

전남지역의 수박에 발생하는 바이러스 병 발생 실태

고속주* · 이용환 · 차광홍 · 박진우¹ · 이수현¹ · 양광열²전남농업기술원 식물환경연구과, ¹농업과학기술원 식물병리과, ²유타 주립대학 생물학과

Virus Diseases Occurred on Watermelon in Jeonnam Province

Sug-Ju Ko*, Yong-Hwan Lee, Kwang-Hong Cha, Jin-Woo Park¹,
Su-Heon Lee¹ and Kwang-Yeol Yang²

Jeonnam Agricultural Research and Extension Services, Naju 520-715, Korea

¹National Institute of Agricultural Science and Technology, Suwon 441-707, Korea²Department of Biology, Utah State University, 5305 Old Main Hill, Logan, UT 84322-5305, USA

(Received on January 30, 2004)

Recent occurrence of virus diseases on watermelon plants cultivated in Jeonnam province was investigated from 1998 to 2002. While virus diseases were severely occurred on watermelon cultivated in green house in 1998, those of open field were severer than in green house since 2000. When 128 samples collected from different fields were examined by electron microscopy, 87.8% of the samples contained rod-shaped or filamentous virus particles. RT-PCR analysis of the samples revealed that *Cucumber green mottle mosaic virus* (CGMMV) was only detected from collected samples at May. *Watermelon mosaic virus* (WMV) was most frequently found and CGMMV and *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) were slightly at June and July. However *Cucumber mosaic virus* (CMV) and *Papaya ringspot virus* (PRSV) have not been detected.

Keywords : CGMMV, RT-PCR, Watermelon, WMV, ZYMV

수박은 여름철의 가장 대표적인 과일로 재배면적은 1980년 이후 수요 증가와 함께 매년 큰 폭으로 증가하다가 1995년 45,207 ha를 정점으로 그 이후에는 점차 감소하는 경향을 보이고 있다. 이 기간동안 상대적으로 노지재배 면적에 비해 시설재배 면적의 증가가 두드러졌다. 시설재배는 경남 함안, 진주 등을 중심으로 1990년 이후 소비가 급격히 늘어남에 따라 증가하게 되었는데, 노지재배에 비해 기상여건 변화에 따른 작황의 영향을 적게 받는다는 장점이 있기 때문이다. 최근 전남지역의 재배면적도 1,721 ha로 전국의 8.3%를 차지하고 있다(최 등, 2001; 농림부, 2001).

수박에 병을 일으키는 바이러스는 *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Cucumber green mottle mosaic virus*(CGMMV), *Watermelon mosaic virus 2*(WMV2), *Zucchini yellow mosaic virus*(ZYMV), *Papaya ringspot virus*(PRSV) 등이

알려져 있다(Francki 등, 1979; Hollings 등, 1975; Lisa와 Lecoq, 1984; Purcifull 등, 1984a,b). 그러나 국내에서는 CGMMV와 WMV 2종에 대해서만 보고 되었으며, CGMMV는 1989년 경남에서 처음 발생하였는데 1998년에 전국적으로 463 ha가 발생되었고(Choi, 2001; 이 등, 1990; 이와 이, 1981; 이와 이, 1992; 한국식물병리학회, 1998), 전남은 곡성, 영광, 나주, 영암, 장성 등 5개 시군에서 57.5 ha가 발생되어 큰 피해를 초래하였다(농촌진흥청 보고자료, 1998). 하지만 우리나라에서 재배되고 있는 수박에 발생하는 바이러스의 종류와 분포에 대해서는 아직 연구가 미진한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 전남 지역의 수박에서 바이러스 병 발생상황을 조사하고, 병의 원인인 바이러스 종류를 구명코자 하였다.

재료 및 방법

바이러스 발생조사. 수박의 바이러스 병 발생상황은 1998년부터 2002년까지 5년 동안 전라남도 수박재배 주산지인 광주, 곡성, 장성, 나주, 영암, 담양지역의 비닐하우스

*Corresponding author

P(phone)+82-61-330-2686, Fax)+82-61-336-4076

E-mail)kosj@jares.go.kr

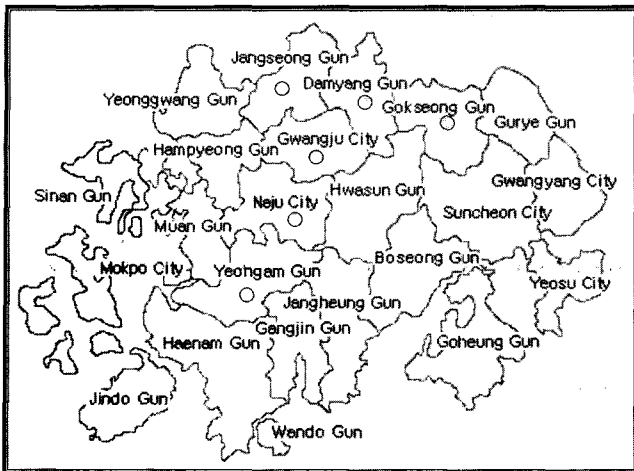


Fig. 1. Surveyed districts of virus disease on watermelon in Chonnam province.

스 및 노지재배 지역에서 생육초기부터 과실비대기까지 조사하였다(Fig. 1). 모자이크 증상을 보이는 수박 묘를 포장 당 300주 이상 조사하여 바이러스 감염율을 퍼센트(%)로 산출하였다.

전자현미경 검경. 각 포장에서 채집한 이병시료로부터 바이러스 입자를 확인하기 위하여 병에 걸린 잎과 과육을 leaf-dip 방법으로 검경하였다(Horne 등, 1963). Formvar film으로 막을 씌운 grid(200 mesh)에 2% phosphotungstic acid(PTA, pH 7.2)를 한 방울 떨어뜨리고 식물조직의 절단면을 침지해 1분간 놓아둔 후 여액을 여과지로 제거하여 투과전자현미경(JEM-1010, JEOL Ltd., Tokyo, Japan)으로 관찰하였다. 또한 시료는 동결건조하여 -20°C 냉동고에 보관하였다.

전체 RNA 분리. 바이러스에 감염된 식물체로부터 전체 RNA 분리는 RNAgents Total RNA Isolation System (Promega Co., Winsconsin, USA) kit를 이용하였다. 동결 건조된 시료 20 mg에 denaturing solution(26 mM sodium citrate pH 4.0, 0.5% N-lauryl sarcosine, 0.125 M β -mercaptoethanol, 4 M guanidine thiocyanate) 0.6 ml를 넣고 마쇄한 다음 추출액을 1.5 ml 원심튜브로 옮겼다. 여기에 2 M sodium acetate(pH 4.0) 60 μl 와 phenol:chloroform:isoamylalcohol(125:24:1) 0.6 ml를 첨가하여 10초 동안 vortexing 한 다음 얼음에 15분간 정치하였다. 이 혼합액을 DEPC 처리한 원심튜브로 옮겨 4°C 에서 $10,000\times g$, 20분간 원심분리하여 상층액을 분리하였다. 분리된 상등액과 같은 양의 isopropanol을 첨가하여 -20°C 에서 30분간 정치한 다음 원심분리하여 침전물을 denaturing solution 0.5 ml에 녹인 다음 같은 양의 isopropanol을 첨가하여 -20°C 에서 30분간 정치하였다. 이것을 $10,000\times g$ 에서 10

분간 원심분리하여 침전물을 75% 에탄올 1 ml로 세척한 다음 건조시켜 DEPC를 처리한 멸균수 50 μl 에 녹였다. 이렇게 분리한 전체 RNA는 UV/Vis spectrophotometer(V-550, JASCO Co, Japan)로 260 nm에서 흡광도를 측정하였다. 동일한 농도(2.5 ng/ μl)의 sample 1 μl 를 RT-PCR의 주형으로 사용하였다.

RT-PCR. 바이러스 검출을 위한 primer는 Lee 등(2003)이 보고한 박과작물 5종 바이러스 동시진단용 primer와 PRSV는 Jin 등(2003)이 보고한 primer를 참조하여 바이오니아(주) (Taejeon, Korea)에 의뢰하여 합성하였다. 역전사반응은 주형 RNA 1 μl (2.5 ng/ μl), 25 pmole downstream primer, $1\times$ RT buffer(50 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 10 mM MgCl_2 , 10 mM DTT, 0.5 mM spermidine), 2 mM dNTP, 20 U RNase inhibitor, 그리고 9 U AMV reverse transcriptase(Promega Co., Winsconsin, USA)을 첨가한 반응액 20 μl 를 42°C 에서 30분간 항온처리하여 실시한 다음 95°C 에서 5분간 변성시켰다. PCR은 역전사반응액 20 μl , 25 pmole upstream primer, 2.5 U Taq DNA polymerase (Promega Co., Winsconsin, USA), $1\times$ PCR buffer(10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl), 2 mM MgCl_2 , 0.4 mM dNTP를 첨가한 100 μl 반응액을 thermocycler(T-gradient, Biometra Co., Germany)에서 94°C 60초, 60°C 60초, 72°C 80초로 40회 증폭시켰으며 마지막에는 72°C 에서 7분간 처리하였다. RT-PCR 산물은 TBE(89 mM Tris-borate, 2 mM EDTA)를 이용하여 1% agarose 겔에서 전기영동하여 ethidium bromide(2 $\mu\text{g/ml}$)에 5분간 염색하고 탈색한 후 UV-transilluminator에서 밴드를 확인하였다.

결과 및 고찰

바이러스 병 발생실태. 전라남도 수박 주산단지의 연도별 바이러스병 발생포장율은 비닐하우스의 경우 1998년 88.6%, 1999년 7.0%, 2000년 15.4%, 2001년 0%, 2002년 5.6%를 나타냈고, 노지는 2000년 100%, 2001년 22.2%, 2002년 30.0% 발생되었다. 포장별 이병주율은 비닐하우스는 1998년에는 5.8%, 1999년 4.6%, 2000년 30%, 2002년 10.8%이었고, 노지재배의 경우 2000년에는 44.0%, 2001년 7.5%, 2002년에는 5.3%이었으며(Table 1), 조사지역에 따른 발병정도의 차이는 보이지 않았다(자료미제시). 1998년에 바이러스 발생포장율이 높았던 것은 CGMMV가 전국적으로 대발생하였기 때문이었으며, 2000년에 노지재배의 포장율과 이병주율이 높은 이유는 생육후기(수확기)에 조사하였기 때문으로 생각된다. 하지만 하우스재배의 경우 CGMMV 발생이 격감한 이후 수확기가 6월 이전인

Table 1. Occurrence of virus diseases on watermelons in Jeonnam province

Year	Cultivation type	No. of fields		Diseased fields (%)	Disease incidence (%) ^a (Range)
		investigated	diseased		
1998	Plastic house	35	31	88.6	5.8 (0.9~52.3)
1999	Plastic house	71	5	7.0	4.6 (2.3~9.1)
2000	Open field	12	12	100	44.0 (1.2~80.0)
	Plastic house	13	2	15.4	30.0 (20~40)
2001	Open field	9	2	22.2	7.5 (5.0~10.0)
	Plastic house	11	0	0	0
2002	Open field	10	3	30.0	5.3 (2.0~8.0)
	Plastic house	54	3	5.6	10.8 (1.0~30.5)

^aDisease incidence represent the percentage of mean number of infected plants per total plants in a field. More than 300 plants were investigated in a field.

하우스재배작형에서는 바이러스발생이 거의 없었으며, 수확기가 6월 이후인 하우스 작형과 노지재배에서는 지속적으로 바이러스가 발생되는 경향을 보여 총매전염성인 바이러스 피해가 많은 것으로 나타났다.

바이러스 검정. 포장에서 육안으로 조사하여 바이러스 증상을 보인 시료를 전자현미경으로 검정한 결과, 128개 시료 중 109개(87.8%) 시료에서 바이러스 입자가 관찰되었다. 그 중 CGMMV로 추정되는 300×18 nm의 막대형 입자가 75개 시료로 58.6%를 차지하였고, potyvirus로 추정되는 700~800×11 nm의 사상형 입자는 34개가 관찰되었다. 연도별로 보면 1998년과 1999년에는 모두 막대형 입자만 관찰되었고, 2000년부터 2002년에는 사상형 입자의 비율이 각각 71.4%, 100%, 44.4%를 차지하였다 (Table 2). 전자현미경 검정결과 막대형인 바이러스는 형태적인 특성이 CGMMV와 매우 유사하였고(Hollings 등, 1975), 사상형 바이러스는 potyvirus인 WMV, ZYMV, PRSV 일 가능성이 높았다(Lisa와 Lecoq, 1984; Purcifull 등, 1984a,b). 하지만 CMV는 전자현미경으로는 검출할 수가 없기 때문에 전자현미경상에서 바이러스입자가 검출되지 않았다고 해서 바이러스에 감염되지 않았다고 할

수 없으며(Francki 등, 1979), 또한 전자현미경으로는 potyvirus를 구별할 수 없어 정밀진단이 가능한 RT-PCR를 실시하였다.

2000년부터 2002년까지 육안조사로 채집된 바이러스 시료에 대한 RT-PCR 검정결과 5월에 채집된 시료는 모두 CGMMV만 검출되었으며, 6월에 채집된 시료는 노지재배의 경우 WMV가 100% 검출되었고, 비닐하우스는 CGMMV, WMV, ZYMV가 각각 25.0%씩 검출되었다. 7월에 채집된 시료의 경우 노지재배는 WMV만 100%, 비닐하우스는 CGMMV만 100% 검출되었고, 모든 시료에서 바이러스가 복합 감염된 시료는 없었다(Table 3). 따라서 1998년과 1999년의 시료(4월 채집)에서 관찰된 막대형 바이러스는 CGMMV로 판단되었고, 종자전염성이고 접촉전염을 하기 때문에(Hollings 등, 1975) 채집시기에 관계없이 발생하였던 것으로 생각되었다. CGMMV는 오이에서 처음 발생(Ainsworth, 1935)하여 수박(Komuro 등, 1971), 박(Ibrahim, 1992), 멜론(古吉과 小室, 1973) 등에서 피해가 보고되었다. 국내에서는 1989년 경북 달성과 경남 함안에서 최초로 발생한 이후 1998년에는 전국적으로 대발생하였고 그 원인이 종묘회사가 중국에서 수입한 대목용 박이 오염되었기 때문이었는데(Choi, 2001), 2001년 이후 발생이 격감한 것은 종묘회사가 무병종자의 생산에 관심을 기울이고 농민들도 바이러스 병에 대한 인식이 높아져 바이러스 감염주를 조기에 제거하는 등의 노력에 의한 것으로 추정되었다.

하와이에서는 PRSV와 ZYMV가 대부분이었으며 WMV와 ZYMV의 복합감염은 극소수만이 검출되었고(Ullman 등, 1991), 브라질에서는 PRSV가 69%, ZYMV가 19%로 대부분을 차지하고 WMV, ZLCV, CMV는 아주 극소수만이 검출되었다(Yuki 등, 2000). 하지만 본 조사에서는 CMV나 PRSV는 검출되지 않은 것으로 보아 아직까지 국내

Table 2. Detection of virus-like particles by electron microscopy in the watermelon samples collected from various fields in Jeonnam province

Year	No. of samples	Detection rate (%)	R ^a	R+F	F ^b
1998	65	84.6	55	0	0
1999	11	90.9	10	0	0
2000	28	85.7	4	0	20
2001	6	100	0	0	6
2002	18	77.8	6	0	8
Total	128	87.8	75	0	34

^aRod-shaped virus particle. ^bFilamentous virus particle.

Table 3. Detection of causal agents of virus diseases by RT-PCR occurred on watermelon in Jeonnam province from 2000 to 2002

Month of sampling	Cultivation type	No. of samples tested	No. of samples detected with ^a						
			CM	CG	KG	WM	ZY	PR	no
May	Open field	0	0	0	0	0	0	0	0
	Plastic house	6	0	6	0	0	0	0	0
June	Open field	6	0	0	0	6	0	0	0
	Plastic house	8	0	2	0	2	2	0	2
July	Open field	30	0	0	0	30	0	0	0
	Plastic house	2	0	2	0	0	0	0	0

^aCM, *Cucumber mosaic virus*; CG, *Cucumber green mottle mosaic virus*; KG, *Kyuri green mottle mosaic virus*; WM, *Watermelon mosaic virus*; ZY, *Zucchini yellow mosaic virus*; PR, *Papaya ringspot virus*; no: not detected.

에서 이 두 가지 바이러스가 수박에 발생하지 않은 것으로 추정되었다. 총매 전염성인 WMV(Skotrand 등, 1963)와 ZYMV(Yudin 등, 1990; Vega 등, 1992) 같은 potyvirus 들은 하우스와 노지에 관계없이 6월부터 채집된 시료에서만 검출된 것으로 보아 이들 바이러스의 발생시기와 전염원인 진딧물의 발생이 6월에 급격히 증가한다는 보고 (Young 등, 2001)와 연관이 있는 것으로 생각되었다. Grogan 등(1959)에 의하면 대부분의 수박에서 WMV가 검출되었는데 이는 본 실험의 6~7월 발생 결과와 일치하는 경향을 보였기 때문에 이 시기의 수박재배의 경우에는 매개충인 진딧물의 방제를 더욱 철저히 하여 전염원을 차단함으로써 바이러스 발생을 줄여야 할 것으로 생각되었다.

요 약

전남지역 수박에 발생하는 바이러스 병의 발생상황을 조사한 결과, 하우스재배의 경우 1998년에 발생이 심하였으나, 2000년 이후에는 노지재배가 하우스 재배보다 발생이 높은 경향이였다. 포장에서 채집한 시료에 대하여 전자현미경으로 128개 시료를 검정한 결과 87.8%에서 막대형 입자 또는 사상형 입자가 관찰되었다. 이들 시료에 대한 RT-PCR 검정결과 5월에는 CGMMV만 발생하였고, 6월 이후에는 CGMMV, WMV 및 ZYMV가 발생하였는데 WMV가 우점하였으며, 어떤 시료에서도 CMV와 PRSV는 검출되지 않았다.

참고문헌

Ainsworth, G. C. 1935. Mosaic disease of cucumber. *Ann. Appl. Biol.* 22: 55-67.
 최동철, 권성환, 허윤찬, 이지원, 전형권, 최규동, 이상규, 노재종. 2001. 고품질 수박재배. 농촌진흥청 표준영농교본. 238pp.
 Choi, G. S. 2001. Occurrence of two tobamovirus diseases in cucurbits and control measures in Korea. *Plant Pathol. J.* 17:

243-248.
 Francki, R. I. B., Mossop, D. W. and Hatta, T. 1979. Cucumber mosaic virus. CMI/AAB Descriptions of plant viruses. No. 213.
 Grogan, R. G., Hall, D. H. and Kimble, K. A. 1959. Cucurbit mosaic viruses in California. *Phytopathology* 49: 366-376.
 Hollings, M., Komuro, Y. and Tochiara, 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.
 古吉市重郎 · 小室康雄 1973. 温室メロンにけるCGMMV-W系の發生について. *日植病報* 39: 218-219.
 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.
 Jin, T. S., Lee, S. H., Park, J. W., Choi, H. S., Kim, S. M., Shin, D. B., Cheon, J. U. and Cha, B. J. 2003. Identification of Papaya Ringspot Potyvirus type W infecting squash in Korea. *Plant Pathol. J.* 19: 339.
 한국식물병리학회. 1998. 한국식물병목록. 436pp.
 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 오이녹반모자이크바이러스병에 대하여. *한국식물병리학회지* 6: 250-255.
 이기운, 이봉춘. 1992. 수박 모자이크바이러스 바이러스의 계통 조사 및 회분전염에 대하여. *한국식물병리학회지* 8(2): 131-137.
 이수현, 이기운. 1981. 박과작물에 발생하는 Watermelon mosaic virus에 관한 연구. *한국식물보호학회지* 20(4): 191-195.
 Lee, S. H., Kim, S. M., Kim, W. C. and Lee, K. W. 2003. Multiplex reverse transcription polymerase chain reaction assay for simultaneous detection of five cucurbit-infecting viruses. *Plant Pathol. J.* 19: 342.
 Lisa, V. and Lecoq, H. 1984. Zucchini yellow mosaic virus. CMI/AAB Descriptions of plant viruses. No. 282.
 농림부. 2001. 2001 작물통계. 227pp.

- Purcifull, D. E., Hiebert, E. and Edwardson, J. R. 1984a. Watermelon mosaic virus 2. CMI/AAB Descriptions of plant viruses. No. 293.
- Purcifull, D. E., Edwardson, J. R., Hiebert, E. and Gonsalves, D. 1984b. Papaya ringspot virus. CMI/AAB Descriptions of plant viruses. No. 292.
- Skotrand, C. B., Clark, R. L. and Webb, R. E. 1963. Watermelon mosaic virus in Washington. *Plant Disease Reporter* 47: 774-775.
- Ullman, D. E., Cho, J. J. and German, T. L. 1991. Occurrence and distribution of cucurbit viruses in the Hawaiian Islands. *Plant Dis.* 75: 367-370.
- Vega, J., Rezende J. A. M., Yuki, V. A. and Nagai, H. 1992. Conctatação do virus do mosaico amarelo da abobrinha-de-moita('zucchini yellow mosaic virus') no Brasil, atravésde MEIAD e ELISA. *Fitopatologia Brasileira* 17, 118.
- Voung, P. T., Kim, J. H. and Song, Y. H. 2001. The seasonal occurrence of the to Aphid species, *Myzus persicae* and *Aphis gossypii*, and their natural enemies on vegetable crops in Chinju, Korea. *J. Asia-Pacific Entomol.* 4: 41-44.
- Yudin, L. S., Wall, G. C., Quitugua, R. J., Johnson, M. W. and Cho, J. 1990. Identification of virus diseases of cucurbits on Guam. *Phytopathology* 80: 1063.
- Yuki, V. A., Rezende, J. A. M., Kitajima, E. W., Barroso, P. A. V., Kuniyuki, H., Groppo, G. A. and Pavan, M. A. 2000. Occurrence, distribution, and relative incidence of five viruses infecting cucurbits in the state of São Paulo, Brazil. *Plant Dis.* 84: 516-520.