

## 순무 모자이크 바이러스(TuMV)의 새로운 기주식물 탐색

최준근\* · 윤주연<sup>1</sup> · 이세원 · 최장경<sup>1</sup>  
강원도농업기술원, <sup>1</sup>강원대학교 농생물학과

### New Host Plants of Turnip Mosaic Potyvirus in Korea

Jun Keun Choi\*, Ju Yeon Yoon<sup>1</sup>, Se Weon Lee and Jang Kyung Choi<sup>1</sup>

Kangwon-do Agricultural Research and Extension Services, Chuncheon 200-150, Korea

<sup>1</sup>Department of Agricultural Biology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

**ABSTRACT:** Turnip mosaic potyviruses (TuMV) were isolated from *Rorippa indica* and *Armoracia lapathifolia* showing mosaic symptoms in field. Identification of the TuMVs were carried out by host reactions of indicator plants, electron micrograph, serological properties and reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). Both viruses systemically infected *Chenopodium quinoa*, *Nicotiana clevelandii*, *Brassica rapa*, *B. campestris* subsp. *pekinensis*, *B. juncea* and *Raphanus sativus*, and developed local infection on inoculated leaves of *C. quinoa*, *C. amaranticola*, *C. album*, *N. tabacum* cv. Xanthi nc and *Gomphrena grobosa*. However, the viruses did not infect on *N. glutinosa*, *Cucumis sativus* and *Vigna unguiculata*. The filamentous particles, about 720 nm in length, and inclusion bodies were observed from the infected leaf tissues by dipping on electron microscopy. Crude sap of leaf infected with the viruses was reacted positively with an antiserum of TuMV in agar gel double diffusion. For detection of the viruses, RT-PCR was carried out with TuMV-specific oligonucleotide primer. The RT-PCR products, a 1,092 bp DNA fragment, were obtained from naturally infected leaves of *R. indica* and *A. lapathifolia*. In inoculation test to seven cruciferous weeds with TuMV, infection occurred in *Arabis glabra*, *Barbarea orthoceras*, *Capsella bursa-pastoris*, *Draba nomorosa* var. *hebecarpa*, *Rorippa cantoniensis* and *Thlaspi arvense*.

**Key words:** *Armoracia lapathifolia*, *Rorippa indica*, Turnip mosaic virus (TuMV).

TuMV는 20과 40속 80종 이상의 식물에 감염되는 기주범위가 넓은 바이러스로(21, 22), 이러한 기주식물 중에는 여러 종류의 잡초가 포함되며 이들 잡초가 TuMV의 전염원임이 보고되고 있다(2, 8). 일본에서는 酒井와 河野(20)가 16종의 잡초에 TuMV를 접종하여 이 중 15종에서 바이러스를 재 분리하였으며, 석죽과 잡초인 *Cerastium glomeratum*은 TuMV에 자연감염 된다고 보고하는 등 포장주변의 잡초가 TuMV의 주요 전염원임을 시사하고 있다. 우리나라에서도 최 등(6)이 십자화과의 2년생으로 밭 주변의 우점종 잡초인 속속이풀(*Rorippa islandica*)에서 자연발생된 TuMV를 분리동정하고 이 잡초가 TuMV의 주요 월동기주임을 보고한 바 있다.

이 연구에서는 무, 배추 등 십자화과 작물에 발생하는 바이러스병의 생태적 연구를 위하여 주요 병원인 TuMV의 전염원을 구명하였다. 즉, 십자화과에 속하는 다년생 잡초인 개갓냉이(*Rorippa indica*)와 향신료로 재배되고 있는 겨자무(*Armoracia lapathifolia*)에 자연발생된 바이러스 병징의 시료로부터 지표식물 반응, 전자현미경 검정, 혈청

검정 및 역전사효소중합연쇄반응(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)을 통하여 TuMV를 분리동정 하였다. 또한 십자화과에 속하는 냉이 등 잡초 7종에 대하여 배추에서 분리한 TuMV의 감염여부를 검정하였다.

### 재료 및 방법

**병원 바이러스.** 포장에 자생하고 있는 개갓냉이(*R. indica*)와 춘천소재 강원도농업기술원 내 전시포에 재배하는 겨자무(*A. lapathifolia*)에서 모자이크 증상을 나타내는 개체를 채집하여 병원 바이러스를 분리동정하였다.

**지표식물 검정.** 채집한 이들 식물의 잎을 각각 10배량(W/V)의 0.01 M 인산완충액(pH 7.0)에 마쇄하여 *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi nc에 접종하였다. 형성된 병반을 단일국부병반분리법으로 분리한 다음, *N. clevelandii*에 재 접종하여 전신감염된 이병엽을 바이러스 접종원으로 이용하였다. 이 접종원을 *Chenopodium quinoa*를 포함한 7속 13종의 식물에 즙액접종한 후 이들의 접종엽과 상엽에 나타나는 병징을 관찰하였다. 이때 사용한 접종

\*Corresponding author.

법은 접종원을 10배량(W/V)의 0.01 M 인산완충액(pH 7.0)에 넣고 마쇄하여 600 mesh Carborundum을 이용한 즙액접종법으로 실시하였다.

**전자현미경 관찰.** 개갓냉이와 겨자무의 바이러스 감염엽과 접종한 지표식물에서 바이러스 입자를 확인하기 위하여 이병엽의 즙액을 2% PTA(phosphotungstic acid, pH 6.0)로 염색하고 침지법(11)에 의하여 전자현미경(Karl Zeiss, EM 109)으로 바이러스 입자 및 봉입체를 관찰하였다.

**혈청검정.** 분리한 TuMV의 혈청학적 성질을 조사하기 위하여 이병엽에 동량(W/V)의 3% sodium dodecyl sulfate(SDS)가 함유된 0.01 M 인산완충액(pH 7.2)을 넣고 마쇄한 다음, 원심분리(8,000 rpm, 10분)하여 얻은 상층액을 항원으로 사용하였다. 이때 배추에 감염된 TuMV-cqs(5)를 대조 항원으로 이용하여 한천젤이중화산법으로 TuMV 항혈청(ATCC, PVAS-260)과 반응시켰다. 혈청반응실험은 0.01 M 인산완충액(pH 7.0; 0.85% NaCl, 0.02% NaN<sub>3</sub> 포함)으로 조성시킨 0.7% agarose 겔에서 한천젤이중화산법(17)으로 실시하였다.

**역전사효소중합연쇄반응(RT-PCR).** RT-PCR 검정을 위한 total RNA의 추출은 Langeveld 방법(13)을 변형하여 사용하였다. 공시 이병엽 조직을 약 100 mg 채취하여 마이크로튜브에 넣고 액체질소를 이용하여 마쇄한 후, 추출용 완충액(1 M Tris-HCl, pH 8.0, 100 mM LiCl, 10 mM EDTA, 1% SDS)과 phenol/chloroform을 1:1로 혼합한 다음, 원심분리하여 얻어진 상층액을 RT-PCR을 위한 시료로 사용하였다. Primer는 기존에 보고된 TuMV의 염기서열과 제조법을 참고(3, 16)하여 제작, 사용하였다. 즉, upstream primer인 TU-1은 염기서열 8,738~8,757번 위치에 해당되는 5'-CTTGTGTCTATCACCAGGCA-3'(20 mer)이고, downstream primer인 TU-2는 염기서열 9,810~9,830번 위치에 상보적인 5'-GTCCCTTG-CATCCTATCAAA-3'(20 mer)로 제작되었다. RT-PCR은 100 pmol primer(TU-1 및 TU-2), 10 mM dNTP,

Taq DNA polymerase buffer(10×), 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 100 mM DTT, Taq DNA polymerase(2.5 units)와 M-MLV reverse transcriptase(40u)의 반응액에 가열하여 열음에 정치시킨 total RNA를 첨가하여 42°C에서 45분간 RT반응을 실행시킨 다음, 95°C에서 1분간 변성시키고, 94°C 1분, 50°C 1분, 72°C 2분을 1 cycle로 총 35 cycle 동안 증폭시킨 후, 72°C에서 10분간 반응시켰다. 이렇게 증폭된 PCR 산물은 1% agarose gel에서 확인하였다.

**십자화와 잡초에의 감염성 검정.** 배추나 무 포장에 흔히 자생하고 있는 냉이(*Capsella bursa-pastoris*) 등 7종의 십자화와 잡초를 공시하여 배추에서 분리한 TuMV의 감염여부를 검정하였다. 공시식물은 포장에 자생하는 포기에서 종자를 채취하여 포트에 파종한 다음, 본엽이 4~5매 출현하였을 때 즙액접종하였다. 감염여부의 조사는 접종식물에 나타난 병징과 전자현미경을 이용하여 바이러스 입자를 관찰하였다.

## 결 과

**지표식물 반응.** 포장에서 자생하는 개갓냉이에 발병되어 있는 바이러스병의 병징은 엷은 모자이크 증상과 엽육의 굴곡현상을 나타냈고, 겨자무에서는 연한 황화모자이크와 약한 엽맥녹대 현상을 보였다(Fig. 1). 이들을 바이러스접종원으로 사용하여 지표식물에서의 반응을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 즉, *C. quinoa*의 접종엽에는 모두 국부병반이 형성되었으나 상엽에는 전신감염 또는 병징이 나타나지 않는 등 불규칙한 반응을 보였다. 또한 *C. amaranticolor*의 접종엽에는 모두 국부병반이 형성되었고, 상엽에는 병징이 나타나지 않았으나, 겨자무에서 분리한 바이러스가 때로는 전신감염되는 경우도 있었다. *N. clevelandii*에서는 분리주 모두 접종엽에는 국부병반을, 상엽에는 모자이크를 나타냈다. *C. album*과 담배 *Xanthi nc* 및 천일홍에는 분리주 모두 접종엽에만 국부병반을 나타냈으며, 십자화와 작물인 순무, 배추, 갓 및

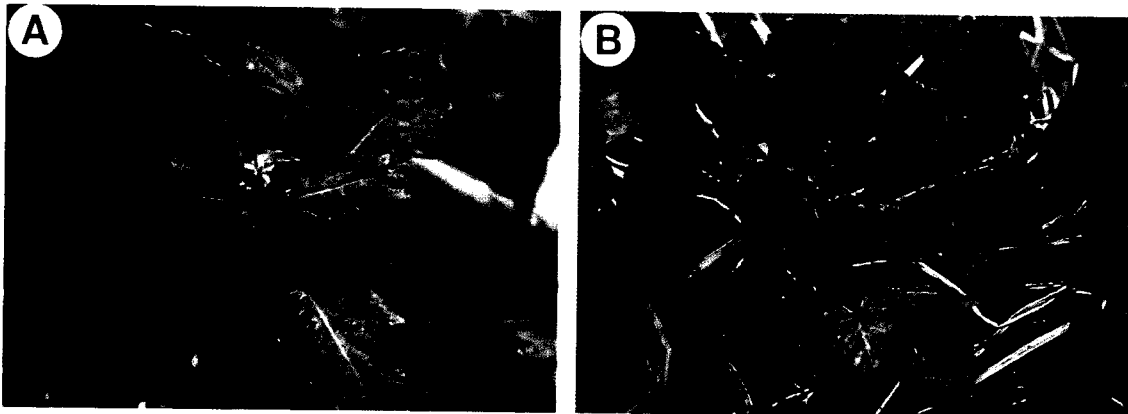


Fig. 1. Viral symptoms naturally occurring in *Rorippa indica* (A) and *Armoracia lapathifolia* (B).

**Table 1.** Reactions on indicator plants mechanically inoculated with TuMV isolates from *Rorippa indica* and *Armoracia lapathifolia* showing mosaic symptoms

Indicator plant	Reaction		
	<i>R. indica</i>	<i>A. lapathifolia</i>	TuMV-cqs <sup>a</sup>
<i>Chenopodium quinoa</i>	CL\CL,(-) <sup>b</sup>	CL\CL, (-)	CL\CL
<i>C. amaranticolor</i>	NS\—	NS\—, (NL+Mo)	NS\—
<i>C. album</i>	NS\—	NS\—	NS\—
<i>Nicotiana glutinosa</i>	—\—	—\—	—\—
<i>N. clevelandii</i>	NS\M	NS\M	NS\M
<i>N. tabacum</i> cv.	NS\—	NS\—	NS\—
<i>Xanthi</i> nc			
<i>Gomphrena globosa</i>	NL\—	NL\—	NL\—
<i>Brassica rapa</i>	—\M	—\M	—\M
<i>B. campestris</i> subsp. <i>pekinensis</i>	—\M	—\M	—\M
<i>B. juncea</i>	—\M	—\M	—\M
<i>Raphanus sativus</i>	—\M	—\M	—\M
<i>Cucumis sativus</i>	—\—	—\—	—\—
<i>Vigna unguiculata</i>	—\—	—\—	—\—

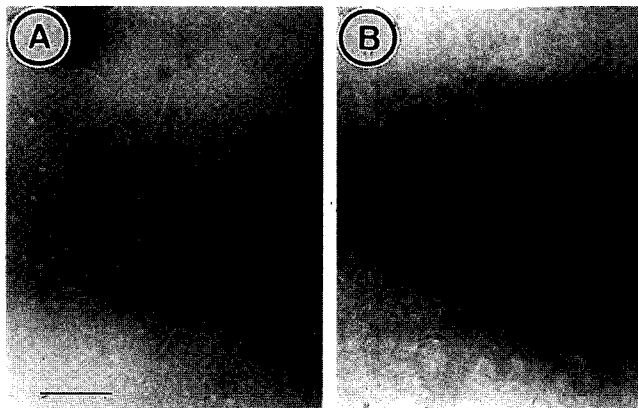
<sup>a</sup>TuMV was isolated from Chinese cabbage.

<sup>b</sup>Inoculated leaves\upper leaves; CL: chlorotic lesions, NS: necrotic spots, NL: necrotic lesions, Mo: mottle, M: mosaic, and —: no reaction.

무에는 모두 전신감염되어 모자이크 증상을 보였다. 한편, *N. glutinosa*와 오이, 동부에는 감염되지 않았다.

**전자현미경 관찰.** 바이러스 병징을 나타내는 개갓냉이와 겨자무의 이병엽 및 이들로부터 바이러스를 분리하여 접종한 지표식물의 이병조직을 침지법에 의하여 전자현미경으로 관찰한 결과, 평균 750×12 nm인 사상형입자가 확인되었으며, 아울러 Potyvirus 특유의 원통형 봉입체도 관찰되었다(Fig. 2).

**혈청검정.** 개갓냉이와 겨자무에서 분리한 바이러스를 TuMV 항혈청과 한천겔이중확산법으로 반응시킨 결과,

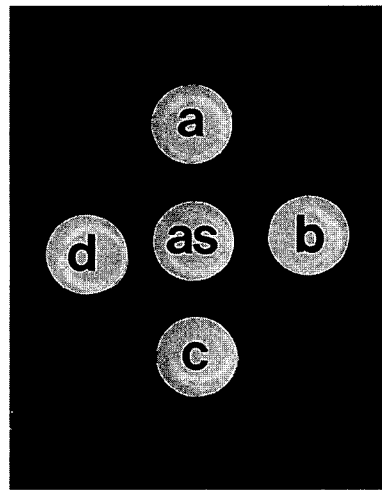


**Fig. 2.** Electron micrograph of virus particles (A) and cylindrical inclusion bodies (B) from leaves of *Rorippa indica* and *Armoracia lapathifolia* showing mosaic symptoms. Bar represents 300 nm.

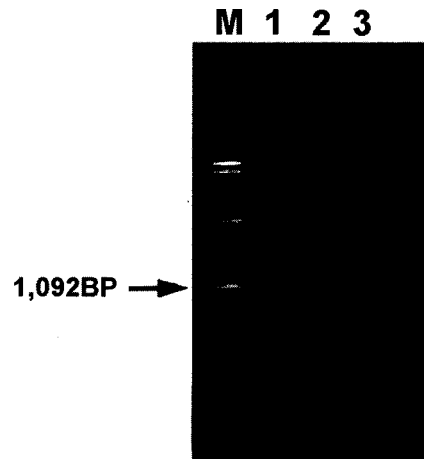
서로 융합하는 1종의 뚜렷한 침강선이 형성되었다(Fig. 3).

**RT-PCR 검정.** 공시한 개갓냉이와 겨자무로 부터 total RNA를 추출한 다음 RT-PCR로 TuMV를 검출하였다. 공시한 시료 모두 약 1,092 bp로 예상되는 PCR 산물을 확인할 수 있었고, 이는 대조구인 배추로부터 분리한 TuMV-cqs와 같은 분자 크기의 밴드를 형성하였다(Fig. 4).

**TuMV의 잡초에 대한 감염성.** 십자화과 잡초인 냉이 등 7종의 식물에 TuMV-cqs 계통(5)을 접종한 결과, 냉



**Fig. 3.** Serological reaction in agar gel double diffusion test. The central well (as) contains TuMV antiserum (ATCC, PVAS-260). The peripheral wells contain sap from *Rorippa indica* (a), *Armoracia lapathifolia* (b), Chinese cabbage (c) infected with the TuMV-cqs and healthy Chinese cabbage (d), respectively.



**Fig. 4.** Detection of TuMV by RT-PCR from infected *Rorippa indica* and *Armoracia lapathifolia*. Lane 1: *R. indica*, Lane 2: *A. lapathifolia* and Lane 3: TuMV-cqs. Lane M: 1 Kb DNA ladder (Promega).

**Table 2.** Reactions on cruciferous weed plants inoculated with TuMV-cqs<sup>a</sup>

Host	Symptom <sup>b</sup>
<i>Capsella bursa-pastoris</i>	mM, Mal, Y
<i>Thlaspi arvense</i>	mM, Mal, Y
<i>Draba nomorosa</i> var. <i>hebecarpa</i>	mM, Mal, Y
<i>Rorippa cantoniensis</i>	mM, Y
<i>Barbarea orthoceras</i>	YM, S
<i>Arabis glabra</i>	YM, S
<i>Lepidium virginicum</i>	-

<sup>a</sup>TuMV was inoculated with crude sap of infected Chinese cabbage.

<sup>b</sup>mM: mild mosaic, Mal: malformation, Y: yellowing, YM: yellow mosaic, and S: stunt.

이(*Capsella bursa-pastoris*), 말냉이(*Thlaspi arvense*), 꽃다지(*Draba nomorosa* var. *hebecarpa*), 좁개갓냉이(*Rorippa cantoniensis*), 나도냉이(*Barbarea orthoceras*), 장대나물(*Arabis glabra*) 등 6종에서 모자이크와 위축 증상이 나타났으며(Table 2), 이를 전자현미경으로 검정한 결과, 모두 사상형 바이러스 입자가 검출되었다. 공시한 잡초 중 콩다닥냉이(*Lepidium virginicum*)에서는 병징이 발생되지 않았으며, 바이러스 입자도 검출되지 않았다.

## 고 찰

자연발병된 모자이크 증상의 개갓냉이와 겨자무로부터 분리한 바이러스를 지표식물 반응, 전자현미경 검정, 혈청검정, RT-PCR 등의 실험을 실시한 결과, 기존에 보고된 TuMV(5, 7, 14, 23)의 성질과 같은 특성이 확인되었다. 특히, *C. quinoa*의 상엽에 나타나는 병징의 특성은 이 바이러스가 TuMV-cqs 계통(5)과 유사한 종류임을 시사하였다. 그러나, 겨자무에서 분리한 TuMV는 *C. amaranticolor*의 상엽에서 병징이 발현되는 경우도 있어, 이러한 반응의 차이는 기존에 보고된 TuMV들(5, 9, 10, 18)에서는 찾아볼 수 없는 성질로 생각되었다. 즉, 최 등(5)은 *C. quinoa*의 상엽에 나타나는 병징의 유무에 따라 계통을 구분하였고, Provvidenti(18)는 4종의 양배추 품종에 나타나는 TuMV의 감염여부에 의해 계통을 구분하였으나, 본 실험에서와 같이 *C. amaranticolor*의 상엽에 감염된 경우는 보고된 바 없다.

식물병 방제의 가장 중요한 수단 중 하나는 전염원을 제거하는 방법이다(1). 배추 바이러스병의 주요 병원인 TuMV는 십자화과 식물을 비롯한 80여종 이상의 기주식물이 보고되어 있는데(2, 4, 8, 12, 16, 18, 21), 이들 중 23종이 재배되고 있는 작물이고, 그 외는 잡초들이기 때문에 TuMV에 이병된 잡초는 작물에 전염원으로 중요한 역할을 할 것으로 여겨진다. 따라서 배추나 무의 TuMV

병은 밭 주변의 잡초 등에 감염되어 있는 TuMV가 전염원으로서 중요하다고 볼 수 있는데, 이러한 관점에서 볼 때, 우리나라 밭 포장 주변에서 흔히 자생하고 있는 다년생 잡초인 개갓냉이(19)와 향신료로 재배하고 있는 겨자무로부터 자연감염된 TuMV를 분리동정함으로써, 이들이 배추나 무의 바이러스병의 전염원일 가능성을 시사하고 있다. 특히 이들 두 종류의 식물은 다년생이기 때문에 이들이 TuMV의 월동기주로서 중요한 역할을 할 것으로 추정된다. 실제로 바이러스에 감염된 포기로부터 다음해에 새로나온 싹에서 다시 모자이크 증상이 발현되었고, 이들로부터 바이러스 입자를 관찰할 수 있었다(결과자료 생략). 아울러 7종의 십자화과 잡초에 TuMV를 접종한 결과, 6종의 잡초에 바이러스가 감염된 것으로 보아 대부분의 십자화과 잡초가 TuMV의 전염원이 될 수 있는 가능성을 제시하고 있다. 이는 酒井와 河野(20)가 냉이, 황새냉이 등 15종의 잡초에서 TuMV의 기생성을 확인한 것과, 최 등(6)이 속속이풀에 감염되어 있는 TuMV를 분리동정하여 보고한 내용과 유사한 결과를 나타내고 있다. 따라서 TuMV의 1차 전염원은 월동하는 기주식물에 있으므로 이들의 생태적 연구와 전염원으로서의 역할 구명이 다음해 재배작물에서의 병 발생 방지를 위한 주요 수단으로 생각된다.

## 요 약

앞에 모자이크 증상을 나타내는 개갓냉이(*Rorippa indica*)와 겨자무(*Armoracia lapathifolia*)로부터 순무 모자이크 바이러스(TuMV)를 분리하였다. 분리한 바이러스를 지표식물 접종시험, 전자현미경 관찰, 항혈청 검정 및 RT-PCR을 통하여 TuMV로 동정하였다. 이들 바이러스는 *Chenopodium quinoa*, *Nicotiana clevelandii*, *Brassica rapa*, *B. campestris* subsp. *pekinensis*, *B. juncea* 및 *Raphanus sativus*에 전신감염되었고, *C. quinoa*, *C. amaranticolor*, *C. album*, *N. tabacum* cv. Xanthi nc, 및 *Gomphrena grobosa*의 접종엽에 국부병반을 나타냈으나, *N. glutinosa*, *Cucumis sativus* 및 *Vigna unguiculata*에는 병징이 나타나지 않았다. 이병엽의 조직에서 720 nm 정도의 사상형 입자와 봉입체가 관찰되었으며, 한천겔이중확산법에 의한 TuMV와의 혈청반응에서 모두 양성반응을 나타냈다. 또한, 제작한 TuMV primer를 이용한 RT-PCR 검정에서도 1,092 bp의 PCR 산물이 확인되었다. 한편, 배추에서 분리한 TuMV를 7종의 십자화과 잡초에 접종한 결과, 냉이(*Capsella bursa-pastoris*), 말냉이(*Thlaspi arvense*), 꽃다지(*Draba nomorosa* var. *hebecarpa*), 좁개갓냉이(*Rorippa cantoniensis*), 나도냉이(*Barbarea orthoceras*), 장대나물(*Arabis glabra*) 등 6종의 잡초에 감염되었다.

## 참고문헌

1. Agrios, G. N. 1997. Plant Pathology. 4th ed. Academic Press. pp. 173-221.
2. Arnold, W. N. and Bald, J. G. 1960. Turnip mosaic virus from two weed hosts. *Phytopathology* 50:578-581.
3. Belyasky, A., Vinogradova, T. and Rajewsky, K. 1989. PCR-based cDNA library construction: General cDNA Libraries at the Level of a Few Cells. *Nucleic Acids Res.* 17: 2919-2932.
4. 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: 259-261.
5. 최국선, 최장경. 1992. 배추 및 무에서 분리한 순무 모자이크 바이러스의 생물적 특성. *한국식물병리학회지* 8: 276~280.
6. 최준근, 최국선, 최장경, 유병주, 정태성. 1994. 속속이풀 (*Rorippa islandica* Borb.)에서 분리한 순무 모자이크 바이러스. *한국식물병리학회지* 10:136-139.
7. Choi, J. K., Matsuyama, N. and Wakimoto, S. 1980. Comparative studies on biological and serological properties of turnip mosaic virus isolate. *J. Fac. Agr. Kyushu Univ.* 25: 15-23.
8. 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.
9. Feng Lanxiang, Xu Ling and Liu Jia. 1988. The diagnosis of turnip mosaic virus strains of Chinese cabbage in Beijing Region. *Chinese Vegetables* 4: 11-13.
10. Green, S. K. and Deng, T. C. 1985. Turnip mosaic virus strains cruciferous hosts in Taiwan. *Plant Disease* 69: 28-31.
11. Horne, R. W. and Wildy, P. 1963. Virus structure revealed by negative staining. *Advan. Virus Res.* 10: 101-170.
12. 한국식물병리학회. 1998. 한국식물병명목록, 제3판. 436p.
13. Langeveld, S. A., Dore, J. M., Memelink, J., Derks, A. F. L. M., Vlugt, C. J. and Bol, J. F. 1991. Identification of potyvirus using the PCR with degenerate primers. *J. Gen. Virol.* 72:1531-1541.
14. Lisa, V. and Lovisolo, O. 1976. Biological and serological characterization of *Alliaria* strain of turnip mosaic virus. *Phytopath. Z.* 86: 90-96.
15. Nicolas, O. and Laliberte, J. F. 1992. The complete nucleotide sequence of turnip mosaic potyvirus RNA. *J. Gen. Virol.* 73: 2785-2793.
16. 大木 理. 1992. 日本に發生する植物ウイルス一覽. 植物ウイルス同定のテクニックとデザイン- 日本植物防疫協會. 93p.
17. Ouchterlony, O. 1962. Diffusion in gel methods for immunological analysis II. *Prog. Allergy* 6: 30-154.
18. Provvidenti, R. 1978. A Mosaic of *Pisum sativum* caused by a strain of turnip mosaic virus. *Plant Dis. Repr.* 62: 482-485.
19. 農村振興廳. 1992. 原色圖鑑 韓國의 밭 雜草. 常綠社. 204p.
20. 酒井泰文, 河野富秀. 1978. 다이콘모자이크病的發生子察に關する 研究, 第4報, 圃場周辺の雜草に對するTuMVの寄生性. 廣島農試報 40: 31-36.
21. Tomlison, J. A. 1970. Turnip Mosaic Virus. *CMI/AAB Description of Plant Viruses*, No. 8.
22. USDA. 1966. Index of Plant Virus Disease. In: Plant Pests of Importance of North American Agriculture. *Agriculture Handbook* No. 307.
23. Yoshii, H. 1963. On the strain distribution of turnip mosaic virus. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 28: 221-227.

(Received November 13, 1998)