

속속이풀(*Rorippa islandica* Borb.)에서 분리한 순무 모자이크 바이러스

최준근 · 최국선¹ · 최장경^{1*} · 유병주 · 정태성
강원도 농촌진흥원 식물환경과, ¹강원대학교 농생물학과

Turnip Mosaic Virus Isolated from *Rorippa islandica* Borb

Jun Keun Choi, Gug Seoun Choi¹, Jang Kyung Choi^{1*},
Byong Ju Yu and Tae Seong Jeong

Department of Plant Environment, Kangwon Provincial Rural Development Administration,
Chuncheon 200-150, Korea

¹Department of Agricultural Biology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

ABSTRACT: Turnip mosaic virus (TuMV) was isolated from *Rorippa islandica* showing mild mosaic symptom in growing field of Chinese cabbage and radish. Identification of the virus was based on host range, transmission by aphids, electron micrograph, serological reaction and hybridization detection. The virus systemically infected on *Chenopodium quinoa*, *Nicotiana clevelandii*, *N. glutinosa*, *Brassica rapa*, *B. campestris* subsp. *pekinensis* and *Raphanus sativus*, whereas showed local infection on *C. amaranticolor*, *Gomphrena globosa* and *Tetragonia tetragonoides*. The virus was transmitted by aphid (*Myzus persicae*). The virus particle was filamentous with 720×12 nm in length, and reacted positively with an antiserum of TuMV in agar gel double diffusion test. In slot-blot hybridization using the digoxigenin(DIG)-labeled RNA probe, TuMV-RNA could be detected in sap of *R. islandica* infected with the virus. This is the first report of a natural infection of that virus on *R. islandica*.

Key words: Turnip mosaic virus (TuMV), *Rorippa islandica*.

순무 모자이크 바이러스(turnip mosaic virus, TuMV)는 20과 40속 80종 이상의 식물에 감염되는 기주범위가 비교적 넓은 바이러스이다(2, 13, 14, 15). 이들 기주식물 중에는 몇종의 잡초도 포함되어 있는데 Arnold 와 Bald(1)는 *Brassica nigra*와 *B. campestris*에서, Feldman과 Gracia(7)는 *Eruca sativa*, *Rapistrum rugosum* 및 *Sisymbrium irio*등에서 TuMV의 발생을 보고하고, 이들 잡초가 TuMV의 전염원이 될 수 있다는 것을 시사한 바 있다. 이 연구에서는 십자화과에 속하는 이년생 잡초로서 경작지 근처에 흔히 자라는 속속이풀(*Rorippa islandica*)로부터 1993년 가을에 모자이크 증상을 나타내는 식물체를 발견하여 여기에서 분리한 바이러스로부터 지표식물 반응, 전자현미경 검정, 항혈청 반응, 그리고 분자교잡 검정 등을 통하여 TuMV의 한 계통을 분리동정하여 보고한다.

재료 및 방법

바이러스 접종원. 1993년 8월에서 10월 사이 강원도 춘천, 홍천, 평창 등에서 배추와 무의 재배지 또는 근접지역에 모자이크 증상을 나타내는 속속이풀을 채집하여 화분에 옮겨 심은 후, 이것을 바이러스 접종원으로 사용하였다.

지표식물 검정. 채집한 모자이크 증상의 속속이풀잎에 0.01 M 인산완충액(pH 7.0)을 넣고(1:10, w/v) 마쇄하여, Carborandum(600 mesh)을 이용하여 *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi nc에 계대접종 시킨 후, *N. clevelandii*에 접종하고 전신감염된 이병엽을 마쇄하여 착즙한 즙액을 바이러스원으로 이용하여 *Chenopodium quinoa*를 포함한 10속 14종(3)의 식물에 접종하여 병징발현의 여부를 조사하였다.

진딯물전염 실험. Xanthi nc에 형성된 국부병반으로부터 분리한 병반의 마쇄액을 건전한 속속이풀에 즙액접종하여 모자이크 증상을 나타낸 이병주에

*Corresponding author.

1시간 동안 절식시킨 복숭아혹진딧물(*Myzus persicae* Sulz.)을 1분간 흡즙시킨 후, 건전한 배추, 무 및 순무에 옮겼다. 한편 TuMV-cqs(3)에 감염된 배추에서 상기와 같은 방법으로 진딧물을 흡즙시킨 후 건전한 속속이풀에 옮겼을 때의 병징발현 여부도 관찰하였다.

전자현미경 관찰. 바이러스에 감염된 속속이풀과 지표식물의 즙액을 2% phosphotungstic acid(PTA, pH 6.0)로 염색하여 dip방법(8)을 이용, 바이러스 입자의 형태를 전자현미경(Carl Zeiss EM 109)으로 관찰하였다.

혈청학적 검정. 자연감염된 모자이크 증상의 속속이풀 또는 Xanthi nc에 나타난 단일병반으로부터 즙액을 건전한 속속이풀에 재접종한 후 모자이크 증상이 나타난 이병엽을 3% sodium dodecyle sulfate (SDS)가 함유된 0.01 M 인산완충액(pH 7.0)을 넣고 마쇄한 다음, 8,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 얻어진 상등액을 항원으로 사용하였으며, 배추에 감염된 TuMV-cqs를 대조 항원으로 이용하여 한천겔 이중확산법(10)으로 TuMV 항혈청(5)과 반응시켰다. 사용된 한천겔은 0.7% agarose, 0.01 M 인산완충액(pH 7.0), 0.85% NaCl 및 0.02% NaN_3 의 조성으로 제작하였다.

분자교잡 검정. TuMV-cDNA(4)가 삽입된 transcription vector pSPT 18을 이용하여 작성한 digoxigenin(DIG)표지 RNA probe(4)를 사용하여 속속이풀로부터 분리한 바이러스 RNA와 분자교잡을 실시하였다. 이병식물체로부터 바이러스 RNA의 추출은 이병엽을 phenol/chloroform(1:1)과 RNA extraction buffer(50 mM Tris-HCl, 150 mM LiCl, 5 mM EDTA, 5% SDS)의 혼합용액(1:1)을 이용하였다(4). 제조된

시료는 nylon membrane(Hybond N⁺, Amersham)에 흡착시켜 분자교잡반응을 거친 후, DIG luminescent detection kit(Boehringer Mannheim)를 이용하여 그 결과를 분석하였다.

결 과

지표식물 반응. 배추와 무의 재배지에서 자생하는 속속이풀에서 자연발생된 병징은 엷은 모자이크 증상과 엷육의 굴곡현상을 보였다(Fig. 1). 이들 이병엽의 즙액을 *N. tabacum* cv. Xanthi nc에 접종 후, 단일 국부병반 분리법으로 분리하여 *N. clevelandii*에 접종하여 증식시킨 다음, 이를 바이러스 접종원으로 지표식물에 접종한 결과는 Table 1과 같다. 즉, *C. quinoa*의 접종엽에서는 퇴록반점을 형성하였고 상엽에는 퇴록반문으로 이행되면서 진진감염되었다. *N. clevelandii*의 접종엽은 괴사반점과 상엽에는 괴사를 동반한 모자이크 증상, *N. glutinosa*의 접종엽은 엷은 퇴록반점과 상엽에는 무병징 감염, 배추에서는 괴사반점과 모자이크, 무와 순무에서는 전형적인 모자이크 증상을 나타냈다. *C. amaranticolor*, *Gomphrena globosa* 및 *Tetragonia tetragonoides*에서는 접종엽에 국부병반을 형성하였으며, *Cucumis sativus*와 *Vigna unguiculata*에는 감염되지 않았다. 또한 냉이(*Capsella bursa-pastoris*)와 황새냉이(*Cardamine flexuosa*)에는 가벼운 모자이크 증상을 나타냈다.

진딧물 전염. 속속이풀에서 분리한 바이러스의 충매전염성을 복숭아혹진딧물로 조사한 결과, 진딧물 접종 15~20일 후 배추에서는 괴사반점과 모자이크, 무와 순무에서는 모자이크 증상을 나타냈다. 또한 배추에 감염된 TuMV-cqs를 진딧물로 속속이풀에



Fig. 1. Mild mosaic symptom on *Rorippa islandica* caused by natural infection (left), and healthy plant (right).

움겼을 때 속속이풀에서의 모자이크 증상이 관찰되었다.

전자현미경 관찰. 속속이풀과 지표식물의 이병조직을 dip방법에 의하여 전자현미경으로 관찰한 결과, 평균 720×12 nm인 사상형입자가 확인되었다(Fig. 2).

혈청학적 성질. 속속이풀에서 분리한 바이러스와 TuMV-cqs를 항원으로 사용하여 TuMV 항혈청과 한천겔이중확산법으로 반응시킨 결과, 뚜렷하게 서로

융합하는 1종의 침강선이 형성되었다(Fig. 3).

RNA probe를 이용한 분자교잡. 모자이크 증상을 나타내는 속속이풀 및 TuMV-cqs가 감염된 배추로부터 바이러스 RNA를 추출하여 DIG표지 RNA probe를 이용한 slot-blot방법으로 분자교잡을 실시한 결과, 이들 두 식물 모두에서 바이러스 RNA가 검출되는 양성반응을 나타냈다(Fig. 4).

고 찰

배추와 무의 재배지에서 자연발생된 모자이크 증상의 속속이풀로부터 분리한 바이러스를 지표식물 반응, 바이러스입자의 형태, 진딧물 전염 및 분자교잡 등의 실험을 실시한 결과, 기존에 보고된 TuMV(3, 6, 9, 15)의 성질과 같은 반응을 나타냈다. 특히 *C. quinoa*에 나타나는 병징에 따라 이 바이러스는 TuMV-cqs(3)계통과 같은 종류로 인정되었다.

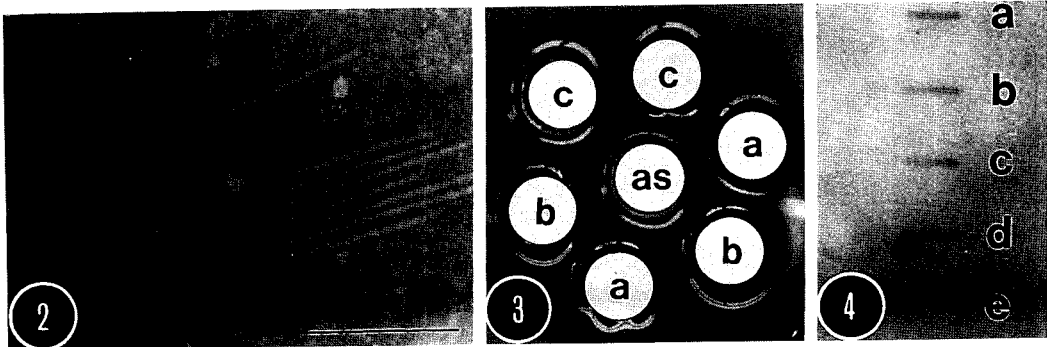
Potyvirus 그룹에 속하는 TuMV는 십자화과식물을 비롯하여 비교적 넓은 기주범위를 갖고 있다(13, 14). 자연발생된 TuMV는 순무(6), 배추, 무(3, 15), 완두(11) 등 여러 작물로부터 분리 동정되었으며 *Sisymbrium irio* 등 몇몇 잡초로부터의 발생도 보고(1, 7)된 바 있으나, 속속이풀로부터의 분리동정은 이 연구가 처음이다.

속속이풀은 밭 주변에서 흔히 자생하고 있는 2년생 십자화과 잡초이다(12). 이러한 밭 잡초에서 자연발생된 TuMV의 발견과 복숭아혹진딧물에 의한 배추, 무로의 전염이 확인된 사실로 보아 속속이풀이 월동기주로서의 가능성을 나타내고 있으며, 실제로 전

Table 1. Reactions on indicator plants mechanically inoculated with the virus isolated from *Rorippa islandica* showing mosaic symptom

Indicator plant	Reactions ^a
<i>Chenopodium quinoa</i>	CL\M
<i>C. amaranticolor</i>	NL\-
<i>Nicotiana glutinosa</i>	CL\SL
<i>N. clelandii</i>	NL\MO,NL
<i>N. tabacum</i> cv. Xanthi nc	NL\-
<i>Gomphrena globosa</i>	NL\-
<i>Tetragonia tetragonoides</i>	CL\-
<i>Brassica rapa</i>	-\MO
<i>B. campestris</i> subsp. <i>pekinensis</i>	-\NS, MO
<i>Raphanus sativus</i>	-\MO
<i>Capsella bursa-pastoris</i>	-\mMO(SL)
<i>Cardamine flexuosa</i>	-\mMO(SL)
<i>Cucumis sativus</i>	-\-
<i>Vigna unguiculata</i>	-\-

^aInoculated leaf\upper leaf, CL; chlorotic lesion, M; mottle, NL; necrotic lesion, SL; symptomless infection, MO; mosaic, mMO; mild mosaic, -; no reaction.



Figs. 2~4. 2. The virus particles in dip preparation from the leaves of *R. islandica* showing mild mosaic symptom negatively stained with 2% phosphotungstic acid (pH 6.0). Bar represents 300 nm. 3. Serological reaction in agar gel double diffusion test. The peripheral wells contain sap extracted from (a) *R. islandica* infected with the present virus, (b) Chinese cabbage infected with TuMV-cqs and (c) healthy *R. islandica*, respectively. The central well contains TuMV antiserum (6). 4. Detection of the RNAs extracted from (a) Chinese cabbage infected with TuMV-cqs, (b-d) *R. islandica* showing mild mosaic symptom and (e) healthy *R. islandica*, respectively. The TuMV-RNA probe was DIG-labeled and used for slot-blot hybridization.

년도에 이병되었던 속속이풀을 화분에 심어놓은 그 루에서 다음해에 새로나온 싹으로부터 다시 모자이크 증상이 발현되는 것이 확인되었다. 또한 같은 과 잡초인 냉이와 황새냉이에 TuMV를 접종하였을 때 쉽게 감염되는 사실(Table 1)도 이들 십자화과 잡초들이 넓게 TuMV의 일차전염원 역할을 할 수 있을 것으로 생각된다. 따라서 금후 이 바이러스의 생태적인 연구나 월동기주로서의 역할을 밝히는 것은 배추와 무에 피해를 주는 이 바이러스병의 방제적 측면에서 좋은 자료가 될 것으로 기대된다.

요 약

배추와 무의 재배지에 자생하고 있는 속속이풀에서 모자이크 증상을 나타내는 개체로부터 순무 모자이크 바이러스를 분리하였다. TuMV의 동정은 기주범위, 진딧물 전염, 전자현미경 관찰, 혈청반응 및 분자교잡 실험을 통하여 이루어 졌다. 분리된 순무 모자이크 바이러스는 *C. quinoa*, *N. clevelandii*, *N. glutinosa*, *B. rapa*, *B. campestris* subsp. *pekinensis* 및 *R. sativus*에는 전신감염, *C. amaranticolor*, *G. globosa* 및 *T. tetragonoides*에서는 집중엽에 국부감염되었다. 이 바이러스는 복숭아혹진딧물에 의한 진딧물전염이 인정되었고, 전자현미경 관찰에서 720×12 nm인 사상형입자가 검출되었으며, 혈청학적 검정에서는 TuMV 항혈청과 뚜렷한 침강선을 보였다. 또한 DIG 표지 TuMV-RNA probe를 이용한 분자교잡반응에서도 양성반응을 나타냈다. 속속이풀로부터 TuMV의 자연발생에 대한 보고는 이 연구가 처음이다.

참고문헌

1. Arnold, W. N. and Bald, J. G. 1960. Turnip mosaic virus from two weed hosts. *Phytopathology* 50: 578-581.
2. Chenulu, V. V. and Thornberry, H. H. 1964. Reaction of some higher plants to turnip mosaic virus, *Marmor brassicae* H., isolated from horse-radish clone in Illinois. *Plant Dis. Repr.* 48: 59-261.
3. 최국선, 최장경. 1992. 배추 및 무에서 분리한 순무 모자이크 바이러스의 생물적 특성. *한식병지*, 8: 276-280.
4. 최국선, 최장경, 최준근. 1993. *In vitro* 전사 RNA probe를 이용한 순무 모자이크 바이러스의 분자교잡 검정. *한식병지*, 9(4): 263-268.
5. Choi, J. K., Maeda, T. and Wakimoto, S. 1978. Serological properties of turnip mosaic virus. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 44: 14-21.
6. Choi, J. K., Matsuyama, N. and Wakimoto, S. 1980. Comparative studies on biological and serological properties of turnip mosaic virus isolates. *J. Fac. Agr. Kyushu Univ.* 25: 15-23.
7. Feldman, J. M. and Gracia, O. 1972. Studies of weed plants as sources of viruses. II. *Eruca sativa*, *Rapistrum rugosum* and *Sisymbrium irio*, new natural hosts for turnip mosaic virus. *Phytopath. Z.* 73: 115-122.
8. Horne, R. W. and Wildy, P. 1963. Virus structure revealed by negative staining. *Advan. Virus Res.* 10: 101-170.
9. Lisa, V. and Lovisolo, O. 1976. Biological and serological characterization of the *Alliaria* strain of turnip mosaic virus. *Phytopath. Z.* 86: 90-96.
10. Ouchterlony, O. 1962. Diffusion in gel methods for immunological analysis II. *Prog. Allergy* 6: 30-154.
11. Provvidenti, R. 1978. A mosaic of *Pisum sativum* caused by a strain of turnip mosaic virus. *Plant Dis. Repr.* 62: 482-485.
12. 농촌진흥청. 1992. 원색도감 한국의 발잡초. 상록사. 76, 157-165.
13. Tomlison, J. A. 1970. Turnip mosaic virus. CMI/AAB Description of Plant Viruses No. 8.
14. USDA. 1966. Index of plant virus disease. In: *Plant pests of importance to North American agriculture*. Agriculture Handbook No. 307.
15. Yoshii, H., Sugiura, M. and Iwata, T. 1963. Studies on the daikon mosaic virus (DMV), the Japanese strain of turnip mosaic virus. *Mem. Assoc. Plant Prot. Kyushu* 1: 1-26.