

용담(*Gentiana* spp.)에서 분리한 3종의 바이러스

노성환¹ · 장무웅*

¹동아대학교 생명자원과학대학 농생물학과, 영남대학교 이과대학 생물학과

Three Viruses Isolated from *Gentiana* spp. in Korea

Seong Hwan Roh¹ and Moo Ung Chang*

¹Dept. of Agricultural Biology, College of Natural Resources and Life Science,
Dong-A University, 604-714, Korea

Dept. of Biology, Yeungnam University, Kyongsan, 712-749, Korea

ABSTRACT: *Gentiana* plants (*Gentiana* spp.) showing yellow ringspot, mosaic, necrotic fleck and malformation were collected from their growing areas in Taegu, Kyungpook province and Alpine Agricultural Experiment Station, Korea. Three viruses isolated from the naturally infected gentian were identified as broad bean wilt virus (BBWV), cucumber mosaic virus (CMV) and clover yellow vein virus (CIYVV) by their host range, immunosorbent electron microscopy (ISEM) and electron microscopy. Electron microscopic examination of negatively stained preparations showed that BBWV and CMV are spherical particles of 28 nm and 30 nm in diameter, and CIYVV is filamentous particles of ca. 780 nm in length. By ISEM, BBWV was detected mainly in gentian showing yellow ringspot and mottle, CIYVV in necrotic fleck leaf of gentian and CMV in narrow and distorted mosaic leaf of gentian. BBWV and CMV are the most prevalent in the cultivated gentian. In ultrathin sections of BBWV infected tissues, large aggregates or crystalline array of virus particles and vesicular body were found in the cytoplasm and vacuole of mesophyll cells. In case of CIYVV, pinwheel- and laminated aggregate-type inclusions as well as filamentous virus particles were observed in the cytoplasm of mesophyll cells.

Key words: broad bean wilt virus (BBWV), cucumber mosaic virus (CMV) and clover yellow vein virus (CIYVV), *Gentiana* spp.

용담(*Gentiana* spp.)은 용담과(Gentianaceae)에 속하는 다년생 속근 초화류로서 높이 20~60 cm이고, 꽃은 자주색으로 8~10월에 피고, 뿌리는 용담(龍膽)이라고 하며 한약재로 사용된다. 용담은 한국에서도 옛날부터 약초로서 재배되어온 속근 초화류로서 근년에 절화 및 화분용의 원예품종으로 개발되어 재배가 보편화되고 있다. 또한 산야에서도 자생하는 수종의 용담이 보고되어 있다. 용담 바이러스 병에 대한 기록은 1978년 Nagao(30) 등에 의해 처음으로 모자이크의 병명으로 기재된 이래 5종의 바이러스; bean yellow mosaic virus(BYMV), broad bean wilt virus(BBWV), clover yellow vein virus(CIYVV), cucumber mosaic virus(CMV), tobacco rattle virus(TRV)의 발생이 알려져 있다(17, 25, 30, 34, 38, 40, 41). 산야에 자생하고 있는 용담류 및 농경지 주위에서 많이 재배되고 있는 원예화된 용담은 다른 작물과 같이 바이러스 병에 감염될 확률이 높다. 더구나 용담은 다년생이므로 BYMV, BBWV, CIYVV, CMV, TRV 등의 바이러스에 감염된 용담은 다른 농작물의 1차 전염원이 될 가능성이

높다.

한국에서는 1994년 장 등(5)이 용담에서 BBWV, CIYVV, CMV 3종의 바이러스를, 1998년 최 등(10)이 CMV를 분리 식물병리학회에 보고하였다. 이 논문에서는 장 등(5)이 보고한 3종의 바이러스에 대한 특성을 조사한 결과이다. 즉 대구시와 경북지역의 꽃 판매장 및 일반적으로 재배되고 있는 용담, 대관령 고랭지 시험장의 포장에서 재배되고 있는 용담 및 야산지역에서 자생하고 있는 용담 등을 대상으로 바이러스 병에 대하여 조사를 하였다. 이들 지역에서 채집된 용담은 상당수가 바이러스 병의 증상을 나타내었는데, 등근무늬 및 모자이크 증상의 병징이 가장 많았다. 이들 이병주의 잎 조직을 재료로 하여 DN법(11)에 의거 전자현미경으로 병원 바이러스의 입자검출을 시도한 결과, 직경 28 nm, 30 nm의 구형입자, 길이 약 780 nm의 사상입자와 potyvirus에 감염된 조직에서 특이적으로 생성되는 봉입체의 단편이 검출되었기 때문에 이들 바이러스를 분리 동정하고, 용담의 병징과 이들 바이러스와의 관계를 조사하였다.

*Corresponding author.

재료 및 방법

바이러스의 시료원. 대구 근교의 야산과 경북 청송군, 군위군, 달성군의 야산에 자생하고 있는 용담(*Gentiana* spp.), 강원도 대관령 고랭지 시험장 포장에서 재배되고 있는 용담, 대구 시내 및 경북지역의 꽃 판매장과 일반 가정에서 재배되고 있는 용담에서 퇴록반점 및 모자이크(Fig. 1-A), 둥근무늬(Fig. 1-E), 괴저반점(Fig. 1-B), 모자이크를 동반한 기형 및 가는 잎(Fig. 1-C) 등의 증상을 나타내는 22 식물체로부터 분리한 직경 28 nm 및 30 nm(Fig. 2-A)의 구형입자, 780 nm(Fig. 2-D)의 사상형 입자를 공시 바이러스로 사용하였다.

즙액접종. 접종시험에 사용한 용담 및 검정식물은 전부 성장조절실에서 키웠다. 특히 분리 동정된 각각의 바이러스에 감염된 용담의 병징을 조사하기 위해서 경작지에서 격리재배 되었거나, 해발 600 m 이상의 산에서 무병징의 용담을 채집하여 바이러스의 무감염이 확인된 식

물체만 사용하였다. 즙액접종은 접종원에 0.05 M sodium thioglycollate solution을 0.05 M 인산완충액(pH 7.0)에 첨가하여 마쇄, 착즙한 다음 카보린덤을 이용한 상법에 의거 수행하였다.

혈청반응 시험. 면역전자현미경법(immunosorbent electron microscopy; ISEM)에 사용된 BYMV와 CIYVV의 항혈청은 사단법인 일본방역협회 연구소(社團法人 日本植物防疫協會 研究所)와 미국의 ATCC(American Type Culture Collection)로부터, BBWV의 항혈청은 일본 동경대학 농학부 식물병리학연구소(日本 東京大學 農學部 植物病理學研究室)로부터 각각 구입하였다. 면역전자현미경법(ISEM)은 Milne & Luisoni의 방법(28)에 따라 실시하였다.

바이러스 입자의 전자현미경적 관찰. 이병엽의 조직을 작게(2×5 mm) 잘라 50 μl의 2% osmium tetroxide에 고정하거나 바로 2% phosphotungstic acid(PTA, pH 7.0) 용액을 이용한 DN법에 의하여 관찰하였다. 감

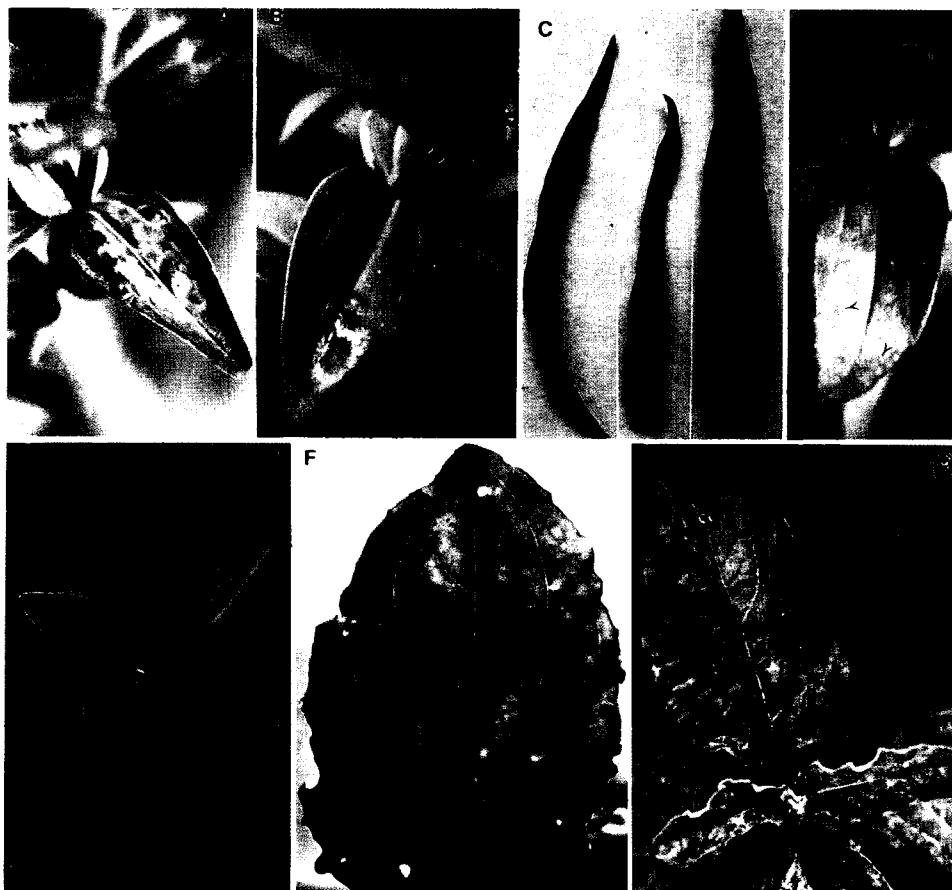


Fig. 1. A: Symptoms of yellow mosaic and mottle in gentian naturally infected with broad bean wilt virus (BBWV). B: Symptoms of necrotic fleck in gentian naturally infected with clover yellow vein virus (CIYVV). C: Symptoms of yellow mosaic, narrow and distortion in gentian naturally infected with cucumber mosaic virus (CMV). D-G: Symptoms of test plants inoculated with BBWV. D: Necrotic spots (arrows) on inoculated gentian leaf. E: Chlorotic ringspots on non-inoculated leaf of gentian. F: Chlorotic ringspots on non-inoculated leaf of *Plantago asiatica*. G: Chlorotic spots on non-inoculated leaf of *Achyranthes japonica*.

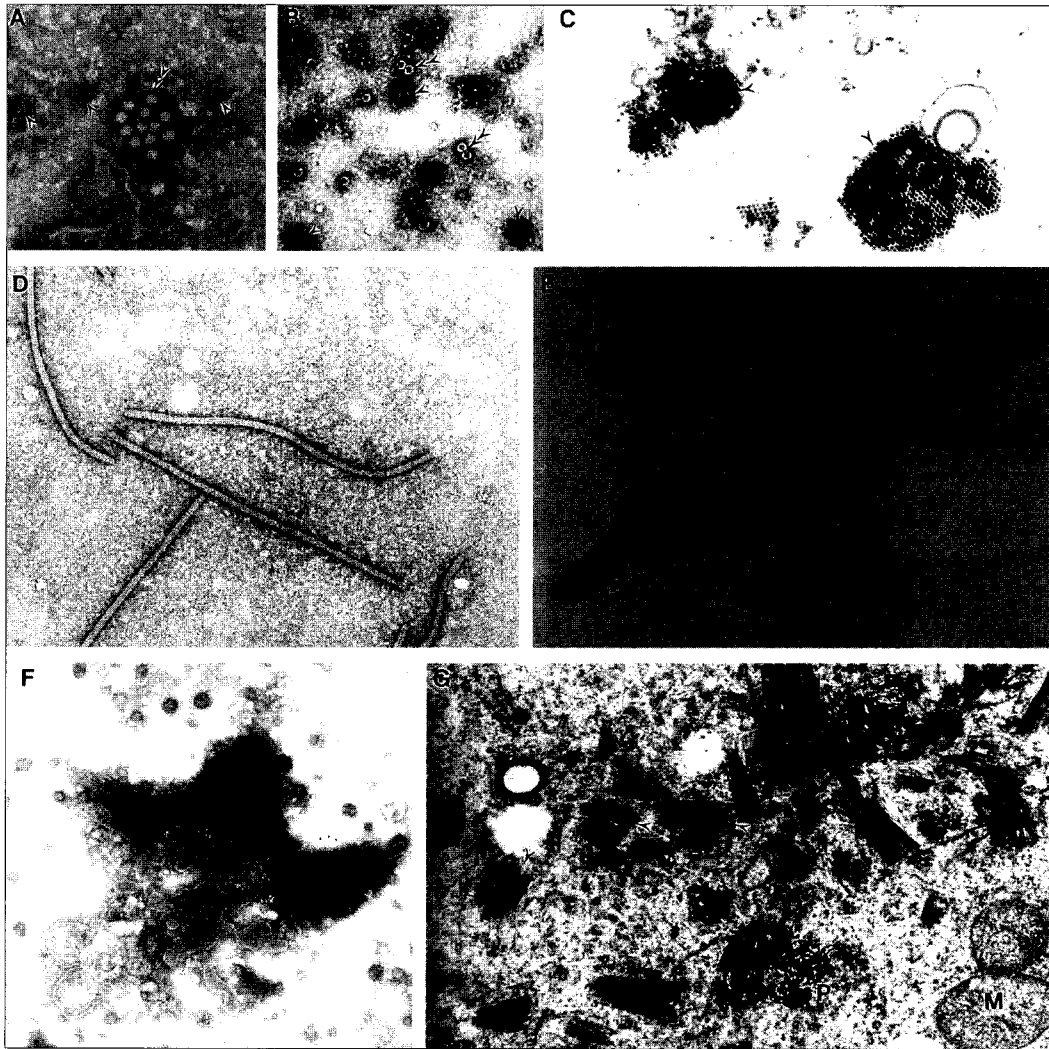


Fig. 2. A: Spherical particles of CMV (arrows) and BBWV (double arrows) in negatively stained preparations from infected gentian leaves ($\times 68,000$). B: Spherical particles (arrows) decorated with CMV antiserum and non-decorated spherical particles, BBWV (double arrows) in ISEM preparations from gentian leaves ($\times 68,000$). C: The crystalline array of virus particles (arrows) within the vacuole in a parenchyma cell of BBWV-infected gentian leaves ($\times 30,000$). D: Filamentous particles of CIYVV in negatively stained preparations from gentian leaves ($\times 64,000$). E: Filamentous particles decorated with CIYVV antiserum in ISEM preparations from gentian leaves ($\times 64,000$). F: Cytoplasmic cylindrical inclusions associated with organelle membranes (arrows) in negatively stained preparations from gentian ($\times 20,000$). G: The cytoplasmic cylindrical inclusions associated with organelle membranes (arrows) in a parenchyma cell of CIYVV-infected gentian leaves (M; mitochondria, P; pinwheel).

엽엽 조직내의 바이러스 입자의 존재양식을 관찰하기 위하여 이병식물의 잎조직을 2.5% glutaraldehyde에 3시간 전고정하고, 1% osmium tetroxide에 1시간 후 고정 한 다음 에탄올로 탈수하였다. 이것을 Epoxy 수지에 포 매하였다. 초박절편된 시료는 uranyl acetate와 lead citrate에 2중염색하여 전자현미경(Hitachi H-600)으로 관찰하였다.

결 과

Broad bean wilt virus(BBWV)

병징. 이 바이러스는 대구 근교의 팔공산, 경북 청송 군, 군위군, 달성군의 야산에 자생하고 있는 용담, 강원도 대관령 고랭지 시험장 포장에서 재배되고 있는 용담, 대구시내 및 경북지역의 꽃 판매장에서 수집된 용담 시료를 대상으로 바이러스 기주범위, 입자형태, 혈청반응 그리고 조직내의 존재양식 등을 조사하였다. 그 결과, 바이러스 감염증상으로 의심되는 용담 22 식물체 중에서 15 식물체로 부터 BBWV가 검출되었고, 그중 8 식물체가 CMV와 혼합 감염되어 있었다. 퇴록반점 또는 둥근무늬(Fig. 1-A)의 증상을 나타내는 용담 식물체에서 BBWV만 분리되었다. 전자현미경과 즙액접종에서 단독감염이

확인된 등근무늬 용담의 상엽과 *Chenopodium amaranticolor* 상엽을 이용하여 건전 용담에 즙액접종한 결과, 즙액으로 접종된 잎과 상엽에 퇴록 등근무늬를 나타냈다(Fig. 1-E).

기주범위. 단독감염이 확인된 용담의 등근무늬 신엽과 *C. amaranticolor* 상엽을 이용하여 건전 용담 및 지표 식물에 즙액접종한 결과는 Table 1에 나타난 바와 같다. *C. amaranticolor*, *C. quinoa*에서는 접종잎에 황색 또는 괴저성의 점무늬를 형성하였고, 접종후 1주일째는 새로운 잎에 모자이크가 형성되면서 위축과 기형을 동반하였다. 특히 *C. amaranticolor*에서는 모자이크 증상의 새로운 잎은 지표식물의 즙액접종원으로 사용하였다. 그후 새로운 잎은 심하게 위축되어 성장이 정지되었다. 이 두 지표식물은 CMV와 BBWV 2종의 바이러스에 혼합감염된 용담으로부터 BBWV를 단리하는데 유용하였다. 잠두(*Vicia faba*)에서는 접종 후 4일째 접종잎에 괴저성의 점무늬를 형성하고, 그후 전신적으로 흑갈색의 등근무늬와

Table 1. Host range of cucumber mosaic virus (CMV), clover yellow vein virus (CIYVV), broad bean wilt virus (BBWV) in Korea^{a)}

Test plant	CMV	CIYVV	BBWV
<i>Gentiana scabra</i>	+/D, Na	N.Sp/St	C.R.Sp/C.R.Sp
<i>Gomphrena globosa</i>	N.Sp/Mo	+/-	S/-
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	N.Sp/- [#]	N.Sp/N	C.Sp/L,W [#]
<i>C. quinoa</i>	N.Sp/- [#]	N.Sp/N.Sp [#]	N.Sp/L,W [#]
<i>Cucumis sativus</i>	W/Mo	C.Sp/-	-/-
<i>Cucurbita pepo</i>	W/Mo*	C.Sp/-	-/-
<i>C. moschata</i>	W/Mo	-/-	-/-
<i>Brassica rapa</i>	-/-	-/-	-/+
<i>Raphanus sativus</i>	-/-	-/-	-/+
<i>Phaseolus vulgaris</i>	N.Sp/-	N.Sp/Vc,N	-/-
<i>Pisum sativum</i>	-/-	N.Sp/M,W	-/-
<i>Vicia faba</i>	N.Sp/-	N.Sp/M,W	N.Sp/W [#]
<i>Vigna sesquipedalis</i>	N.Sp/- [#]	-/-	N.Sp/- [#]
<i>Datura stramonium</i>	N.Sp/-	-/-	N.R/N.R.L
<i>Nicotiana glutinosa</i>	C.R.Sp/Mo*	-/-	C.R.Sp/Mo,Vc
<i>N. tabacum</i>	C.R.Sp/Mo*	C.Sp/-	C.R/-
<i>N. clevelandii</i>	C.R.Sp/Mo*	C.Sp/Mt*	-/-
<i>Petunia hybrida</i>	+/Mo	-/-	-/M
<i>Plantago asiatica</i>	-/+	-/+	+/R. Sp
<i>Spinacia oleracea</i>	-/-	C.Sp/-	C.Sp/Mo*
<i>Tetragonia expansa</i>	C.Sp/N.Sp	N.Sp/-	C.Sp/-
<i>Achyranthes</i>	-/-	-/-	+/Mo,D

^{a)}Symptom abbreviation: C=chlorosis, D=distortion, G=green island, L=Line pattern, Mo=mosaic, Mt=mottle, Na=narrowing, N=necrosis, R=ring, S=symptomless, Sp=spot, St=stunt, Vc=vein clearing, W=wilt, +=uncertain, and -=no infection detected based on back-inoculation. Symptoms on inoculated leaves to the left of the slash and symptoms in systemically infected leaves to the right of the slash.

*: Propagation species, #: Assay species.

모자이크를 생성하여 3주째는 대개의 경우 줄기에 흑갈색의 괴저를 형성하여 고사하였다. *Nicotiana glutinosa*에서는 접종 후 6일째 접종잎에 퇴록색의 등근무늬를 형성하였다. 그후 환경에 따라 새로운 잎에 등근무늬를 형성하기도 하였다. 질경이(*Plantago asiatica*)에서는 접종잎에 누른 점무늬가 형성되고, 새로운 잎에는 퇴록색의 등근무늬를 나타내었다(Fig. 1-F). 쇠무릎(*Achyranthes bidentata*)에서는 접종잎에 병징이 없었으나, 새로운 잎에는 모자이크와 황화를 동반한 위축증상을 나타내었다(Fig. 1-G). 용담(*Gentiana* spp.)에서는 접종잎에 갈색의 국부감염의 병징을 형성하였고(Fig. 1-D), 새로운 잎에는 퇴록반점 또는 등근무늬의 전신감염을 나타내었다(Fig. 1-E). 성엽이 되면서 병징은 소실되기 시작하여 개화기에는 거의 무병징으로 확인되었다.

바이러스 입자의 형태. *N. glutinosa*와 *C. amaranticolor*의 이병엽을 사용하여 DN법에 의해 투과전자현미경으로 관찰한 결과, 직경 약 28 nm의 작은 공모양의 캡시드 구조를 가진 입자가 많이 검출되었다(Fig. 2-A, B).

혈청반응시험. 이 바이러스의 기주범위, 입자의 형태 등의 결과가 BBWV와 유사하여 BBWV의 항혈청을 이용하여 ISEM에 의하여 혈청학적 유연관계를 조사한 결과 용담에서 분리한 구형 바이러스는 BBWV의 항혈청과 특이적으로 반응하였다.

감염엽 조직내의 바이러스 입자의 존재양식. 즙액접종에 의하여 감염된 *C. amaranticolor*, *G. scabra*, *Tetragonia expansa*의 이병엽을 초박절편하여 투과전자현미경으로 관찰하였다. 작은 공모양의 입자가 표피세포, 엽육세포, 통도조직의 유세포 등의 세포질과 액포 및 사관내에 산재 혹은 결정배열로 존재하는 것이 확인되었다(Fig. 2-C). 특히 BBWV의 감염 세포내에 특이적으로 생성되는 막상 구조물이 모여서 된 봉입체(vesicular body)가 관찰되었고, 가끔 이들 봉입체 내에 혹은 주위에 바이러스 입자의 집단 또는 결정 배열상이 확인되었다.

Clover yellow vein virus(CIYVV)

병징. 이 바이러스는 경북 청송군, 군위군, 달성군의 야산에 자생하고 있는 용담, 대구시내 및 경북지역의 꽃 판매장에서 수집된 용담 시료를 대상으로 바이러스 기주범위, 입자형태, 혈청반응 그리고 조직내의 존재양식 등을 조사하였다. 그 결과, 바이러스 감염증상으로 의심되는 용담 22 식물체 중에서 괴저반점 및 위축(Fig. 1-B)의 증상을 나타내는 2 식물체에서만 CIYVV가 검출되었다. 전자현미경과 즙액접종에서 단독감염이 확인된 *Phaseolus vulgaris*의 엽맥투명 상엽을 사용하여 건전 용담에 즙액접종한 결과, 즙액으로 접종된 잎과 상엽에 괴저반점과 위축 증상을 나타냈다.

기주범위. 단독감염이 확인된 위축 증상의 용담의 신엽과 *P. vulgaris*의 엽맥투명의 상엽을 사용하여 건전 용

담 및 지표식물에 즙액접종한 결과는 Table 1에 나타난 바와 같다. *C. amaranticolor*, *C. quinoa*에서는 접종 앞에 괴저반을 형성하였으나, *C. quinoa*에서는 접종 후 1주일 째는 새로운 잎에 괴사 점무늬가 나타나 전신감염이 확인되었다. *P. vulgaris*에서는 접종 앞에 황화반점이 형성된 후, 2주 째에 새로운 잎에 엍맥투명을 동반한 모자이크의 전신감염이 확인되었다. 이 지표식물은 CMV, CIYVV 및 BBWV 3종의 바이러스에 혼합감염된 용담으로부터 CIYVV를 단리하는데 유용하였다.

바이러스 입자의 형태. *P. vulgaris*와 *C. quinoa*의 이병엽을 사용하여 DN법에 의해 투과전자현미경으로 관찰한 결과, 약 780 nm의 사상입자(Fig. 2-D)와 세포질 봉입체의 단편이 많이 검출되었다(Fig. 2-F). Fig. 2-F에 있어서 화살표로 지적된 바와 같이 세포질 봉입체는 막에 부착되어 있음이 확인되었다. 이와 같은 결과는 CIYVV 감염조직의 초박절편의 시료에서 봉입체가 세포질내에서 원형질막이나 내막계에 부착된 상(Fig. 2-G)과 일치하고 있다.

혈청반응시험. 이 바이러스의 기주범위, 입자의 형태 등의 결과가 CIYVV와 유사하여 CIYVV의 항혈청을 이용하여 ISEM법에 의하여 혈청학적 유연관계를 조사하였다. 그 결과 용담에서 분리한 780 nm의 바이러스는 CIYVV의 항혈청과 특이적으로 반응하였다(Fig. 2-E).

감염엽 조직내의 바이러스 입자의 존재양식. 즙액접종에 의하여 감염된 *P. vulgaris*와 *C. quinoa*의 이병엽을 초박절편하여 투과전자현미경으로 관찰하였다. 길이 약 700 nm 내외의 사상입자가 표피세포, 엽육세포, 통도조직의 유세포 등의 세포질과 액포에 산재 혹은 병행 배열로 존재하는 것이 확인되었다. CIYVV의 감염세포에 특이적으로 생성되는 세포질내의 봉입체(cytoplasmic cylindrical inclusions; pinwheels, scrolls, laminated aggregates)가 반드시 관찰되었고, 가끔 이들 봉입체 내에 혹은 주위에 바이러스 입자의 집단 또는 병행 배열상이 확인되었다(Fig. 2-G). 또한 세포질 봉입체가 원형질막이나 내막계에 부착된 상도 관찰되었다.

Cucumber mosaic virus(CMV)

병징. 이 바이러스는 대구 근교, 경북 청송군, 군위군, 달성군의 야산에 자생하고 있는 용담, 대구시내 및 경북 지역의 꽃 판매장에서 수집된 용담 시료를 대상으로 바이러스 기주범위, 입자형태, 혈청반응 그리고 조직내의 존재양식 등을 조사하였다. 그 결과, 바이러스 감염증상으로 의심되는 용담 22 식물체 중에서 18 식물체로부터 CMV가 검출되었고, 그중에서 8식물체가 BBWV와 혼합감염되었다. 모자이크, 세엽 및 위축(Fig. 1-C)의 증상을 나타내는 용담 식물체에서는 CMV만이 분리되었다. 전자현미경과 즙액접종에서 단독감염이 확인된 *Cucumis sativus*, *Cucurbita pepo*의 모자이크 상엽을 사용하여 건

전한 용담에 즙액접종한 결과, 즙액으로 접종된 식물체는 세엽 및 축엽 증상을 나타냈다.

기주범위. 단독감염이 확인된 세엽 증상의 용담의 신엽과 *C. sativus*의 모자이크 상엽을 사용하여 건전 용담 및 지표식물에 즙액접종한 결과는 Table 1에 나타난 바와 같다. *C. sativus*, *C. pepo*의 접종엽은 괴사병반후에 고사하였고, 상엽은 전형적인 모자이크 증상을 나타내었다. *P. vulgaris*, *Vigna sesquipedalis*에서는 접종잎에 괴사반점만 형성하였다. *Nicotiana tabacum*에서는 접종잎에 황화반점을, 상엽에는 전형적인 모자이크 증상을 나타냈다. *N. glutinosa*에서는 접종잎에 황화 둥근무늬를, 상엽에는 모자이크 증상을 나타냈다. 이들 지표식물은 CMV와 BBWV 2종의 바이러스에 혼합감염된 용담으로부터 CMV를 단리하는데 유용하였다.

바이러스 입자의 형태. *C. sativus*, *N. tabacum*의 이병엽을 사용하여 DN법에 의해 투과전자현미경으로 관찰하였던 바, 약 30 nm의 hollow center를 가진 공모양 입자가 많이 검출되었다(Fig. 2-A).

혈청반응시험. 이 바이러스의 기주범위, 입자의 형태 등의 결과가 CMV와 유사하여 CMV의 항혈청을 이용하여 ISEM에 의하여 혈청학적 유연관계를 조사하였다. 그 결과 용담에서 분리한 30 nm의 바이러스는 CMV의 항혈청과 특이적으로 반응하였다(Fig. 2-B).

고 찰

세계적으로 구근(球根) 및 숙근(宿根) 초화류(草花類)의 생산면적은 33,000 ha 이상으로 알려져 있으나, 네덜란드를 제외하면 통계가 없거나 부정확하거나 부정기적인 경우가 대부분이다(4). 그러므로 절화용, 화단용, 분화용 등의 구근 및 숙근 초화류 총생산 면적은 이것의 몇 배는 될 것으로 추정된다. 한국의 경우, 이들 초화류의 생산면적이 85년부터 계속적으로 증가하여 94년 100 ha에 달하고 있다(농림수산부 통계). 이들 다년생 초화류에는 바이러스 병의 발생이 심하고 피해가 매우 크다는 사실은 세계적으로 잘 알려져 있고, 또한 이들 다년생 초화류의 대부분이 수종의 바이러스에 혼합 감염되어 있음도 확인되었다(3, 4, 20, 26, 31, 32). 여기에 구근 및 숙근 초화류의 이병식물의 영양번식은 바이러스의 확산을 급속도로 증가시키고 있다(20, 26). 이들 식물에서 분리된 바이러스 중에는 이들 식물에만 발생하는 바이러스도 있으나 대부분은 다른 농작물에서 발생하는 바이러스이기 때문에 이들 식물은 농작물 바이러스의 전염원으로 매우 중요하다는 사실도 보고되어 있다(3, 4, 20, 26, 31, 32). 그러나 한국에서는 이들 원예작물에 대한 바이러스 병의 연구는 백합(7), 아이리스(8), 아마릴리스(18), 글라디올러스(21, 31, 32), 다알리아(9) 정도이다.

등근무늬, 모자이크, 괴저반점, 세엽 등의 단독증상 또는 복합증상을 나타내는 용담 식물체로부터 분리한 직경 28 nm, 30 nm의 구형 바이러스와 780 nm의 사상 바이러스는 입자의 형태, 기주범위, 혈청반응, 이병엽의 조직 내의 바이러스 입자의 존재양식 등의 결과에 의하여 각각 BBWV, CMV, CIYVV로 동정한다.

BBWV는 기주범위가 넓어 14과 50여종의 식물에 감염된다는 사실이 보고되어 있다(7, 14, 27, 29, 32, 35, 37, 39). 한국에서는 시금치, 백합, 고추, 질경이, 쇠무릎, 수선, 글라디올러스에서 BBWV의 자연감염이 확인되었다(6, 7, 9, 23, 32).

BBWV에 대한 종합적인 결과와 고찰은 장과 정(7)에 의해 보고되었으며 이번 실험에서는 수종의 지표식물에 나타나는 병징을 특징적으로 다루었다. *N. glutinosa*의 접종잎에 나타난 황화 등근무늬와 상엽의 모자이크 증상, *V. fava*의 접종잎에 나타난 갈색 반점과 상엽에 나타난 괴저증상(dark brown wilt symptom)은 BBWV의 감염에 의한 전형적인 증상이라고 생각되어 앞으로 BBWV의 지표식물의 반응에 의한 진단기준이 될 수 있다. 종자 파종에서 얻은 질경이와 쇠무릎의 유묘에 BBWV를 즙액접종한 결과, BBWV의 자연감염에 의한 병징과 동일하게 질경이는 퇴록색의 등근무늬가, 쇠무릎은 모자이크와 위축증상이 확인되었다. 농경지 주위에서 이와 같은 증상의 질경이와 쇠무릎이 확인되었을 때는 BBWV가 감염된 것으로 판단하고, 즉시 이들 식물들을 제거함으로써 2차 감염을 막을 수 있다.

1994년 장 등(5)이 용담에서 BBWV의 자연감염을 처음으로 보고한 이래, 1997년 Kuroda 등(19)이 일본의 재배 용담에서 BBWV의 보고가 있을 뿐이다. 용담류는 숙근 초화류로 영양번식을 하고, 봄에서 가을까지 생육 기간이 길다. 따라서 진딧물 전파에 의해 타 식물에 중요한 전염원이 될 가능성이 크기 때문에 주의가 필요하다. 장과 정(7)의 보고에 의하면 질경이, 쇠무릎, 나리류 등에서도 BBWV가 자연감염되어 있음이 확인되었다. 이들 식물도 다년생이고, 경작지 주위에서 주로 자생하고 있기 때문에 용담과 함께 한국에서 재배되고 있는 농작물에 있어서 BBWV의 중요한 전염원으로서 가장 유력하다.

Potyviridae에 속하는 CIYVV의 기주범위는 9과 29속 59종에 감염성이 알려져 있다(13,36). 용담에서 분리된 CIYVV의 기주범위의 결과는 Inouye 등(16), Lawson 등(21), Pratt(33)가 보고한 CIYVV의 결과와 유사하였으나, *C. amaranticolor* 등의 몇 종에 있어서 병징에 약간의 차이가 있었다. 그러나 ISEM이나 ELISA에 의한 혈청학적 시험에서 CIYVV의 항혈청과는 특이적으로 반응하였으나, bean yellow mosaic virus(BYMV)의 항혈청과는 반응하지 않아 CIYVV로 동정하였다. CIYVV의 감

염 세포내에 특이적으로 생성되는 세포질내 봉입체의 laminated aggregates 및 핵내 봉입체(crystalline dense bodies)의 구조는 이미 보고된 CIYVV에 생성된 봉입체의 구조와 유사하였다(12, 16, 24, 26, 36). 사상형 바이러스에 감염된 식물에 있어서 바이러스의 검출이 ISEM이 ELISA보다 훨씬 예민하다는 결과(17, 26, 34)가 본 실험에서도 확인되었다. ISEM은 바이러스 항원과 항혈청의 반응을 전자현미경으로 직접 관찰할 수 있는 방법으로 매우 민감도가 높아 1~10 ng virus ml⁻¹ 범위에서 바이러스 검출이 가능하고, 낮은 역가의 항혈청으로 바이러스를 성공적으로 검출할 수 있고, 기주 단백질의 항체를 함유한 항혈청이라도 특이적인 반응을 하여 좋은 결과를 얻을 수 있다(2, 15, 26, 28). 이 방법이 Anderson & Stanley(1)에 의해 식물 바이러스에 처음 도입된 이래 바이러스 검출에 자주 이용되지 않은 이유는 전자현미경의 보급이 일반화 되지 않았기 때문이었다. 본 실험에서는 사상형뿐만 아니라 구형의 BBWV와 CMV에도 ISEM이 매우 유효하다는 결과가 얻어졌다. 특히 용담의 조즙액을 이용한 ISEM법에 의한 CMV의 검출이 한천겔 확산법보다 훨씬 민감도가 높았고, 간편하였고, 시간적으로도 1/4 정도 단축되었다. 선진국은 물론 한국에서도 전자현미경의 보급이 급격히 증가하여 어느 지역에서나 이용이 가능하게 되었다. 따라서 식물 바이러스의 진단에 있어서 이용이 간편하고 바이러스 검출이 예민한 ISEM을 권장한다.

CMV는 현재로 세계 각국에서 보고된 자연감염의 기주는 67과 470여종에 달하고 있다. 한국에서는 20여종의 자연감염의 기주에서 CMV가 분리되었는데(6, 7, 9, 10), 용담에서의 CMV의 분리는 본 연구가 처음이다(5). CMV는 진딧물의 매개에 의해 쉽게 전파되므로 이들 다년생 식물은 농경지 주변에서 또는 산야에서 자생하고 있기 때문에 농작물은 물론 다른 식물의 CMV의 중요한 전염원이 된다.

요 약

대구 및 경북 지역의 꽃 판매장과 일반적으로 재배되고 있는 용담, 대관령 고랭지 시험포장에서 재배되고 용담에서 등근무늬, 모자이크, 괴저반점, 비정상적인 생육 등의 증상을 나타내는 식물체로부터 3 종류의 바이러스가 분리되었다. 이들 바이러스는 전자현미경, 기주범위, 혈청학적 반응 등에 의하여 각각 broad bean wilt virus(BBWV), cucumber mosaic virus(CMV), clover yellow vein virus(CIYVV)로 동정하였다. DN법에 의한 전자현미경 관찰에 의하여 직경 28 nm의 구형입자를 BBWV로, 직경 30 nm의 구형입자는 CMV로, 길이 780 nm의 사상형입자는 CIYVV로 확인되었다. BBWV가 감염된

용담에서는 등근무늬 및 퇴록반점, CIYVV는 괴저반점 그리고 CMV는 모자이크 및 잎이 가늘어진 증상의 용담에서 주로 분리되었다. 한국에서 재배되는 용담에서 가장 피해가 심하고, 감염률이 높은 바이러스는 BBWV와 CMV 임이 확인되었다. BBWV에 감염된 이병엽 조직의 초박절편 시료의 관찰에서 엽육세포의 세포질 및 액포 내에 바이러스 입자의 결정상과 막상구조의 집합체가 확인되었다. CIYVV에 감염된 이병엽 조직의 초박절편 시료의 관찰에서 엽육세포의 세포질 내에 사상형의 바이러스 입자와 여러 형상의 세포질 봉입체가 확인되었다.

참고문헌

- Anderson, T. F. and Stanley, W. M. 1941. A study by means of the electron microscope of the reaction between tobacco mosaic virus and its antiserum. *J. Biol. Chem.* 139: 339-344.
- Ball, E. M. and Brakke, M. K. 1968. Leaf-dip serology for electron microscopic identification of plant viruses. *Virology.* 36: 152-155.
- Chang, M. U. 1987. Research on virus diseases of ornamental plants in Korea. *Korean J. Plant Pathol.* 3: 35-42.
- 장무웅, 김규원. 1996. 관상용 구근류의 바이러스병. 한국 화훼연구지. 5: 21-32.
- 장무웅, 김중두, 권유경, 배소현. 1994. 용담(*Gentiana scabra*)에서 분리한 3종의 바이러스. 한국식물병리학회지 10(4): 363
- 장무웅, 백대현, 이재열. 1987. ds-RNA를 이용한 식물 바이러스의 검출과 동정. 한국식물병리학회지. 9: 191-199.
- 장무웅, 정재동. 1987. 한국산 나리류에서 분리한 바이러스에 관한 연구. I. Broad bean wilt virus 및 cucumber mosaic virus. 한국식물병리학회지. 3: 223-235.
- Chang, M. U. and Park, W. H. 1982. Some properties of iris virus found in Korea. *J. Nature Science.* 1: 175-181.
- 장무웅, 윤태규. 1987. 다알리아에서 분리한 3종의 바이러스. 영남대학교 기초과학연구. 7: 151-167.
- Choi, J. K., Kim, H. J., Hong, J. S., Kim, D. W. and Lee, S. Y. 1998. Identification and differentiation of cucumber mosaic virus isolates in Korea. *Korean J. Plant Pathol.* 14: 7-12.
- Doi, Y., Toriyama, S., Yora, K. and Ashyama, H. 1969. Direct negative staining methods for detection for virus particles in fresh preparations from infected plant tissue. *Ann. Phytopath. Soc. Japan.* 35: 180-187.
- Edwardson, J. R. and Christie, R. G. 1991. The potyvirus group. Volumes I-IV, Florida Agricultural Experiment Station Monograph 16.
- Fortass, M., Bos, L. and Goldbach, R. W. 1991. Identification of potyvirus isolates from fava beans(*Vicia faba*) and the relationships between bean yellow mosaic virus and clover yellow vein virus. *Archives of Virology.* 118: 87-100.
- Frowd, J. A. and Tomlinson, A. 1970. Relationships between a parsley virus, nasturtium ringspot virus and broad bean wilt virus. *Ann. App. Biol.* 72: 189-195.
- Hsu, H. T., Vongsasitorn, D. and Lawson, R. H. 1992. An improved method for serological detection of cymbidium mosaic potexvirus infection in orchid. *Phytopathology.* 82: 491-495.
- Inouye, T., Maeda, T. and Mitsuhata, K. 1988. A strain of clover yellow vein virus isolated from *Calanthe* sp. *Acta Horticulture.* 234: 61-68.
- 梶和彦, 夏秋英知, 奥田誠一, 藤澤一郎. 1993. 린도우에そ萎縮病原인인 나메黃斑モザイクウイルス에そ系(BYMV-Y)와 크로바葉脈黃化ウイルス(CIYVV)의關係について. 日植病報. 59: 763.
- Kim, J. S., Kim, H. B. and Lee, S. H. 1981. Isolation and properties of cucumber mosaic virus inducing mosaic symptoms in *Hippeastrum hybridum*. *Hort. Korean J. Pl. Prot.* 20: 76-82.
- Kuroda, T., Okumura, A. and Suzuki, K. 1997. Broad bean wilt virus isolated from gentian in Iwate Prefecture. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 63: 486-487.
- Lawson, R. H. 1981. Controlling virus diseases in major international flower and bulb crops. *Plant Diseases.* 65: 780-786.
- Lawson, R. H., Brannigan, M. D. and Foster, J. 1985. Clover yellow vein virus in *Limonium sinuatum*. *Phytopathology.* 75: 899-906.
- Lee, S. H., Kim, J. S. and Choi, Y. M. 1983. Bean yellow mosaic virus and cucumber mosaic virus causing mosaic disease on gladiolus in Korea. *Korea J. Plant Prot.* 22: 198-202.
- 이순형, 이기운, 정봉조. 1979. 시금치 바이러스병에 관한 연구 II. 시금치에 발생하는 broad bean wilt virus 분리동정. 한국식물보호학회. 18: 337-342.
- Lesemann, D. E., Koenig, R. and Hein, A. 1979. Statice virus Y- a virus related to bean yellow mosaic and clover yellow vein viruses. *Phytopath. Z.* 95: 128-139.
- Li, J., Yamashita, S., Doi, Y., and Yora, K. 1983. Study on the virus diseases of herb plants. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 49: 83 (Abstr. in Japanese).
- Loebenstein, G., Lawson, R. H. and Brunt, A. A. 1995. Virus and virus-like diseases of bulb and flower crops. John Wiley and Sons.
- Lokhart, B. E. L. and Betzold, J. A. 1982. Broad bean wilt virus in begonia in Minesota. *Plant Disease.* 66: 72-73.
- Milne, R. G. and Luisoni, E. 1977. Rapid immuno electron microscope of virus preparations, in: *Methods in Virology.* 6: 265-281. Academic Press, New York.
- 森田健二, 荒井啓, 土居養二, 與良清. 1984. Broad bean wilt virusによるナスの病害. 日植病報. 40: 288-294.
- Nagao, N., Torigoe, H. and Wakimoto, S. 1978. Cucumber mosaic virus and broad bean wilt virus isolated from gentian. *Proc. Assoc. Pl. Prot. Kyushu.* 24: 180 (Abstr. in Japanese).
- 박인숙, 김규원, 권현정, 장무웅. 1998. 한국산 글라디올러스에 발생하는 바이러스. 1. Bean yellow mosaic virus 및 clover yellow vein virus. 한국식물병리학회지. 14: 74-82.

32. 박인숙, 김규원, 권현정, 장무웅. 1998. 한국산 글라디올러스에 발생하는 바이러스. 2. Broad bean wilt virus, cucumber mosaic virus 및 tobacco rattle virus. 한국식물병리학회지. 14:83-91.
33. Pratt, M. J. 1969. Clover yellow vein virus in North America. *Plant Dis. Rep.* 53:210-212.
34. Sasaya, T., Kaji, K., Fujisawa, I., Koganezawa, H., Teraoka, T., Natsuaki, T. and Okuda, S. Characterization and nucleotide sequence of the 3' terminal region of clover yellow vein virus isolated from gentian. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 63:328-333.
35. Scott, S. W. and Barnett, O. W. 1984. Some properties of an isolate of broad bean wilt virus from dogwood. *Plant Disease* 68:983-985.
36. Shukla, D. D., Ward, C. W. and Brunt, A. A. 1994. The Potyviridae. CAB international.
37. Shukla, D. D., Teakle, D. S. and Gough, K. H. 1980. Periwinkle, a latent host for broad bean wilt virus and cucumber mosaic virus in Australia. *Plant Disease* 64:802-803.
38. 鈴木一實, 劑藤光, 佐佐木由紀子, 曳地康史. 1994. 린도우におけるCMV의感染經路의解明 2)越冬芽からのCMV檢出. 日植病報 60:399.
39. Taylor, R. H. and Stubbs, L. L. 1972. Broad bean wilt virus. CMI/AAB. Descr. Plant Viruses. No. 81.
40. 宇賀博之, 壓司俊彦, 笹谷孝英, 御子紫義郎, 本田要八郎. 1998. 埼玉縣の榮養繁殖性矮性린도우から分離されたCIYVV. 日植病報. 64(4):422.
41. 吉川信幸, 阿部美紀子, 高橋壯. 1993. 岩手縣の린도우から分離されたキュウリモザイクウイルスについて. 日植病報 59:762.

(Received October 9, 1998)