*Potato virus Y*에 의한 하령 감자의 괴경 괴저증상

이영규* · 김점순 · 김주일 · 박영은

국립식량작물과학원 고령지농업연구센터

Superficial Tuber Necrosis in Potato Cultivar ‘Haryeong’ Caused by *Potato virus Y*

Young-Gyu Lee*, Jeom-Soon Kim, Ju-Il Kim and Young-Eun Park

Highland Agriculture Research Center, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Pyeongchang 232-955, Korea

(Received on November 7, 2011; Revised on March 22, 2013; Accepted on March 25, 2013)

Potato cv. ‘Haryeong’ was bred with high solids, resistance to late blight and good culinary quality. It has been registered as new potato variety in 2005. Tuber necrosis symptoms such as severe superficial necrosis, raised surface lesions and ringed necrotic areas were found in tubers of ‘Haryeong’ during storage of seed potatoes in 2010. *Potato virus Y* (PVY) was detected from these symptomatic tubers by the analysis of RT-PCR using a primer set specific to coat protein gene of PVY. The nucleotide sequence of RT-PCR product (PVY^{Hkr}) was determined and compared to those of other strains, such as PVY^{Kor}, PVY^N, PVY^{NTN}, PVY^O, and PVY^C registered in GeneBank. The result showed that PVY^{Hkr} was exactly the same as PVY^{Kor}, Korean isolate reported in 2005, except two nucleotides. To verify the PVY was responsible for the tuber necrosis symptoms shown in the tubers of ‘Haryeong’, a bioassay was done using two viruses (PVY and *Potato leafroll virus*) and five potato cultivars (‘Haryeong’, ‘Superior’, ‘Atlantic’, ‘Dejima’, and ‘Chuback’). As expected, the same necrosis symptom appeared in tubers of ‘Haryeong’ infected with PVY only during the storage period.

Keywords : Haryeong, Potato, *Potato virus Y* (PVY), Tuber necrosis symptom, Virus

서 론

감자(*Solanum tuberosum*)는 전 세계적으로 쌀, 옥수수, 밀 다음으로 중요한 작물이다. 현재 우리나라에 재배되는 감자 품종은 장려품종으로 지정된 19개 품종과 민간에서 개발하여 등록된 20품종이 있다. 그 중에서 하령 품종은 건물율과 수량성이 높고 지역적응성이 우수하며 특히 감자역병에 매우 강한 것으로 평가되어 2005년 신품종으로 선정되었다(Park 등, 2006).

영양 번식을 하는 감자는 병리적 퇴화에 의하여 생산량 감소가 크며 그 원인 중 가장 주요한 요인은 바이러스병으로 밝혀져 있다(Struik와 Wiersema, 1999). 감자를

기주로 하는 바이러스는 세계적으로 40여종이 보고되어 있으며 우리나라에서는 15여종이 보고되었다(Hahm, 2003). 이들 중 감자에 피해를 많이 주는 바이러스로는 *Potyvirus* 속의 대표 바이러스인 *Potato virus Y*(PVY)와 *Luteovirus* 속의 대표 바이러스인 *Potato leafroll virus*(PLRV)가 있다(Salazar, 1996). PVY는 감자 품종과 지표식물에 나타나는 병원성의 차이로 PVY^O(common strains), PVY^C(stipple streak strains), PVY^N(tobacco veinal necrosis strains), PVY^{NTN}(potato tuber necrosis strains)으로 나누어지고 있다(De Bokx와 Huttinga, 1981; Le Romancer와 Nedelee, 1994). 국내 감자에서는 PVY^N 계통이 우점하고 있으며 감자 품종에 따라 PVY에 의한 병원성에 차이를 나타내고 있다. 일반적으로 추백이나 대서 품종은 PVY에 의한 심한 모자이크 증상 및 황화 반점이 뚜렷이 나타나고, 대지 품종에서는 연한 모자이크 증상을 나타내며 가장 많이 재배되는 수미 품종에서는 모자이크 증상이 나

*Corresponding author

Phone) +82-33-330-1941, Fax) +82-33-330-1519

Email) yogylee@korea.kr

타난다. 최근에 친환경재배에 관심이 높아지면서 역병에 강하고 맛이 좋은 신품종 하령 감자를 농가에서 선호하게 되었고 재배 면적도 늘어나고 있다. 2010년 대관령에서 저장 중인 하령 감자에 원형의 괴저 증상이 발생되어 많은 피해를 주었다. 따라서 본 연구는 하령 감자의 괴경 괴저 증상의 원인을 구명하여 그 피해를 예방하고자 수행하였다.

재료 및 방법

괴경 괴저증상. 2010년 대관령 지역 감자 재배 농가에서 저장 중에 있던 하령 감자에 괴저증상이 나타났다. 괴저증상은 감자 눈을 중심으로 넓은 원형을 나타내면서 조직이 함몰하는 증상과 조직이 변색되면서 표면이 융기되는 증상으로 나타났다(Fig. 1). 표면에 원형의 괴저증상을 나타내는 감자와 변색되면서 융기되는 괴저증상의 감자를 실험의 재료로 사용하였다.

RT-PCR 및 염기서열 분석. 괴저증상을 나타내는 감자에서 Plant pathogenic viral RNA extraction kit(Hana science)을 이용하여 핵산을 추출하였다. RT-PCR은 Topscript one step RT-PCR kit(Enzyomic)을 사용하여 분리한 핵산 1 µl에 PVY 진단용 프라이머(sense 5'-ATGACACAATTG ATGCAGGAGGAA-3', antisense 5'-GGTGGTGTGCCTCT CTGTGTTCT-3')을 각각 1 µl(10 pmol) 넣고 최종 부피가 20 µl가 되게 한 후 반응시켰다. 진단 프라이머 쌍은 PVY

의 외피단백질 유전자의 750 bp를 증폭하도록 만들어졌고 특허 등록되었다(Lee 등, 2005). 반응 조건은 50°C 30분 반응 후 95°C 10분간 변성과정을 거쳐 95°C 30초, 60°C 30초, 72°C 1분으로 35회 반복하여 증폭하였고 마지막에 72°C에서 5분간 처리하였다. 유전자 증폭 결과를 자동전기영동장치(Multina)를 이용하여 분석하였다. 증폭된 PVY 외피단백질 유전자(PVY^{HK})를 pGEM-T Easy vector(Promega)에 클로닝하여 유전자의 염기서열을 분석하였다. 분석한 염기서열은 DNASTAR 프로그램을 이용하여 Genebank에 등록된 PVY 계통들과 유연관계를 분석하였다(Robaglia 등, 1989; Schubert 등, 2007).

생물검정. 괴경 괴저 증상의 원인이 바이러스에 의한 것인지를 확인하기 위하여 감자 품종을 이용하여 생물검정을 실시하였다. 생물검정에 사용한 감자 품종은 국가보급 품종인 수미, 가공용 품종인 대서, 2기작 품종인 대지와 추백 그리고 괴경 괴저증상을 나타낸 하령 품종이다. 바이러스 접종원으로는 PVY^{Kor}과 *Potato leafroll virus* (PLRV) 2종을 이용하였다. 씨감자는 대관령 유리 온실에서 바이러스에 감염되지 않은 것이 확인된 수경재배 감자를 이용하였으며 플라스틱 박스에 재배하였다(Fig. 2). 지상부로 복엽이 4-5개 나올 때, PVY^{Kor} 이병엽 0.5 g을 0.1 M phosphate buffer(pH 7.2) 5 ml에 넣고 마쇄하여 carborundum(600 mesh)을 이용하여 5가지 감자 품종의 상엽에 즙액 접종하였다. PLRV의 접종은 PLRV 감염된 감자 잎에 복숭아혹진딧물(*Myzus persicae*)을 방사한 다음

Fig. 1. Tuber necrotic symptoms of potato cultivar 'Haryeong'. A: Potato tubers in the storage, B: Ringed necrotic symptom, C: Raised surface lesion symptom.

Fig. 2. Bioassay using two viruses and five cultivars of potato. A: Foreground of greenhouse, B: Potato cultivars sap-inoculated PVY, C: Aphid inoculation of PLRV.

2주 후에 증식된 보독진딧물을 이용하여 접종하였다. 이때 진딧물이 있는 잎을 잘라 접종하고자 하는 감자 품종 상엽에 올려 두어 진딧물이 자연스럽게 이동하여 접종 될

수 있도록 하였다(Fig. 2C). PLRV 시험구는 접종 3주 후 살충제를 처리하여 진딧물을 방제하였다. 지상부 병징발 현을 관찰하였고 7월 27일 처리구 별로 감자를 수확하였다. 수확한 감자는 저장고에 저장하면서 조사하였다.

Fig. 3. Electrophoresis image using Multina (Shimadzu Co., Japan) of RT-PCR products obtained by PVY specific primer set from potato cv. 'Haryeong' with tuber necrotic symptoms. Ringed necrotic symptoms (PVY-1 to PVY-4), raised surface lesion symptoms (PVY-5 to PVY-8) and no symptoms (H) of tuber. Po, positive control.

결과 및 고찰

RT-PCR 반응. 원형의 괴저 증상을 나타내는 감자 4개와 변색되면서 표면이 융기된 4개의 감자에서 분리한 핵산을 주형으로 하여 PVY 외피단백질에 특이적인 프라이머를 이용한 RT-PCR 반응 결과 기대하는 750 bp의 PCR 밴드가 확인되어 괴저증상 및 표면이 융기된 감자 모두로 부터 PVY가 검출되었다(Fig. 3).

염기서열 분석. 하령의 괴저 괴저증상을 나타내는 감자에서 분리된 PVY^{Hkr}의 외피 단백질의 유전자 염기서열을 분석하였다. GeneBank에 등록된 PVY^O(AF345650), PVY^C(EU563512), PVY^N(NC001616), PVY^{NTN}(AJ889866)과 국내 보고된 PVY^{Kor}(Lee 등, 2005)을 이용하여 PVY^{Hkr}의 유연관계를 분석하였다(Fig. 4). 그 결과 PVY^{Hkr}은 PVY^{Kor}와 99.7%, PVY^N과 99.3%의 높은 상동성을 나타내었고, PVY^O와 PVY^C와는 각각 89.7, 90.5%의 상대적으

Fig. 4. Multiple alignment of the sequences of RT-PCR product region of PVY^{Hkr} and other PVY isolates. Sequence origins or Genbank accession numbers : PVY^{Hkr}, in this study; PVY^{Kor}, Korean isolate reported in 2005; PVY^N, NC001616; PVY^{NTN}, AJ889866; PVY^O, AF345650; PVY^C, EU563512.

Fig. 5. Percent identities (A) of the nucleotide (above diagonal) and amino acid (below diagonal) sequences and phylogenetic tree (B) were analyzed by DNASTAR package program (version 1.02) based on the partial coat protein region of PVY isolates. These data show that PVY^{Hkr} is closely related with PVY^{Kor} and PVY^N.

로 낮은 상동성을 나타내었다(Fig. 5). Phylogenetic tree 분석결과 PVY^{Hkr}은 국내에서 보고된 바이러스인 PVY^{Kor}과 거의 동일하였으며 이 두 분리주는 PVY 계통들 중에서는 PVY^N과 가장 가까운 유연관계를 나타내었다(Fig. 5). 괴경의 괴저증상은 일반적으로 PVY^{NTN} 계통에 의해 발생하는 것으로 보고되어 있으며(Boonham 등, 2002), PVY^N 분리주 가운데 괴저증상을 나타내는 것이 있다고 보고된 바 있다(Jeffries, 1998). 하령감자에서 분리한 PVY^{Hkr}은 PVY^N에 가까운 것으로 판단된다.

생물검정. 국내 주요 품종인 수미, 대서, 대지, 추백, 하령의 5가지 품종을 이용하여 PVY 인공접종에 의해 괴경 괴저증상이 나타나는지 생물검정을 실시하였다. PVY를 접종한 처리구에서 접종 2주 후부터 감자 앞에 병징이 발현되었고 3주 후에는 뚜렷한 병징이 나타났다. PVY접종에 의한 품종별 병징은 수미가 모자이크 증상을 나타냈으며, 대서는 황화 반점, 하령은 연한 모자이크 증상,

추백은 심한 모자이크 증상, 대지는 연한 모자이크 증상이 나타났다. 추백과 대서 품종은 심한 병징이 뚜렷이 나타났고 수미는 중간정도이며 대지와 하령은 경미한 병징이 나타났다. PLRV를 접종한 시험구에서는 RT-PCR을 통한 감염은 확인 되었으나 육안에 의한 뚜렷한 병징은 나타나지 않았다.

품종별로 감자를 수확하여 괴경에서의 괴저증상을 확인하였다. 그 결과 수확 당시에는 모든 품종에서 괴저 증상은 나타나지 않았다. 특히 하령 품종에서도 괴저 증상이 확인되지 않았다. 수확한 감자를 저장고에 보관한 후 1개월 뒤에 괴경의 괴저 증상을 조사하였다. 그 결과 하령품종에서 건전주와 PLRV 감염주에서는 괴경 괴저증상이 나타나지 않았으나 PVY 감염주에서는 모두 변색되면서 표면이 융기되고, 원형으로 괴저되면서 함몰되는 증상이 나타났다(Fig. 6). 이 증상은 2010년 하령 품종의 저장 중에 발생한 괴경 괴저증상과 동일하였다. PVY를 접종

Fig. 6. Tuber necrotic symptoms such as raised surface lesions and ringed necrotic symptoms (A) appeared in only PVY infected 'Haryeong' tubers, especially during storage (B). These symptoms were not seen at harvest time (circle).

Fig. 7. PVY induced tuber necrosis symptom in only PVY infected 'Haryeong' tubers (A). However, tuber necrosis symptom did not appear in PVY infected 'Superior' (B), 'Atlantic' (C), 'Chubaek' (D), and 'Dejima' (E) during storage.

한 다른 품종과 비교해 본 결과 하령품종에서만 괴경 괴저증상이 나타났고(Fig. 7) PLRV 감염주와 건전주에서는 모든 품종에서 괴경 괴저증상은 나타나지 않았다. 따라서 하령감자의 괴경 괴저증상은 PVY에 의해 저장 중에 나타나는 것으로 생물검정에서 확인되었다.

감자는 노지재배를 할 때 진딧물에 의해 쉽게 PVY에 감염된다. 하령 품종의 경우 PVY에 감염되면 수확 후 저장 중에 상품성이 급격히 저하되어 많은 피해가 발생할 우려가 있다. 따라서 하령 품종을 재배할 경우 바이러스 무병씨감자를 사용하여야 하며 진딧물 관리를 철저히 하여 그 피해를 최소화 하여야 할 것이다.

요 약

하령 감자는 전분함량이 높고, 역병에 저항성이며 맛이 좋은 품종으로 2005년도에 신품종으로 등록되었다. 2010년 저장 중인 하령 씨감자에서 심한 표피의 괴저와 표면이 융기되고 원형의 괴저 병반이 생기는 괴경 괴저 증상이 발생하였다. 괴경 괴저 증상의 감자를 PVY 진단용 프라이머를 이용한 RT-PCR 분석 결과 모두 PVY가 검출되었다.

괴저증상 감자에서 검출된 PVY^{Hkr} 외피단백질의 유전자 염기서열을 분석하였고 PVY^{Kor}, PVY^N, PVY^{NTN}, PVY^O, PVY^C 계통과 상동성을 비교한 결과 PVY^{Hkr}은 2005년에 보고된 PVY^{Kor}와 2개의 염기를 제외하고 정확히 일치하였다. PVY 감염이 저장 중인 하령 품종에서 같은 병징을 일으키는지 확인하기 위해 5품종의 감자(하령, 수미, 대서, 대지, 추백)와 2종의 바이러스(PVY, PLRV)를 이용하여 생물검정을 실시하였다. 그 결과, 괴경 괴저 증상은 PVY에 감염된 저장 중인 하령 품종에서만 나타났다.

Acknowledgement

This study was carried out with the support of “On-Farm Technology Project (Project No. PJ906982)”, Rural Development Administration, Republic of Korea.

References

- Boonham, N., Walsh, K., Preston, S., North, J., Smith, P. and Barker, I. 2002. The detection of tuber necrotic isolates of *Potato virus Y*, and the accurate discrimination of PVY (O), PVY (N) and PVY (C) strains using RT-PCR. *J. Virol. Methods* 102: 103–112.
- De Bokx, J. A. and Huttinga, H. 1981. *Potato virus Y*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses No. 242.
- Hahm, Y. I. 2003. Review on the occurrence and studies of potato viral disease in Korea. *Res. Plant Dis.* 9: 1–9.
- Jeffries, C. 1998. FAO/IPGRI Technical Guidelines for the Safe Movement of Germplasm. No. 19. Potato. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome/International Plant Genetic Resources Institute, Rome.
- Le Romancer, M. and Nedelee, M. 1994. Biological characterization of various geographical isolates of *Potato virus Y* inducing superficial necrosis on potato tubers. *Plant Pathol.* 43: 138–144.
- Lee, Y. G., Choi, J. A., Lee, J. S., Yoon, Y. N., Cheon, J. U. and Lee, K. W. 2005. Abnormal tubers symptoms in the *solanum tuberosum* cv. Chubaek by *Potato virus Y* - N strain (PVY-N). *Korean J. Plant Pathol.* 21: 424–425.
- Park, Y. E., Cho, J. H., Cho, H. M., Ryu, K. Y., Yi, J. Y., Suh, H. W., Ahn, Y. K., Lim, H. K., Kim, H. S. and Choi, S. J. 2006. A new potato cultivar, “Haryeong” with resistance to late blight and good culinary taste of steamed potato. *Korean J. Breed.* 38: 213–214.
- Robaglia, C., Durand-Tardif, M., Tronchet, M., Boudazin, G., Astier-Manificier, S. and Casse-Delbart, F. 1989. Nucleotide sequence of *Potato virus Y* (N strain) genomic RNA. *J. Gen. Virol.* 70: 935–947.
- Salazar, L. F. 1996. Ecology, epidemiology, and control of virus diseases. pp. 167–205. In: *Potato Viruses and Their Control*. CIP Lima. Peru.
- Schubert, J., Fomitchewa, V. and Sztangret-Wisniewska, J. 2007. Differentiation of *Potato virus Y* strains using improved sets of diagnostic PCR-primers. *J. Virol. Methods* 140: 66–74.
- Struik, P. C. and Wiersema, S. G. 1999. Quality control and seed certification. pp. 269–293. In: *Seed Potato Technology*. Wageningen Pers. Holland.