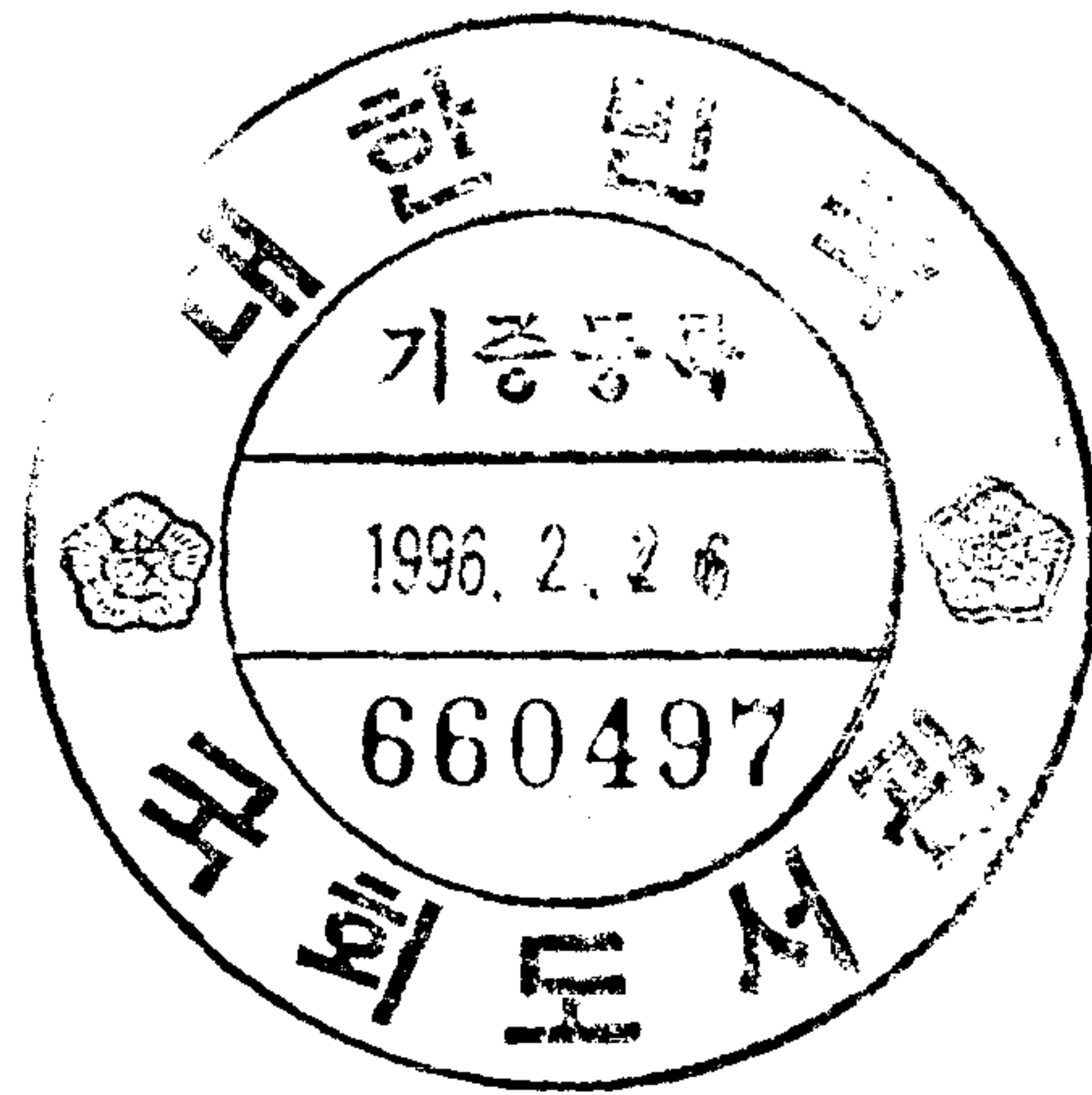


# 고냉지 배추바이러스병의 발생생태, 피해분석 및 방제기술 개발

Studies on Epidemiology, Loss Analysis and Control  
Measures of Viral Diseases of Chinese Cabbage in  
Alpine Area

연구기관  
강원대학교 농과대학

농림수산부



# 제 출 문

농림수산부 장관 귀하

본 보고서를 “고냉지 배추바이러스병의 발생생태, 피해분석 및 방제기술 개발에 관한 연구”의 1차년도 연차보고서로 제출합니다.

1995. 12. .

주관연구기관명 : 강원대학교  
총괄연구책임자 : 최 장 경  
연 구 원 : 박 용 철  
협동연구기관명 : 고령지농업시험장  
협동연구책임자 : 함 영 일  
협동연구기관명 : 강원도 농촌진흥원  
협동연구책임자 : 최 준 근  
협 동 연 구 원 : 임 근 성

여 백

# 요 약 문

## I. 제목

고냉지 배추바이러스병의 발생생태, 피해분석 및 방제기술 개발

## II. 연구개발의 목적 및 중요성

### 가. 연구개발의 목적

- 고냉지 배추에 발병되는 바이러스병의 종류를 동정하고
- 이들의 분포, 전염경로 및 전염양식을 파악하며
- 바이러스병에 의한 배추의 피해를 정밀분석하고
- 바이러스병의 예찰을 위한 모델을 개발하며
- 배추바이러스병을 경종적 및 생물적으로 방제할 수 있는 방제기술을 개발한다.

### 나. 연구개발의 중요성

- 배추는 우리나라의 채소중 가장 중요한 작목의 하나로 특히 강원도는 산간 고냉지를 이용하여 단경기인 여름철에 고냉지 배추를 생산하여 많은 소득을 올리고 있다.

- 배추 재배에 있어서 가장 문제가 되고 있는 점은 병해충의 발생에 따른 피해이다. 특히 병해충의 발생이 심한 여름철의 배추 재배에 있어서는 기상환경의 변화와 함께 매년 막대한 손실을 가져 오고 있으며, 배추의 병해충 중에서도 농약의 방제가 불가능한 바이러스병의 발생이 배추의 풍흉작과 직결되고 있다.

- 고냉지 배추의 안정된 생산체계를 확립하고 강원도의 특성을 살린 농가소득의 증대를 위해서는 배추의 바이러스병에 관한 체계적인 기초연구와 방제대책의 수립이 매우 중요한 의미를 갖는다.

- 이 연구는 고냉지 배추 재배농가의 애로를 해결하기 위하여 고냉지 배추바이러스병의 발생생태 및 피해를 정밀 분석하고 이에 따른 구체적이고 현장에서 실용화할 수 있는 방제대책을 개발하기 위하여 실시하였다.

## III. 연구개발 내용 및 범위

### 가. 고냉지 배추바이러스병의 발생생태 연구

- 고냉지 배추에 발생하는 바이러스의 종류를 동정하고 이들 바이러스를 정밀 진단할 수 있는 유전자진단법을 개발한다.
- 배추바이러스병의 전염원을 탐색하고 매개충의 생태와 전염양식을 구명한다.
- 배추바이러스병의 발생예찰을 위한 모델을 개발한다.

#### 나. 고냉지 배추바이러스병의 피해분석

- 고냉지 배추포장에 자연 발생된 바이러스병의 분포와 피해정도를 감염시기별, 지역별로 검정하여 이병율, 감수율 등을 분석한다.

#### 다. 고냉지 배추바이러스병의 방제기술 개발

- 고냉지에 적용할 수 있는 바이러스 저항성 배추품종을 선발한다.
- 매개충의 효과적인 방제 및 차단방법으로 여러가지 경종적 재배법을 도입하여 바이러스병의 경감효과를 검정한다.
- 바이러스병의 감염억제제의 개발과 매개생물의 기피제 처리 등을 통하여 배추바이러스병의 생물적 방제법을 개발한다.

### IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

#### 가. 연구개발 결과

##### 1). 고냉지 배추바이러스의 분리 동정 및 분포

- 바이러스병의 병징별 유형 : 고냉지 배추에 자연 발생된 바이러스병의 병징별 유형은 배추의 생육시기에 따라 큰 차이를 보였다. 생육초기의 배추에서는 vein-clearing과 mosaic증상이 주로 나타났으나, 생육중기에는 malformation, mosaic 및 yellowing증상이 그리고 후기에는 necrotic spot의 병징이 많이 나타나는 경향을 보였다.

- 바이러스의 분리 동정 : 기주반응, 혈청학적 성질 및 전자현미경 관찰을 통하여 배추에서 분리한 바이러스는 turnip mosaic virus(TuMV)와 cucumber mosaic virus(CMV)가 분리 동정되었으며, 이들을 배추에 나타난 병징별 유형과 관련해서 분석한 결과 모자이크, 기형 및 괴사반점의 병징으로부터는 TuMV가, 황화 및 모자이크로부터는 CMV가 주로 분리되었다. 그러나 이들 2종의 바이러스가 복합감염된 경우도 발견되었다.

- 배추바이러스병의 분포 : 고냉지 배추바이러스병의 발병 최성기는 7월말과 9월초로 나타났으며, 지리적으로 준고냉지에서는 모자이크 증상이 많았고 고냉지에서는 위축과 기형이 많이 나타나는 경향을 보였으며, 괴사반점은 어느 곳에서나 쉽게 관찰되는 분포를 보였다.

##### 2). 배추바이러스병의 유전자진단법 개발

- 고냉지 배추에서 가장 많이 분포하는 바이러스로 판명된 TuMV를 대상



으로 이 바이러스의 조기 정밀진단을 위하여 유전자진단을 시도하였다. 즉 TuMV의 게놈RNA에서 외피단백질 유전자(coat protein gene, CP)에 대응하는 cDNA를 합성하고, 이를 *in vitro* 전사벡터에 삽입하여 DIG표지 RNA probe를 만들어 TuMV의 진단에 활용하였다. 그 결과 TuMV-RNA를 5pg까지 검출할 수 있었으며, 자연 감염된 배추로부터는 14mg의 시료에서 바이러스의 검출이 가능하였다.

### 3). 배추바이러스병의 전염원 탐색

- 고냉지 배추 포장의 주변에서 바이러스병징을 나타낸 잡초들로부터 바이러스를 분리하고 이들을 동정한 결과 속속이풀(*Rorippa islandica*)과 개갓냉이(*R. atrovirens*)로부터 TuMV가 분리되었고, 장구채(*Meilandyrum firmum*)으로부터 CMV가 분리되어 이들 잡초가 배추바이러스병의 주요 전염원이 될 가능성을 보였다.

### 4). 배추바이러스 매개충의 생태

- 고냉지 배추 포장에서 바이러스 매개충인 진딧물의 종류, 비래시기 및 비래량을 조사하였다. 그 결과 진딧물의 종류는 목화진딧물(*Aphis gossypii*)과 복숭아혹진딧물(*Myzus persicae*)의 비래가 많았고, 비래시기는 6월말에서 7월초 및 8월중순에서 8월말사이에 집중되는 현상을 나타냈다.

### 5). 배추바이러스병 발생예찰을 위한 기초자료

- 1992-1995년의 기상자료와 TuMV의 발생량 및 진딧물의 비래량을 기초로 배추바이러스병의 발생예찰 모델의 개발을 위한 상관관계를 조사한 결과, TuMV의 발생은 진딧물의 발생 최성기와 일치하였고 온도는 15 C 이상, 그리고 강수량은 적을 수록 바이러스의 발생이 많은 것으로 분석되었다.

### 6). 배추바이러스병의 감염에 따른 피해분석

- 1995년도 고냉지 배추의 바이러스 발생율은 평균 7.3%였으나, 지역과 시기에 따라서는 최고 70%의 발병율을 나타내기도 하였다. 발병지수로 계산한 바이러스 병에 의한 배추의 감수율은 평균 7%, 최고 21.4%로 나타났다.

### 7). 배추바이러스병의 방제

- 저항성품종의 선발 : TuMV를 이용하여 조사한 저항성 검정의 결과 공시한 12품종의 배추중에서 중정도 이상의 저항성을 나타낸 품종은 6품종이었다.

- 경종적 방제시험 : 망사시설 재배에 따른 배추바이러스병의 경감 효과는 70일 처리구에서 81%의 방제효과를 보였다.

- 생물적 방제시험 : 진딧물 기피제를 처리하여 바이러스병의 경감효과를 조사한 실험에서는 방제효과가 나타나지 않았다.

## 나. 활용에 대한 건의

### 1). 고냉지 배추 바이러스병의 생태연구 결과의 활용방안

- 고냉지 배추에 발생하는 바이러스병의 종류를 분리 동정한 결과 TuMV가 가장 많이 분포하고 있으며 이어서 CMV의 발병을 볼수 있었다. 이러한

결과로 부터 고냉지 배추 바이러스병의 방제 대상을 정할 수 있고, 이 두 종의 바이러스에 대한 역학적, 생태적 연구의 결과는 우리나라에서 재배되고 있는 다른 작물에서의 식물바이러스 연구에 활용될 것으로 기대된다.

- 배추 포장 주변의 잡초(속속이풀, 개갓냉이, 장구채)로부터 TuMV와 CMV가 분리되었다는 사실은 바이러스병의 전염원을 탐색하였다는 의미와 함께 바이러스병의 방제를 위해서 매우 중요한 자료를 얻었고, 이 실험의 자료에 대한 활용성이 크다고 생각된다.

- 배추로부터 TuMV의 진단을 위하여 개발한 유전자진단법은 특이성과 민감성이 매우 높았고, 이 유전자진단법의 kit화가 이루어질 경우, 배추의 바이러스병 뿐만 아니라 다른 식물바이러스병에도 실용화 될 수 있다고 생각된다.

### 2). 고냉지 배추 바이러스병의 피해분석 연구결과의 활용방안

- 지금까지 배추 바이러스병의 발생에 따른 배추의 피해는 집중적인 발생이 있을 경우에만 경험적으로 인식해온 경향이 크다. 이러한 현실을 감안해볼 때 정확한 바이러스병의 피해를 산출하고 분석한 결과는 재배자들의 경제적 손실을 계산할 수 있는 자료로 활용성이 있다고 판단된다.

### 3). 방제기술 개발연구 결과의 활용방안

- 배추 바이러스병에 대한 저항성품종의 검정과 선발은 고냉지지역에 알맞는 바이러스병 저항성품종의 개발을 위한 유전자원의 제공이라는 측면에서 활용될 수 있다고 생각된다.

- 망사재배를 통한 바이러스병 발생의 경감효과가 인정되었다. 따라서 이러한 재배방법의 개선은 바이러스병 방제를 위해서 실용성이 있다고 판단된다.

- 바이러스병의 생물적방제는 가장 이상적인 방제법으로 인식되고 있다. 그러나 금년도에 실시한 실험의 결과는 효과를 나타내지 않았기 때문에, 금후 새로운 진딧물의 기피제나 바이러스의 억제제 등에 관한 연구를 계속할 예정이다.



# S U M M A R Y

## I. Title

Studies on Epidemiology, Loss Analysis and Control Measures of Viral Diseases of Chinese Cabbage in Alpine Area

## II. Objectives and Signification of the Research

### A. Objectives

- Identification of viruses from Chinese cabbage in alpine area
- Analysis of incidence, spread and factors of transmission
- Loss analysis of Chinese cabbage by viral diseases
- Development of model for viral disease forecasting
- Development of control methods against viral diseases in Chinese cabbage

### B. Significance of the Research

- Alpine area in Kangweondo has good climate conditions for the cultivation of Chinese cabbage, one of the most popular vegetables in Korea, during summer and the farmers in the area has high profits by cultivating the vegetable.

- Plant diseases and pest insects cause serious problems in the cultivation. Particularly, plant viruses, which can not be controlled by chemicals, become one of the most troublesome diseases.

- Systematic research and control plans against the Chinese cabbage viruses are urgently needed for good harvest and better profits.

- The purpose of the research is for the development of the control methods on the cabbage viral diseases. Thus, this research is pointed on the survey and analysis of the occurrence of the viruses and Chinese cabbage loss in relation to the biotic and abiotic factors.

## III. Content and Scope of the Research

A. Study on the occurrence of the Chinese cabbage viruses in alpine area

- Development of molecular biological techniques to identify Chinese cabbage viruses.

- Search on the viral transmission sources

- Study on the ecology of the viral vectors and on the viral transmission

- Development of a simulation model predicting the occurrence of the cabbage viral diseases.

#### B. Loss analysis of Chinese cabbage by viral diseases

- Survey on the seasonal and regional occurrence of the viral diseases and the cabbage loss.

#### C. Development of control methods against the Chinese cabbage viral disease

- Selection of viral resistant cultivars of Chinese cabbage

- Adaption of various cultural methods preventing viral infection through vectors.

- Application of biological control methods

### IV. Results, Applications and Suggestions

#### A. Results

(1). Extraction, identification and occurrence of Chinese cabbage viruses

- Symptoms of the virus infected Chinese cabbage; Symptoms by viral infection are various depending on the growth stage of Chinese cabbage. Vein-clearing and mosaic are the characteristics in the early stage of growth of Chinese cabbage infected with the virus. Malformation, mosaic and yellowing are frequently showed in the middle stage of the growth. Necrotic spots on the leaves are the main symptom in the late growth stage of the plant.

- Extraction and identification of the viruses; Turnip mosaic virus(TuMV) and cucumber mosaic virus(CMV) was identified from Chinese cabbage by the analysis of results of host plant responses, and serology and electron microscopy. Judging from the symptoms on the virus infected Chinese cabbage, TuMV causes mosaic, malformation and necrotic spots and CMV induces yellowing and mosaic. Sometimes, both of TuMV and CMV are extracted from the same plant.

- Seasonal and regional occurrence of the viral symptoms; The

occurrence of the virus infection shows two peaks during late July and early September. Mosaic symptom is prevalent in the semi-alpine area, and malformation and dwarfing, in the alpine area. Necrotic spots are frequently observed in both areas.

(2). Detection of TuMV by hybridization using in vitro transcribed RNA probe

- cDNA is synthesized for the coat protein (CP) of TuMV genome RNA. RNA probe conjugated with DIG is used for the detection of the virus. The detection limit of the method is 5pg of TuMV and 14mg of Chinese cabbage infected with the virus.

(3). Survey on the virus infected weeds around Chinese cabbage plots

- TuMV is extracted and identified from *Rorippa islandica* and *R. atrovirens*. CMV is detected from *Meilandyum firmum*. Thus, the above mentioned weeds have a great potential to transmit the viruses to Chinese cabbage through vectors, such as aphids.

(4). Seasonal occurrence of the virus vectors

- The winged aphids are collected by two yellow traps(50x30x9 cm) put in the Chinese cabbage plots. The most prevalent aphids are *Aphis gossipii* and *Myzus persicae*. The immigration rate of the aphids show peaks in late June to early July and mid to late August.

(5). Preliminary data for predicting the virus occurrence

- A simulation model is developed by analysing the accumulated data of 1992-1995 on the weather and climatic conditions and the occurrence of the viral diseases. Maximum infection of TuMV is matched with the peak time of the immigration rate of aphids. Viral diseases favor temperatures of higher than 15C and lower precipitation conditions.

(6). Loss analysis of Chinese cabbage

- An average loss of the plant caused by the viral infection is 7.3% in 1995. About 70% loss is occurred in a few plots. Calculations by disease indices, the loss rate is 7% in average and maximum of 21.4%.

(7). Control of the viral infection

- Selection of viral resistant cultivars; Six from 12 cultivars of Chinese cabbage show relatively high resistance to TuMV.

- Cultural control; Viral infection is prevented about 81% by cultivating Chinese cabbage in a net which is prohibited the access of aphids to the plant.

- Biological control: The application of an aphid detergent on Chinese cabbage shows no effect preventing viral infection.

#### B. Applications and Suggestions

(1). On results of the ecology of the Chinese cabbage viral disease

- TuMV following CMV is the most prevalent virus in Chinese cabbage. This result provides precious information for the development of the virus control methods.

- Weeds growing around and in Chinese cabbage plots, such as *Rorippa islandica*, *R. atrovirens* and *Meibomia firmum*, are mostly infected with TuMV or CMV. For the purpose of viral disease control, the weeds should be removed.

- DIG hybridization method is proved to be very sensitive for the detection of TuMV. For convenient and practical application of the developed method, a commercial kit system is need to be developed.

(2). On data of loss analysis of Chinese cabbage

- Loss analysis of Chinese cabbage is based on the biotic and abiotic factors regulating the viral disease infection and sprading.

By monitoring the factors, the loss by the viral disease can be minimized.

(3). On the developed virus control methods

- Selection of the virus resistant cultivars can provide guide lines for the selection of the genes resistant to the virus.

- Preventing the access of virus vectors by applying a net, the infection rate of Chinese cabbage can be minimized.

- For better control of the viral diseases, development and application of effective detergents against vectors is necessary.

# C O N T E N T S

Chapter 1. Introduction - - - - -	12
Chapter 2. Identification and distribution of viruses from Chinese cabbage in alpine area - - - - -	15
1. Introduction - - - - -	15
2. Materials and Methods - - - - -	16
3. Results and Discussion - - - - -	17
4. References - - - - -	25
Chapter 3. Detection of turnip mosaic virus by hybridization using <i>in vitro</i> transcribed RNA probe - - - - -	27
1. Introduction - - - - -	27
2. Materials and Methods - - - - -	28
3. Results and Discussion - - - - -	30
4. References - - - - -	34
Chapter 4. Transmissible sources and vectors of viral diseases of Chinese cabbage - - - - -	36
1. Introduction - - - - -	36
2. Materials and Methods - - - - -	37
3. Results and Discussion - - - - -	37
4. References - - - - -	41
Chapter 5. Forecasting model for viral diseases and loss analysis of Chinese cabbage by viral diseases - - - - -	42
1. Introduction - - - - -	42
2. Materials and Methods - - - - -	43
3. Results and Discussion - - - - -	44
4. References - - - - -	47
Chapter 6. Control measures for viral diseases of Chinese cabbage -	48
1. Introduction - - - - -	48
2. Materials and Methods - - - - -	48
3. Results and Discussion - - - - -	50
4. References - - - - -	57



# 목 차

제 1 장	서 론	12
제1절	연구의 목적과 범위	12
제2절	연구개발 사업의 목표	12
제 2 장	고냉지 배추바이러스의 분리 동정 및 분포	15
제1절	서론	15
제2절	재료 및 방법	16
제3절	결과 및 고찰	17
제4절	참고문헌	25
제 3 장	배추바이러스병의 유전자진단법 개발	27
제1절	서론	27
제2절	재료 및 방법	28
제3절	결과 및 고찰	30
제4절	참고문헌	34
제 4 장	배추바이러스병의 전염원 및 매개충의 전염양식	36
제1절	서론	36
제2절	재료 및 방법	37
제3절	결과 및 고찰	37
제4절	참고문헌	41
제 5 장	배추바이러스병의 발생예찰 모델 및 피해분석	42
제1절	서론	42
제2절	재료 및 방법	43
제3절	결과 및 고찰	44
제4절	참고문헌	47
제 6 장	배추바이러스병의 방제기술 개발	48
제1절	서론	48
제2절	재료 및 방법	48
제3절	결과 및 고찰	50
제4절	참고문헌	57



# 제 1 장 서 론

## 제 1 절 연구의 목적과 범위

배추는 고추와 함께 우리나라에서 재배되고 있는 채소중에서 가장 많이 재배되는 작물이다. 특히 강원도는 산간 고랭지를 이용하여 배추의 단경기인 여름철에 고랭지 배추를 생산하여 많은 소득을 올리고 있고, 이러한 지리적 이점을 활용하여 고랭지 배추재배를 육성 발전시키면 농가소득 증대에 중요한 역할을 담당할 수 있을 것으로 기대된다. 실제로 1993년도 전국의 고랭지 배추는 9,841 ha에 재배되어 363,707 M/T이 생산되었는데, 이 중 강원도의 고랭지에서 7,321 ha재배에 277,173 M/T을 생산하여 전국의 74.4%를 차지하고 있다.

그러나 배추 재배에 있어서 가장 문제가 되고 있는 점은 병해충의 발생에 따른 피해이다. 특히 병해충이 발생하기 쉬운 여름철에 재배되는 고랭지 배추는 기상환경의 변화와 함께 해에 따라서는 막대한 손실을 입고 있다. 배추에 발생되고 있는 병해충 중에서도 농약의 방제가 불가능한 바이러스병의 발생이 가장 큰 문제가 되고 있는데, 바이러스병의 발병 정도는 곧 고랭지 배추의 풍흉작과 직결될 정도이기 때문에, 매년 재배 농가들은 바이러스병의 발생에 따른 종묘회사와의 분쟁까지 일으킬 정도로 심각한 실정에 있다.

따라서 고랭지 배추의 안정된 생산체계를 확립하고, 강원도의 특성을 살린 농가소득 증대를 위해서는 고랭지 배추의 바이러스병에 관한 체계적인 기초연구와 방제대책의 수립이 매우 중요한 의미를 갖고 있는 것이다. 이 연구는 이와같은 고랭지재배 배추의 현실과 재배농가의 애로를 해결하기 위

하여, 고냉지 배추바이러스병의 발생생태 및 피해정도를 정밀 분석하고, 이에 따른 구체적이고 현장에서 실용화할 수 있는 방제대책을 강구하기 위하여 실시하였다.

## 제 2 절 연구개발 사업의 목표

1993년도 우리나라 배추의 평균 생산단수는 3,696 kg/10a이고, 강원도 고냉지 배추의 경우 3,785 kg/10a였는데, 이 해에는 배추바이러스병의 발생이 매우 적었고, 따라서 배추의 작황이 좋았던 해의 통계이다. 그러나 '94년도에는, 특히 여름철 고냉지 배추를 중심으로 바이러스병의 만연으로 극단적인 흉작을 가져왔고, 수확량은 전년도의 2/3, 심한곳에서는 1/2의 수준에 머물렀다. 이는 결정적으로 바이러스병의 발생에 따른 감수 피해이다. 고냉지 배추의 가격 형성은 해에 따라 또는 출하시기에 따라 변동의 폭이 매우 크기 때문에 이 연구의 개발에 따른 효과를 수치화하기는 어렵다. 그러나 최근 몇 년간의 조사(이 연구의 총괄책임자의 통계)에 근거를 두고, 순수하게 바이러스병에 의한 감수를 년 평균 20-25%로 계산하였을 때, 본 과제의 개발효과는 매우 클 것으로 기대된다.

이 연구가 완성되었을 때, 애로 해결에 도움을 줄수 있는 내용을 실용적 측면과 학문적 측면에서의 최종 목표는 ① 우리나라의 고유작물로 취급해서 연구하지 않으면 안되는 배추를 대상으로 바이러스의 정확한 분리 동정과 분포를 파악하여, 우리나라 식물바이러스학에서 해결해야할 중요과제를 제공하고, ② 유전자 조작 기술을 이용한 유전자 진단법의 개발은 첨단 기술의 현장에의 실용화를 꾀하며, ③ 바이러스의 전염원 탐색과 매개충의 생태적 연구 결과는 배추바이러스병의 방제를 위한 귀중한 기초자료를 제공하며, ④ 또한 예찰모델의 개발은 배추의 재배농가에서 직접 활용하여 매년

바이러스병의 방제에 직접 도움을 주고, ⑤ 방제에 관한 연구 결과는 지금까지 약제 방제가 불가능한 바이러스병의 효과적인 방제법으로 활용될수 있도록 하는 것을 목표로한다.

여 백

## 제 2 장 고냉지 배추바이러스의 분리 동정 및 분포

### 제 1 절 서 론

배추(*Brassica chinensis*)에 발생하는 바이러스는 순무 모자이크 바이러스(turnip mosaic virus, TuMV)를 비롯하여 4종이 알려져 있으나(Komuro, 1973), 국내에서는 TuMV와 오이 모자이크 바이러스(cucumber mosaic virus, CMV)가 보고되어 있을 뿐이다(한식보호, 1986). TuMV는 1921년 Shultz에 의해서 처음으로 보고된 이래 십자화과 식물을 비롯한 20과의 식물에 감염되며 전세계에 분포하는 중요한 식물바이러스중의 하나이다(Tomlinson, 1970). 한편 CMV는 식물바이러스중 가장 넓은 기주범위를 가지고 있으며, 39과 139종의 식물로부터 이 바이러스가 분리 보고되어 있다(Komuro, 1973). 특히 CMV는 오이류 및 십자화과에는 중요한 병원체로서 알려져 있다.

우리나라의 배추에 발생하는 바이러스병에 관한 연구는 매우 단편적으로 이루어져 정확히 어떤 바이러스가 얼마나 분포하고 있는지 전혀 알려져 있지 못한 현실이다. 특히 고냉지 배추에서는 매년 많은 바이러스병의 피해가 있음에도 불구하고 지금까지 체계적인 바이러스병의 연구가 이루어지지 못했기 때문에 고냉지 배추에 발생하는 바이러스병의 종류와 이들의 분포를 정확히 구명하는 일은 배추바이러스병의 방제를 위해서 매우 시급한 과제가 되고 있다.

이 연구는 고냉지 배추에 발생하고 있는 바이러스의 종류를 정확히 파악하고 이들에 대한 방제대책을 강구하기 위한 기초자료를 얻기 위하여 고냉

지 배추에 발생하는 바이러스병의 종류와 이들의 병원 바이러스를 분리 동정하기 위하여 실시하였다.

## 제 2 절 재료 및 방법

### 1. 배추바이러스병의 발생조사

고냉지 지역의 배추포장에 자연 발생하는 바이러스병을 조사하기 위하여 1995년 6월말부터 9월중순까지 강원도 고냉지 배추재배 지역(횡성, 홍천, 평창)을 시기별로 바이러스병의 발생을 조사하였다. 배추의 바이러스병은 병징을 중심으로 조사하여 이들의 종류, 분포, 이병율 등을 정밀 검정하였다.

### 2. 바이러스의 분리 동정

고냉지 배추포장에서 채집한 바이러스병징의 시료를 이용하여 바이러스의 분리 동정을 실시하였는데, 방법은 기주식물의 검정, 전자현미경관찰 및 혈청반응 실험을 통하여 실시하였다.

#### 가. 기주반응 실험

배추에서 자연 발생된 바이러스병의 병징별 유형을 구분한 후 시기별로 유형별 시료를 채취하고 이들의 즙액을 배추바이러스들의 대표적인 지표식물 12종을 공시하여 이들의 유묘에 접종한 후 각 식물에 발현되는 병징을 중심으로 바이러스를 판정하였다. 이때 사용된 접종원은 10배량(w/v)의 0.01M 인산완충액(pH 7.0)을 넣고 마쇄하여 carborandum(600 mesh)을 이용한 즙액접종법으로 실시하였다. 접종된 지표식물은 온실에 넣고 발현되는 병징을 매일 관찰하였다.

#### 나. 전자현미경 관찰



배추 및 지표식물들로부터 바이러스의 입자를 확인하기 위하여 dip법 (Horne and Wildy, 1963)으로 실험하였다. 각 이병식물의 시료는 5 X 5mm 크기의 절편을 만들어 7% formamide 또는 5% glutaraldehyde 용액에 1시간 동안 전고정시킨 후 각 조직의 즙액을 2% phosphotungstic acid(pH 6.0)로 역염색한 다음 grid에 시료를 놓고 전자현미경(Zeiss EM 109)으로 바이러스의 입자 및 봉입체 등을 관찰하였다.

#### 다. 혈청학 실험

배추로부터 분리한 바이러스를 동정하기 위하여 TuMV와 CMV의 항혈청을 공시하여 배추바이러스의 동정을 실시하였다. 즉 TuMV는 배추에서 분리한 바이러스의 증식기주를 *Chenopodium quinoa*를 이용하여 이병엽에 동량(w/v)의 3% sodium dodecyl sulfate(SDS)가 함유된 0.01M 인산완충액(pH 7.2)을 넣고 마쇄한 다음 8000rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 상층액을 항원으로 하였다. 한편 CMV의 동정은 *Nicotiana glutinosa*를 증식기주로 이용하여 SDS를 제외하고 TuMV항원의 제작과 같은 방법으로 실시하여 CMV의 항원을 만들었다. 혈청반응은 agar gel double diffusion법(Ouchterlony, 1962)으로 각 바이러스의 항혈청(Choi et al., 1978; Choi et al., 1990)과 반응시켰다. 이때 시용된 agar gel은 0.7-1.0% agarose, 0.01M 인산완충액(pH 7.0), 0.85% NaCl, 0.02% sodium azide의 조성으로 제작하였다.

### 제 3 절 결과 및 고찰

#### 1. 바이러스병의 병징별 유형

고냉지 배추에 자연 발생된 바이러스병의 병징은 배추의 생육시기에 따라 크게 차이를 보였다. 즉 배추의 생육초기에는 ① 잎에 엽맥투화(vein-clearing)현상이 나타나기 시작하여 점차로 모자이크(mosaic)증상으

로 발전하는 것이 일반적이었다. 그러나 생육증기에 이르러서는 ② 잎이 황화를 띠면서 위축되는 경우, ③ 새롭게 나오는 잎들이 오그려들고 기형(malformation)을 일으키는 경우 및 ④ 잎의 중륵부분을 포함하여 전체에 아주 작은 갈색의 괴사반점(necrotic spot)을 형성하는 형태로 구분 되었다(그림 2-1).

이와같은 고냉지 배추의 바이러스병징은 항상 일정하게 나타나는 것은 아니었고, 배추의 재배환경에 따라 약간의 차이를 보였으며, 특히 재배시기에 민감하게 반응을 보였다. 그러나 배추의 생육시기 전체를 통하여 나타난 바이러스병의 병징은 위에서 열거한 병징의 양상으로 구분할 수 있었다. 한편 이들 병징의 병징별 분포와 배추 재배시기별 분포의 상관관계를 분석한 결과, 6월말에서 7월말까지는 모자이크와 잎의 기형을 나타내는 병징이 많이 보여 전체 바이러스병징중 모자이크 33.3%, 기형 35.6%, 황화 11.1%, 기타 17.8%의 분포를 보였다. 그러나 8월 초에서 9월 중순사이에는 어린 배추에서는 모자이크와 기형이 나타났지만, 생육 후기에는 작은 괴사반점의 병징이 현저하게 증가하는 경향을 보였다. 즉 모자이크 15.1%, 기형 21.1%, 괴사반점(기형 및 모자이크 혼합된 경우 포함) 50.4%, 기타(황화 포함) 13.4%의 분포를 나타냈다(표 2-1).

표 2-1. 배추 바이러스병의 병징별 분포

조사시기	조사주수	바이러스 병징의 개체수						
		Mo	Mal	YM	NS	Mo+NS	Mal+NS	Others
6월말-7월초	605	25	26	8	-	1	-	13

7월말-8월초	489	12	26	10	28	2	3	7
8월말-9월초	664	35	49	18	85	7	25	13

\*병징 = Mo:mosaic, Mal:malformation, YM:yellow mosaic, NS:necrotic spot.

## 2. 바이러스의 분리 동정

고냉지 배추에 발생하는 바이러스의 분리 동정은 자연 발생된 병징별 유형에 따라 분리를 시도하였다. 바이러스의 분리는 우선 포장에서 채집한 병징별 시료로부터 dip method에 의해 바이러스입자를 전자현미경으로 관찰하고, 바이러스가 확인된 시료들을 기주식물에 접종하여 나타나는 병징과 혈청검정 실험을 통하여 실시 하였다.

병징별 유형에 따라 검출된 바이러스는 모자이크 및 기형의 병징으로 부터는 주로 사상형으로 750 X 12nm크기의 potyvirus가 검출되었으며, 황화 및 모자이크로부터는 직경 30nm의 바이러스 입자가 확인 되었으며, 이들 두 종류의 바이러스입자가 복합된 경우도 발견 되었다. 한편 작은 괴사반점의 병징으로 부터는 거의 모든 시료에서 potyvirus가 분리되었다. 이때 potyvirus가 검출되는 시료에서는 이상봉입체(inclusion body)도 쉽게 관찰 할 수 있었다(그림 2-2).

이와같이 전자현미경의 관찰로 바이러스의 입자가 확인된 배추의 각 병징별 시료들을 이용하여, 예상되는 바이러스의 기주식물들을 이용한 기주범위를 즙액접종으로 검정하였다. 그 결과는 표 2-2에 정리하였다.

이상의 결과로부터 모자이크, 기형 및 괴사반점의 병징을 나타낸 배추로부터는 TuMV가 분리되는 것으로 판단되었으며, 이러한 결과는 전자현미경 및 혈청실험(그림 2-3)을 통해서도 일치하였다. 한편 황화모자이크의 배추



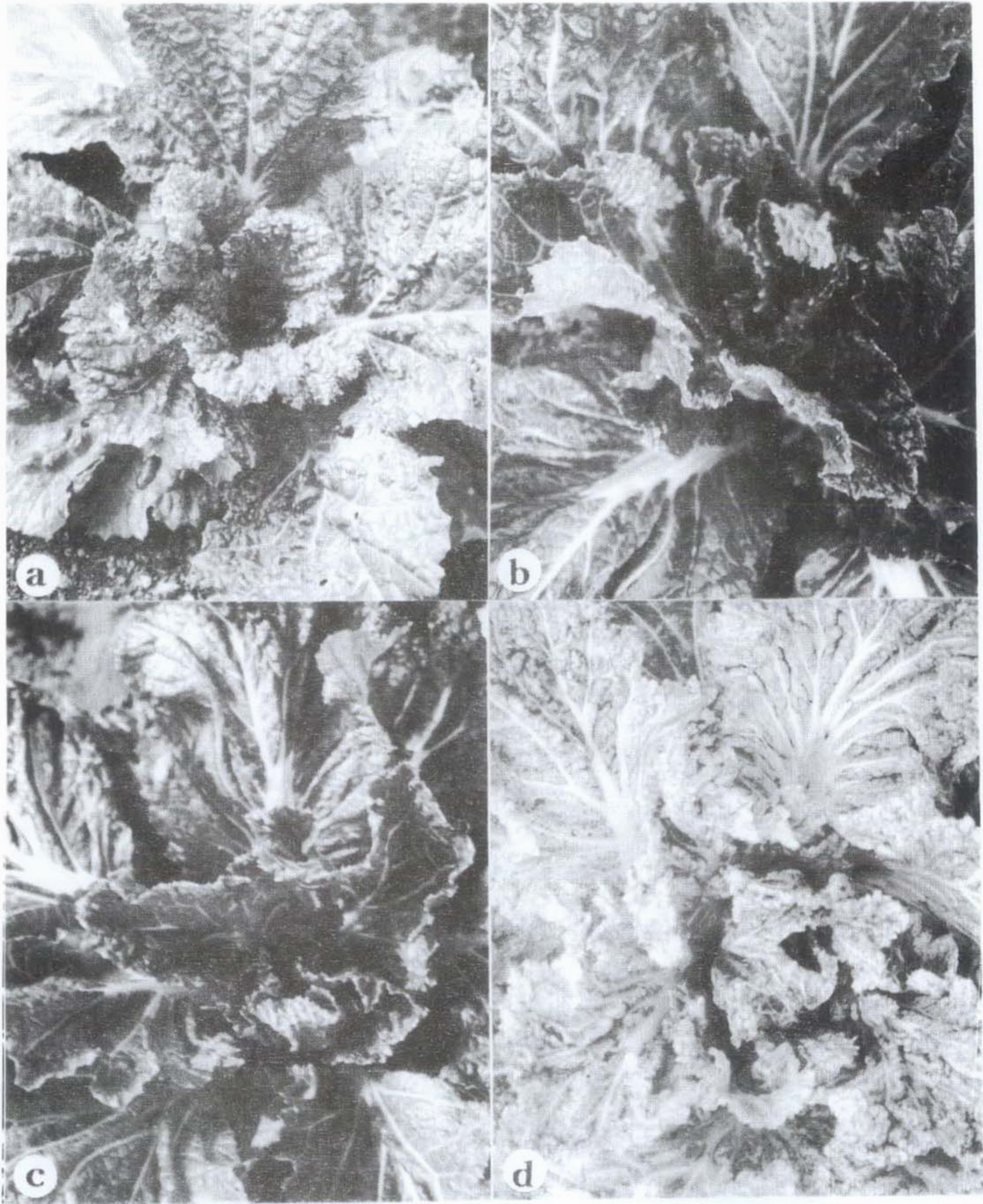


그림 2-1. 고냉지 배추에 자연 발생된 바이러스병의 병징별 유형.

a: mosaic형, b: yellowing형, c: marformation형, d: necrotic spot형



표 2-2. 배추에 자연 발생된 바이러스병징별 시료를 이용한 기주반응

기주식물	병징별 유형			
	모자이크	기형	황화모자이크	괴사반점
<i>Chenopodium quinoa</i>	CS/M	CS/M(-)	NS/-	CS/M(-)
<i>C. amaranticolor</i>	NS/-	NS/-	NS/-	NS/-
<i>Nicotiana glutinosa</i>	CS/S1	CS/S1	-/M	CS/S1
<i>N. clevelandii</i>	NS/M	NS/M	-/M	NS/M
<i>N. tabacum</i> cv. Samsun	-/-	-/-	-/M	-/-
<i>N. tabacum</i> cv. Xanthi nc	NS/-	NS/-	-/M	NS/-
<i>Gomphrena globosa</i>	NS/-	NS/-	-/M	NS/-
<i>Brassica rapa</i>	-/M	-/M	-/-	-/M
<i>B. campestris</i> subsp. <i>pekinensis</i>	-/M, NS	-/M, NS	-/M	-/M, NS
<i>Raphanus sativus</i>	-/M	-/M	-/M	-/M
<i>Cucumis sativus</i>	-/-	-/-	-/-	-/-
<i>Vigna unguiculata</i>	-/-	-/-	NS/-	-/-

\* 접종엽/상엽, M:mosaic, CS:chlorotic spot, NS:necrotic spot,  
S1:symptomless infection, (-):때로는 무감염, -:무감염.

에서 분리한 바이러스의 기주반응은 오이 모자이크 바이러스(cucumber mosaic virus, CMV)로 판단되었고, 이들 시료로부터 얻어진 전자현미경의 관찰이나 혈청실험은 이를 증명하여 주었다.



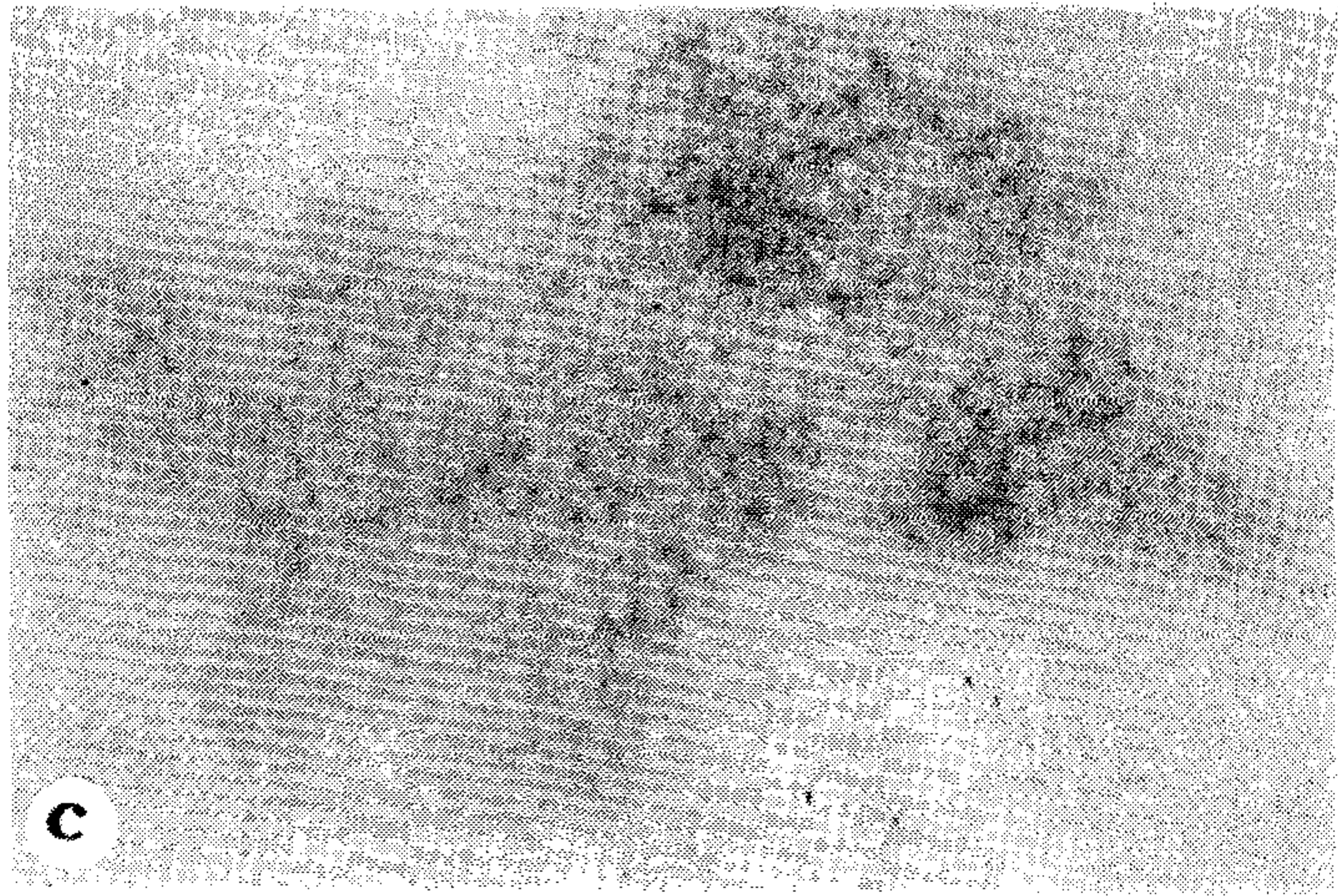
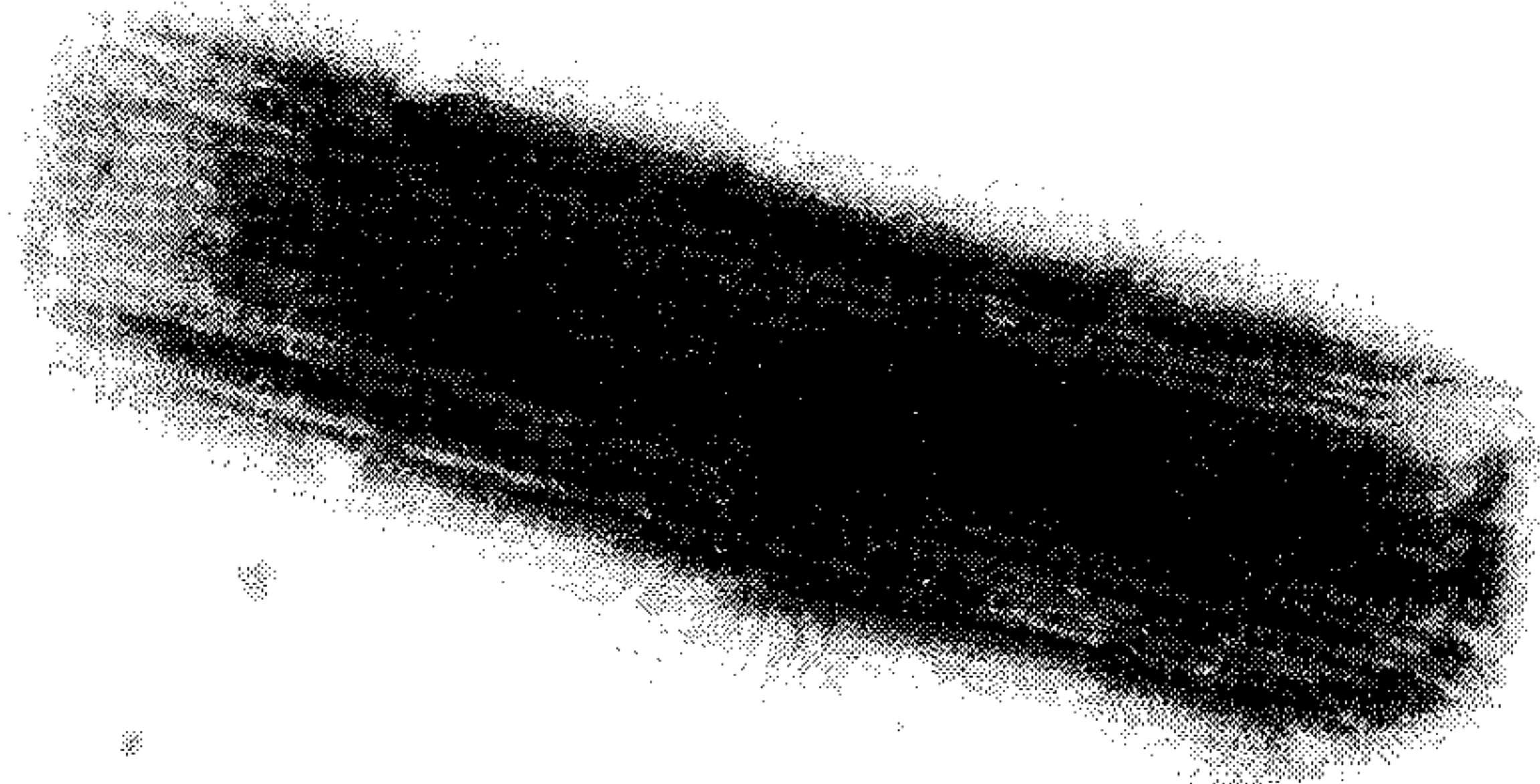
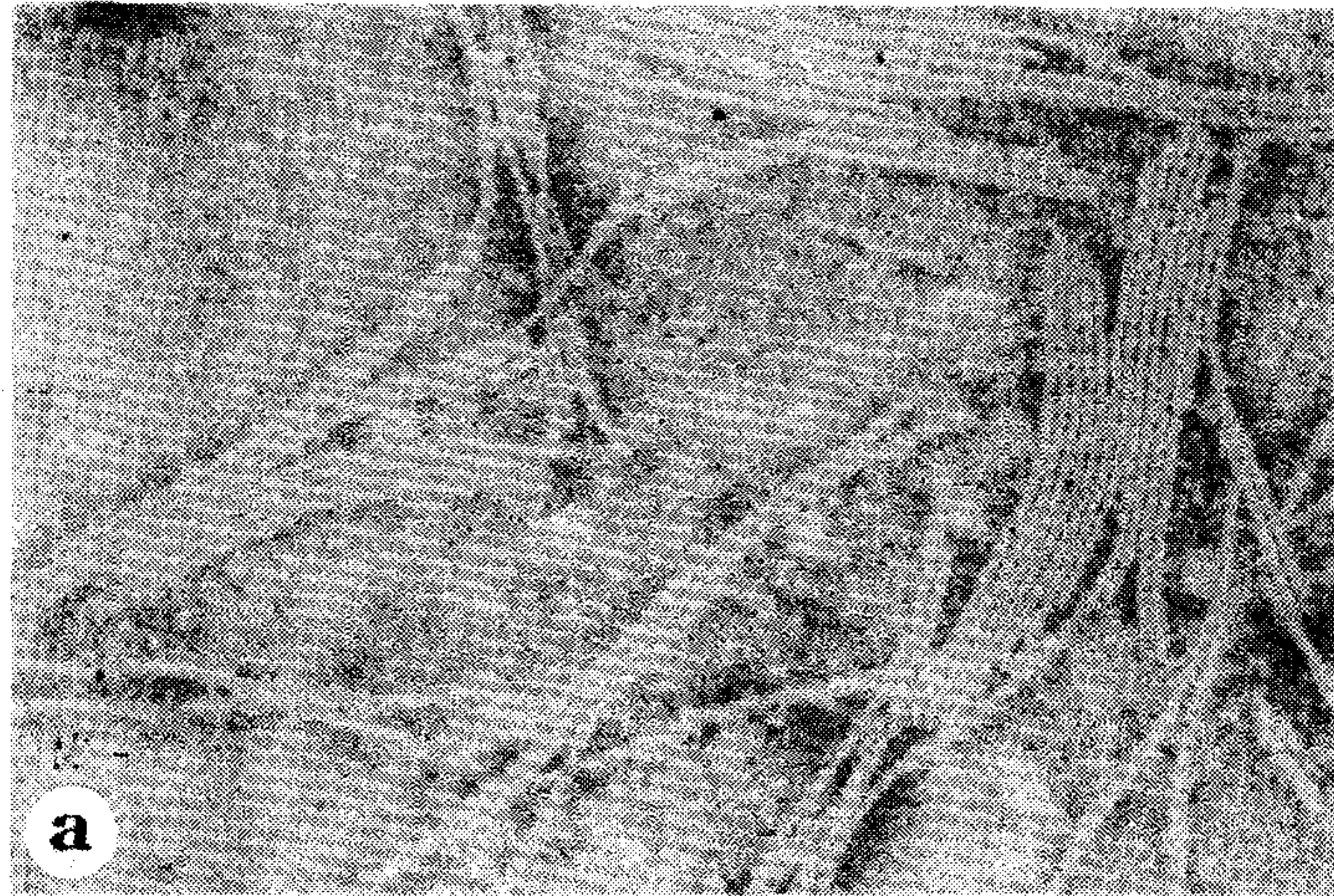


그림 2-2. 배추에서 분리한 바이러스 입자의 전자현미경 사진(Bar는 100nm)

a: TuMV, b: TuMV-inclusion body, c: CMV



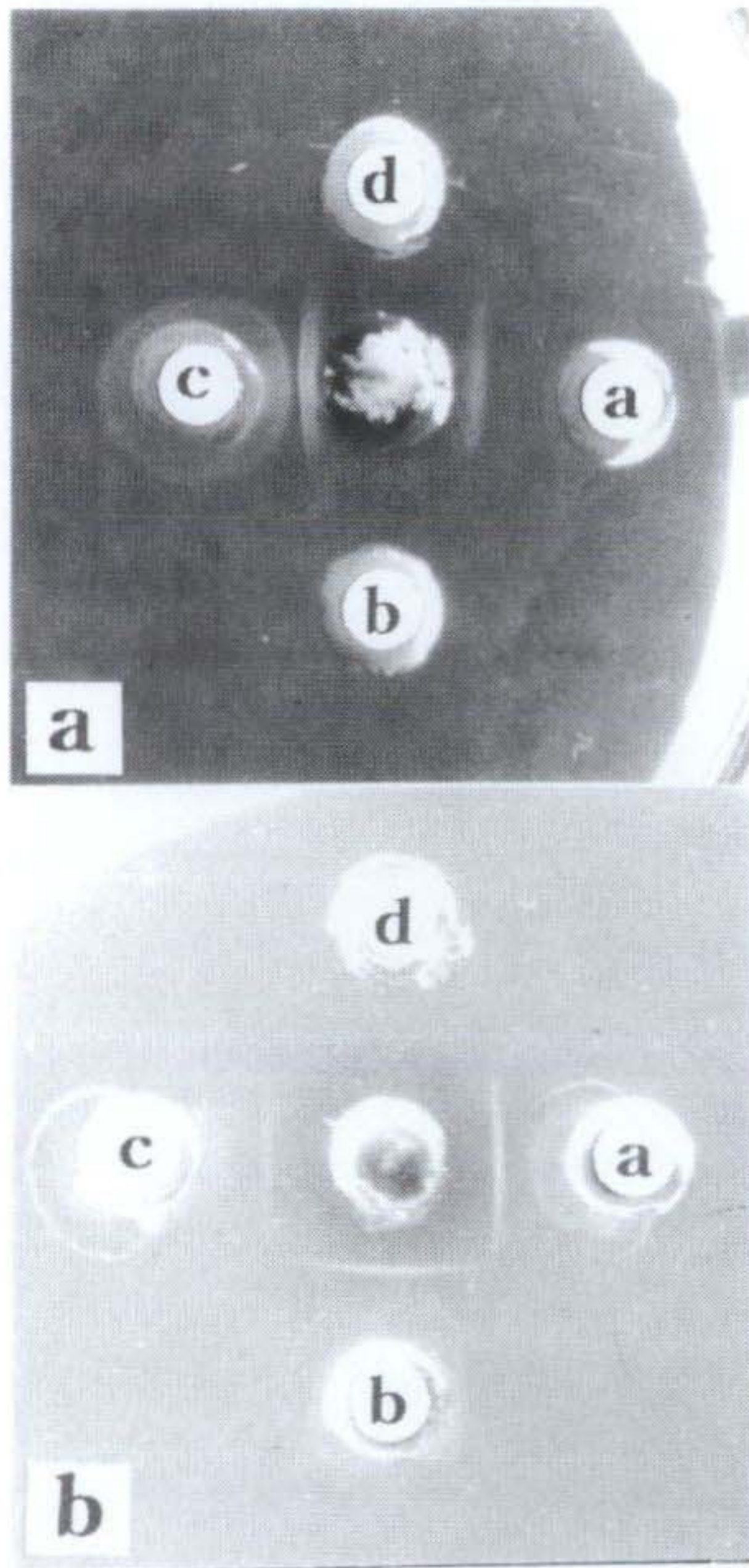


그림 2-3. 배추바이러스병의 혈청반응.

a: TuMV항혈청에 대한 반응(a-c: 이병 배추즙액, d: 건전즙액), b: CMV항혈청에 대한 반응(a-c: 이병즙액, d: 건전즙액).

그러나 반드시 병징에 일치해서 바이러스가 일정하게 분리되지 않는 경우도 나타났는데, 이는 이들 두 바이러스 즉 TuMV와 CMV의 복합감염에 따른 결과로 분석 되었다.

### 3. 배추 바이러스병의 분포

배추 바이러스병의 분포를 배추의 재배시기 및 지역에 따라 병징유형별로 조사하였다. 그 결과 일반적으로 재배시기의 초기에는 엽맥투화 현상과 모자이크의 증상이 많이 발견되었으며, 생육중기에는 잎의 기형을 초래하는 병징과 황화모자이크 증상이 나타났고, 생육후기에는 위축, 기형 및 괴사반점의 병징이 주로 분포하는 양상을 보였다. 지리적으로는 준고냉지인 해발 400-500m의 지역에서는 모자이크 증상이, 해발 700-800m의 고냉지에서는 위축과 기형의 현상이 많이 발견 되었으며, 괴사반점은 지리적 여건에 관계없이 생육후기에는 어느 곳에서나 쉽게 관찰되었다. 바이러스병의 발생시기에 따른 분포를 조사한 결과는 배추포장에 따라 배추의 생육시기가 다르기 때문에 일정한 발생분포를 보이지는 않았으나, 일반적으로 발생빈도가 높게 나타난 시기는 장마기가 끝난 7월말과 기온이 하강하는 9월초에 집중되는 현상을 보였다.

### 4. 배추의 파종기에 따른 바이러스의 발생 및 분포

파종시기를 달리하여 재배한 배추에 있어서 바이러스병의 발생생태를 정밀 조사하였다. 즉 해발 800m의 대관령(횡계2리)에 포장을 설치하고 프리그 육묘를 실시한 배추(품종:고냉지여름)를 95년 6월 22일(1차), 7월 6일(2차), 7월 21일(3차)에 각각 1500주씩 정식하여, 각 파종기별로 배추에 발생하는 바이러스병의 발생을 조사하였다. 그 결과는 표 2-3과 같은데, 파종시기가 늦은 경우에 바이러스병의 발생이 많아지는 경향을 보였다.

표 2-3. 배추의 파종기에 따른 바이러스병의 발생생태

파종기	정식기	총발생율 (%)	바이러스 병징(개체수)			
			모자이크	기형	위축	황화모자이크 괴사반점
95. 6. 1.	95. 6. 22.	2.1	16	12	4	0
95. 6. 16	95. 7. 6.	4.8	25	19	9	19
95. 7. 1.	95. 7. 21.	13.6	31	45	17	111

\*각 파종기별로 1,500주씩 이식. 복합감염된 병징을 나타낸 경우는 각각의 병징별로 진단함.

이러한 결과는 장마기 이후에 이식한 어린묘에 진딧물의 발생이 많아진 결과와 일치하여, 결과적으로는 진딧물의 발생과 배추의 생육초기가 일치하는 경우에 바이러스병의 발생조건이 가장 유리하게 작용되는 것으로 나타났다.

#### 제 4 절 참고문헌

Choi, J.K., Maeda, T. and Wakimoto, S. 1978. Serological properties of turnip mosaic virus. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 44 : 14-21.

Choi, J.K., Kwon, S.B., Lee, S.Y. and Park, W.M. 1990. Some properties of two isolates of cucumber mosaic virus isolated from *Aster yomena* and *Commelina communis*. *Korean J. Plant Pathol.* 6 :



138-143.

한국식물보호학회. 1986. 식물병, 해충, 잡초 명감. pp. 31-31.

Horne, R.W. and Wildy, P. 1963. Virus structure revealed by negative staining. *Advan. Virus Res.* 10 : 101-107.

Kaper, J.M. and Waterworth, H.E. 1981. Cucumoviruses. In: Handbook of Plant Virus Infection, Ed. by E. Kurstak. pp.257-332. Elsevier/North-Holland Press, Amsterdam.

Ouchterlony, O. 1962. Diffusion in gel methods for immunological analysis II. *Prog. Allergy* 6 : 30-154.

Tomlinson, J.A. 1970. Turnip mosaic virus. CMI/AAB Description of Plant Viruses No. 8.

小室康雄. 1973. 野菜のウイルス病. 農林省植物ウイルス研究所, 東京.  
p. 300.

# 제 3 장 배추바이러스병의 유전자진단법

## 개발

### 제 1 절 서 론

일반적으로 식물 바이러스병의 진단에는 지표식물 검정, 혈청반응, 전자현미경 관찰 등의 방법이 이용되고 있다. 이들 방법은 대개 복합적으로 활용되고 있으나, 각 바이러스의 특이적 항체를 이용한 혈청학적 방법이 가장 일반적이며, 그중에서도 특히 효소결합항체법 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)(Clark and Adams, 1977)은 다량의 시료를 검출하는데 민감성과 편리성이 인정되어 널리 활용되고 있다. 그러나 ELISA는 이병 식물체에 바이러스 농도가 낮거나 국부적으로 존재할 경우에는 검출이 어렵고, 때로는 건전 식물체로부터도 비특이적 반응을 나타내기 때문에 진단에 오류를 범하는 단점을 지니고 있다(Smith et al., 1993).

최근 분자생물학이 발전하고 바이러스의 게놈 분석이 많이 이루어지면 서, 식물 바이러스에 있어서도 이를 이용한 여러 종류의 핵산 분자교잡법이 시도되어 왔다(Baulcombe and Fernandez, 1988; Czosnek et al., 1988; Garger et al., 1983; Querci et al., 1993). 그러나 분자교잡에 이용되는 핵산의 종류와 probe의 표지물질에 따라 바이러스의 검출에 큰 영향을 미치고 있다. 특히 식물 바이러스의 대부분은 RNA를 게놈으로 가지고 있기 때문에 분자교잡을 이용한 바이러스의 검출에는 게놈 RNA의 cDNA를 probe로 사용하고 있는데, DNA-RNA의 분자교잡 효율이 낮아서 유전자진단법의 활용

에 제약요인으로 지적되고 있다(Varveri et al., 1988).

우리들은 순무 모자이크 바이러스(turnip mosaic virus, TuMV)의 3'말단 부분에 대응하는 약 2,000bp의 cDNA를 합성하여 이의 염기서열을 보고한 바 있다(Choi et al. 1992). 이 실험에서는 이 cDNA를 *in vitro*에서 전사시키는 방법으로 digoxigenin(DIG) 표지 RNA probe를 작성하여 배추에서 TuMV를 검출하는 유전자진단법으로 활용성이 있는지를 검토하기 위하여 실시하였다.

## 제 2 절 재 료 및 방 법

### 1. 공시바이러스 및 cDNA 클론

바이러스는 TuMV-cqs계통을 공시하여 이 바이러스의 외피단백질유전자(coat protein gene, CP 유전자)를 포함하는 클론을 공시하였다(Choi et al., 1993).

### 2. *In vitro* 전사 벡터의 작성

공시한 각 바이러스의 CP cDNA로부터 *in vitro* 전사 RNA probe를 만들기 위하여 SP6 및 T7 프로모터(promoter)가 삽입된 전사벡터(transcription vector) pSPT18에 서브클로닝하였다. 각 바이러스의 CP cDNA를 포함하고 있는 클론으로부터 재조합 플라스미드를 정제한 다음, *Pst*I으로 절단하여 바이러스의 CP cDNA를 추출하였다. 이 cDNA는 T4 DNA ligase(5 U)를 이용하여 16 °C에서 3시간 동안 반응시킨 다음, cDNA의 절단에 이용한 효소로 처리한 pSPT18에 삽입시켰다. 이렇게 cDNA가 삽입된 CP cDNA-pSPT18은 *Escherichia coli* JM109를 CaCl<sub>2</sub>로 처리하여 제작한 competent cell에 heat-shock방법(Sambrook et al., 1989)으로 형질전환시켰다. 형질전환된



세균은 앰피실린(ampicillin, 50 $\mu$ g/ml)이 포함된 Luria-Bertani(LB)배지에서 16시간 동안 배양하였다. 여기서 형성된 콜로니들로부터 alkaline lysis방법(Birnboem and Doly, 1979)으로 플라스미드를 추출하여 CP cDNA의 삽입여부를 확인하였다. 또한 CP cDNA의 삽입이 확인된 플라스미드는 *Xba*I 과 *Sac*I을 이용하여 절단한 후 전기영동하여 cDNA를 검정하였다. 클로닝된 플라스미드나 cDNA의 확인은 1% agarose gel을 이용하였다.

### 3. RNA 프로브의 제작

*In vitro*에서 전사시키는 방법으로 DIG 표지 RNA probe를 제작하기 위하여 TuMV CP cDNA의 삽입이 확인된 클론 1개를 선발하여 플라스미드를 추출한 후, CP cDNA의 삽입방향에 따라 *Xba*I 또는 *Sac*I중 1종의 제한효소를 처리하여 플라스미드를 linear form으로 만들었다. DIG 표지 RNA probe의 합성은 DIG-RNA labeling kit (Boehringer Mannheim)와 SP6 또는 T7 RNA polymerase를 사용하였다. 즉 제한효소로 절단한 바이러스의 CP cDNA를 포함하는 플라스미드는 3.5mM DIG-UTP, 10mM dNTP, SP6 또는 T7 RNA polymerase(20 U) 및 RNase inhibitor(20 U)와 혼합하여 37  $^{\circ}$ C에서 2시간 동안 반응시킨 다음, 0.2M EDTA를 처리하여 반응을 정지시켰다. 이 반응을 통하여 전사된 각 바이러스의 DIG 표지 RNA probe는 에타놀 침전 후 0.1% dimethyldicarbonate로 처리한 멸균수에 용해시켜 -20  $^{\circ}$ C에 보관하면서 필요시 probe로 사용하였다.

### 4. 시료의 제작과 blotting

우선 합성된 RNA probe의 민감성을 검정하기 위하여, 공시한 TuMV-cqs는 순무에 즙액접종하여 증식시킨 후 바이러스의 순화 재료로 사용하였다. 이 병 식물로부터 바이러스는 0.5M sodium citrate buffer(pH 7.0)

/chloroform(1:1:1)에서 마쇄 -->저속원심분리(8,000 rpm, 10분)  
-->polyethylene glycol(4%, PEG 6000)처리 -->저속원심분리(8,000 rpm, 20  
분) -->분획원심분리(37,000 rpm, 90분 - 8,000 rpm, 10분)의 과정을 거쳐  
부분순화하였다. 부분순화된 각 바이러스로부터 SDS/proteinase K/phenol  
방법(Favaloro et al., 1980)으로 RNA를 정제하고, 멸균수/20 X  
SSC/formaldehyde(5:3:2)용액을 첨가하여 65 °C에서 10분간 처리하여 시료  
로 공시하였다.

바이러스 RNA 시료의 blotting은 10 X SSC용액으로 침지시킨 나일론막  
(nylon membrane, Hybond N<sup>+</sup>, Amersham)을 dot-blot (96 wells, Bio-Rad)  
또는 slot-blot (48 wells, Hoefer Scientific)장치에 고정시킨 후 제조된  
시료를 20-50 $\mu$ l씩 blotting하여 흡착시킨 다음, UV램프(302nm)에 3분간 노  
출하여 고정시켰다.

#### 5. 분자교잡 검정

TuMV-RNA 시료를 흡착시킨 나일론막은 Choi 등의 방법(1993)에 따라  
prehybridization 및 DIG-RNA probe와 반응시키는 hybridization 과정을 68  
°C에서 12-16시간 동안 실시한 후 세척을 하고, chemiluminescent  
detection kit(Boehringer Mannheim)를 이용하여 분자교잡된 RNA를 검출하  
였다.

### 제 3 절 결과 및 고찰

#### 1. 유전자진단 프로브의 작성

배추에서 가장 일반적으로 발생되고 있는 TuMV를 조기에 정밀진단할 수  
있는 방법을 개발하기 위하여, 배추에서 분리한 TuMV의 한 계통(TuMV-cqs)

으로부터 게놈RNA를 정제하고 이를 cDNA로 합성한 다음 클로닝시켰다. 이 클론으로부터 추출한 재조합 플라스미드를 이용하여 게놈의 cDNA를 분리하여 *in vitro* 전사 벡터인 pSPT18의 *Pst*I site에 삽입시킨 후, 이 벡터에 있는 프로모터 SP6에 의한 DIG표지 RNA프로브를 제작하는 방법을 사용하였다. 즉 TuMV의 게놈RNA에 대한 3'말단부에 해당하는 cDNA를 pSPT18에 삽입시키고 *E. coli* JM109에 클로닝시켰다. 바이러스의 cDNA가 삽입된 클론을 선별하여(그림 3-1) 재조합 플라스미드를 분리하고 *Xba*I을 처리하여 플라스미드를 linear form으로 만든 다음, SP6프로모터를 이용하여 DIG-labeled RNA를 합성하여 바이러스를 진단할 프로브로 제작하였다.

## 2. 검정용 시료의 제작

바이러스에 감염된 배추로부터 유전자진단법으로 바이러스를 검출하기 위하여 다음과 같은 방법으로 시료의 제작 및 blotting을 실시하였다. 우선 시료의 제작은 최소의 시료로부터 바이러스를 추출할 것을 목적으로 배추잎의 디스크(8mm diameter, 14mg)를 만들어 여기에서 바이러스의 RNA를 추출하는 방법을 시도하였다. 이 디스크로부터 바이러스 RNA는 phenol/chloroform과 RNA extraction buffer(Tris-HCl/LiCl/EDTA/SDS)를 이용하여 추출하였으며, 추출효율을 높여주기 위하여 formaldehyde의 변성과정을 도입시켰다.

한편 검정용 시료의 blotting은 나일론막(nylon membrane, Hybond N<sup>+</sup>)을 사용하여 slot-blot 장치를 이용한 blotting을 실시하였다. 나일론막에 blotting시킨 시료의 검출은 제작한 DIG-RNA프로브와 교잡시킨 다음, chemiluminescence detection kit를 이용하여 검출하였으며, 반응의 확인은 Hyperfilm-ECL을 사용하여 5-30분간 노출시킨 후 판정하였다.

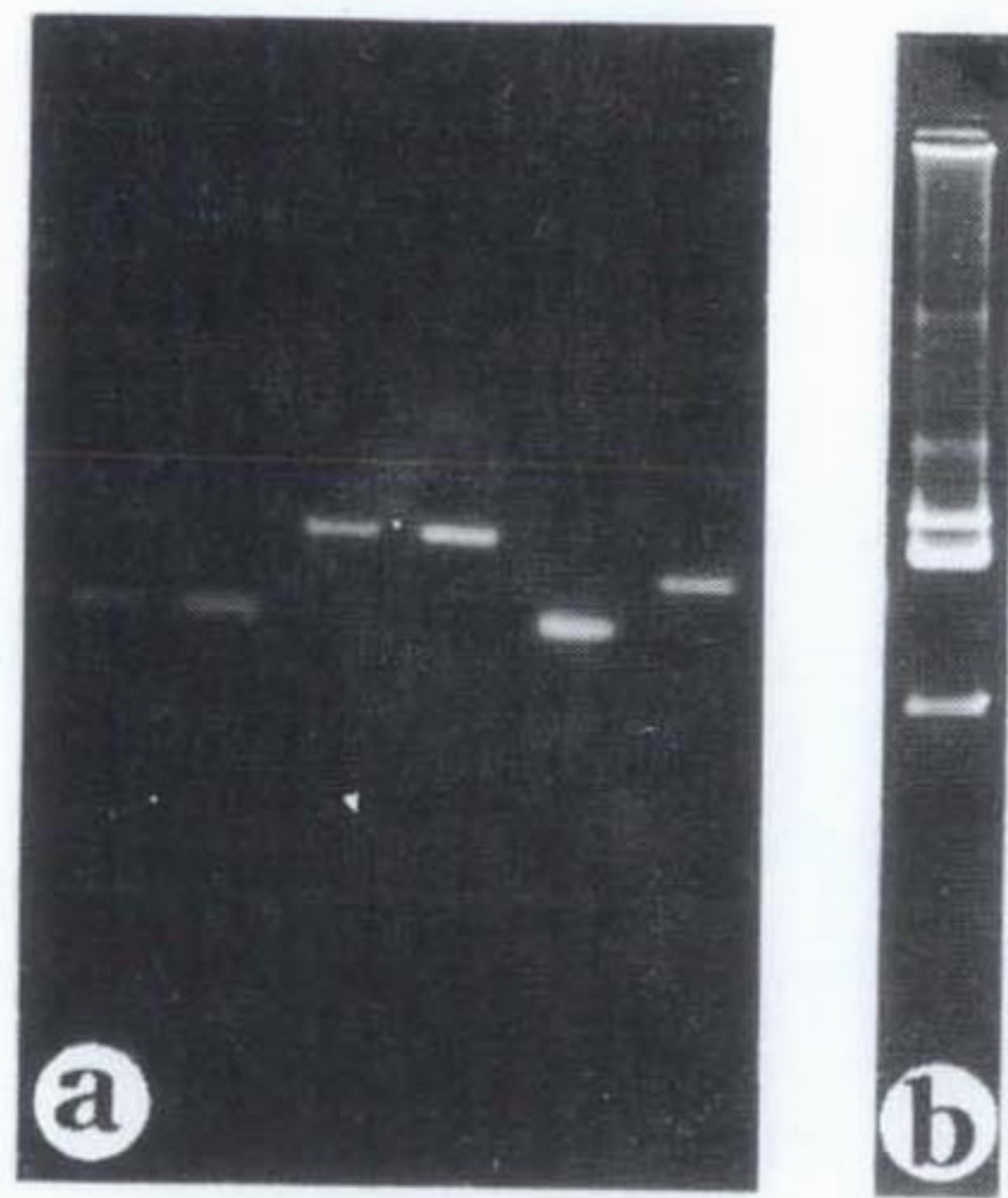


그림 3-1. *In vitro* 전사벡터에 삽입된 TuMV-CP gene의 전기영동.

### 3. 유전자진단의 효율성

제작한 유전자진단용 RNA프로브의 민감성 및 특이성을 검정하기 위하여 배추에서 분리한 TuMV를 순무에서 증식시킨 후 바이러스를 정제하고 여기에서 RNA를 추출하여 분자교잡반응을 실시하였다. 그 결과 *in vitro*전사 프로브는 RNA의 희석농도 5pg까지 검출이 가능하여 기존의 ELISA검정에 의한 TuMV의 검출 보다 약 150배의 민감성을 보였다(그림 3-2).

한편 포장에서 채집한 바이러스병징의 이병엽 디스크로부터 RNA를 추출하고 나일론막에 blotting시킨 다음 분자교잡을 실시하였을 때, 전자현미경으로 potyvirus가 검출된 시료는 모두 양성반응을 나타냄으로서 배추의 TuMV병 진단에 매우 유용하다는 것이 증명되었다.

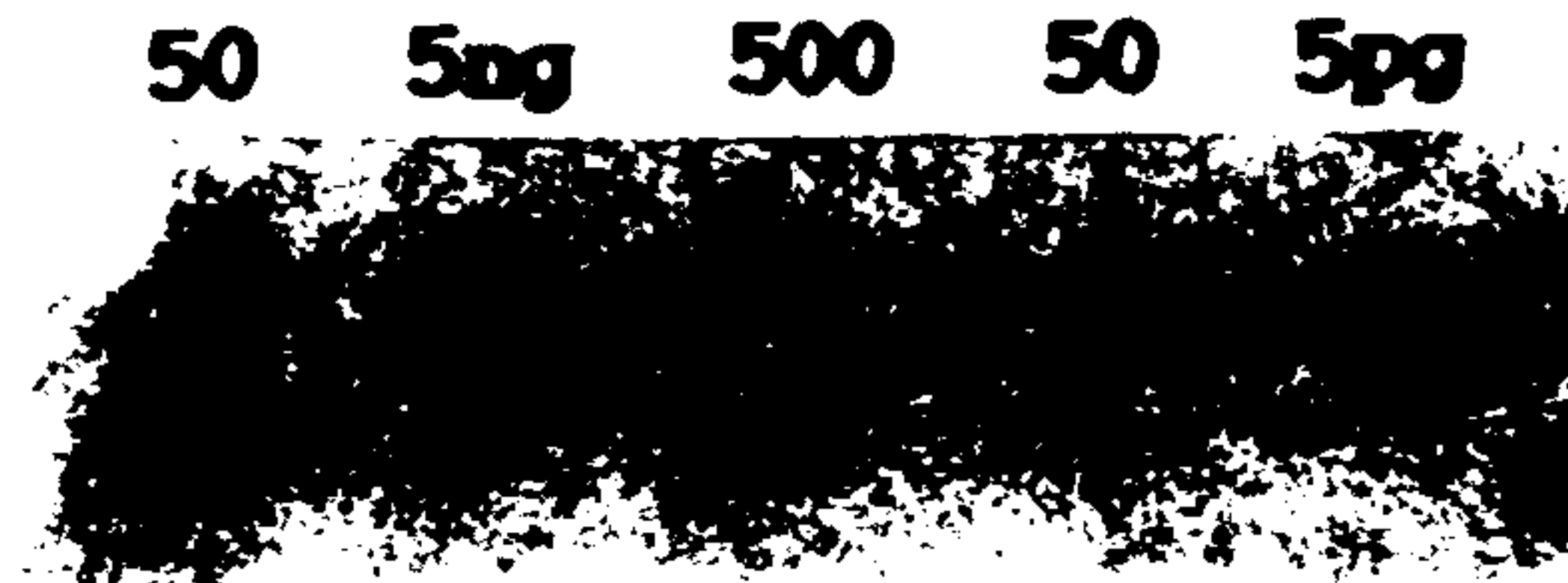


그림 3-2. DIG-RNA프로브를 이용한 TuMV-RNA의 검출한계.



#### 제 4 절 참고문헌

Baulcombe, D.C. and Fernandez-Northcote, E.N. 1988. Detection of strains of potato virus X and of a broad spectrum of potato virus Y isolates by nucleic acid spot hybridization(NASH). *Plant Dis.* 72:307-309.

Birnboem, H.C. and Doly, J. 1979. A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. *Nucleic Acids Res.* 7:1513.

Choi, G.S. and Choi, J.K. 1992. Biological properties of two isolates of turnip mosaic virus isolated from Chinese cabbage and radish in Korea. *Korean J. Plant Pathol.* 8:276-280.

Clark, 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. Virol.* 34:475-483.

Czosnek, H., Ber, R., Navot, N., Zamir, D., Antignus, Y. and Cohen, S. 1988. Detection of tomato yellow leaf curl virus in lysates of plants and insects by hybridization with a viral DNA probe. *Plant Dis.* 72:949-951.

Favaloro, J., Treisman, R. and Kamen, R. 1980. Transcription maps of polyoma virus -specific RNA: Analysis by two-dimensional nuclease S1 gel mapping. *Meth. Enzymol.* 65:718.

Garger, S.J., Turpen, T., Carrington, J.C., Morris, T.J., Dodds, J.A., Jordan, R.L. and Grill, L.K. 1983. Rapid detection of plant RNA viruses by dot blot hybridization. *Plant Mol. Biol. Rep.* 1:21-25.

Querci, M., Salazar, L.F. and Fernandez-Northcote, E.N. 1993. Detection of Andean potato virus X isolates by radioactive and nonradioactive nucleic acid spot hybridization tests. *Phytopathology* 83:171-176.

Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T. 1989. Molecular cloning : A laboratory manual (2nd ed.). pp7.12-7.17. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.

Smith, O.P., Damsteegt, V.D., Keller, C.J. and Beck, R.J. 1993. Detection of potato leafroll virus in leaf and aphid extracts by dot-blot hybridization. *Plant Dis.* 77:1098-1102.

Varveri, C., Candresse, T., Cugusi, M., Ravelonandro, M. and Dunez, J. 1988. Use of a <sup>32</sup>P-labeled transcribed RNA probe for dot blot hybridization detection of plum pox virus. *Phytopathology* 78:1280-1283.

Varveri, C., Ravelonandro, M. and Dunez, J. 1987. Construction and use of a cloned cDNA probe for the detection of plum pox virus in plants. *Phytopathology* 77:1221-1224.

여 백

# 제4장 배추바이러스병의 전염원 및 매개충의 전염양식

## 제 1 절 서 론

배추에 발생하는 바이러스병의 전염원을 탐색하기 위하여 시험사업의 1차년도인 1995년에는 배추포장 주변의 잡초로부터 바이러스를 분리하고 동정하여 배추에 발생하는 바이러스와의 상관관계를 조사하는 것을 목적으로 실시하였다.

바이러스의 전염원으로 잡초가 매우 중요하다는 사실은 오래전부터 잘 알려져 있다. 특히 기주범위가 넓은 CMV나 TuMV와 같은 경우는 잡초에 감염되어 있는 바이러스가 진딧물에 의해서 작물로 전염될 수 있다는 것은 쉽게 생각할 수 있다. 실제로 TuMV와 같은 경우 포장 주변에 있는 *Brassica nigra*, *B. campestris*, *Eruca sativa*, *Sisymbrium irio* 등의 잡초에서 분리 보고된 바있으며(Arnold and Bald, 1960; Feldman and Gracia, 1972), CMV의 경우는 매우 많은 잡초로부터 바이러스가 분리된다는 것이 보고되어 있다(Choi et al., 1990; Komuro, 1973).

이 연구에서는 고냉지 배추밭 주변에 자생하고 있는 잡초들로부터 바이러스병징을 나타내는 식물들을 채집하여 바이러스를 분리하고 이들 바이러스가 배추에 발생하는 바이러스와 같은 것인지의 여부를 판단하여 배추바이러스병의 전염원을 탐색하였다.

한편 배추바이러스병의 주요 매개체로 추정되고 있는 진딧물의 생태를

조사하기 위하여 고냉지의 배추 포장 주변에 진딧물 trap을 설치하고 여기에 채집되는 진딧물의 밀도와 비래시기 및 배추의 바이러스병 발생과의 상관관계도 아울러 조사하였다.

## 제 2 절 재료 및 방법

### 1. 배추바이러스병의 전염원 탐색

고냉지 배추 포장 주변의 잡초를 대상으로 바이러스병징을 나타낸 개체들을 채집하고 이들 식물로부터 바이러스를 분리 동정하였다. 이때 바이러스의 분리 동정은 전자현미경 관찰, 기주식물의 반응 및 혈청실험을 통하여 실시하였는데 구체적인 방법은 제 2장의 바이러스 분리 동정과 같은 방법으로 실시하였다.

### 2. 매개충의 생태 및 전염양식

배추에 비래하는 진딧물의 정량조사를 위하여 배추포장에 50x35x10 cm의 황색수반을 2개 설치하였다. 고냉지 배추재배시기인 6월 초순부터 8월 중순까지 매 2일 간격으로 유살충을 수거하여 95% 알콜에 보관하였다가 분류동정과 종별 정량조사를 하였다.

## 제 3 절 결과 및 고찰

### 1. 배추바이러스병의 전염원 탐색

#### 가. TuMV의 탐색

배추밭 주변의 잡초중에서 바이러스병징이 나타난 개체들을 수집한 후 전자현미경 관찰, 기주반응 실험 및 혈청반응 실험을 통하여 바이러스를 분



리하였다. 그 결과 모자이크 또는 mottle병징을 나타낸 속속이풀(*Rorippa islandica*)과 개갓냉이(*R. atrovirens*)(그림 4-1)로부터 TuMV가 분리되었다. 이들 2종의 잡초에서 분리한 TuMV는 기존에 배추에서 분리 보고한 TuMV-cqs계통과 동일한 계통으로 판명되었으며, 배추밭 주변에 매우 흔하게 분포하는 이들 2년생 잡초는 진딧물의 매개에 의해 배추에 TuMV를 전염시키는 중요한 역할이 있을 것으로 추정 되었다.

한편 자연계에서 퇴록반점이 전신에 퍼지고 잎의 위축과 기형을 나타낸 명아주(*Chenopodium album*)에서도 potyvirus입자가 전자현미경으로 관찰 되었으나, 기주반응의 결과는 TuMV와는 다른 양상을 보여 금후 다시 검토하여 정확한 바이러스의 동정을 실시할 예정으로 있다.

#### 나. CMV의 탐색

잡초가 CMV의 전염원이 된다는 사실은 오래전부터 잘 알려져 있다. 특히 CMV는 자연계에서 기주범위가 매우 넓고 진딧물 매개가 잘 되는 바이러스라는 특성 때문에 배추에의 CMV전염도 중요한 역할을 할 것으로 추정되고 있다. 고냉지 배추밭 주변의 들에서 채집한 황화모자이크 증상을 나타낸 장구채(*Meilandyrum firmum*)(그림 4-1)로부터 CMV가 분리되었다. 이 CMV를 배추에서 분리한 CMV와 혈청반응을 시킨 결과 같은 혈청형으로 확인되어 배추에의 전염원으로서의 가능성을 나타냈다. 특히 장구채로부터의 CMV분리는 지금까지 알려진 바 없기 때문에 이 연구에서 CMV의 새로운 기주 및 계통이 확인되는 셈이다.

#### 2. 바이러스 매개충의 생태 및 전염양식

배추 바이러스병의 가장 중요한 매개충인 진딧물의 고냉지 배추에서의 생태와 전염양식을 규명하기 위하여 대관령의 배추시험 포장에 yellow trap 2개를 설치하고 이 지역으로 비래하는 진딧물의 종류와 비래시기를 검정하였다. 그 결과 6월 말에서 7월초 및 8월 초순에서 8월 중순 사이에 가장





그림 4-1. 고냉지 배추 포장 주변에서 채집한 바이러스병징의 잡초.  
a: 개갯냉이(*R. atrovirens*), b: 명아주(*Chenopodium album*), c: 장구채  
(*Meilandyum firmum*)



많은 진딧물이 비래되는 양상을 보였다. 진딧물의 종류를 분리 동정한 결과는 목화진딧물(*Aphis gossypii*)이 가장 많았고, 다음으로 복숭아혹진딧물(*Myzus persicae*)의 비래가 많은 것으로 조사되었다(표 4-1). 박(1989)의 대관령 감자포장에 비래하는 진딧물의 조사에서도 우점종이 목화진딧물과 복숭아혹진딧물인 것으로 나타나고 있어, 본 조사의 결과와 일치하고 있다.

이러한 결과는 배추에 발생하는 TuMV나 CMV의 매개가 모두 진딧물에 의해서 이루어진다는 점과 특히 우점종인 목화진딧물과 복숭아혹진딧물이 이들 바이러스를 잘 매개한다는 사실은 고냉지 배추에 발생하는 바이러스의 매개자로서의 역할이 매우 클 것으로 추정되었다. 실제로 금년도에 조사한 고냉지 지역 배추의 바이러스병 발병양상이 7월말과 9월초에 많이 발생되었다는 점은 이들 비래진딧물에 의해서 매개된 바이러스들과 상관관계가 깊은 것으로 판단 되었다.

표 4-1. 대관령지역에서 시기별로 채집된 진딧물의 종류와 개체수

진딧물의 종류	6월			7월			8월	
	초	중	말	초	중	말	초	중
<i>Myzus persicae</i>	3	1	7	22	12	11	2	3
<i>Aphis gossypii</i>	8	4	22	35	9	19	69	67
<i>Lipaphis erysimi</i>			3	1				
Unknown	2	3	8	7				
계	13	8	40	65	21	30	71	70

\*복숭아혹진딧물(*M. persicae*), 목화진딧물(*A. gossypii*), 무테두리진딧물(*L. erysimi*).

#### 제 4 절 참고문헌

Arnold, W.N. and Bald, J.G. 1960. Turnip mosaic virus from two weed plants. *Phytopathology* 50 : 578-581.

Choi, J.K., Maeda, T. and Wakimoto, S. 1978. Serological properties of turnip mosaic virus. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 44 : 14-21.

Choi, J.K., Kwon, S.B., Lee, S.Y. and Park, W.M. 1990. Some properties of two isolates of cucumber mosaic virus isolated from *Aster yomena* and *Commelina communis*. *Korean J. Plant Pathol.* 6 : 138-143.

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.

Horne, R.W. and Wildy, P. 1963. Virus structure revealed by negative staining. *Advan. Virus Res.* 10 : 101-107.

小室康雄. 1973. 野菜のウイルス病. 農林省植物ウイルス研究所, 東京. p. 300.

Ouchterlony, O. 1962. Diffusion in gel methods for immunological analysis II. *Prog. Allergy* 6 : 30-154.

박규택. 1989. 대관령지역 감자 바이러스 매개 진딧물의 분류동정 및 방제체계에 관한 연구, 농시논문집 32 : 197-204.

# 제 5 장 배추바이러스병의 발생예찰 모델 및 피해분석

## 제 1 절 서 론

식물병의 발생을 미리 예찰하는 것은 병의 방제에 매우 중요한 의미를 갖는다. 따라서 세계적으로 그 나라의 중요 병에 대해서는 발생예찰 사업을 국가적으로 실시하고 있으며, 우리나라에서도 도열병을 비롯한 중요 병에 대해서는 농촌진흥청을 중심으로 매년 예찰사업을 실시하고 있다. 그러나 배추바이러스병에 대한 예찰은 아직까지 실시된 예가 없으며 이는 바이러스병을 방제할 수 있는 뚜렷한 대책이 없다는 것이 중요 원인이 되고 있다.

이 연구는 고냉지 배추에 발생하는 바이러스병을 정확히 검정하여 이의 방제기술을 개발하는 것을 최종 목표로 하고 있다. 따라서 배추바이러스병의 방제대책을 세우기 위해서는 이들 바이러스의 발생예찰을 모델화해서 매년 정확한 정보를 농가에 제공하는 것이 매우 중요한 일이된다.

한편 배추에 발생하는 바이러스병에 의해서 야기되는 배추의 피해를 정밀 분석하는 일은 바이러스병의 방제수준을 결정하는데 중요한 역할을 한다 (Harrington et al., 1989; McLean et al., 1986). 특히 지금까지 배추의 바이러스병을 대상으로 피해분석을 실시한 예가 없기 때문에 고냉지 배추바이러스에 있어서의 이러한 분석 결과는 금후 다른 작물의 바이러스병을 진단하는데 중요한 자료가 될 수 있을 것으로 생각된다.



## 제 2 절 재 료 및 방 법

### 1. 발생예찰을 위한 모델개발

바이러스병의 예찰 모델을 개발하기 위해서는 대상 지역의 기상환경(특히 온도 및 강수량), 진딧물의 비래상황 및 배추바이러스병의 발생상황을 년차별로 정밀 조사할 필요가 있다(Hull, 1965; Hull and Heathcote, 1967). 따라서 이 연구의 수행기간인 1995-1997의 조사자료가 필요하기 때문에 배추바이러스병의 발생예찰 모델의 개발은 최종보고서에서 결과를 얻을 수 있을 것으로 판단된다. 이 연구의 1년차인 1995년도에는 예비실험으로 예찰모델의 개발 가능성을 검토하는 기초조사를 실시하였다. 즉 구체적인 자료는 없으나 1992년도부터 1995년까지 개략적인 배추바이러스병의 발생상황, 고령지농업시험장에서 같은 기간에 조사한 대관령에 비례하는 진딧물의 발생량 및 기상자료를 종합하여 지금까지 알려진 바이러스병의 역학적 특성과 이들 요인(factor)의 상관관계가 연관성이 있는지의 여부를 추적하였다.

### 2. 바이러스의 이병에 따른 피해분석

바이러스병의 감염에 따른 배추의 피해는 지금까지 구체적으로 분석된 일이 없다. 따라서 매년 발생하는 고령지 배추바이러스병의 피해 정도가 어느 정도인지는 전혀 알려지지 않았으며, 이러한 결과가 없기 때문에 바이러스병의 방제대책을 세우는데 많은 지장을 초래하고 있다. 이 연구에서는 고령지 배추의 바이러스병의 이병에 따른 피해가 실질적으로 어떻게 나타나는가를 정밀 분석하기 위하여 연차적으로 실시할 예정으로 있다.

연구의 1차년도인 금년에는 배추의 바이러스병에 의한 피해분석을 고령지 배추의 주산단지인 평창군, 홍천군 및 횡성군을 대상으로 6월 중순부터

9월 하순까지 순기별로 발병율을 조사하고 가장 적게 발병된 포장과 가장 많이 발병된 포장을 비교하였다. 또한 조사한 각 지역의 전체 평균 발병율을 조사하여 이들 포장을 기준으로 피해지수를 계산하였다.

### 제 3 절 결과 및 고찰

#### 1. 바이러스병 발생예찰 모델

배추 바이러스병의 발생예찰을 위한 모델의 개발은 바이러스병의 발생시기, 발생량, 진딧물의 비래시기, 비래량을 조사하고, 고냉지지역의 기온과 강수량의 자료를 종합하여 분석하지 않으면 안된다. 따라서 실험 1년차인 1995년의 자료만으로는 상관관계를 분석할수 없기 때문에 과거에 조사한 1992-1995년의 TuMV발생량과 진딧물의 비래량 및 기상의 자료를 이용하여 예비실험을 실시하였다. 즉 1992년과 1994년은 고냉지 배추에서 TuMV의 발생이 매우 심하였으며, 1993년과 1995년은 발생이 적어 일부에서만 국지적으로 피해를 입은 것으로 조사 되었다. 그러나 특이한 점은 발생이 적은 해일지라도 국부적으로는 피해가 극심하였기 때문에 이러한 결과에 대해서는 금후 예찰 모델의 개발에 어려운 조건으로 작용할 것으로 추정된다. 과거 4년간의 TuMV발병은 다음과 같은 특성을 보이고 있다. 즉 매년 TuMV의 발생이 본격적으로 시작되는 시기는 그 해의 진딧물 발생이 최성기를 이루는 시기와 일치하고 있다. 또한 이러한 시기의 기상관계를 자료를 통하여 분석해 보면 최저 온도가 15 C를 넘고 있으며, 강수량이 예년에 비해 적은 시기가 TuMV의 격발과 일치하고 있는 점이다. 따라서 이러한 상관관계를 도표로 그려 보면 TuMV의 발생을 예측할 수 있는 좋은 자료가 된다(그림 5-1).

이러한 결과들로부터 고냉지 배추 바이러스병의 전반적인 발생예측과 예

찰의 모델이 개발될 수 있을 것으로 예상되어, 이 실험의 2-3년차 실험에서 조사하는 자료와 금년도의 결과를 가지고 발생예찰 모델을 개발할 계획이다.

## 2. 배추 바이러스병의 감염에 따른 피해분석

배추의 바이러스병에 의한 피해분석은 고냉지 배추의 주산단지인 평창군, 홍천군 및 횡성군을 대상으로 6월 중순부터 9월 하순까지 순기별로 발병율을 조사하고 가장 적게 발병된 포장과 가장 많이 발생한 포장을 비교하였다. 또한 조사한 각 지역의 전체 평균 발병율을 조사하여 이들 포장을 기준으로한 피해지수를 계산하였다. 그 결과 바이러스병의 발생이 전혀 인정되지 않는 포장이 있는가 하면, 반면에 최고 70%의 발병을 나타낸 곳도 인정되어 배추바이러스병의 발생이 지역적 또는 시기적으로 편중되어 집단 발생되고 있다는 사실이 확인되었다. 이들 지역에서의 바이러스병의 평균 발병율은 7.3%를 나타냈다. 한편 발병지수로 계산한 바이러스병에 의한 배추의 평균 감수율은 7%, 최고 21.4%로 지역 및 재배시기간에 따라 큰 차이를 나타냈다(표 5-1).

표 5-1. 고냉지 배추 재배지역의 바이러스병 발생 및 감수율

발병정도 (%)	6월			7월			8월			9월		
	M	L	E	M	L	E	M	L	E	M	L	
최저	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.5	
최고	1.5	4.0	24.0	9.0	4.5	14.5	19.0	45.0	70.0	32.5	11.5	
평균	0.5	2.0	3.6	1.8	1.5	4.5	5.2	19.9	25.7	9.4	6.5	
감수율	1.3			2.3			9.9			13.9		

\* E : 초순, M : 중순, L : 하순



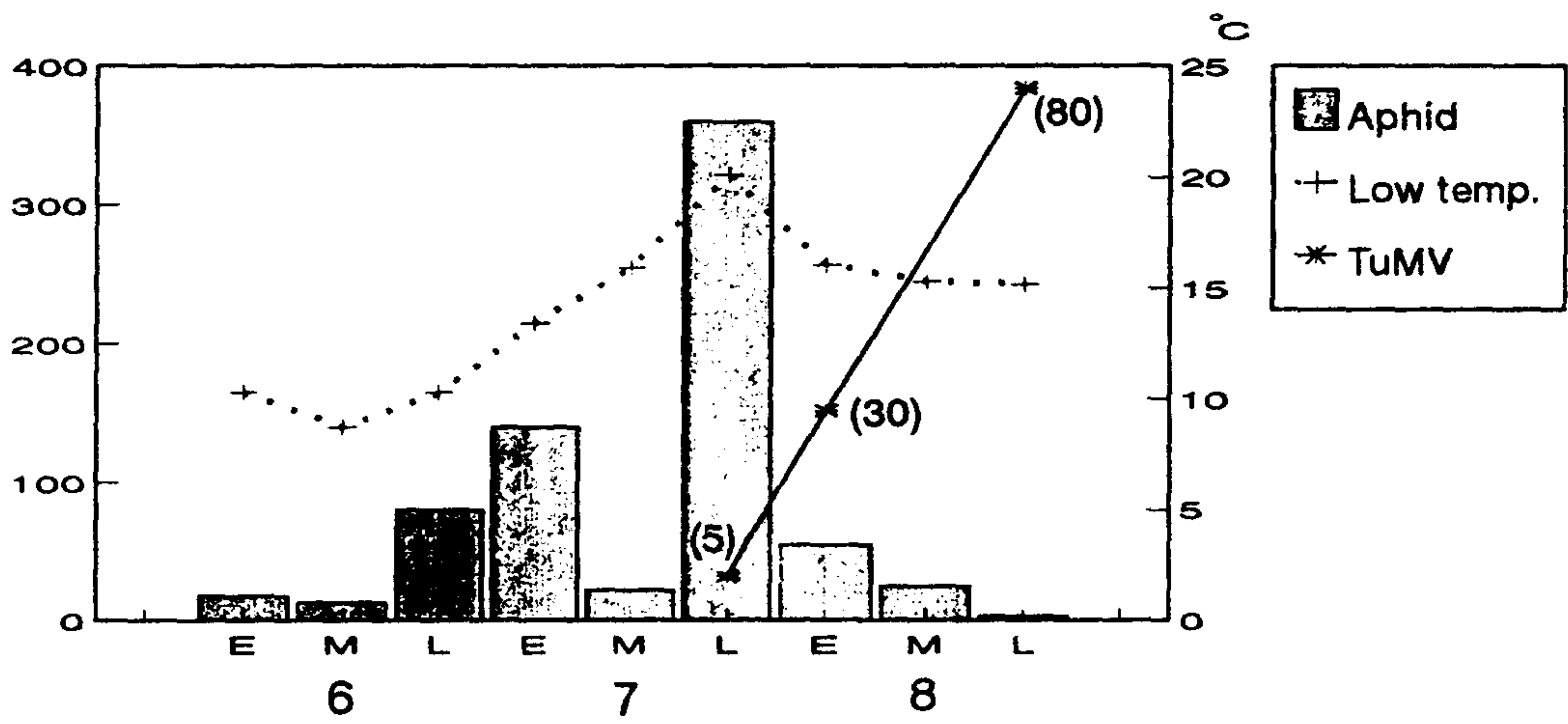


그림 5-1. 고냉지 배추에서 TuMV의 발생과 진딧물의 비래 및 기온과의 상관  
관계

#### 제 4 절 참고문헌

Harrington, R., Dewar, A.M. and George, B. 1989. Forecasting the incidence of virus yellows in sugar beet in England. *Ann. Appl. Biol.* 114 : 459-469.

Hull, R. 1965. Control of sugar beet yellows. *Ann. Appl. Biol.* 56 : 345-347.

Hull, R. and Heathcote, G.D. 1967. Experiments on the time of application of insecticide to decrease the spread of yellowing viruses of sugar beet, 1954-1966. *Ann. Appl. Biol.* 60 : 469-478.

McLean, G.D., Garrett, R.G. and Ruesink, W.G. 1986. Plant virus epidemics: Monitoring, Modelling and Predicting outbreaks. Academic Press, Florida.

## 제 6 장 배추바이러스병의 방제기술 개발

### 제 1 절 서 론

바이러스병의 방제는 다른 식물의 병해와는 달리 바이러스에 직접 효과 있는 약제가 없는 현상이기 때문에 경종적방제법이 중심이 되고 있다 (Harris and Maramorosch, 1982). 경종적 방제방법으로는 저항성 품종의 이용(Russell, 1960), 포장위생, 윤작, 간작, 경작시기의 조절, 토양개량 등의 수단이 있다. 종자나 종묘의 무독주를 이용하든가 또는 영양번식을 하는 식물의 경우 무독묘를 육성하는 일도 바이러스병의 방제 수단이 되고 있다. 한편 간접적인 효과를 얻기 위하여 매개충의 구제도 바이러스병의 방제를 위해서는 중요하게 활용되고 있다(Heathcote, 1978; Russell, 1966).

이 연구는 고냉지 배추바이러스병의 효과적인 방제기술을 개발하기 위하여 연차적인 시범계획을 세우고 1차년도인 1995년도에는 기초적인 자료를 얻기 위한 실험을 실시하였다. 우선 고냉지에 현재 재배되고 있는 배추의 품종 이외에 바이러스병에 저항성을 갖는 품종을 선발하는 실험과 경종적 방제의 수단으로 활용될 수 있는 몇가지 시설의 효과를 검정하였다.

### 제 2 절 재료 및 방법

#### 1. 바이러스 저항성 품종의 선발

현재 고냉지에서 재배되고 있는 배추의 품종은 매우 단순하여 '고냉지여



름'이 90% 이상 재배되고 있는 실정이다. 그러나 이 품종은 바이러스병에 이병성 품종이기 때문에 바이러스병이 만연하는 해에는 매우 큰 피해를 입고 있다. 따라서 품종의 다양화와 저항성 품종의 선발을 위하여 시판되고 있는 배추 품종 20종을 공시하여 금년도에는 배추바이러스로 가장 많이 분포하는 TuMV의 접종실험과 이에 따른 각 품종의 반응을 검정하였다. 바이러스의 접종방법은 은실에 각 품종의 배추를 파종하고(품종당 30개체, 3반복), 5-6엽기에 TuMV를 즙액접종한 후 발현되는 병징을 관찰하여 저항성 정도를 판정한 다음, 병징의 발현이 되지 않는 품종의 잎을 채취하여 전자현미경으로 관찰하여 바이러스의 존재를 조사하고 바이러스의 감염여부를 판정하였다.

## 2. 경증적 방제시험

고냉지 배추 재배지에서 실시한 망사시설(net-house)이 바이러스병의 발생에 미치는 영향을 조사하였다(그림 6-1). 즉 강원도 평창군 봉평면의 농가포장을 임대하여 망사시설을 설치한 실험구와 망사설치 후 기간별로 망사를 제거한 실험구 및 무처리구를 3반복으로 설정하고 바이러스병의 자연 발생율을 조사하여 망사처리가 바이러스병의 방제에 어느 정도 효과적인가를 검정하였다. 이때 각 처리구의 면적은 50평씩으로 구분하여 실시하였으며, 자연 발병되는 바이러스병징의 개체를 시기별로 육안관찰하고 이병율을 산출하였다(그림 6-2).

## 3. 생물적 방제시험

저항성품종의 활용이나 생물적방제 방법은 가장 이상적인 바이러스병의 방제대책이 될 수 있다. 특히 고냉지 배추는 청정의 이미지를 가지고 있기 때문에 생물적방제법의 개발은 매우 중요한 의미를 갖고 있다.

현실적으로 바이러스병의 방제는 전염경로를 차단하는 방법과 바이러스의 감염을 예방하는 방법이 실용화될 수 있는 가능성이 가장 높다. 이와같은 관점에서 1차년도에 생물적방제 실험은 매개충인 진딧물의 기피와 바이러스의 감염억제를 동시에 이룰수 있을 것으로 추정된 마늘 추출물(상품명: Garlic barrier, GB)의 효과를 검정하였다. 즉 GB의 50, 100, 150배 희석액을 이용하여 유묘기의 배추에 15일 간격으로 3회 경엽처리한 후 비래되는 진딧물의 수 및 바이러스병징의 출현율을 무처리구와 비교하였다.

### 제 3 절 결과 및 고찰

#### 1. 저항성품종의 선발

바이러스병에 대한 저항성품종을 선발하여 고냉지 재배에 적합한 형질을 가지면서 바이러스병에는 저항성인 품종육성에 기초자료로 활용하기 위하여, 현재 국내에서 재배되고 있는 품종 및 육종계통들을 공시하여 배추에서 분리한 바이러스에 대한 저항성시험을 실시하였다. 제1차 시험년도인 1995년에는 재배종 12품종을 공시하여, TuMV-cqs계통의 접종에 대한 각 품종의 반응을 검정하였다. 이때 대조 품종으로는 현재 고냉지에서 가장 일반적으로 재배되고 있는 고냉지여름 품종을 사용하였다. 그 결과 TuMV의 접종에 따른 병징이 전혀 발현되지 않는 품종이 2종, 열은 모자이크(mild mosaic) 반응을 보이는 품종이 4, 모자이크 및 엽맥투화의 병징으로 반응을 나타낸 것이 3, 식물체의 위축과 잎의 기형을 동반하는 심한 모자이크 증상의 품종이 3품종으로 분리되었다(그림 6-3). 한편 대조로 공시한 고냉지여름의 경우는 심한 모자이크 반응을 보였다. 그러나 접종에 이용한 TuMV에 대해서 저항성이나 중정도의 저항으로 판정된 품종들이 고냉지 재배에 적합한 품종들은 아니었

기 때문에, 이들을 이용한 고냉지 배추의 바이러스 저항성 품종육성을 위한 유전자원으로서의 활용성이 기대된다.

## 2. 경증적방제 시험

고냉지 배추 재배지에서 실시한 망사시설(net-house)이 바이러스병의 발생에 미치는 영향을 조사하였다. 즉 망사시설을 설치한 실험구와 망사설치 후 기간별로 망사를 제거한 실험구 및 무처리구를 3반복으로 설정하고 바이러스병의 자연 발생율을 조사하여 망사처리가 바이러스병의 방제에 어느 정도 효과적인가를 검정하였다. 그 결과 망사시설의 기간이 길어질수록 바이러스병의 발생이 낮아지는 경향을 보여 망사처리에 의한 배추 바이러스병의 방제효과가 인정되었다(표 6-1).

## 3. 생물적방제 시험

현재 바이러스병의 화학적방제는 불가능하다. 따라서 저항성품종의 활용이나 생물적방제 방법은 가장 이상적인 바이러스병의 방제대책이 될 수 있다. 특히 고냉지 배추는 청정의 이미지를 가지고 있기 때문에 생물적방제법의 개발은 매우 중요한 의미를 갖고 있다.

현실적으로 바이러스병의 방제는 전염경로를 차단하는 방법과 바이러스의 감염을 예방하는 방법이 실용화될 수 있는 가능성이 가장 높다. 이와같은 관점에서 1차년도에 생물적방제 실험은 매개충인 진딧물의 기피와 바이러스의 감염억제를 동시에 이룰수 있을 것으로 추정된 마늘 추출물(상품명: Garlic barrier, GB)의 효과를 검정하였다. 즉 GB의 50, 100, 150배 희석액을 이용하여 유묘기의 배추에 15일 간격으로 3회 경엽처리한 후 비래되는 진딧물의 수 및 바이러스병징의 출현율을 무처리구와 비교하였다. 그 결과 50배 희석액의 처리구에서 진딧물의 비래가 약간 감소하는 경향을 보였을



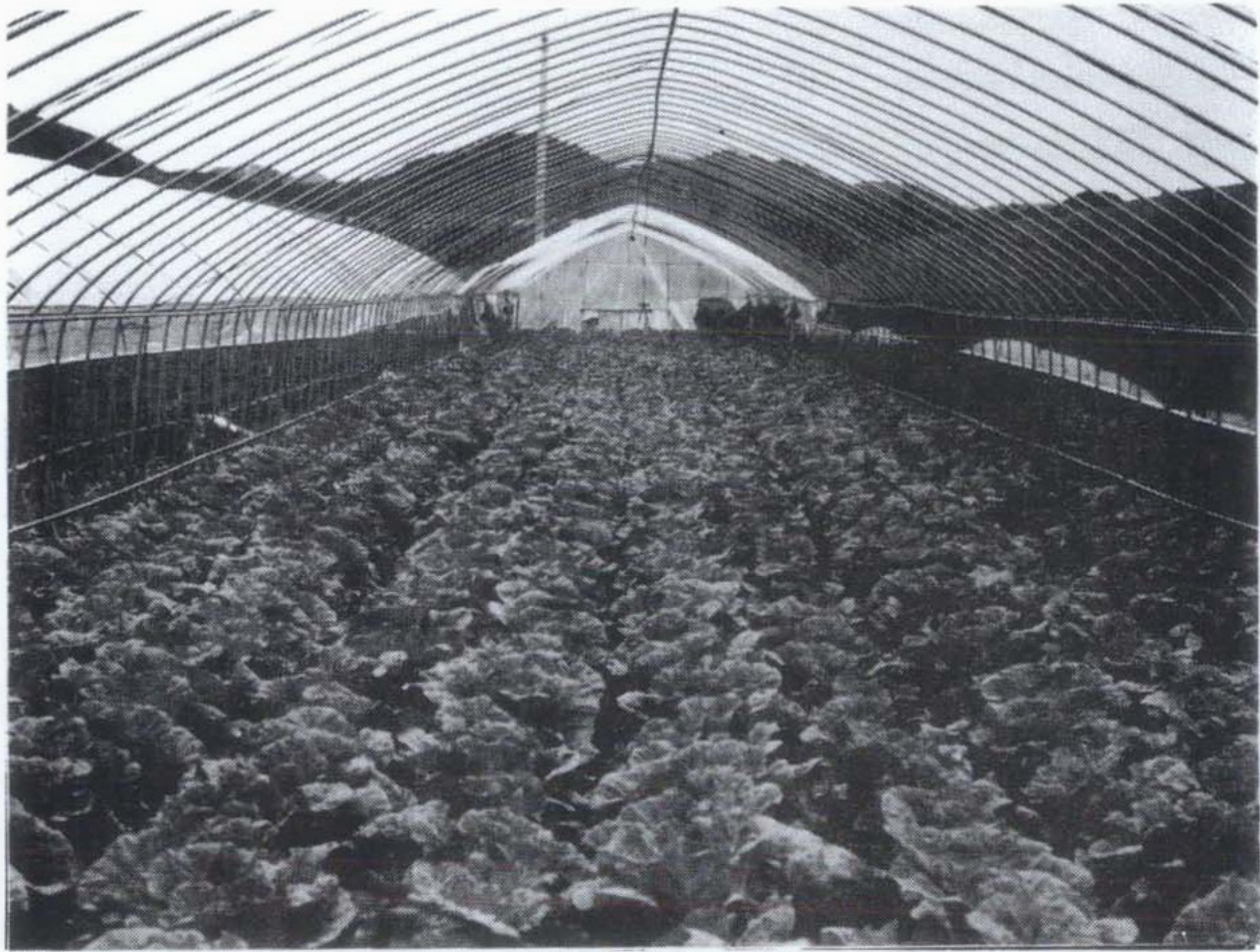


그림 6-1. 배추바이러스병의 방제실험을 위한 net-house시설.





그림 6-2. 배추바이러스병의 방제실험을 위한 포장.



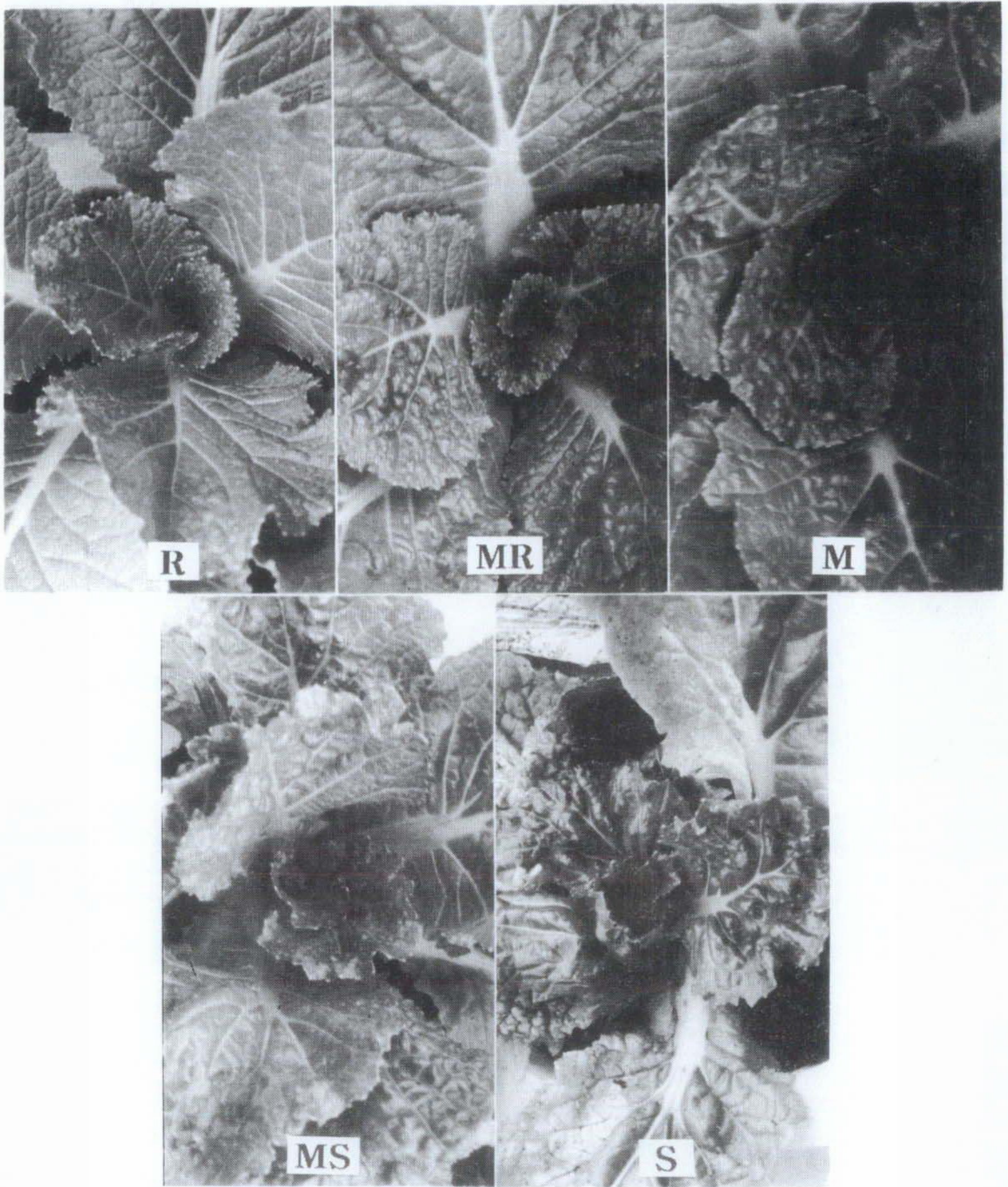


그림 6-3. TuMV에 대한 배추의 품종별 저항성 실험결과.  
 저항성정도 : 상에서부터 R, MR, M, MS, S로 판정된 품종들



표 6-1. 망사시설 재배에 따른 배추 바이러스병의 경감효과

망사재배기간	바이러스병 발병율				유의성 (DMRT)	방제가 (%)
	1반복	2반복	3반복	평균		
30 일	44.8	43.8	31.3	40.0	a	14.2
50 일	27.8	20.0	23.7	23.8	b	49.0
70 일	12.8	9.4	4.4	8.9	b	81.0
무처리	50.0	43.8	45.9	46.6	a	-

C. V. (%) - - - - - 10.63

뿐, 바이러스병징의 출현율에서는 처리간에 차이를 보이지 않아 GB의 효과가 배추에서는 나타나지 않았다(표 6-2).

표 6-2. 마늘 추출물의 진딧물 기피 및 바이러스병 출현 경감 효과

처리방법	조사 주수	포획 진딧물수 (1주당 평균)	바이러스병징 출현 주수
50배 희석	100	3.5	8
100배 희석	100	4.8	11
150배 희석	100	4.3	9
무처리	100	5.0	12

한편 배추 바이러스병의 토양전염성의 가능성을 조사하여 방제대책을 강구할 것을 목적으로 배추재배 포장의 토양조건을 달리하여 자연 발병되는 바이러스의 생태를 조사하였다. 그 결과 배추를 재배하지 않았던 밭토양이나, 무발병지에서 채취한 토양에서의 발병율과 전년도 극심하게 바이러스병이 발생하였던 토양에서 재배한 경우 모두 바이러스의 발병에 차이를 나타내지 않음으로서 배추 바이러스병의 토양전염 가능성은 없는 것으로 판명되었다(표 6-3).

표 6-3. 육묘 상토의 종류에 따른 배추 바이러스병의 발생율

상토의 종류	정식 15일 후	정식 30일 후
일반 밭토양	9.1	20.9
무발병지의 토양	2.2	21.7
전년도발병 토양	8.2	24.5
시판용 상토	6.0	30.0

\* 춘천시 농촌진흥원 포장에서의 실험



#### 제 4 절 참고문헌

Harris, K.F. and Maramorosch, K. 1982. Pathogens, vectors and plant diseases : Approaches to control. Academic Press, New York.

Heathcote, G.D. 1978. Review of losses caused by virus yellows in English sugar beet crops and the cost of partial control with insecticides. *Plant Pathol.* 27 : 12-17.

Russell, G.E. 1960. Breeding for resistance to sugar beet yellows. *Br. Sugar Beet Rev.* 28 : 393-398.

Russell, G.E. 1966. The control of *Alternaria* species in leaves of sugar beet infected with yellowing viruses. *Ann. Appl. Biol.* 57 : 425-434.