

生薑모자이크바이러스病에 관한 研究

蘇 仁 永

Studies on Ginger Mosaic Virus

In Young So

Abstract

A mosaic virus disease of ginger plant was investigated to determine its virus group on the basis of host range, physical and chemical properties, serological behavior and electron-microscopic morphology.

The disease gave rise to yellowish and dark-green mosaic on the leaves in the early stage and stunted all the leaves as well as rhizomes in the late stage. In the field about 43% of the plants were observed to be diseased. The disease was able to be artificially infected to the ginger plants by the sap and core transmission as well as to 23 other species of plants which were known to be the CMV susceptible plants by the sap transmission; *Chenopodium amaranticolor*, *Nicotiana tabacum* var. Havana, cow pea, cucumber, tomato, ... etc. The dilution end point of the virus ranged 10^{-4} - 10^{-5} and the thermal inactivation point 65-70°C. Serological test showed a positive reaction by a CMV antiserum. An electron microscopy of the purified virus showed that the virus particles were spherical with a diameter of 28-32m μ . Virus particles from the infected tissue were observed to be free or aggregated in the mesophyll tissue of artificially infected tobacco plant. The mosaic disease of ginger plants were conclusively suggested to the CMV group.

緒 論

生薑은 印度 및 말레이시아 地方이 原産地로 추정되나, 現在는 全世界의으로 온난지대에 분포되고 있다. 우리나라에는 忠南 瑞山과 全北 鳳東地方에 栽培場地가 形成되고 있으며, 兩園地에서 全國需要量의 80% 이상을 생산하고 있다. 根菜作物인 생강은 塊莖에 의하여 營養繁殖을 하므로 種莖傳染에 의한 種子傳染病害의 防除策이 문제되고 있는 실정이다. 특히 우리나라에서는 長期的 種莖更新 없이 自家採莖에 依한 栽培가

이루어지고 있어 바이러스病이 만연되고 있는 실정이다. 따라서 無病種莖의 生産과 아울러 이의 系統的인 補給體系가 必要된다. CMV群의 바이러스라고 하였으나, 小室¹⁾은 생강의 바이러스病에 관하여는 河合¹³⁾과 생강이 CMV系統에 非感受性이라 하였고, 匠原등²⁵⁾은 CMV抗血清과 陽性反應을 나타낸다고 하였다. 우리나라에서는 정등²⁾ 이등¹⁸⁾에 의하여 생강에 CMV가 發病한다고 하였고, 이어서 이의 諸性質을 記載하였을 뿐 생강에 발생하는 모자이크病에 대한 綜合된 單一報告는 찾아볼 수 없다. 따라서 本人은 鳳東과 瑞山地方의 生薑栽培園地內에 바이러스病徵의 萎縮病이 發生하-

* 全北大學校 農科大學 College of Agriculture, Jeon Buk National University, Jeon Ju, 520, Korea.

** 1979年度 文教部 究研補助費에 의한 것임.

있어 1978년부터罹病株를蒐集하여 이의病原과諸性質을調査하였다.

實驗材料 및 方法

罹病株 蒐集 및 바이러스分離 바이러스罹病株는1978~1979年 全羅北道 鳳東地方과 忠清南道 瑞山郡 浮石面과 仁地面 一帶의 生薑栽培圃地에 發病되고 있는 모자이크病徵이 뚜렷한 生薑(*Zingiber officinale*, Common strain)을 採集하여 供試하였다. 寄生植物은CMV 寄生植物로 알려진 植物들을 網羅하여 多種 育苗하여 사용하였다. 바이러스分離는 局部斑點 및 全身感染性 寄生植物을 應用한 寄生循環接種法으로 單一分離하였으며, 人工接種은 인산완충액(pH 7.0)을 가한 罹病組織 작동액에 carborundum(400mesh)을 섞어 傷痕接種하였다.

罹病率 調査: 농가재배포장의 이병율 조사는 鳳東과 瑞山地方의 生薑栽培圃地를 중심으로 생강 생강기간(7~10月)에 걸쳐 每畝 3坪(9.9m²) 기준으로 1圃場 3反復 3場所씩 무작위 표본 조사하였다. 실험포는 鳳東地方에서 流通되고 있는 種薑을 무작위 수집 混合하여 全北大學校 瑞昌農場에 파종한 후 발아 초기부터 수확기까지 조사하였다.罹病株率은 3坪內의 生薑全畝株數에 이 병주수를 計算하였다.

物理化學的 淨化: 種薑限界點의 接種액은 이병조직 인산완충액(W/V)=1:1로 하여 착즙한 액에 재증류수를 가하여 16道法으로 淨화하였다. 溫度限界活性化點의 接種액은 이병조직:인산완충액(W/V)=1:50으로 착즙한 액을 차 온도인 50도수槽內에서 10分間 處理하여 接種하였다. 각 檢定植物은 명아주(*Chenopodium amaranticolor*), 근대(*Beta vulgaris*), 담배(*Nicotiana tabacum* var. White Burley)를 並用하였다. 純化는 H. Scott¹³⁾, Takanami 등²⁰⁾, 李 등¹⁷⁾의 方法을 應用하여 超遠心分離하였다.

血清反應 및 電子顯微鏡 觀察: 血清檢定은 佐原²⁵⁾의 方法을 應用한 寒天內擴放法으로 反應시키 나타난 反應帶를 確認하였다. 抗血清은 水原 農業技術研究所 바이러스研究室에서 製造한 CMV抗血清(力價 $\frac{1}{1280}$)을 使用하였다. 抗原은 部分純화된 바이러스液과 이병잎의 粗汁液 및 日本 바이러스研究室에서 提供한(橋原比呂志) 순화된 日本産 CMV strain을 對照 供試하였다. 電子顯微鏡 觀察은 純화된 바이러스液을 供試하여 바이러스粒子的 形態를 直接 觀察하였고, 組織切片은 人工接種시킨 담배(*N. tabacum* var. Havana)의 新葉에 나타난 病徵部位를 供試하였다. 固定은 Honda⁹⁾의

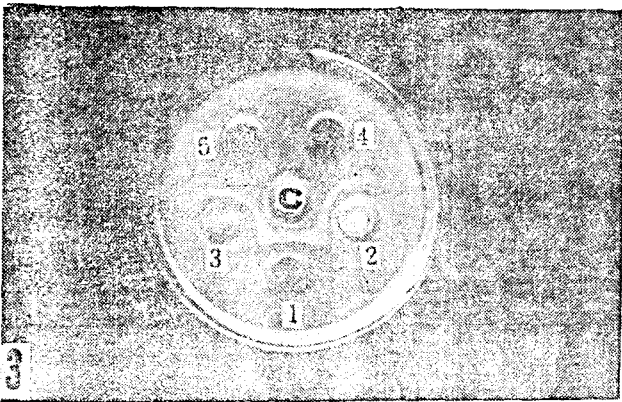
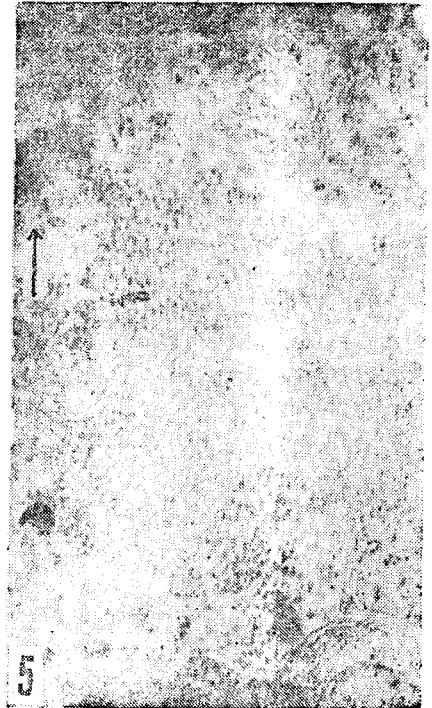
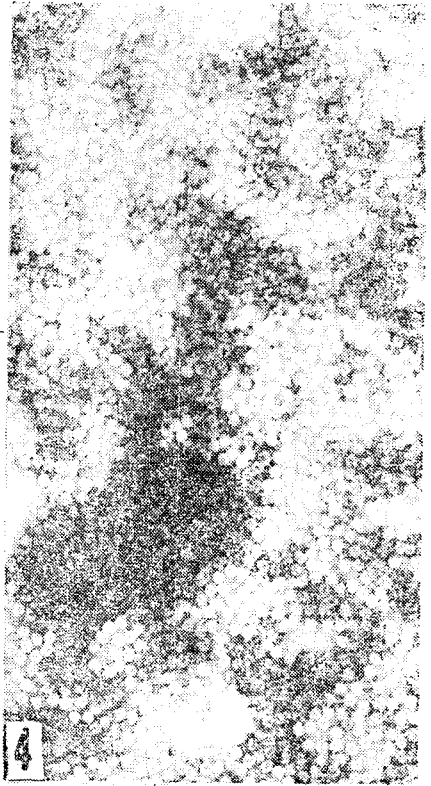
方法으로 하였고, epoxy resin으로 包埋하여 切片後 電子顯微鏡(Hitachi HS-7 및 HS-11)으로 檢鏡하였다. 本 實驗을 協助하여준 農業技術研究所 바이러스研究室과 고려대학교 전자현미경실의 諸君께 감사하는 바이다.

結 果

病徵 및 寄生範圍: 발아 후 초기생장기에는 淡綠 및 黃綠色의 모자이크 病徵을 일으킨다. (Fig. 1). 싹한 것은 退綠部分이 줄무늬를 일으키며 植物全體가 萎縮되고, 特히 塊莖은 生長이 抑制되고 小球化된다(Fig. 2). 罹病塊莖을 圓筒 보관시키면 健全塊莖이 비하여 부피가 많으며 발아율도 저하된다.

生薑을 비롯하여 11科 29種의 植物에 汁液傳染을 시킨 結果 全身感染 및 局部徵狀이 23種, 無徵狀이 6種이었다. 생강은 16株中 15株가 汁液傳染 되었으며, 接球傳染(core grafting)은 10株中 5株는 枯死하고 5株는 모자이크 증상이 나타났다. 全身感染植物은 담배, *N. tabacum* var. White Burley, *N. tabacum* var. Havana, *N. rustica*, *N. glutinosa*, *N. sylvestris*. 토나토(*Lycopersicon esculentum*), 고추(*Capsicum annum*), *Datura metal*, 백일홍(*Zinia elegans*), 전일홍(*Gomphrena globosa*), 금잔화(*Calendula officialis*), 소리쟁이(*Rumex corcanus*), 일일초(*Vinca rosea*), 근대(*Beta vulgaris*), 나팔꽃(*Pharbitis nil*), 시금치(*Spinacia oleracea*), 오이(*Cucumis sativus*), 참외(*Cucumis melo*)등이고, 局部斑點후 全身病徵植物은 *D. metal*, *D. stramonium*, *N. sylvestris*, 고추, 근대, 나팔꽃등이고, 명아주식물, *Chenopodium amaranticolor*, *Ch. album*등은 局部斑點만을 나타냈다. 病徵 未確認 植物은 콩(*Glycine max*), 강낭콩(*Phaseolus vulgaris*), 팥(*Ph. radiatus* var. aurea), 녹두(*Ph. radiatus* var. typicus), 까마중(*Solanum nigrum*) *N. physaloides*등이었다. 이를 無病徵植物들로부터 바이러스의 회수확인 接種은 하지 않았다.

圃場罹病率: 生薑 생장기간의 바이러스 圃場罹病率을 조사한 결과는 瑞山地方이 가장 높아 70.40%를 나타내었고, 鳳東地方이 24.63%로서 제일 낮았으며, 實驗圃場은 53.89%를 나타내어 총 平均 43.90%의 罹病株率을 나타내었다. (Table 1). 表에는 제시하지 않았으나 生長期間中의 바이러스感染率 증가는 농가포장에서 7.46%, 實驗圃場에서는 12.97%의 증가율을 나타내었다. 이와 같이 地域에 따라 포장이병율의 큰 차이가 나타나는 것은 種薑에 主因되는 것으로 생각된다.



瑞山地方은 포장이병율도 높았지만 재배작황도 좋지 않았다. 鳳東地方은 井等³³⁾의 조사에 의하면 45%의 罹病率을 보였으나 이번 조사에서는 이병율이 낮았다. 이것은 1978년부터 생강병해에 대한 啓蒙이 住民들에게 이루어져서 種莖選別을 엄격히 한 것으로 생각된다. 실험포의 이병율은 種莖選別時에 實驗日에 따라 市場에서 流通되는 종강을 무작위로 수집 混合하여 選別 없이 植栽한 理由인듯 생각된다. 따라서 種莖의 管理問題도 種莖管理體系에 準하여 無病種莖의 生産園地育成과 系統的 補給體系의 確立이 되어야 하겠다.

Table 1. Occurrence the ginger mosaic disease in several areas in ginger growing fields, Korea (1979).

Areas	Localities	No. of checked plants	No. of disease plants	Percent-age of disease (%)	Remark
Bong-dong	Lag-Pyung-ri	802	228	28.42	a
	Yul-so-ri	792	184	23.08	
	Wha-san-ri	897	203	22.63	
	Sub total	2,496	615	24.63	
Soo-san	Bu-suk	992	714	71.97	a
	In-ji	917	673	68.81	
	Sub total	1,970	1,837	70.40	
Jeon-ju	Experimental field	1,388	568	53.89	b
Total		5,854	2,570	43.90	

a; Each value is based on the measurements from three 9.9 m² plots from three different fields in three places. b; Three 9.9 m² plots from 18 fields.

媒介虫 調査: 생강에 서식하는 害虫으로서는 조명나방유충(*Ostrinia furnacalis*), 거세미나방유충(*Euxoa segetum*) 등이 地上 莖葉部를 加害하였으며, 地下部 加害虫으로서는 5種의 線虫 *Meloidogyne hapla*, *Criconemoides informis*, *Rotylenchus* spp., *Aphelenchoides* spp. 등이 優占種으로 採集되었다. 그러나 이들 害虫들에 의해서 CMV가 傳染된다는 報告는 찾아볼 수 없으며 앞으로 더욱 追試되어야 할 問題라고 생각한다.

稀釋限界濃度 및 溫度限界活性點: 局部斑點 및 全身 感染植物 등 3種의 植物에 接種하였든 바 稀釋限界濃度 點은 10⁻⁴~10⁻⁵ 부근이었고, 溫度限界活性點은 60~65°C 범위이었다.

純化 및 血清反應: 담배(White Burley)에 接種後

10日만에 收穫하여 純化한 결과 높은 濃度の 바이러스를 회수할 수 있었다(Fig. 5). 血清反應은 CMV 血清과 각 抗原을 한천내확산법으로 반응시킨 결과 명확한 反應帶의 形成을 볼 수 있었다. 特別 部分純化한 生莖바이러스, 韓國系 CMV, 日本 CMV와는 뚜렷한 陽性, 反應帶를 보였고(Fig. 4), 粗汁液 反應에서도 陽性反應을 나타냈다. 따라서 生莖바이러스는 CMV 群에 속하는 바이러스라고 생각된다. 그러나 精確한 CMV strain은 純化方法과 血清反應을 追試하여 報告하기로 하겠다.

電子顯微鏡의 觀察: 純化한 생강바이러스액을 稀釋하여 電子顯微鏡으로 形態를 鏡檢한 결과 28~32μm 範圍의 球形인 바이러스粒子들이 觀察되었다(Fig. 4). 생강바이러스를 接種한 담배(Havana)의 葉肉組織을 切片하여 鏡檢한 결과는 球形 비슷한 바이러스粒子들이 細胞質內에 密集되어 存在하는 像이 觀察되었다. 또한 바이러스粒子들이 遊離되어 存在하는 것도 觀察되었다(Fig. 5). 그러나 罹病된 생강의 葉肉組織을 試料로 한 切片에서는 바이러스粒子를 관찰할 수 없었다

考 察

생강바이러스성 萎縮病의 病原體가 CMV 群에 속하는 바이러스로 本 實驗結果 밝혀졌다. CMV는 寄主範圍도 넓고^{2,15,25)} 現在 밝혀진 CMV-strain만도 CMV-O, CMV-Y, CMV-Le, CMV-C, CMV-Vm, CMV-N 을 비롯하여 十餘 strains^{11,14,31,32)}이 存在하며 昆虫媒介도 判되는^{16,22)} 被害 높은 바이러스로 알려져 있다. CMV는 일반적으로 溫度에 不安定하여 溫度에 따라 病斑의 形成, 바이러스의 增殖濃度 및 所要時間이 各 strain別로 다르게 나타난다.^{3,6,7,31)}

稀釋限界點, 溫度限界點, 耐保存期間등도 strain別로 뚜렷한 限界點을 決定하기 困難한 實情이다.^{26,28,29)} 血清學的反應의 相互連關性을 보면 基本的으로는 strain 間에 陽性反應을 나타내고 있으나^{1,8,19,20,25,27)} strain 을 血清反應으로만 判別할 수 있는 基準血清을 定하기는 어려운 實情인듯 하다. 전자현미경을 통한 바이러스粒子의 크기도 24~34μm의 小球型^{24,28,29,32)}으로 strain 間에 뚜렷한 차이가 없고, 罹病組織의 組織變化的 특수성도 찾아 볼 수 없다^{4,8,9)}. 최근 amino酸의 組成 RNA의 性質, 純化的 性質등 化學的方法을 應用하여 判別하려는 경향도 있다^{10,12,21,24)}. 따라서 寄主植物의 病徵을 土莖로 物理化學的 諸性質등을 綜合하여 strain을 判別하는 方法이 가장 이상적이라 하겠다. 本 實驗에서 생강바이러스의 寄主反應이 溫度에 예민

하였고 특히 7~8月の 高温期에는 기주식물에 接種하여도 病徴의 發見이 잘 나타나지 않았으며, 15~25°C 범위가 가장 좋았다. 本 實驗에서 非感受性 反應을 보인 植物中에는 CMV에 感染성식물로 報告된 것도 있다^{2,15)}. 이것은 前述한 바와 같이 接種時期가 30°C 이상의 高温期에는 바이러스 増殖이 抑制된 것으로 생각된다. 그러나 CMV의 기본기주인 명아주, *N. glutinosa*, *Datura spp* 등에 나타나는 病徴으로 보아서 본 바이러스가 CMV群에 속하는 strain이라고 생각된다. 또한 溫度限界點은 60~65°C 稀釋限界點이 10^{-4} ~ 10^{-5} 범위로 나타났으나 이것은 CMV群의 범위내에 드는 것이다^{26,28,29)} 純化方法과 血清學的反應^{10,17,25)}에 대한 報告는 strain에 따라 差異와 改良方法들이 개발되고 있으나 본 실험에서도 고농도의 바이러스를 회수하였으며, 血清反應도 CMV血清, 日本系 CMV등과 陽性으로 나타난 것은 본 생강바이러스가 CMV群에 속하는 것으로 생각된다. 電子顯微鏡 觀察에서 28~32 μ 小球型의 바이러스粒子가 관찰되었고 罹病組織에서도 바이러스의 密集像 및 遊離粒子像이 관찰되었다. 이것은 CMV粒子的 크기^{24,28,29,32)} 및 罹病組織의 報告像^{4,6,9)}과 一致한다. 그러나 罹病生體組織 試料에서 바이러스粒子像을 觀察할 수 없었던 點은 바이러스의 濃度低下가 일어난 것으로 생각된다.

본 생강바이러스病의 농가개배포장 이병율이 평균 43%를 상회한 것은 생강기배의 시급한 개선책이 요구된다고 하겠다. 특히 생장초기에 감염된 생강은 생장이 위축되어 塊莖이 小球化되므로 생산량에 막대한 감수인상을 초래한다. 본 研究結果에 비추어 外國에서도²¹⁾ 無病種莖의 생산단지 육성 및 補給體系를 개선하고 있는 바와 같이 우리나라에서도 無病種莖 生産圃地 育成과 아울러 무병종강의 補給體系化가 이루어지기 위한 研究는 바이다.

摘 要

우리나라에 발병되고 있는 생강모자이크 바이러스病의 寄主範圍, 物理化學的 性質, 血清檢定 및 電子顯微鏡의 觀察를 調査하였다.

생강의 初期病徴은 黃綠斑紋을 일으키고 後期에는 萎縮現象 및 塊莖의 小球化를 이룬다. 圃場이병율은 약 43%이었다. 汗液傳染, 接球傳染(core grafting)이 이루어지며, 동부, 오이 *Chenopodium amaranticolor*, *N. tabacum* var. Havana를 비롯하여 23種의 CMV感受性 植物에 병증을 나타낸다. 稀釋限界點은 10^{-4} ~ 10^{-5} 범위이고, 溫度限界活性點은 65~70°C사이

이다. 血清反應은 CMV抗血清과 陽性으로 나타난다. 電子顯微鏡에 의한 바이러스粒子的 크기는 28~32 μ 의 球形이다. 이병엽육조직의 細胞質 속에는 球形바이러스粒子的 密集像과 遊離되어 있는 粒子도 관찰되었다. 이상을 종합하여 볼 때 생강에 모자이크病을 일으키는 바이러스는 CMV群에 속하는 바이러스도 믿어진다.

Explanation of figures

Fig. 1. Green and yellowish mosaic symptoms in ginger plant

Fig. 2. Diseased plants (left and right) showing streaks in leaves and stunt leaves and rhizomes. The healthy plants was put in between for comparison.

Fig. 3. Serological reaction by an agar gel diffusion method. C; Antiserum. 1-5; Antigens. 1; Purified virus from ginger plants. 2; CMV (control). 3; CMV from Japan. 4; fresh sap from mosaic disease in ginger plant. 5; fresh sap from healthy tobacco plant.

Fig. 4. Virus particles isolated from infected ginger plant(50,000x).

Fig. 5. A thin section prepared from the artificially infected tobacco plant. Virus-like particles are aggregated in cytoplasm. Free particles are also observed(arrow→) (45,000x).

引用 文 獻

1. Bawden, F.C., B. Kassanis. 1970. The serological relationship between tobacco mosaic virus and cucumber viruses 3 and 4. *Virology* 34 : 174-175.
2. 정봉조·이순형·이기운. 1977. 작물바이러스병 방제에 관한 시험(주요작물 바이러스병의 분리 동정에 관한 시험). 농촌진흥청 농업기술연구소 시험연구보고서(병해충편) 203-205.
3. 橋原比呂志. 1962. キュウリモザイクウイルスの接種葉における増殖. 日本植病報 27 : 78. 講演要旨.
4. Ehara Yoshio. 1979. Complex membranous organelles in the cells of the local lesion area on

- cow pea infected with cucumber mosaic virus. Ann. Phytopath. Soc. Japan 45 : 17-24.
5. 江原淑夫・三澤正生. 1975. キュウリモザイクウイルスの感染に關する研究 第8報. ウイルスの移行および病斑の擴大におよぼす温度の影響. 日植病報 41 : 15-23.
 6. Grogan, R.G., J.K. Uyemoto, and K.A. Kimble. 1963. Evidence that tomato aspermy and cucumber mosaic viruses are serologically unrelated. Virology 21 : 36-42.
 7. 日高醇・久保進. 1961. 接種葉におけるキュウリモザイクウイルスの増殖. 日植病報 26 : 67. 講演要旨.
 8. Honda, Y., C. Matsui, Y. Otsuki, and I. Takabe. 1974. Ultrastructure of tobacco mesophyll protoplasts inoculated with cucumber mosaic virus. Phytopathology 64 : 30-34.
 9. Honda, Y., and C. Matsui. 1974. Electron microscopy of cucumber mosaic virus infected tobacco leaves showing mosaic symptoms. Phytopathology 64 : 534-539.
 10. Howard Scott. 1963. Purification of cucumber mosaic virus. Virology 20 : 103-106.
 11. 飯塚眞男・太田木利文. 1976. マメ科植物に發生するCMVの群ウイルスについて. 日植病報 42 : 377. 講演要旨.
 12. Kaper, J. K., and G.G. Re. 1974. Redetermination of the RNA content and the limiting RNA size of three strains of cucumber mosaic virus. Virology 60 : 308-311.
 13. 河合一郎. 1961. 園藝病害編(シヨガの病害), 第2版, 日本. 252-255.
 14. 堀岡幸. 1961. マスクメロンに自然發生したカボチャモザイクウイルスならびにその 1 strain について. 日植病報 26 : 70. 講演要旨.
 15. 小室康雄. 1953. キュウリモザイク病ウイルスに關する研究 III. 寄生範圍. 日植病報, 23 : 235-239.
 16. 小室康雄. 1961. キュウリモザイクウイルスの媒介アブラムシの種類. 日植病報 26 : 70. 講演要旨.
 17. 李淳炯・李起連・鄭鳳朝. 1978. 오이모자이크 바이러스의 能化와 抗血清製造, 韓國植物保護學會誌 17 : 29-31.
 18. 이춘경・유광희・이준성. 1979. 작물 바이러스병 방제에 관한 연구(주요작물 바이러스병의 분류동정에 관한 시험). 농촌진흥청 농업기술연구소 지협연구보고서(병해, 유진권). 242-249.
 19. Mink, C.I. 1969. Serological relationships among cucumber mosaic virus, Tomato aspermy type viruses and peanut stunt virus. Phytopathology 59 : 1889-1893.
 20. Mossop, D.W., R.I. Francki, and C.J. Grivell. 1976. Comparative studies on tomato aspermy and cucumber mosaic virus V. Purification and properties of a cucumber mosaic virus inducing severe chlorosis. Virology 34 : 544-546.
 21. 中澤邦男. 1962. キュウリモザイクウイルスの 3系統におけるモモアカアブラムシによる傳播力の差. 日植病報 27 : 78. 講演要旨.
 22. 小川勉・松原徳行・森憲昭・岩永皓. 1974. ショウガ種苗の生産安定に關する研究. 長崎縣総合農林試験場研究報告(農業部分). 第2號, 2-29.
 23. Regenmortel, M.H.V. 1961. Zone electrophoresis and particle size of cucumber mosaic virus. Virology 15 : 221-224.
 24. 匠原監一郎, 井上忠男. 1978. キュウリモザイクウイルス検出診断のための簡易寒天ゲル内擴散法. 日植病報 44 : 619-625.
 25. 井上成信. 1966. Dendrobium から分離されたCMVについて. 日植病報 32 : 82. 講演要旨.
 26. 井上成信・井上忠男. 1967. キュウリ緑斑モザイクウイルスに關する研究(第4報) GMMV, TMV, ORSV 相互間の血清反應試驗. 日植病報 33 : 339. 講演要旨.
 27. 田村實・小室康雄. 1967. キュウリモザイクウイルスによるアジサイのモザイク病. 日植病報 33 : 27-31.
 28. 高橋實・尾崎武河・森康史. 1967. キュウリモザイクウイルスの草花類からの分離. 日植病報33 : 339. 講演要旨.
 29. Takanami, Y. and K. Tomaru. 1969. Effect of EDTA on cucumber mosaic virus and its application in purification. Virology 37 : 293-295.
 30. 都丸敬一. 1975. タバコにおけるキュウリモザイクのウイルスに關する研究. 日植病報 41 : 233-235.
 31. Waterworth, H.E., and W.R. Povich. 1975. A virus related to cucumber mosaic from imported Ixora plants. Phytopathology 65 : 728-729.
 32. 尹淳奇, 蘇仁永, 金炳武. 1979. 全北 鳳東 生薑圃地の 病害虫 調査研究. 全北農大論文集 10 : 1-24.