

## 흰 토끼풀에서分離한 강남콩黃斑모자이크 바이러스의 同定

柳甲喜·李淳炯\*·羅瑢俊\*\*

농촌진흥청 농약연구소,  
\* 농촌진흥청 농업기술연구소,  
\*\* 서울대학교 농과대학

## Identification of Bean Yellow Mosaic Virus from *Trifolium repens*

Gab Hee Ryu Soon Hyung Lee\* and Yong Joon La\*\*

Agricultural Chemicals Research Institute, Suweon, Korea

\* Institute of Agricultural Sciences, Suweon, Korea

\*\* College of Agriculture, Seoul National University, Suweon 170, Korea

### 要 約

흰토끼풀에 黃色모자이크病徵을 나타내는罹病株를 採集하여 病汁液의 指標植物反應과 物理的 性質調查, 蟲媒傳染試驗, 바이러스粒子的 形態觀察 그리고 抗血清反應 等の 方法으로 病原바이러스의 同定을 試圖한 結果 강남콩黃斑모자이크바이러스(BYMV)로 밝혀졌다. 供試病原바이러스의 指標植物反應은 명아주에 全身局部反應, 참두의 接種葉에 局部反應, 출기와 上位葉에 各各 壞疽症狀과 모자이크反應을 보였으며, 강남콩에는 葉脈壞疽, 黃色모자이크 또는 縮葉이 되고 순이 枯死하였다. 또한 완두, 綠豆, 팔과 red clover에는 모자이크反應을 나타냈다. 바이러스粒子的 形態 및 크기는 740nm程度의 絲狀粒子이며, 복숭아혹진딧물에 의하여 傳染이 可能하였다. 바이러스病汁液의 物理的 性質은 耐熱성이 60~65°C, 耐稀釋성이  $10^{-3}$ - $10^{-4}$ , 耐保存성이 3日이었다. 純化된 供試바이러스는 日本 植物바이러스研究所로부터 分讓받은 BYMV抗血清과의 混合沈降反應結果 陽性反應을 보였다.

### ABSTRACT

The virus isolated from white clover, *Trifolium repens* showing mosaic symptom was identified as bean yellow mosaic virus (BYMV) based on the host range, physical properties, aphid transmission, serology and morphology of the virus particles. *Chenopodium amaranticolor* and *C. quinoa* produced local lesions on the inoculated leaves and chlorotic spot on the upper leaves. Broad bean and cowpea produced local lesions on the inoculated leaves and mosaic with vein necrotic symptoms on the upper leaves. French bean showed vein necrosis on the inoculated leaves, yellow mosaic on the upper leaves and bud blight. The average size of virus particles was 740nm in length. The virus was also transmitted by *Myzus persicae*. The thermal inactivation point of the virus isolate was 60 to 65°C, the dilution end point  $10^{-3}$ - $10^{-4}$  and the longevity *in vitro* was 3 days Serological tests with the virus purified from *Trifolium repens* were positive to BYMV antiserum.

**Key words:** *Trifolium repens*, bean yellow mosaic virus, identification.

## 緒 論

강남콩, 팥, 알팔파, 크로바 등 17종의 豆科植物에는 20餘種의 바이러스病이 알려져 있는데(2, 4, 5, 6, 10) 이들 바이러스는 寄主植物에 單獨 또는 複合感染되어 甚한 被害를 주므로서 增收의 커다란 阻害要因이 되고 있다. Clover類에는 Alfalfa mosaic virus(AMV), White clover mosaic virus(WCMV), Red clover vein mosaic virus(RCMV), Red clover mottle virus(RCMV), Bean yellow mosaic virus(BYMV), Cucumber mosaic virus(CMV), Pea dwarf mosaic virus(PDMV) 등 8종의 바이러스病 發生이 報告되었으며(2, 4, 8), 우리나라에서도 이미 AMV, WCMV, RCVV 및 RCMV 등 4種이 報告된 바 있다(9). 특히 clover는 이른봄부터 늦가을까지 계속하여 全國 어디에서나 自生하며 越冬하는 多年生 寄主植物로서 豆科作物 栽培圃場周圍의 바이러스에 感染된 Clover는 重要한 傳染源이 되고 있다(8). 강남콩 黃斑모자이크 바이러스(BYMV)는 Pierce(13)에 의하여 最初로 報告된 이래 大部分의 豆科植物은 물론 글라디올러스 등 여러 種類의 植物에 寄生하여 被害를 주는 寄主多範性 바이러스이므로 二命名에 있어서도 Bean virus 2, Bean dwarf mosaic virus, Gladiolus mosaic virus, Phaseolus virus 2, Pea mosaic virus 4, White sweet clover virus, Yellow sweet clover virus 등의 많은 同意語를 가지고 있다(2). BYMV는 Potyvirus群에 屬하며 진딧물에 의하여 非永續의으로 傳染하게 된다(7, 14, 16). Inouye(5, 6)는 寄主植物의 反應에 따라 BYMV를 B, P, O, N의 4系統으로 分類하였고, Uyeda 등(17)은 바이러스純화와 系統間의 血清學的 關係를 比較한 바 있다. 本 試驗에서는 White clover에 黃色모자이크病徵을 나타내는 罹病株를 採集하여, 病汁液의 指標植物 反應과 物理的 性質調查, 바이러스의 蟲媒傳染試驗, 抗血清反應 그리고 電子顯微鏡에 의한 바이러스粒子的 觀察 등의 方法으로 病原바이러스의 同定을 試圖한 결과, 강남콩黃斑모자이크 바이러스(BYMV)로 밝혀졌기에 이를 報告하는 바이다.

## 材料 및 方法

供試바이러스. 1979年 9月 京畿道 利川 地域의 흰 토끼풀 自生群落內에서 잎에 黃色 mottling 모자이크

病徵을 나타내는 6點의 clone type을 採取하여 溫室內에서 保存하면서 잠두(*Vicia faba*)에 汁液接種한 후 모자이크病徵을 나타내는 上葉을 供試바이러스源으로 使用하였다.

寄主範圍調查. 供試바이러스源을 잠두幼苗에 汁液接種하고 2週後에 모자이크病徵을 나타내는 上位罹病葉을 採取하여 罹病葉重量 5倍의 0.01M phosphate buffer solution, (pH 7.0)을 加한 후 마쇄, 여과한 病汁液을 5科 20種의 植物의 幼苗 잎에 600 mesh의 carborundum과 함께 汁液接種하였다.

蟲媒傳染. 진딧물에 의한 傳染을 調査하기 위하여 健全한 담배(*Nicotiana tabacum* var. Bright yellow)에서 飼育한 복숭아혹진딧물(*Myzus persicae*)을 1時間 絶食시켜 잠두罹病葉에 2分間 바이러스를 獲得吸汁後 健全한 잠두幼苗에 진딧물을 1株當 1마리 또는 5마리씩 接種시켜서 病徵發現을 調査하였다.

物理的 性質調查. 接種 2週後의 모자이크 病徵이 뚜렷한 잠두幼苗 上位葉을 유발에 마쇄후 여과된 病汁液을 使用하여 Noordam의 方法(12)에 따라 耐保存性은 5日間, 耐稀釋性은  $10^{-1} \sim 10^{-6}$ , 耐熱性은 45°C부터 5°C간격으로 70°C까지 調査하였고, 바이러스의 活性여부는 잠두幼苗에 接種하여 調査하였다.

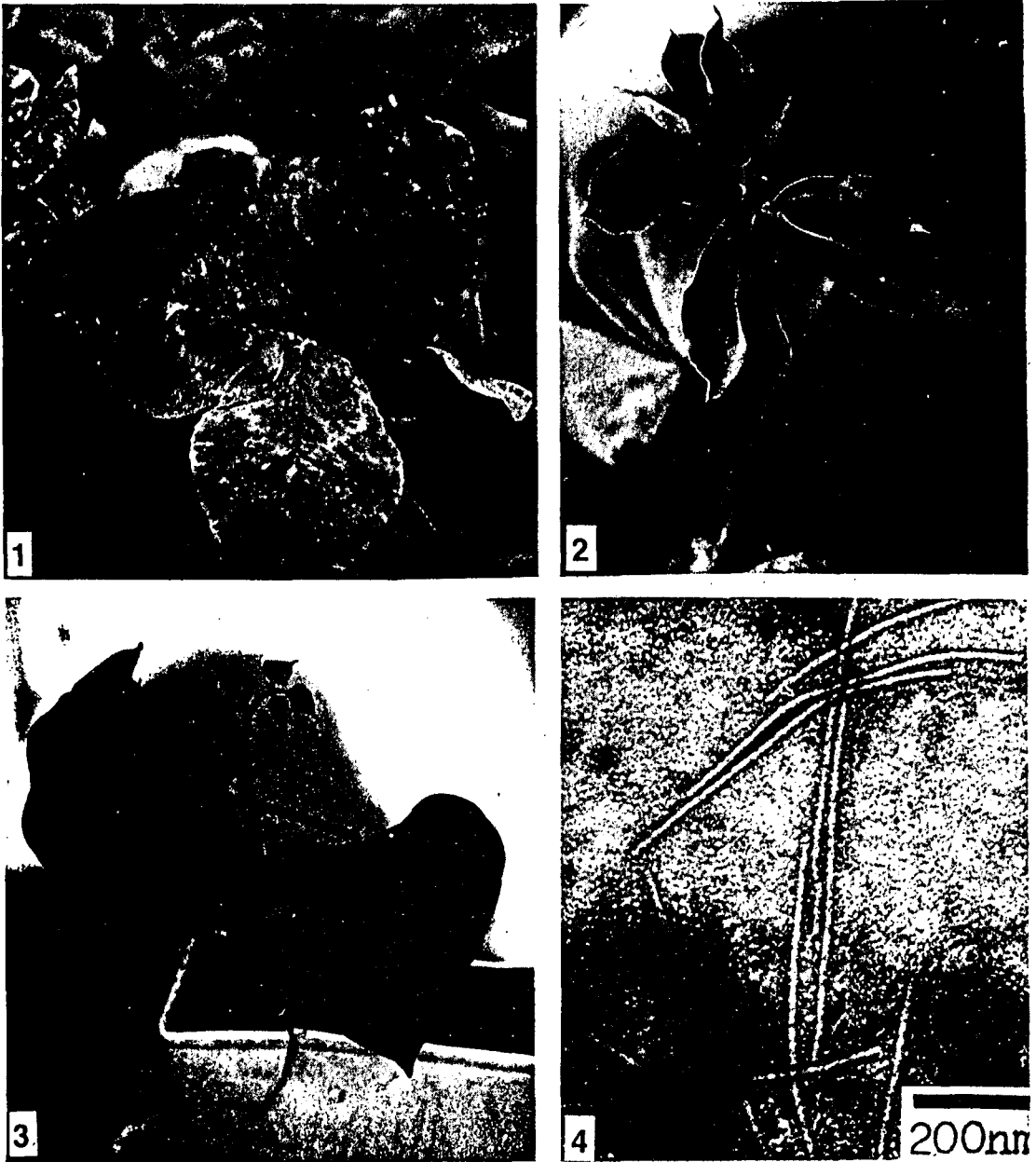
血清學的 檢定. 供試바이러스에 感染된 잠두 上葉 5g을 採取하여 0.01M PBS에 마쇄, 여과후에 1000rpm에서 10分間 遠心分離한 上澄液의 罹病汁液을 抗原으로 使用하였고, 日本 植物바이러스研究所에서 分讓받은 BYMV抗血清을 供試하여 Ball法(1)에 의한 混合沈降反應法(Tube precipitin test)으로 血清學的 檢定을 實施하였다.

바이러스粒子的 觀察. 잠두罹病葉을 2×5mm로 자른 試料를 formvar를 입힌 200 mesh grid上에서 2% phosphotungstic acid(PTA)液에 dipping法에 의해 염색, 건조시킨 후 Hitachi Hu-11E 電子顯微鏡下에서 TMV粒子和 比較觀察하였다.

抵抗力檢定. 강남콩 6品種과 팥 4品種을 播種 2週後의 幼苗에 寄主範圍調查와 같은 方法으로 汁液接種後 感染여부 및 病徵發現에 의하여 抵抗力 程度를 評價하였다.

## 結 果

寄主範圍. 흰토끼풀잎에 黃色 mottling모자이크 病徵(그림 1)을 나타내는 바이러스를 分類 同定하기 위하여 5科 20種의 植物에 接種하여 反應을 調査한 結



**Fig. 1.** Yellow mottling and mosaic on *Trifolium repens* naturally infected with bean yellow mosaic virus.  
 2. Mosaic and necrotic symptoms on leaves and stems, respectively on *Vicia faba*, 10 days after inoculation with BYMV.  
 3. Veinal necrosis and yellow mosaic on *Phaseolus vulgaris* var. Top Crop, 10 days after inoculation with BYMV.  
 4. Virus particles of BYMV.

果(表 1) 명아주의 接種葉과 上位葉에 全身局部病斑을 形成하였고, 잠두와 동부의 接種葉에는 局部病斑, 上位葉에는 모자이크病徵을 나타냈다. 특히 잠두接種葉의 줄기는 처음에 괴저증상을 보이다가 斑이 점점 확대되면서 枯死하였고, 새로운 줄기가 나오면서부터는 줄

기에 괴저증상을 나타내지 않고 잎에만 전형적인 모자이크病徵을 나타내었다(그림 2). 강남콩의 接種葉에는 엽맥괴저 증상과 함께 주변부가 黃褐色으로 變色枯死하여 落葉이 되고 上位葉에는 모자이크病徵을 나타내고 심할 경우에는 순이 枯死하였다(그림 3). 팔, 녹

**Table 1.** Plant reactions of bean yellow mosaic virus isolated from *Trifolium repens*

Plant species	Symptom <sup>a</sup>	
	Inoculated leaves	Upper leaves
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	L	CS
<i>C. quinoa</i>	L	CS
<i>Vicia faba</i>	L	VN, M
<i>Vigna unguiculata</i>	L	M
<i>V. sesquipedalis</i>	L	M
<i>V. radiata</i>	M	M
<i>Phaseolus vulgaris</i>	VN	YM, BB
<i>P. angularis</i>	M	M
<i>Pisum sativum</i>	M	M
<i>Trifolium pratense</i>	M	M
<i>Glycine max</i>	-	-
<i>Gomphrena globosa</i>	-	-
<i>Nicotiana glutinosa</i>	-	-
<i>N. debneyi</i>	-	-
<i>N. clelandii</i>	-	-
<i>N. tabacum "BY"</i>	-	-
<i>N. tabacum "Ky-57"</i>	-	-
<i>Petunia hybrida</i>	-	-
<i>Physalis floridana</i>	-	-
<i>Cucumis sativus</i>	-	-

<sup>a</sup> L : local lesion, M : mosaic, VN : vein necrosis, YM : yellow mosaic, BB : bud blight, - : no symptoms, CS : chlorotic spot.

두, 완두, red clover에는 接種葉과 上位葉에 모자이크 症狀를 나타내나 담배, 천일홍, 大豆, 페튜니아, 땅파리, 오이에는 病徵이 전혀 나타나지 않았다.

蟲媒傳染. 북송아혹진딧물(*Myzus persicae*)에 의한 供試바이러스의 傳搬 여부를 調査한 結果, 잠두(*Vicia faba*) 1株당 바이러스獲得 진딧물을 1마리씩 個體接種했을 때의 傳染率은 29%인데 비해, 5마리씩 集團接種했을 경우의 傳染率은 66%로서 個體接種보다 2배 以上の 높은 傳染結果를 얻었다.

物理的 性質. 供試바이러스의 物理的 性質은 耐熱性이 60-65°C이었으며, 耐稀釋性은 10<sup>-3</sup>-10<sup>-4</sup> 이었고, 耐保存性은 3日間이었다.

抗血清檢定. 흰토끼울혈에 黃色모자이크 病徵을 나타내는 바이러스罹病株에서 分離 純化한 抗原과 日本의 植物바이러스研究所로부터 分讓받은 BYMV 抗血清間에 混合沈降反應에 의한 抗血清 檢定結果 陽性反應을 보였는데 抗血清濃度 1/80-1/320에서

바이러스의 形態. dipping法에 의해 잠두罹病葉에서 바이러스粒자를 電子顯微鏡으로 觀察한 結果(그림 4) 絲狀 바이러스粒자가 관찰되었다.

抵抗性檢定. 供試된 강남콩 6品種中 바이러스의 指

**Table 2.** Tube precipitin test with leaf extracts of *Trifolium repens* showing yellow symptoms to dilutions of BYMV-antiserum

Reaction of leaf extract to serial dilution of BYMV antiserum <sup>a</sup>							
1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1,280
-	-	+	+++	++	++	+	-

<sup>a</sup> - : negative, + : light positive, ++ : moderate positive, +++ : intensive positive.

標植物로 利用되고 있는 "Top crop"과 "Scotia" 그리고 品種名을 알 수 없는 재래종 4品種中 赤白色粒은 感受性反應을 보인데 反하여, 赤色粒, 大形白色粒은 各各 17%와 30%의 낮은 感染率로 比較的 抵抗性反應을 나타냈으며, 브릿치와 같이 색이 알록달록한 小形種은 56%의 感染率을 보였다. 또한 같은 4品種中 차돌팔과 洪川赤豆는 各各 14%와 30%로 저항성 反應을 보인 반면 대남선과 중원그루팍은 各各 57%와 58%의 중도저항성 反應을 나타냈다.

考 察

clover에 發生하는 主要한 바이러스로는 BYMV, AMV, WCMV, RCVV와 RCMV 등이 알려져 있고(2, 5, 9) 이외에도 alsike clover에서 CMV와 sub clover에서 Pea dwarf mosaic virus(PDMV)의 發生이 報告된 바 있다(4). 供試바이러스의 寄主植物 反應에 있어서 담배, 오이, 페튜니아에 모자이크症狀이나 천일홍에 局部病斑을 供試바이러스는 AMV, CMV나 RCVV가 아님을 알 수 있다(2, 7, 10). 또한 명아주에 全身 局部病斑을 形成하고, 잠두와 동부의 接種葉에 局部病斑, 上部葉에 모자이크症狀를 나타내며 강남콩接種葉에 葉脈壞疽症狀과 함께 완두, 팥, 녹두, red clover에 모자이크症狀를 나타내므로 WCMV가 아니라 강남콩황반모자이크바이러스(BYMV)인 것으로 생각된다(2, 11). 이러한 寄主植物의 反應은 Murayama 등(11)의 結果와는 一致하며, Inouye(5, 6)가 分類한 B, P, O, N의 4系統의 寄主反應과 比較하여 볼 때 大豆에 病徵을 나타내지 않은 點이 相異하나 팥에 모자이크病徵을 形成하는 것으로 보아 BYMV의 壞疽系統으로 分類하는 것이 타당한 것으로 생각된다. 바이러스의 形態 및 크기에 있어서도 AMV는 棒狀형이고(2), WCMV는 480nm정도의 크기이며(7), RCMV, CMV, PDMV는 球形의 粒子인데(5, 8) 反하여 供試바이러스는 Uy-

eda 등(17)의 報告와는 크기에 있어서 多少 差異가 있으나 740nm内外의 Potyvirus群의 一種으로서 BYMV 抗血清反應 結果 陽性反應을 보이므로써 이를 더욱 確實히 追證해주고 있다. 그러나 物理的 性質에 있어서는 研究者에 따라 耐熱性은 50~64℃, 耐稀釋性은  $10^{-3}$  -  $10^{-5}$ , 耐保存性은 1~6일로 報告하고 있어 實驗者에 따라 差異를 보이고 있는데 이와 같은 差異는 增殖植物과 檢定用植物의 種類, 接種時期, 實驗條件, 바이러스系統 등에 기인하는 것으로 생각된다(2, 3, 7, 8, 11, 13). 그러므로 바이러스의 物理性을 절대적인 分類同定の 基準으로 利用하기에는 어려운 점이 있으리라고 생각된다. 강남콩과 팥 10品種中에 比較的 BYMV에 抵抗性인 白色粒, 赤色粒, 차돌팥, 洪川赤豆와 같은 地方在來種을 계속 수집, 選拔하여 抵抗性 遺傳因子를 利用한 耐病多收性 品種을 育種하는 것이 바람직한 바이러스病的 防除手段이 될 것이다(15). 이상의 結果로 보아 white clover잎에 黃色 mottling 모자이크 病徵을 나타내는 罹病株로부터 分離된 바이러스는 강남콩黃斑 모자이크로 同定되었다.

### 參 考 文 獻

- BALL, E.M. (1974). Serological tests for the identification of plant viruses. *Amer. Phytopath. Soc.*, 31pp.
- HAGEDORN, D. J. (1974). Virus diseases of pea, *Pisum sativum*. *Amer. Phytopath. Soc., Monograph No. 9*, 47pp.
- 保坂康弘・川瀬茂實・松井千秋(1972). 바이러스圖鑑. 講談社 사이엔ティブイク, 758pp.
- INOUE, T. (1968). On the procedures for identification of viruses of Leguminous plants in Japan. *Nogaku kenkyu* 50 : 103-116.
- INOUE, T. (1969). Studies on identification and classification of Legume viruses in Japan. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 35 : 156-158.
- INOUE, T. (1973). Characteristics of cytoplasmic inclusions induced by bean yellow mosaic virus. *Nogaku Kenkyu* 54 : 155-171.
- 小室康雄(1973). 野菜のウイルス. 誠文堂 新光社. 300pp.
- MATTHEWS, R. E. F. (1970). *Plant virology*. Academic Press, 778pp. New York.
- 李淳炯・柳甲喜・李峻星(1979). 主要作物 바이러스病的 分類同定에 관한 試驗. 農技研試驗研究報告 (病害蟲) : 242-249.
- 村山大記(1965). 바이러스의 種類, 純化, 形態および 構造. 日植病報 31 : 13-26.
- 村山大記・四方英四郎・小島 誠・仙北俊弘・梶原一義・上田一郎(1975). 北海道における マメ類 바이러스病에 關する 研究. 第1報. インゲンより分離된 豆わら 바이러스について. 北海道大學 農學部 邦文紀要 9(2) : 155-159.
- NOORDAM, D. (1973). Identification of plant viruses, Methods & experiments. Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, 207pp.
- PIERCE, W. H. (1934). Viruses of the bean. *Phytopathology* 24 : 87-115.
- PIRONE, T. P. (1977). Nonpersistent transmission of plant viruses by aphids. *Ann. Rev. Phytopathol.* 15 : 55-73.
- PROVVIDENTI, R. & SCHIRODER, W. T. (1973). Resistance in *Phaseolus vulgaris* to the severe strain of bean yellow mosaic virus. *Phytopathology* 63 : 196-197.
- SWENSON, K. G. & WELTON, R. E. (1966). Evaluation of plant susceptibility to infection with bean yellow mosaic virus by aphid transmission. *Phytopathology* 56 : 269-271.
- UYEDA, I., KOJIMA, M. & MURAYAMA, D. (1975). Purification and serology of bean yellow mosaic virus. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 41 : 192-203.