식물병연구
Res. Plant Dis. 10(2) : 154-158 (2004)

Research in Plant Disease
© The Korean Society of Plant Pathology

오이 종자로부터 CGMMV의 검출과 품종 저항성 검정

고숙주* · 이용환 · 차광홍 · 박진우[1] · 최형국
전남농업기술원 식물환경연구과, [1]농업과학기술원 식물병리과

Detection of CGMMV from Commercial Cucumber Seed and Resistance Test of Cultivars

Sug-Ju Ko*, Yong-Hwan Lee, Kwang-Hong Cha, Jin-Woo Park[1] and Hyeong-Gug Choi
Jeonnam Agricultural Research and Extension Services, Naju 520-715, Korea
[1]National Institute of Agricultural Science and Technology, Suwon 441-707, Korea
(Received on April 30, 2004)

To analyze the relationship between CGMMV occurrence and seed contamination by cucumber cultivars, cucumber cultivars of CGMMV infected field and diseased degree were investigated in cucumber main cultivation regions of Jeonnam province from 1999 to 2002. While the diseased degree was different by years and cultivars, CGMMV occurred for 4 years in 'Janghyeongnakhap', for 3 years in 'Jangjukcheongjang', and for 2 years in 'Gyeoulsali' and 'Gyeoulnagi'. CGMMV was detected in seeds of 'Janghyeongnakhap' and 'Jangjukcheongjang' by ELISA test, and seed of 'Jangjukcheongjang' showed positive reaction in bioassay. As a result of resistant test of 34 cultivars to CGMMV, all cultivars showed mosaic symptoms in pot test but only 'Hanboksamcheok' showed mild mosaic symptom in field test.

Keywords : **CGMMV, Cucumber, Cultivar, ELISA, Seed**

오이녹반모자이크바이러스(*Cucumber green mottle mosaic virus*, CGMMV)는 영국에서 1935년에 Ainsworth에 의해 처음 보고된 이래 세계적으로 분포하고 있다(Ainsworth, 1935; Antignus 등, 1990; Avgelis, 1992; Hollings 등, 1975; Ibrahim, 1992; Rao와 Varma, 1984). 국내에서는 1989년 경남 진주 수박재배 농가에서 최초 발생되었고, 1998년 전국적으로 463 ha가 발생하여 큰 피해를 초래한 바 있다(Choi, 2001; 이 등, 1990). 오이에서는 1995년 충남 서산의 오이재배단지에 처음으로 발생이 확인되었으나(최, 1995), 1999년에는 전남 순천과 보성지역에서 5.3 ha가 발생하여 재배농가에 큰 손실을 주었다(Choi, 2001). CGMMV는 물리적 안정성이 높고, 종자, 즙액 및 토양전염을 하는데 종자가 1차 전염원으로서 가장 큰 비중을 차지한다(Hollings 등, 1975). 오이에서는 종자 수확 후 1개월까지는 8% 정도의 종자전반율을 보이고, 5개월 이후에는 1% 이하로 떨어진다고 보고되어 있으며(Hollings 등, 1975), 수박이나 박종자에서는 5% 이상이라고 보고되어 있다(Komuro 등, 1971). CGMMV는 발병주에 대한 접촉에 의해 제2차 감염이 광범위하고 강력하게 발생하므로 종자 또는 토양전염에 의한 제1차 감염 정도가 낮더라도 1차 전염원의 차단이 방제에 있어서 매우 중요하다. 종자전염은 2가지 경로가 있는데 그중 하나는 종자 표면 또는 배유에 남아 있다가 전염되는 경우이고, 또 하나는 종자의 배를 통하여 전염되는 경우인데 이 바이러스는 전자에 해당된다. 일본에서는 1968년 CGMMV가 수박에 대발생하여 문제가 되었는데 이는 인도로부터 수입한 대목용 박 종자가 그 원인일 것으로 추정하였으며(栃原 · 小室, 1974), 국내에서도 1998년 수박에 크게 발생한 주요 원인은 중국으로부터 수입한 오염 박 종자라고 추정하였다(Choi, 2001). 종자전염 억제방법으로는 70°C 3일간 건열소독에 의해 바이러스를 불활성화할 수 있으나, 75°C와 80°C에서는 종자발아가 지연되거나 발아 후 생육에 영향을 미친다고 하였다(Fletcher 등, 1969; 김 등, 2002). 국내에서 시판중인 토마토와 고추종자에서 *Tobacco mosaic*

*Corresponding author
Phone)+82-61-330-2686, Fax)+82-61-336-4076
E-mail)kosj@jares.go.kr

virus(TMV)와 *Tomato mosaic virus*(ToMV)의 오염실태도 보고되었으나(박과 차, 2002), 오이의 CGMMV에 대한 종자 오염 실태나 전염경로는 규명되어 있지 않다.

따라서 본 연구에서는 오이에 발생하는 CGMMV의 주요 품종의 시판 종자에 대한 품종별 오염율을 조사하고, 국내 주요 오이 품종에 대한 저항성 검정을 실시하였다.

재료 및 방법

포장에서 품종별 바이러스 발생. 1999년부터 2002년까지 4년 동안 전라남도 재배주산지인 보성, 순천, 구례, 광양, 강진, 고흥, 여수지역에서 오이의 생육기간 동안 비닐하우스 재배포장을 대상으로 품종과 바이러스 발생을 조사하였다. CGMMV 판정은 먼저 육안으로 퇴록윤문 또는 모자이크 병징을 보이는 식물체를 채집하여 leaf-dip 방법(Horne 등, 1963)으로 2% PTA에 염색하여 투과전자현미경(JEM-1010, JEOL Ltd., Tokyo, Japan)으로 바이러스입자를 검경하였으며, CGMMV항체를 이용하여 double antibody sandwich-enzyme linked immunosorbent assay (DAS-ELISA)로 바이러스를 검정하였다(Clack과 Adams, 1977).

시판 오이종자의 CGMMV 오염율 조사. 전남지역에서 현재 널리 재배되고 있는 국내생산 오이 종자로 농우종묘의 장형낙합과 장죽청장, 흥농종묘의 겨울살이와 겨울나기, 동부한농종묘의 일향청장, 중앙종묘의 인동청장, 신젠타종묘의 남부청장 등 7종과 대목용 호박은 신젠타종묘와 사카타종묘에서 각각 1종을 선정하여 실험에 사용하였다. 종자는 모두 재배 주산지역의 시중 종묘상에서 직접 구입하였으며 채종년도와 lot 번호별로 구별하여 총 25봉지를 확보하였다. 수집된 종자는 각 봉지별로 500개중 90립의 종자를 1립씩 시료마쇄기(Tissue striker, Kisanbiotech Co. Ltd, Korea)를 이용하여 마쇄용 완충액(0.02 M PBS-Tween buffer, pH 7.4) 500 μl를 첨가하여 마쇄하였다. 바이러스검정에 사용된 CGMMV 항체는 농업과학기술원 식물병리과 바이러스연구실에서 분양 받은 다클론항체를 사용하였고, DAS-ELISA법으로 CGMMV의 오염유무를 확인하였다.

DAS-ELISA에서 양성반응을 보인 시료는 동일한 양의 0.01 M sodium phosphate buffer, pH 7.0를 첨가하여 강하게 교반한 후, Silicon cabamide(600 mesh)를 이용하여 4엽기의 *Nicotiana benthamiana*에 접종하였다. 접종 후 30일 동안 병징 발현을 관찰하였고, 병징을 보인 시료는 leaf-dip 방법으로 2% PTA에 염색하여 투과전자현미경으로 바이러스입자를 검경하였다.

품종별 병징발현. 농우종묘 10종, 농협 4종, 신젠타종묘 4종, 중앙종묘 7종, 흥농종묘 8종 기타 2종 등 34품종을 공시하여 실내폿트와 포장시험에 의해 병징발현양상을 조사하였다. 실내폿트시험은 직경 10 cm 폿트에 파종하여 본엽 1-2엽기에 자엽에 바이러스를 접종하였다. 바이러스 조사는 접종 후 30일까지 병징을 관찰하였다. 포장시험은 60×15 cm 재식거리로 비닐하우스에 본엽 3-4엽기에 정식하여 7일 후에 본엽 4-5엽에 바이러스를 접종하였다. 바이러스병 조사는 접종 후 60일까지 병징을 관찰하였다. 각각의 시험은 처리당 3주씩 처리하여 완전임의배치 3반복으로 실시하였다.

결과 및 고찰

포장에서 오이 품종별 바이러스 발생. 1999년부터 2002년까지 전남지역에서 오이재배 하우스를 대상으로 품종과 CGMMV의 발생을 조사한 결과 지역에 따른 차이는 없었으나 연도와 품종에 따라 발병의 차이를 보였다. 1999년 품종별 CGMMV 발생포장율은 장형낙합 80%, 장죽청장 33.3%, 겨울나기 33.3%, 겨울살이 16.7% 이었고, 2000년의 경우 장죽청장 100%, 장형낙합 50%, 겨울나기 25%를 보였다. 2001년은 무등청장 50%, 인동청장 46.2%, 일향청장 33.3%, 겨울살이 33.3%, 장죽청장 30%, 장형낙합 18.2%이었으며, 2002년에는 남부청장 33.3%, 장형낙합 18.2%를 나타냈다(Table 1). 연도에 따라 발생율의 차이는 있으나 장형낙합은 지속적으로 발생하는 경향을 나타냈으며, 장죽청장은 3년에 걸쳐 발생되었고, 겨울나기와 겨울살이는 2년 동안 발생하였다. 바이러스에 감염된 재배하우스는 대부분 지속적으로 발생하기보다는 1회 발생하는 경우가 대부분이었고, 처녀재배지에서도 발생하는 경우도 있었다(자료미제시). CGMMV는 종자전염하는(Hollings 등, 1975) 바이러스이고, Choi (2001)는 1998년 수박에 CGMMV가 전국적으로 대발생한 원인은 중국에서 수입된 박종자라고 추정한 바 있어 이러한 결과는 오이에서도 종자전염성의 가능성을 제시하였다.

오이 종자의 CGMMV 오염율. 시판중인 오이 7품종 23봉지와 대목용 호박 2종에 대해 DAS-ELISA법으로 CGMMV를 검정한 결과 오염율은 장형낙합 3봉지와 장죽청장 1봉지에서 각각 1.1% 오염율를 보였으나 대목용으로 쓰이는 호박에서는 검출되지 않았다. 그러나 CGMMV가 검출된 시료를 담배(*Nicotiana benthamiana*)에서 생물활성을 조사한 결과, 장죽청장 시료에서만 양성반응을 보였다(Table 2). 이 결과는 오이 재배포장의 발생품종을 분

Table 1. Occurrence of CGMMV on commercial cucumber cultivars in vinyl houses

Cultivar	1999		2000		2001		2002	
	No. of surveyed house	Diseased house (%)[a]	No. of surveyed house	Diseased house (%)	No. of surveyed house	Diseased house (%)	No. of surveyed house	Diseased house (%)
Janghyeongnakhap	40	80.0	8	50.0	22	18.2	11	18.2
Jangjukcheongjang	9	33.3	5	100	10	30.0	1	0
Gyeoulsali	6	16.7	1	0	6	33.3	3	0
Gyeoulnagi	3	33.3	4	25.0	3	0	–	–
Ilhyangcheongjang	6	0	–	–	3	33.3	–	–
Nambucheongjang	–	–	2	0	–	–	3	33.3
Baekbongdadagi	–	–	2	0	–	–	–	–
Baekseong 3 ho	2	0	2	0	4	0	2	0
Indongcheongjang	2	0	1	0	13	46.2	6	0
Mudungcheongjang	–	–	–	–	2	50.0	1	0
Eunchimbaekdadagi	–	–	–	–	7	14.3	–	–

[a] Diseased house represent percentage of the mean number of diseased house per number of surveyed house.

Table 2. The contamination rates of CGMMV on the commercial cucumber seeds

Crop	Cultivar[a]	Production year	Detection rate (%)[b]	Bioassay[c]
Cucumber	Ilhyangcheongjang 1	1999	0	*
	Ilhyangcheongjang 2	1999	0	*
	Ilhyangcheongjang 3	2000	0	*
	Gyeoulsali 1	1998	0	*
	Gyeoulsali 2	1998	0	*
	Gyeoulsali 3	1998	0	*
	Gyeoulsali 4	1998	0	*
	Gyeoulsali 5	1999	0	*
	Gyeoulnagi 1	1999	0	*
	Indongcheongjang 1	1999	0	*
	Indongcheongjang 2	-	0	*
	Jangjukcheongjang 1	1997	0	*
	Jangjukcheongjang 2	1998	0	*
	Jangjukcheongjang 3	1998	0	*
	Jangjukcheongjang 4	1999	1.1	+
	Janghyeongnakhap 1	1998	0	*
	Janghyeongnakhap 2	1998	1.1	-
	Janghyeongnakhap 3	1999	0	*
	Janghyeongnakhap 4	1999	1.1	–
	Janghyeongnakhap 5	1999	0	*
	Janghyeongnakhap 6	2000	1.1	–
	Nambucheongjang 1	1998	0	*
	Nambucheongjang 2	1999	0	*
Cucurbita stock plant	HeugJong	2000	0	*
	Kurodane	2000	0	*

[a] It was tested with one package per lot No. of cultivar.
[b] Ninety seeds per package were used for detection of CGMMV by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA).
[c] Crude sap of seeds homogenized in a 4 vol. of 0.01M PBS, pH 7.0 was inoculated on the leaves of *Nicotiana benthamiana*. (+) positive, (–) negative reaction, (*) not tested

석한 결과와 완전히 일치하지는 않지만 CGMMV가 검출된 품종은 지속적으로 바이러스가 발생된 품종이었다(Table 1, 2). 생물검정에서 양성반응을 보인 것은 바이러스가 활성을 가지고 있어 종자전염의 가능성을 제시하는 것으로, 김 등(2002)도 오이 종자의 오염율이 0.9%라고 보고한 바 이 바이러스 발생원인은 종자가 1차 전염원인 것으로 추정되었다. 실제로 종자오염율이 낮을지라도 포장에서 1차 전염원으로 작용하여 바이러스 감염율이 급증할 수도 있으므로 종묘회사의 채종포에 대한 위생관리와 종자소독에 대한 노력이 요구된다.

품종별 병징발현. 저항성 품종을 선발하기 위한 폿트 시험에서는 모든 품종에서 모자이크 병징을 나타냈으며 품종간 병징의 차이는 없었다. 포장시험에서는 한복삼척이 마일드모자이크병징을 보였고, 은침백다다기, 백침다다기, 장형낙합, 백봉다다기, 남부청장, 일향청장 등에서는 심한 모자이크병징을 보였다. 그러나 이들 품종외 나머지 품종에서도 모자이크 병징을 나타내었다(Table 3).

하지만 한복삼척 품종이 약한 병징을 보인 것은 저항성 반응으로도 추정할 수 있으나 이에 대한 구체적인 입증자료는 없다. 따라서 이를 위해 더욱 세부적인 실험이 필요할 것으로 판단되었다. 지금까지 저항성으로 보고된 오이와 수박 품종은 없지만 멜론에서는 저항성 품종을 선발한 예가 있다(Rajamony 등, 1990). 바이러스는 일반적으로 약제 방제가 어렵기 때문에 저항성 품종의 이용은 최상의 방제방법이 될 수 있으나, 많은 시간과 노력이 필요하다. 따라서 CGMMV 방제를 위해 약독바이러스를 이용한 교차방어, 항바이러스제 선발, 저항성 유전자를 이용한 형질전환 식물 개발 등의 여러가지 방법으로 연구를 확대하여할 것이다.

Table 3. Symptoms produced on the cultivars by artificial CGMMV inoculation in the vinyl house

Cultivar	Symptoms[a] in		Cultivar	Symptoms in	
	Pots[b]	Field[c]		Pots	Field
Yeoreumsamcheok	M	M	Gangryeoksamcheok	M	M
Sangabaegdadagi	M	SM	Chunpungcheongjang	M	M
Indongcheongjang	M	M	Meosjinbanbaek	M	M
Namgeukseong	M	M	Baekbongdadagi	M	SM
Syupeomanchun	M	M	Ipchunakhap	M	M
Garakmanchun	M	M	Seolhwabanbaek	M	M
Cheongnakhap	M	M	Olbaekdadagi	M	M
Eungwangbaekdadagi	M	M	Hanboksamcheok	M	MM
Yeonbaekdadagi	M	M	Kkumgeurincheongjang	M	M
Chudongbanbaek	M	M	Cheonggang	M	M
Eunchimbaekdadagi	M	SM	Mudeungcheongjang	M	M
Baegchimbaekdadagi	M	SM	Nambucheongjang	M	SM
Jangbaekdadagi	M	M	Jungboksamcheok	M	M
Janghyeongnakhap	M	SM	Baekseong 3 ho	M	M
Jangjukcheongjang	M	M	Gyeoulsali	M	M
Jangrogheukjinju	M	M	Gyeoulnagi	M	M
Gangseobanbaek	M	M	Ilhyangcheongjang	M	SM

[a]M : mosaic, SM : severe mosaic, MM : mild mosaic.
[b]Plants were grown in 10 cm pots and inoculated at 1-2 leaf stages. It kept in an insect-proof isolation glasshouse at 25-30°C and investigated during 30 days after inoculation.
[c]Plants were grown in vinyl house and investigated during 60 days after inoculation.

요 약

오이에 발생하는 CGMMV 발병과 품종별 종자감염과의 관계를 분석하기 위하여 1999년부터 2002년까지 전남지역의 오이 주요 재배지에서 CGMMV가 발생한 포장의 품종과 발생정도를 조사하고 시판되는 종자를 수집하여 종자감염여부와 CGMMV에 대한 품종저항성 검정을 실시하였다. 조사 연도와 품종에 따라 발생정도의 차이는 있었으나 장형낙합은 4년 동안 발생하였고, 장죽청장은 3년, 겨울살이와 겨울나기는 2년 동안 발생되었다. 이들 품종에 대한 종자의 ELISA검정을 실시한 결과 장형낙합과 장죽청장에서 CGMMV가 검출되었으며, 장죽청장에서는 생물검정에서 양성을 나타냈다. 또한 국내에서 재배되고 있는 34품종에 대한 CGMMV의 저항성을 검정한 결과 폿트시험에서는 모두 모자이크 병징을 보여 차이가 없었으나 포장시험에서는 한복삼척에서만 마일드모자이크 병징을 보였다.

참고문헌

Ainsworth, G. C. 1935. Mosaic disease of cucumber. *Ann. Appl. Biol.* 22: 55-67.

Antignus, Y., Pearlsman, M., Ben Joseph, R. and Cohen, S. 1990. Occurrence of variant of *Cucumber green mottle mosaic virus* in Israel. *Phytoparasitica* 18: 50-56.

Avgelis, A. D., Manios, V. I., Balis, C., Bertoldi, M., Ferreo, G. L. and Kapetannios, E. 1992. Elimination of cucumber green mottle mosaic tobamovirus by composing infected cucumber residues. *Acta Horticult.* 302: 311-314.

최충원. 1995. 오이(*Cucumis sativus* L.)에서 분리한 Tobamo- 및 Potyvirus의 생물적 특성에 관한 연구. 강원대학교 석사학위논문. pp. 46.

Choi, G. S. 2001. Occurrence of two tobamovirus diseases in cucurbits and control measures in Korea. *Plant Pathol. J.* 17: 243-248.

Clack, M. F. and Adams, A. N. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virology.* 34: 475-483.

Fletcher. J. T., George. A. J. and Green. D. E. 1969. Cucumber green mottle mosaic virus, its effect on yield and its control in the Lea Valley, England. *Plant pathology.* 18: 16-22.

Hollings, M., Komuro, Y. and Tochihara, H. 1975. *Cucumber green mottle mosaic virus.* CMI/AAB Descriptions of plant viruses. No. 154.

Horne, R. W. and Wildy, P. 1963. Virus structure revealed by negative staining. *Advan. Virus Res.* 10: 101-170.

Ibrahim, M., Al-Shahwan and Abdalla, O. A. 1992. A strain of *Cucumber green mottle mosaic virus*(CGMMV) from bottlegourd in Saudi Arabia. *J. Phytopathol.* 134: 152-156.

김정수, 박진우, 최국선, 최정식. 2002. 오이녹반모자이크바이러스병 종합방제 기술확립. 농촌진흥청 대형공동연구사업보고서. pp. 43.

Komuro, Y. 1971. CGMMV on cucumber and watermelon and *Melon necrotic spot virus* on muskmelon. *J. Agr. Res. Quart.* 6: 41-45.

이기운, 이봉춘, 박호철, 이용수. 1990. 한국에서 수박에 발생한 오이녹반모자이크바이러스 병에 대하여. 한국식물병리학회지 6: 250-255.

박경훈, 차병진. 2002. 토마토 종자와 식물체로부터의 TMV, ToMV, CMV의 검출. 식물병연구 8: 101-106.

Rajamony, L., More, T. A., Seshadri, V. S. and Varma, A. 1990. Reaction of muskmelon collections to *Cucumber green mottle mosaic virus. J. Phytopathology* 129: 237-244.

Rao, A. L. N. and Varma, A. 1984. Transmission studies with *Cucumber green mottle mosaic virus. Phytopath. Z.* 109: 325-331.

栃原比呂志, 小室康雄. 1974. キュウリ緑斑モザイクウイルス系統間の寄生性と血清的係およびわがへ侵入した経路についての一考察. 日植病報. 40: 52-58.