

한국산 마늘에서 분리된 응애전파성 바이러스

구봉진 · 장무웅* · 최양도¹
영남대학교 생물학과, ¹서울대학교 농화학과

Garlic Mite-borne Virus Isolated from Cultivated Garlic in Korea

Bong Jin Koo, Moo Ung Chang* and Yang Do Choi¹

Department of Biology, Yeungnam University, Kyongsan 712-740, Korea

¹Department of Agricultural Chemistry, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

ABSTRACT: Many cloves of native cultivated garlcs in Korea were found to be infested by mites when observed with stereo-microscope. The mite was identified by light and scanning electron microscopic observation as *Aceria tulipae*. Surveying viruses from the vegetatively propagated garlic, highly flexuous, filamentous particles (700~800 nm) were detected in *Aceria tulipae*, local lesions of *Chenopodium murale* after sap transmissions, mosaic garlic leaves inoculated with mite-borne virus by transmission of *Aceria tulipae* and naturally infected garlic leaves. The mite-borne virus isolates did not react with antisera of aphid-borne potyviruses (LYSV-G, LYSV-L, WoYSV) or carlavirus (GLV), but reacted with antisera of garlic mite-borne viruses (GV-C, GMbMV). In ultrathin sections of mite-borne virus infected garlic tissues, aggregates of virus particles and membrane proliferations were found in the parenchyma cells, but cytoplasmic cylindrical inclusions were not observed. Heavily mite-infested plants showed streaking and malformation due to mite feeding. The mite-borne virus was identified as garlic mite-borne mosaic virus (GMbMV), the mite-borne genus *Rymovirus* of the *Potyviridae* by mite transmission, morphology of virus particles, serological relationships, host range, distribution pattern of virus particles and inclusion bodies in the infected cells. The results demonstrate that mite-borne virus is one of the major viruses infecting native cultivated garlic plants showing mosaic or streak symptoms in Korea.

Key words: garlic mite-borne virus, GMbMV, DTBIA, ISEM, *Aceria tulipae*.

마늘은 우리나라의 4대 채소 중 하나로 채소류 생산의 약 30%를 차지하는 작물로 쌀, 소, 돼지 다음으로 중요한 농업소득 작물이며 연간 생산액은 8,000억원에 이른다(1991년 통계). 여기에 조미료뿐만 아니라 약리작용, 항암효과 등이 인식되어 국내외적으로 소비량이 급격히 증가하고 있으며 이에 따른 재배면적도 증가하고 있다. 그러나 영양번식에 의해 증식되는 마늘이 한 번 바이러스에 감염되어 종구로 이용되면 생산량의 감소는 상당한 것으로 보고되고 있다(24). 전 세계적으로 마늘 재배 지역에 마늘 바이러스의 발병이 알려져 있으며, 재배종 마늘은 물론 야생종 마늘도 상당수 바이러스에 감염되어 있어(2-6, 9-12, 14-18). *Allium*속에서 분리된 바이러스는 20여종이 보고되어 있으나, 마늘에서 분리되어 확실하게 동정된 바이러스는 10여종에 불과하다(19-22).

Van Dijk(20)는 1987년부터 1993년에 걸쳐 세계적으로 수집한 *Allium*에 속하는 야생종 8 종과 재배종 14종의 5,700식물체를 대상으로 바이러스를 분리·동정하였다. 그 결과 garlic latent virus(GLV), onion mite-

borne latent virus(OMbLV), onion mite-borne latent virus-garlic strain(OMbLV-G), leek yellow stripe virus(LYSV), leek yellow stripe virus-garlic strain(LYSV-G), onion yellow dwarf virus(OYDV), onion yellow dwarf virus-garlic strain(OYDV-G), shallot mite-borne latent virus(SMbLV), shallot yellow stripe virus(SYSV), shallot latent virus(SLV), welsh onion yellow stripe virus(WoYSV) 등 10여종을 분리·동정하였다. 일본에서 재배되고 있는 마늘에는 GLV, GMV, garlic mite-borne mosaic virus(GMbMV), LYSV, LYSV-G, OYDV, OYDV-G, WoYSV, GV(-A, -B, -C, -D) 등의 바이러스가 알려져 있다(12, 14, 16, 17, 23). 그 외 미국, 소련, 뉴질랜드, 브라질, 필리핀 등에서도 마늘에 발생하는 바이러스를 2~3종 보고하였으나 네덜란드와 일본에서 보고된 바이러스와 동일하였고, 정확한 바이러스의 분리·동정은 이루어지지 않은 실정이다(20).

현재까지 한국에서 재배되고 있는 마늘에 감염된 바이러스는 GLV, GMV, GMbMV, LYSV, LYSV-G, WoYSV가 보고되었다(4-6, 10, 11, 15). 이들 바이러스에 감염된 마늘의 생산량은 조직배양으로 얻어진 바이러스 무병

*Corresponding author.

독 마늘의 생산량에 비하여 약 50% 정도 감소된다는 보고가 있다(25). 또한 바이러스 무병독 마늘 유묘를 이용한 전통적인 토양 재배실험에서 밭에 나간 2년째 종구의 50%, 4년째에 100%가 바이러스에 재감염 되었다(9, 23, 24). 마늘에서 분리. 동정된 바이러스는 크게 3그룹 LYSV, OYDV, SYSV, WoYSV의 potyvirus, GLV, SLV의 carlavirus, GMbMV, OMbLV, SMbLV의 rymovirus로 분류하고 있다. potyvirus와 carlavirus는 진딧물에 의해 전파되고, rymovirus는 마늘혹응애(*Aceria tulipae*)에 의해 쉽게 전파되므로 마늘의 바이러스병 방제가 매우 어렵다(20, 21, 23).

이 연구에서는 한국산 마늘에서 마늘혹응애가 전파하는 GMbMV에 대한 분리·동정의 실험, 마늘혹응애에 의한 바이러스 전파시험, 이 바이러스가 바이러스 무병독 마늘 유묘에 단독감염 되었을 때의 병징 및 피해, 마늘밭에 있어서 마늘혹응애의 생태조사, 마늘혹응애의 가해에 의한 마늘의 피해 상황, 마늘 바이러스병의 진단법의 체계화 등에 대한 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

한국산 마늘의 채집. 1994년부터 1997년까지 충북, 충남, 경북, 경남, 전북, 전남 등 43곳의 마늘 재배지역에서 바이러스병 증상을 나타내는 한지형 및 난지형의 재래종 마늘, 남도마늘(중국 마늘), 대서마늘(스페인 마늘)과 충북 농촌진흥원 단양 마늘시험장의 품종보존용 외국 마늘(이태리, 중국, 미국, 일본, 스페인), 한국재래종의 조직배양에 의해 얻어진 마늘 및 지역에서 선발된 우수 품종의 마늘, 동양물산 중앙기술연구소에서 조직배양에 의해 얻어진 마늘 등의 식물체를 포장에 이식하거나 -70°C 냉동고에 보관하여 실험에 이용하였다. 또한 응애의 바이러스 보균이 확인된 종구를 포장에서 재배하여 바이러스에 감염된 종구와 응애를 유지시켜 실험재료로 이용하였다.

전자현미경적 관찰. 43지역에서 채집한 모자이크 증상(Fig. 1-B)과 생육불량 등을 나타내는 마늘잎은 DN법으로, 마늘잎 및 인편(clove)에서 수거한 마늘혹응애(*Aceria tulipae*)는 0.1 M 인산완충용액(pH 7.4)에 충분히 마쇄하여 2% uranyl acetate로 염색하여 투과전자현미경(Hitachi H-600)으로 바이러스 입자를 관찰하였다. 조직배양으로 얻어진 바이러스 무병독 마늘(Fig. 1-A)에 마늘혹응애를 이용하여 GMbMV를 단독 감염시킨 마늘 이병엽과, 자연적으로 복합 감염된 마늘의 이병엽, 바이러스 무병독 마늘잎을 2.5% glutaraldehyde에 전고정하고, 1% OsO₄에 후고정하여 연속농도의 알코올로 탈수한 후, Epoxy 수지에 포매하였다. 이것을 초박질편하여 uranyl acetate 및 lead citrate에 2중 염색하여 투과전

자현미경으로 관찰하였다.

면역전자현미경(ISEM). 본 실험에 사용한 GMbMV, LYSV-G, LYSV-L, WoYSV의 4종의 항혈청은 Yamashita(Aomori Green Biocenter, Japan)로부터 분양 받았고, GLV의 항혈청은 본 연구실에서 제작한 것이다. 43지역에서 채집한 모자이크 증상, 생육불량 등을 나타내는 마늘잎과 GMbMV에 단독감염이 확인된 마늘 이병엽, 경북 의성 지역과 경남 합천 지역에서 채집한 마늘혹응애를 0.1 M 인산 완충용액으로 마쇄한 다음, 항혈청으로 반응시켜 decoration 여부를 투과 전자 현미경으로 관찰하였다(7).

광학현미경적 관찰. 바이러스 무병독 마늘잎과 마늘혹응애를 이용하여 GMbMV를 단독 감염시킨 마늘 이병엽, 자연적으로 복합 감염된 마늘 이병엽의 표피세포를 2% methylene blue로 염색하여 세포질내 세포질 봉입체를 광학현미경으로 관찰하였다.

DTBIA(Direct Tissue Blotting Immunoassay). Lin 등(13)의 방법을 수정하여 DTBIA를 실시하였다. 43지역에서 채집한 모자이크 등의 증상을 나타내는 신선한 마늘잎과 조직배양에서 얻어진 바이러스 무병독으로 확인된 건전한 마늘잎을 살균된 면도칼로 잘라 그 단면을 nitrocellulose membrane(Sumi의 DTBIA Kit; Wakunaga Pharmaceutical Co., Japan)에 가볍게 누른 후, 1% BSA와 Triton X-100이 포함된 Block Ace solution(大日本製藥株式會社)에 실온에서 60분간 반응시켰다. 이후, 1/10×Block Ace 세정액에 세척한 후, GarV-C(miteborne virus), GPV-7(potyvirus), GCV-H(carlavirus) 3종의 항혈청(Sumi)을 희석한 후 60분간 반응시키고 세정액으로 세척한 후, 1/2,000배 희석된 alkaline phosphatase-labelled goat anti-rabbit IgG에 1시간 동안 반응시켰다. 이후, 세정액에 3회 세척하고 발색액인 Western Blue(Promega)에 발색시켜 결과를 판정하였다.

즙액접종. 바이러스 무병독 마늘 유묘와 *Allium*속 식물 및 *Chenopodium murale* 등의 검정식물은 온실에서 키웠고 살충제를 사용하여 진딧물 등의 곤충 발생을 방지하였다. 즙액접종은 접종원에 0.01 M 인산완충액(pH 7.0) 또는 0.05 M borate buffer(pH 8.5)를 첨가하여 마쇄, 착즙한 다음 carborundum을 사용하여 상법으로 수행하였다.

응애의 형태적 관찰 및 전파시험. 갈색으로 변색된 마늘 종구의 인편을 해부 현미경으로 관찰한 결과, 뿌리와 저장잎의 경계 부분 또는 갈색으로 변색된 저장잎에서 무색의 성충과 흰색의 알을 관찰할 수 있었다. 이들을 수거하여 원에연구소의 조명래 박사에게 1차로 의뢰하였던 바, 광학현미경에 의한 형태적 관찰결과 마늘혹응애(*Aceria tulipae*)로 확인하였다(1, 8). 수거한 응애를 5% glutaraldehyde와 1% osmium tetroxide에 각각 전고

정과 후고정을 한 후, ethanol series로 탈수시킨 다음 isoamyl acetate로 치환시켰다. CO₂ 임계점 건조기(Hitachi, Hep-2)로 건조시킨 다음 ion sputter(Eiko, EB-5)로 백금증착시켜 주사전자현미경(Hitachi ISI, SS-130)으로 관찰하였다. 전파시험에는 Fig. 1-F에 나타난 바와 같이 바이러스 무병독의 건전한 마늘 유묘 주위에 마늘 흑응애가 확인된 마늘 인편을 2~3개 놓고 종이 말이로

마늘 지상부를 씌워서 응애 전파시험을 하거나 해부현미경하에서 마늘 인편의 응애를 붓으로 바이러스 무병독 마늘 유묘에 옮겨 전파시험을 하였다(21).

바이러스의 순화. 복합 감염된 마늘인편과 잎, 화경 100 g을 재료로 하여 6배의 0.5 M borate buffer(10 mM EDTA, 0.2% thioglycolic acid, pH 8.6)를 첨가하여 3분간 균질화하였다. 이후, 2겹의 거즈로 걸러 10% CCl₄

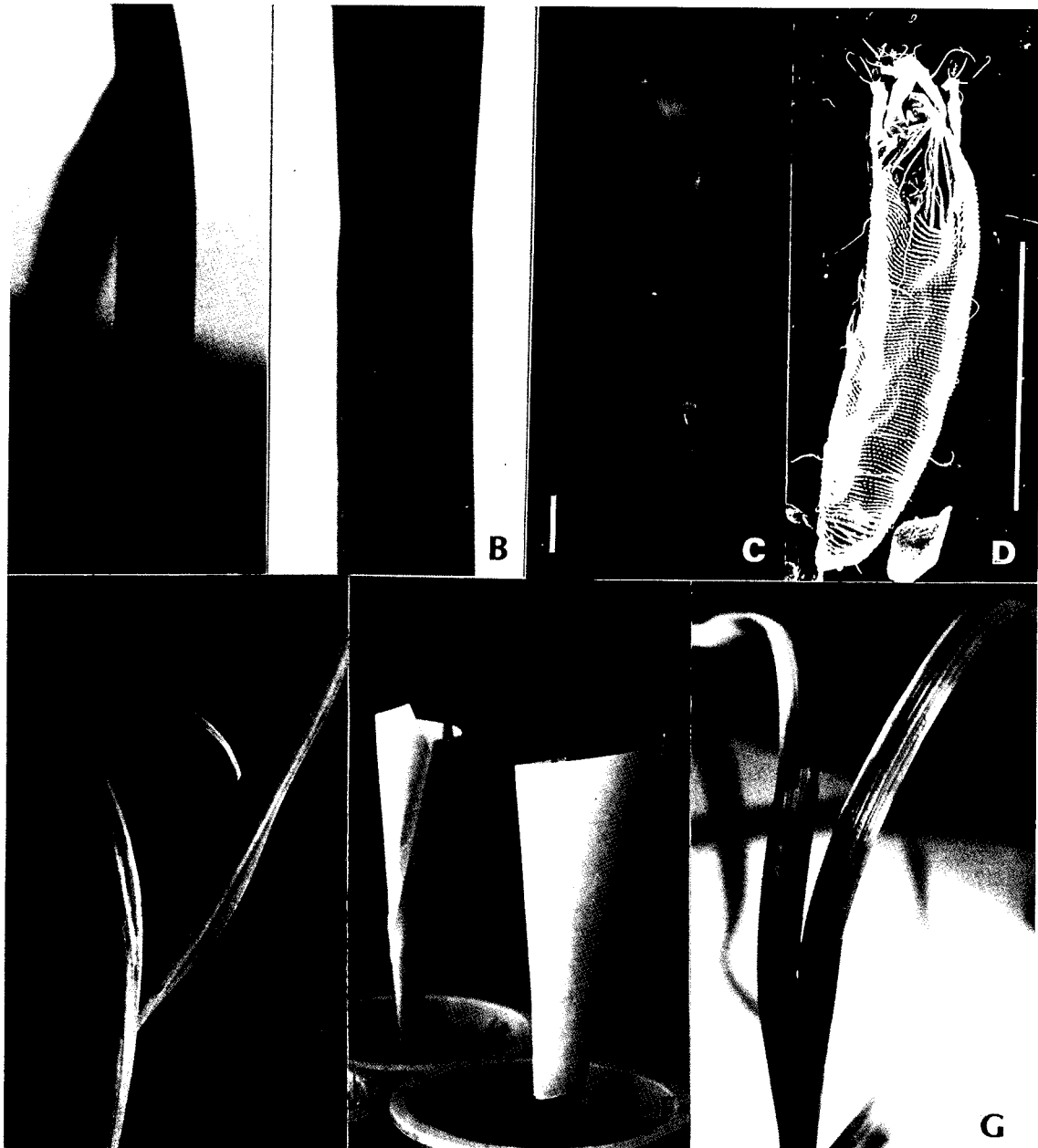


Fig. 1. A: Healthy leaf of virus-free garlic. B: Symptoms on garlic leaf infected with GMbMV, GLV and potyviruses mixturely. C: Binocular micrograph of *Aceria tulipae* colonizing on garlic leaf. D: Scanning electron micrograph of *A. tulipae*. E: Field-grown garlic plant showing diffuse yellow streaking, leaf distortion and delayed unfolding of leaf due to feeding by *A. tulipae*. F: Inoculation on virus-free garlic plant by placing slices of mites-infested cloves in a paper cone around the test plants. G: Symptoms on garlic leaf alone infected with GMbMV by transmission of *A. tulipae*. Bars indicate 10 μ m.

를 넣고 3분간 다시 균질화하여 상청액에 1% Triton X-100을 첨가해서 실온에서 30분간 교반시킨 다음, 30,000 rpm에서 90분간 초원심분리하였다. 상층액은 버리고 침전물에 원래 분량의 1/5배의 0.05 M borate buffer를 첨가하여 24시간 방치하였다가 현탁시켰다. 이것을 7,000 g에서 10분간 원심분리하여 상층액을 다시 초원심분리하여 얻어진 침전물에 0.05 M borate buffer를 첨가하여 현탁한 후 34,000 rpm에서 90분간 초원심분리를 반복하였다. 침전물에 10 ml의 0.05 M borate buffer를 첨가하여 현탁한 후, 0%~40% sucrose-CsCl step gradient로 조제하여 38,000 rpm에서 2.5시간 동안 초원심분리하였다. 유백색의 바이러스 밴드를 수거하여 40% CsCl에서 50,000 rpm으로 90분 동안 초원심분리한 후, 침전물을 0.05 M borate buffer(5 mM EDTA, pH 8.0)에 현탁하여 바이러스 시료를 준비하였다.

결 과

응애의 분류 동정. 해부현미경하에서 저장 마늘의 인편 및 생육중인 마늘 지하부(인편과 뿌리)와 지상부(잎과 줄기)에서 흰색 또는 무색 투명하고 체장이 250 μm 인 구더기형의 성충과 둥근 알을 관찰하였다(Fig. 1-C). 주사전자현미경으로 관찰한 결과, Fig. 1-D에 나타난 바와같이 배갑의 전연은 삼각형이었고, 정중조는 배갑의 후반부에 있었다. 전각은 경절모가 있고, 배모(감각모)는 배갑의 후연에 있는 돌기로부터 나와 뒤쪽으로 비스듬히 신장되어 있었다. 이와같은 형태학적 특징이 Ahmed & Benigno(1), 江原昭三(8), Van Dijk(21) 등이 보고한 *A. tulipae*와 동일하여 한국산 마늘에 기생하는 응애를 *Aceria tulipae*로 동정하였다.

면역전자현미경. GMbMV의 항혈청을 이용하여 43 지역에서 채집한 모자이크 증상 및 생육불량 등을 나타내는 마늘 잎(Fig. 1-B, E)과 화경, 경복 의성 지역과 경남 합천 지역에서 채집한 마늘혹응애를 시료로 하여 면역전자현미경으로 관찰하였다. Fig. 3-C의 면역전자현미경 사진에 나타난바와 같이 굴곡이 심한 사상형 바이러스 입자(700~800 nm)의 외피단백질(coat protein)과 GMbMV의 항혈청과의 항원-항체반응으로 인해 사상입자의 주위에 decoration이 일어났음을 관찰할 수 있었다. 그러나 decoration이 되지 않은 굴곡성이 없는 사상입자(600~800 nm)들도 동시에 관찰되어 GLV, LYSV-G, LYSV-L, WoYSV의 항혈청을 이용하여 ISEM으로 조사한 결과, 병징과 지역에 따른 바이러스의 종류와 양의 차이는 있었으나 4종의 항혈청에서도 같은 decoration을 확인하였다. 이상의 결과로부터 한국에서 재배되고 있는 마늘의 대부분이 GMbMV에 감염되어 있음을 확인하였다. 면역전자현미경에 의한 한국산 마늘의 바이러스 검

정에서 적어도 다섯 종류 이상의 바이러스가 복합감염되어 있음도 확인하였다.

DTBIA(Direct Tissue Blotting Immunoassay). Sumi로부터 분양 받은 GarV-C, GPV-7, GCV-H의 3종의 항혈청 Kit를 이용하여 수정된 DTBIA 방법으로 마늘 바이러스의 동정 및 감염여부를 조사하였다. Fig. 2-F에 나타난 바와같이 No. 2의 조직배양에서 얻어진 바이러스 무병독의 건전한 마늘의 대조구에서는 무반응이었으나, 나머지 대부분 지역에서는 항원-항체반응에 의하여 자주색으로 발색되었다. 이 실험 결과 무반응구(No. 2)인 동양물산 조직배양 1~2년차의 마늘을 제외한 조직배양 3년차의 마늘, 단양시험장의 한국재래종 우수품종과 한국산 마늘 대부분이 2종 이상의 바이러스에 복합감염되었음을 확인하였다.

응애의 가해 증상과 바이러스 전파. 해부현미경하에서 마늘혹응애가 확인된 마늘 종구의 인편 표면은 거칠고 갈색으로 변색되는 특이 증상을 확인하였다. 전국적으로 채집한 저장용 마늘 종구 대부분에서 마늘혹응애가 확인되었고, 이들 응애로부터 GMbMV의 입자를 전자현미경에서 확인하였다(Fig. 2-A, B). 마늘혹응애는 마늘 종구에서 월동하여 봄의 대기 온도가 20°C 이상이 되면 마늘잎 지상부로 이동, 잎을 가해하여 특이적 증상인 잎의 말림과 황색 큰 줄무늬를 동반한 생육불량(Fig. 1-E, G)을 나타내었다. 잎의 신장이나 새로운 잎이 나오면 응애는 잎의 주엽맥을 따라 이동하면서 번식하여 밀도가 급속히 커져(Fig. 1-C), 바람 등에 의해 주위 마늘로 이동하여 GMbMV를 전파시키는 것을 확인하였다. 면역전자현미경법에서 GMbMV의 감염이 확인된 마늘에서 채집된 응애로부터 GMbMV의 항혈청에 decoration된 입자(Fig. 2-B)를 확인하여 모든 응애가 바이러스 보균자임도 확인하였다. 마늘 인편에 기생하는 응애를 이용한 바이러스 무병독의 마늘 유묘의 전파 시험에서 GMbMV는 쉽게 전파됨을 확인하였다. GMbMV의 단독 감염이 확인된 무병독의 마늘 유묘의 병징은 황색 줄무늬 증상이었다(Fig. 1-G).

바이러스의 순화. 복합감염으로 보이고 병징이 심한 마늘의 인편, 잎, 화경을 시료로하여 원심분리 및 sucrose-CsCl step gradient에서 초원심분리한 결과, 2개의 유백색 바이러스 밴드를 관찰할 수 있었다. 두번째 밴드(step 40%)에서 수거한 시료를 역염색법과 면역전자현미경법으로 관찰한 결과, 굴곡이 심한 사상형 입자(Fig. 2-D)(700~800 nm)와 GMbMV의 항혈청에 decoration된 사상형 입자(Fig. 2-E)들이 확인되어 2번째 밴드가 GMbMV임을 확인할 수 있었다. 첫 번째 밴드에는 LYSV-G의 항혈청에 decoration된 굴곡성이 적은 사상입자를 확인하였다. 따라서 본 실험에서 시도한 바이러스 순화법은 GMbMV와 potyviruses에 복합 감염된 마늘을 이

용하여 GMbMV를 순수 분리하는데 매우 유효한 방법임을 확인하였다.

전자현미경적 및 광학현미경적 관찰. 면역전자현미경법에서 GMbMV의 항혈청에 decoration된 굴곡이 심한 사상형 바이러스 입자(700~800 nm)를 확인하였다. 마

늘 각기관에 기생하는 마늘혹응애를 수거하여 DN법에 의한 2% uranyl acetate로 염색한 시료를 투과전자현미경으로 관찰한 결과 굴곡이 심한 바이러스 입자의 집단을 관찰할 수 있었다(Fig. 2-A). 또한 바이러스 감염증상을 나타내는 마늘 식물체의 잎과 화경 및 인편의 시료를

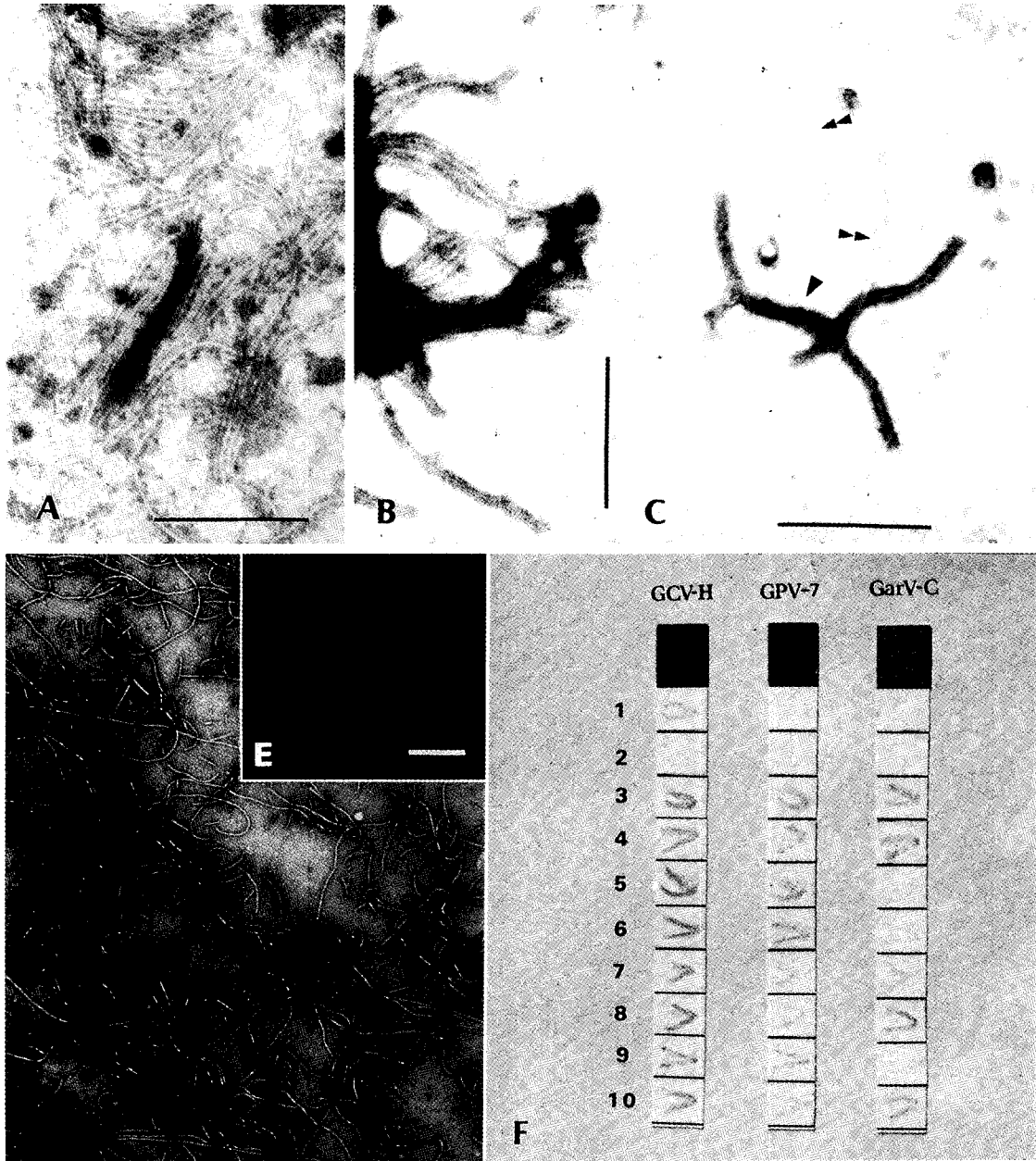


Fig. 2. A: Flexuous particles in negatively stained from *A. tulipae*. B: Flexuous particles decorated with GMbMV antiserum in ISEM from *A. tulipae*. C: Flexuous particles (arrow) decorated with GMbMV antiserum in sap of mixturely infected garlic leaf. Note GLV and potyviruses are not decorated rigid particles (double arrows). D: Flexuous GMbMV particles in purified preparation from garlic. E: Purified GMbMV particles decorated with GMbMV antiserum. F: Immunochemical detection of three types of garlic viruses by DTBIA. Antisera are GarV-C, GPV-7, and GCV-H. No. 2 is from virus-free garlic as a negative control. No. 1 is 3-years old plant of virus-free garlic. No. 3 to 10 are from cultivated garlic plants (No. 3; excellent species, No. 4; Tanyang, No. 5; Uisong, No. 6; Kosong, No. 7; Sosan, No. 8; Kangjin, No. 9; Haenam, No. 10; Muan). Bars indicate 50 nm.

DN법으로 관찰한 결과, 굴곡이 심한 사상형과 굴곡이 심하지 않은 사상형의 바이러스 입자(700~800 nm), 굴곡성이 적은 600 nm의 사상형 바이러스 입자, potyvirus의 감염에 의해 특이적으로 생성되는 2종류의 세포질 봉입체(sheet-formed inclusion, tube-formed inclusion)가 항상 확인되었다.

심한 모자이크 증상을 나타내는 마늘 이병엽과 Gmb-

MV의 단독감염이 확인된 무병독의 건전한 마늘 유묘의 황색 모자이크 증상의 이병엽을 초박질편하여 전자현미경으로 관찰한 결과는 다음과 같다. 심한 모자이크 증상의 유조직세포에서는 GLV, GMbMV, potyviruses의 사상입자가 세포질 전체에 충만된 상(Fig. 3-B)과 굴곡성 사상입자가 세포질에서 집단으로 뭉쳐있는 상을 관찰하였다. 또한 이와 같이 복합 감염된 유조직세포는 막상 구

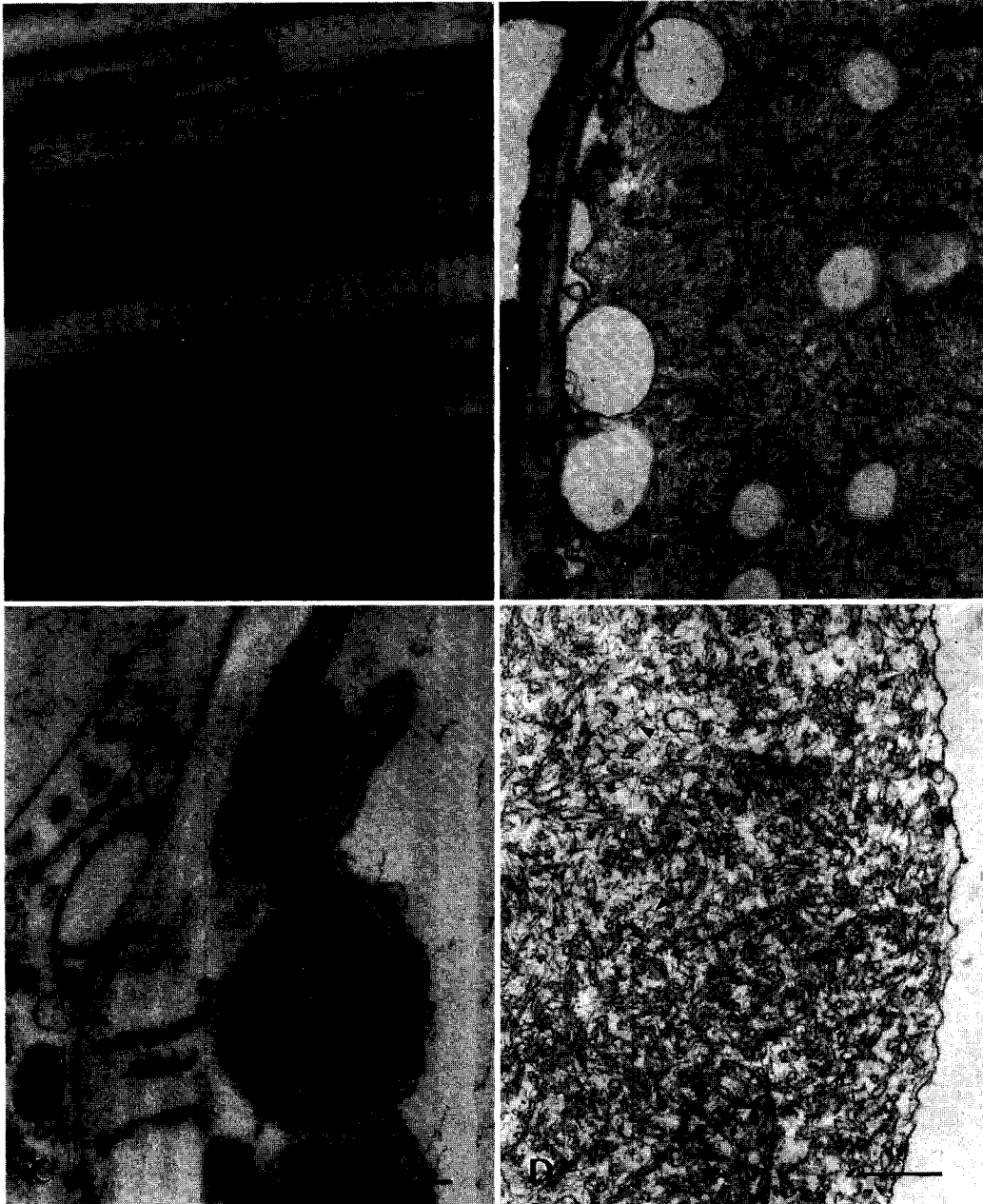


Fig. 3. A: Intracytoplasmic inclusion bodies (I) induced by GMbMV in epidermal cells of garlic leaf. B: Parenchyma cells of garlic leaf infected with GMbMV, GLV and potyviruses mixturely. Note the filamentous virus particles occupied most area of the cytoplasm. C and D: Parenchyma cells of garlic leaf infected with GMbMV alone. Note the large aggregate (V) of virus particles in the cytoplasm and the large membraneous complex including small organelles and scattered virus particles (arrows) in the cytoplasm. Bars indicate 50 nm.

조와 potyviruses에 의한 특이적인 세포질 봉입체의 대량 생성과 같은 세포질의 병변이 반드시 확인되었다. 그러나 GMbMV의 단독감염이 확인된 무병독 마늘 유묘의 황색 모자이크 이병엽의 유조직세포에서는 GMbMV의 굴곡성 사상입자가 세포질에서 집단으로 뭉쳐있는 상(Fig. 3-C)과 소포체와 같은 막상 구조, 세포소기관, 산재해 있는 바이러스 입자 등이 복합적으로 구성된 봉입체(Fig. 3-D)가 반드시 관찰되었으나, potyviruses에 의한 특이적인 세포질 봉입체는 관찰할 수 없었다. 따라서 복합 감염된 유조직세포에서 관찰된 대량적인 막상 구조는 GMbMV의 감염에 의한 세포질 병변임을 확인하였다.

세포질내 세포질 봉입체를 광학현미경으로 관찰하기 위하여 바이러스 무병독으로 확인된 건전한 마늘잎, 마늘혹응애를 이용하여 GMbMV를 단독 감염시킨 마늘 이병엽과, 자연적으로 복합 감염된 마늘의 이병엽의 표피세포를 methylene blue로 염색하였다. GMbMV에 단독 감염된 마늘(Fig. 3-A) 및 복합 감염된 마늘 이병엽의 표피세포에서는 과립성 세포질 봉입체가 관찰되었으나, 무병독 마늘에서는 세포질 봉입체를 관찰할 수 없었다.

GMbMV의 감염율. 전국 마늘 재배지역의 43개소에서 채집하여 바이러스 증상의 마늘 잎, 화경, 인편을 면역학적 바이러스 검정법(ISEM, DTBIA)을 이용하여 마늘의 바이러스 감염율을 조사한 결과, 한국의 마늘 재배농가에서 재배되고 있는 마늘은 물론 단양 마늘시험장의 품종 보존용 외국마늘 및 한국재래종 우수품종까지도 GMbMV를 포함한 2종 이상의 바이러스에 복합 감염되어 있었다. 또한 조직배양에 의하여 바이러스가 완전히 제거된 무병독 마늘 중구도 2년 노지재배 이후에는 2종 이상의 바이러스에 복합감염 되었음을 확인하였다. GMbMV의 분포는 전국적이었으나, 지역이나 마늘밭에 따라 바이러스의 농도나 다른 바이러스와의 복합감염의 조합도 상이하였다. 그러나 공통적으로 GMbMV가 가장 빈도가 높게 검출되었고, GMbMV와 다른 바이러스와의 조합에서도 심한 병징을 나타내어 마늘 바이러스병에 있어 가장 중요한 바이러스가 GMbMV란 사실도 확인할 수 있었다.

즙액접종에 의한 기주범위. *Allium*속에 속하는 양파(*Allium cepa*), 마늘(*A. sativum*), 부추(*A. tuberosum*), *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, *C. murale* 등의 검정식물에 즙액접종을 실시한 결과, GMbMV가 마늘에는 전신감염인 모자이크 병징을, *C. murale*에서만 퇴록 반점인 국부병징을 나타내었다.

고 찰

한국산 마늘에는 GLV, GMbMV, GMV, GVX, LYSV가 보고되고 있다(4-6, 9-11, 15). 본 연구 결과 일본에서

분양 받은 LYSV-G, LYSV-L, WOYSV, GMbMV, GLV 항혈청을 이용하여 면역전자현미경으로 검경하여 본 결과 이들 5종의 바이러스가 decoration 되었고, 이들 항혈청에 decoration되지 않은 사상형 바이러스가 관찰되었다(Fig. 2-C). decoration되지 않은 사상형 바이러스 입자를 OYDV-G로 추정하였다. 따라서 한국산 마늘에는 potyvirus에 속하는 GMV, LYSV, LYSV-G, OYDV-G, WOYSV, calravirus에 속하는 GLV, rymovirus에 속하는 GMbMV, GVX 등 8종의 바이러스가 혼합감염되어 있음을 확인하였다.

현재 마늘에서 분리된 응애전파성 바이러스는 GMbMV, GV-C와 OMbLV-G 3종이 보고되어 있는데 혈청학적 유연관계, 기주범위, 응애 전파성, 입자의 형상이 매우 유사하여 Potviridae의 rymovirus속으로 분류되고 있다(1, 23). OMbMV-G는 감염세포의 세포질 내에 과립성 세포질 봉입체(granular inclusion body)를 생성하지만(21), GMbMV는 세포질 봉입체를 생성하지 않는 것으로 보고되어(23) 현재 동일 바이러스인지를 확인 중에 있다. 본 실험에서는 Yamashita의 GMbMV 항혈청을 이용하여 ISEM으로 관찰한 결과, 한국산 마늘의 대부분에서 GMbMV의 항혈청에 decoration되는 바이러스 입자가 관찰되었고, 이 바이러스는 기주범위, 응애전파성, 입자의 형상, 감염세포내의 입자의 존재양식이 GMbMV와 유사하였다. 그러나 본 실험에서 분리된 응애전파성 바이러스는 감염세포의 세포질에서 세포질 봉입체(membrane proliferation)를 생성함이 관찰되어 일본의 GMbMV와 차이점이 확인되었다. Yamashita(23)는 OMbLV-G와 GMbMV의 차이점을 감염세포 세포질 내의 세포질 봉입체의 생성 여부에 두고 있다. 그러나 OMbLV-G에 감염된 세포에서 과립성 세포질 봉입체의 생성에 대한 관찰은 광학현미경의 결과이고(21), GMbMV가 세포질 봉입체를 생성하지 않는다는 것은 전자현미경의 관찰 결과(23)이다. 본 실험에서는 전자현미경에서 막상 구조와 바이러스 집단상 및 광학현미경에서 확인된 과립성의 세포질 봉입체가 확인되었다. 따라서, 감염세포에 대한 광학현미경 관찰에서 확인된 OMbLV-G의 과립성 세포질 봉입체와 본 연구에서 확인된 GMbMV의 과립성 세포질 봉입체는 동일한 것으로 판단된다. 광학현미경에서 관찰되는 과립성 세포질 봉입체는 전자현미경에서 확인되는 막상 구조의 세포질 봉입체와 동일하다는 보고가 있다. 따라서 Yamashita가 강조하는 OMbLV-G와 GMbMV의 차이점을 감염세포 세포질 내의 세포질 봉입체를 생성여부에 두고 있는 기준은 다시 한번 확인되어야 할 사항이라 사료된다.

Song 등(16)이 보고한 GVX는 coat protein의 염기서열이 GarV-type viruses와 shallot virus X(9) 2종의 바이러스와 유사하여 같은 그룹에 속하는 것으로 보고하였

다. 본 실험에서 Sumi로부터 분양 받은 GarV-C, GPV-7, GCV-H의 3종의 DTBIA용 항혈청 Kit를 이용한 결과와 Yamashita로부터 분양 받은 GMbMV의 항혈청을 이용한 ISEM의 결과를 비교 분석하였던 바 GarV-C와 GMbMV는 응애전파성이고 혈청학적으로 동일한 바이러스임을 확인하였다. 따라서 한국산 마늘에서 분리된 GVX는 GMbMV와 동일한 바이러스로 사료된다.

본 실험에서 GMbMV가 가장 높은 빈도로 검출되었고, GMbMV와 다른 바이러스와의 조합에서도 심한 병징을 나타내어 마늘 바이러스병에 있어 가장 중요한 바이러스로 확인되었다. 또한 Song 등이 보고한 GVX도 GMbMV와 동일한 바이러스로 생각되며 GMbMV가 한국의 마늘 재배에 있어서 가장 심한 피해를 일으키는 바이러스로 확인되었다.

요 약

한국산 재래종 마늘 인편을 해부현미경으로 관찰한 결과 응애가 높은 밀도로 기생하고 있음을 확인하였다. 응애는 광학 및 주사전자현미경의 형태학적 관찰에 의하여 *Aceria tulipae*로 동정하였다. 영양번식하는 한국산 마늘의 바이러스병 조사에서 자연 감염된 마늘 잎 및 여기에 기생하는 응애, 즙액점증에 의해 생성된 *Chenopodium murale*의 국부병반, 응애의 전파시험에서 감염된 마늘 잎 등의 시료로부터 굴곡성이 심한 사상형 입자(700-800 nm)가 검출되었다. 이 응애전파성 바이러스는 진딧물 전파성인 potyvirus(LYSV-G, LYSV-L, WoYSV) 및 carlavirus(GLV)의 항혈청과는 반응하지 않았으나, 응애전파성 GMbMV와 GV-C의 항혈청과는 반응하였다. 응애전파성 바이러스에 단독 감염된 마늘 이병엽 조직의 초박절편의 전자현미경 관찰에서 유조직의 세포질 내에 바이러스 입자의 집단상과 막상 구조의 대량생성이 확인되었으나, 세포질 봉입체는 확인되지 않았다. 응애의 가해에 의한 마늘의 특이적인 증상은 줄무늬와 잎말림을 동반한 생육불량이었다. 응애전파성 바이러스는 입자의 형상, 혈청반응, 기주범위, 감염세포내의 입자의 존재양식 등에 의해 *Potviridae*의 응애전파성 *Rymovirus*에 속하는 GMbMV로 동정하였다. 응애전파성 바이러스는 한국산 재래종 마늘의 퇴록색 모자이크 또는 줄무늬 병징의 주원인 바이러스 중의 한 종류임을 확인하였다.

감사의 말씀

이 연구는 한국 과학기술처 연구비에 의한 연구결과임.

참고문헌

1. Ahmed, K. M. and Benigno, D. A. 1984. Investigation

- into the relationship of the eriophyid mite(*Aceria tulipae*) with the 'tangle-top' and mosaic disease of garlic. *Bangladesh Journal of Agricultural Research* 9: 38-47.
2. Bos, L., Huijberts, N., Huttinga, H. and Maat, D. Z. 1978. Leek yellow stripe virus and its relationships to onion yellow dwarf virus; characterization, ecology and possible control. *Neth. J. Plant Pathol.* 84: 185-204.
3. Bos, L., Huttinga, H. and Maat, D. Z. 1978. Shallot latent virus, a new carlavirus. *Neth. J. Plant Pathol.* 84: 227-237.
4. 장무웅, 박우원, 정재동, 오중열. 1992. 마늘 잠재 및 모자이크 바이러스에 감염된 마늘의 조직배양에 의한 바이러스 무병독 식물체의 생산. *한국식물병리학회지* 8: 123-130.
5. 장무웅, 박우원, 정재동, 임기병, 나용준. 1988. 바이러스에 감염된 마늘 組織內的 마늘 잠재 바이러스(GLV) 및 마늘 모자이크 바이러스(GMV)의 存在樣式. *한국원예학회지*. 29: 253-265.
6. 정희돈, 장무웅. 1979. 韓國産 마늘의 virus 感染에 關한 研究. *한국원예학회지*. 20: 123-133.
7. Delecolle, B. and Lot, H. 1981. Garlic viruses: Detection and partial characterization with immune electron microscopy of three viruses in different garlic populations with mosaic. *Agronomie* 1: 763-770.
8. 江原昭三, 眞梶徳純. 1996. 植物ダニ學. 全國農村教育協會.
9. Kanyuka, K. V., Vishichenko, V. K., Levy, K. E., Kondrikov, D. Y., Ryabov, E. V. and Zavriev, S. K. 1992. Nucleotide sequence of shallot virus X RNA reveals a 5'-proximal cistron closely related to those of potexviruses and a unique arrangement of the 3'-proximal cistrons. *J. Gen. Virol.* 73: 2553-2560.
10. 라용준. 1973. 마늘 모자이크 바이러스에 관한 연구. *한국식물보호학회지* 12: 93-107.
11. 이기영, 장무웅. 1996. 한국산 재래종 마늘에서 분리된 Garlic mite-borne virus. *한국식물병리학회지* 12: 502-503.
12. Lee, W., Yamazaki, S., Ozaki, T. and Inouye, T. 1979. Two elongated viruses in garlic, garlic latent virus and garlic mosaic virus. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 45: 727-734.
13. Lin, N. S., Hsu, Y. H. and Hsu, H. T. 1990. Immunological detection of plant viruses and a mycoplasma-like organism by direct tissue blotting on nitrocellulose membranes. *Phytopathology* 80: 824-828.
14. Nagakubo, T., Kubo, M., and Oeda, K. 1994. Nucleotide sequences of the 3' region of two major viruses from mosaic-diseased garlic: Molecular evidence of mixed infection by a potyvirus and carlavirus. *Phytopathology* 84: 640-645.
15. Song, S. I., Song, J. T., Chang, M. U., Lee, J. S. and Choi, Y. D. 1995. Identification of one of major viruses garlic plants, garlic virus X. *Mol. Cells* 7: 705-709.
16. Sumi, S., Tsuneyoshi, T., and Furutani, H. 1993. Novel rod-shaped viruses isolated from garlic, *Allium sativum*, possessing a unique genome organization. *J. Gen. Virol.* 74: 1879-1885.
17. Tsuneyoshi, T. and Sumi, S. 1996. Differentiation among garlic viruses in mixed infections based on RT-PCR procedures and direct tissue blotting immunoassays. *Phyto-*

- pathology* 86 : 253-259.
18. Van Dijk, P. 1992. Virus diseases of shallot, garlic and welsh onion in Java, Indonesia, and prospects for their control. *Onion Newsletter for the Tropics* 4 : 57-61.
 19. Van Dijk, P. 1993. Carlavirus isolates from cultivated *Allium* species represent three viruses. *Neth. J. Palnt Path.* 99 : 233-257.
 20. Van Dijk, P. 1993. Survey and characterization of potyviruses and their strains of *Allium* species. *Neth. J. Palnt Path.* 99 Suppl 2 : 1-48.
 21. Van Dijk, P., Verbeek, M. and Bos, L. 1991. Mite-borne virus isolated from cultivated *Allium* species, and their clasification into two new rymoviruses in the family *Potyviridae*. *Neth. J. Palnt Path.* 97 : 381-399.
 22. Van Dijk, P. and Van Der Vlugt, R. A .A. 1994. New mite-borne virus isolates from rakkyo, shallot and wild leek species. *European Journal of Plant pathology* 100 : 269-277.
 23. Yamashita, K., Sakai, J. and Hanada, K. 1996. Characterization of a new virus from garlic(*Allium sativum*), garlic mite-borne mosaic virus. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 62 : 483-489.
 24. Walkey, D. G. A. and Antill, D.N. 1989. Agronomic evaluation of virus-free and virus-infected garlic(*Allium sativum*). *Jounal of Horticultural Science* 64 : 53-60.
 25. Walkey, D. G. A., Webb, M. J. W., Bolland, C. J. and Miller, A. 1987. Production of virus-free garlic(*Allium sativum*) and shallot(*A. ascalonicum*) by meristem-tip culture. *Journal of Horticultural Science* 62 : 211-220.

(Received April 1, 1998)