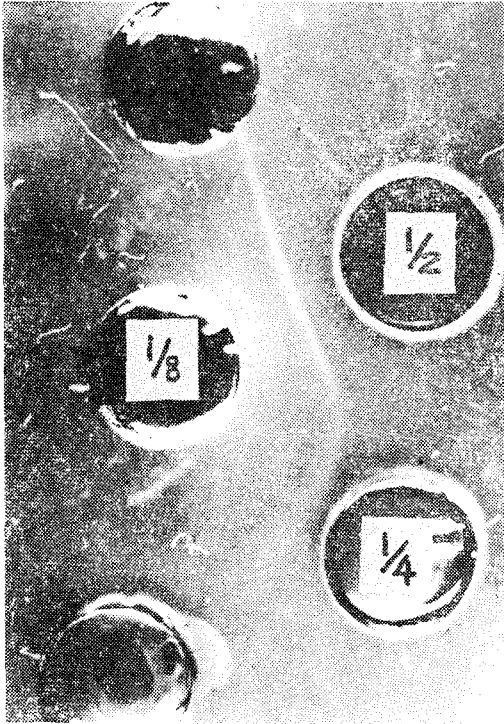


Fig. 2. Agar gel-diffusion plate with precipitin reaction between isolated BBWV and BBWV antiserum. The left center well was filled with 1/8 diluted BBWV antiserum. The right upper and low well were filled with 1/2 and 1/4 diluted crude juice of BBWV.

4. 電子顯微鏡 檢鏡

Dip法에 依하여 바이러스 粒子를 抽出 檢鏡한 結果, 粒子의 表面이 光滑한 球形의 粒子가 觀察되었다. 粒子의 直徑은 25nm였고 많은 數의 粒子가 grid위의 dip한 位置에 묻혀 있어서 球形의 粒子이지만 dip法으로도 粒子 觀察이 容易하였다. (Fig. 3)

Taylor와 Stubbs¹³⁾는 BBWV의 粒子는 isometric形의 直徑 25nm이고 Uranyl acetate pH4,7에서 安定하다고 하였다. 岩本과 小室⁹⁾은 formalin 固定法으로 試料를 製作直徑 24nm의 球形粒子를 罹病시금치에서 檢鏡하였고 森田 等⁶⁾은 가지에서 分離한 BBWV를 固定法으로 檢鏡하였다. 向秀夫 等⁷⁾도 dip法에 依해서 罹病시금치로부터 BBWV를 觀察하였다.

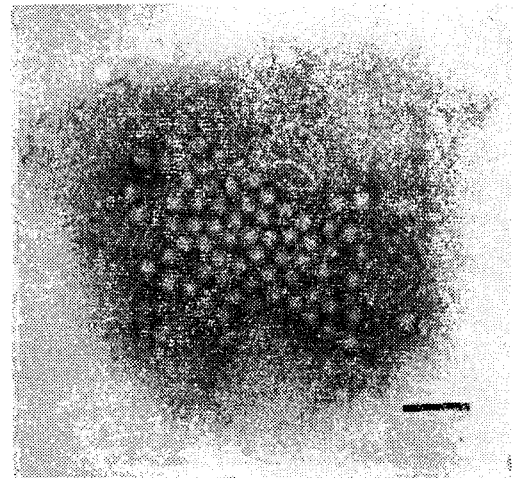


Fig. 3. The BBWV particles by means of direct negative method in electron microscope. Bar showed 100nm.

5. 圃場에서의 罹病率 調査

秋播한 시금치는 水原에서 罹病株 21株中 3株, 安養에서는 11株中 1株, 大邱에서는 12株中 4株, 晋州에서

Table 2. Regional distribution of BBWV occurred on spinach

Investigated, areas	Planted in fall			Planted in spring		
	No. of tested	No. of BBWV infected	Percent infected	No. of tested	No. of BBWV infected	Percent infected
Suweon 1	50	3	6	50	0	0
Suweon 2	50	0	0	50	0	0
Anyang	50	1	2	50	0	0
Daegu	50	4	8	50	0	0
Jinju	50	2	4	50	0	0

는 8株中 2株가 各各 BBWV의罹病株였으며 春播한 시금치에서는 BBWV의罹病株가 없었다(Table 2).

오스트레일리아, 美國, 日本, 유럽 등에 分布한다고 하니 우리나라에서도 全國적으로 BBWV의 發生이 可能하다고 생각된다. ^{5,7,8,14,15} Schroeder 等⁸은 美國 New York 地方에서도 秋播한 시금치가 BBWV에 甚하게 罹病되었다고 하였다.

摘 要

질은 綠色의 모자이크病徵을 나타내는 罹病 시금치를 採集하여 Broad bean wilt virus(BBWV)를 分離同定 하였다.

分離된 Broad bean wilt virus (BBWV)를 指標植物에 汁液接種한 結果, 명아주(*Chenopodium amaranticolor*), 명아주(*Chenopodium quinoa*), 잠두(*Vicia faba*)에서는 接種葉에 局部病斑이 나타났고 接種上葉에서는 모자이크(全身感染)病徵이 나타났으며 파리(*Physalis floridana*), 시금치, 담배(W.B), 담배(*Nicotiana glauca*)에는 모자이크 病徵이 나타났다.

罹病시금치로부터 分離한 病原바이러스와 BBWV의 抗血清을 寒天內擴散法(Agar gel-diffusion test)으로 反應시킨 結果 陽性 反應이 나타났다. 罹病葉을 Dip法으로 試料를 製作하여 電子顯微鏡에서 檢鏡한 結果 球形의 粒子가 觀察되었으며 直徑은 25nm이었다. 시금치 栽培圃場에서 BBWV의 發生分布는 水原, 安養, 大邱 晉州 等 거의 全國적으로 發生하였다.

引用 文 獻

1. Brandes, T. 1957. Eine Elektronenmikroskopische Schnellmethode zum Nachweis faden- und stabchenförmiger Viren, insbesondere in kartoffeldunkelkeimen. Nachrbl. dtsh. pflsch Dienst (Braunschweig), Stuttgart. 9: 151-152
2. Gibbs, Giussani-Belli and Smith, 1968. Ann. app Biol. 61: 99
3. 岩木滿郎·小室康雄, 1972. 스이센에서 分離さ

れた ウィルス. 第3報, Cucumber mosaic virus, tobacco rattle virus, broad bean wilt virus)について. 日植病報. 38: 137-145.

4. 小室康雄, 1973. 野菜の ウィルス 誠文堂新光社 2 02-209
5. 李淳炯, 李起運, 鄭鳳朝, 1978. 시금치바이러스病에 關한 研究. 1. 시금치에 發生하는 순무모자이크 바이러스(TuMV)의 分類同定. 韓國植物保護學會誌. 제17권제 1호 33-35.
6. 森田健二, 荒井啓, 土居養二, 與良清, 1974. Broad Bean Wilt Virus による ナスの 新病害. ナスえそ斑點病. 日植病報. 40: 288-294
7. 向秀夫·栗原一雄, 1976. ホウレンソウの モザイク 症狀株から 分離された 1 ウィルスに ついて. 日植病報. 33: 93-94.
8. Schroeder W.T., and R. Provvidenti 1970. A destructive Blight of *Spinacea oleracea* Incited a strain of the Broad Bean Wilt Virus. phytopa. Vol 60: 1405-1406.
9. Slogteren. D.H.M. Van. 1955. Serological analysis of some plant viruses with the gell-diffusion method. Proc. 2nd Conf. Potato Virus Diseases Liss-Wageningen. 1954: 45-50.
10. Stubbs. 1947. A destructive vascular wilt virus disease of broad bean(*Vicia faba* L) in victoria. J. Dep Agri. Vict. 46: 323.
11. Stubbs. 1960. Aust. J. Agri. Res. 11: 734
12. Taylor, Smith. Reingum and Gibbs. 1968. purification and properties of broad bean wilt virus Aust. J. biol. Sci. 21: 929
13. Taylor and stubbs. 1972. Broad bean wilt virus. CMI/AAB. Description of plant viruses No. 81.
14. 與良清·土居養二·小野田正樹 1967. ホウレンソウ의 えそ 萎縮病について 日植病報. 33: 94.
15. 吉井甫. 1951. 西日本に 於ける 十字花科 蔬菜의 모ザイク病. 植物病害研究. 4: 17-22.