

## 오이/흑종호박 접목에서 오이녹반모자이크바이러스의 비기주 대목인 흑종호박으로 이동

최국선\* · 이진아 · 조점덕 · 정봉남 · 조인숙  
농촌진흥청 국립원예특작과학원 원예특작환경과

### *Cucumber green mottle mosaic virus* Moved into the Non-Host Figleaf Gourd Passing through Cucumber in Grafting System

Gug-Seoun Choi\*, Jin-A Lee, Jeom-Deog Cho, Bong-Nam Chung and In-Sook Cho

Horticulture & Herbal Environmental Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science,  
RDA, Suwon 441-440, Korea

(Received on April 30, 2009)

*Cucumber green mottle mosaic virus* (CGMMV) was not infected in figleaf gourd by sap inoculation. However CGMMV was detected by RT-PCR from the figleaf gourd collected from a field growing cucumber grafted onto figleaf gourd in Cheonan, Chungcheongnam Province in 2008. Which field showed 100% infection rate of the virus disease. In the experiment grafted with cucumber onto figleaf gourd, transportation of CGMMV through cucumber to figleaf gourd was confirmed by RT-PCR when the virus was mechanically inoculated on the leaves of the cucumber. The amplified DNA concentration of the virus on electrophoresis gel was much higher in the cucumber than in the figleaf gourd. However, the virus particles from the figleaf gourds were not observed under electron microscopy, also sap of the figleaf gourds was not transmittable to *Nicotiana benthamiana*. To identify the existence of CGMMV particle, the virus was purified from figleaf gourd and cucumber growing together in the graft system. CGMMV solution extracted from the cucumber represented a typical absorption spectrum of the virus but that from the figleaf gourd did not. Only a few CGMMV particles were observed in the purified preparation from the figleaf gourd. These results confirmed that CGMMV only passed through figleaf gourd in the grafting system. This study indicated that figleaf gourd is not a host of CGMMV.

**Keywords :** CGMMV, Cucumber, Figleaf gourd, Graft

오이녹반모자이크바이러스(*Cucumber green mottle mosaic virus*, CGMMV)는 종자·토양·접촉 전염되는 *Tobamovirus* 이다(Brunt 등, 1996). CGMMV는 Ainsworth(1935)가 처음 보고하였으며, 국내에서는 1989년에 수박에서 발생이 확인되었다(이 등, 1990). 1998년에는 중국에서 채종한 수박 대목인 'FR King II'의 종자에 이 바이러스가 오염되어 종자전염이 1차 전염원으로 작용하여 수박재배 면적 463 ha에 발생하여 막대한 경제적 피해를 초래한 바 있으며, 2000년에는 오이에 16.2 ha가 발생하였다(Choi, 2001). 수박에 감염되면 과실의 내부는 짙은 적색 및 공동과로

변하며, 오이의 과실은 작은 돌기로 기형과를 유발하여 결국 상품성을 손실한다. CGMMV가 발생한 경작지는 이 바이러스가 토양을 오염시켜 토양 전염원으로 또한 작용하고 있다. CGMMV의 오염토양에 수박을 연작 재배할 경우에는 토양 전염율이 0.2~3.5%이지만, 측순 제거 등 작업과정을 통하여 즙액전염이 되어 수확기에는 100% 발생한다고 하였다(최 등, 2004). 고 등(2004)은 오이 시판 34 품종에 대하여 CGMMV의 저항성 검정에서 모두 이 병성을 표현한다고 보고하였다. 그러나 대목에 접목한 오이에서 이 바이러스의 토양전염에 대하여 확실한 근거가 없다. 따라서 본 연구에서는 오이 대목으로 널리 사용되고 있는 흑종호박(*Cucurbita ficifolia* Bouché. 영명: figleaf gourd)에 대한 CGMMV의 정확한 감염여부와 오이를 흑

\*Corresponding author  
Phone) +82-31-290-6234, Fax) +82-31-290-6259  
Email) choigs@korea.kr

종호박에 접목시 CGMMV가 대목으로 이행성을 구명하여 토양전염의 가능성을 확인하고자 하였다.

### 재료 및 방법

**바이러스원.** 농촌진흥청 원예특작과학원에서 보존하고 있는 CGMMV type II(Choi, 2001)를 오이 또는 참박에 접종하여 모자이크 증상이 나타난 식물체를 온실에 보존하면서 전염원으로 사용하였다.

**바이러스 진단.** CGMMV의 감염 여부를 조사하기 위하여 오이 대목으로 사용되고 있는 흑종호박과 접수인 오이의 자엽에 0.01 M phosphate buffer(pH7.0)를 이용하여 바이러스를 접종하였다. 이들 식물체에서 바이러스 감염 여부는 Dip 방법 또는 미세절편으로 제작한 시료를 투과 전자현미경(Carl Zeiss 906, 독일)에서 검경하여 바이러스 입자의 존재 유무에 따라 감염 여부를 판정하였다. 이 바이러스의 생물적 활성 여부는 지표식물인 *Nicotiana benthamiana*에 접종하여 모자이크 증상의 발현 유무를 확인하였다. 또한 정밀진단을 위하여 RT-PCR로 수행하였다. Primer 제작은 Genebank Database를 활용하여 CGMMV의 외피단백질 유전자에서 상동성을 나타내는 부위를 대상으로 예상 합성 DNA 산물이 420 bp 크기의 프라이머를 작성하였다. CGMMV-Primer1은 5'-TGGTCGTGGTAAGCGGCATTCTA-3', CGMMV-Primer2는 5'-TACGGCGTTAAGCGACTCAGC-3'이었다. RT-PCR 조건은 48°C 45 min→94°C 2 min→35 cycles(94°C 30 sec→60°C 30 sec→72°C 1 min 30 sec)→72°C 10 min으로 실시한 후, 1.2% agarose gel 전기영동으로 목적 DNA 합성 유무를 확인하였다. 시료의 전체 RNA 추출은 액체질소를 이용하여 마쇄한 후, RNeasy Mini Kit(Qiagen, 미국)를 사용하였다.

**접목 전염 검정.** CGMMV가 접수인 오이에서 대목인 흑종호박으로 이행성을 검토하기 위하여 오이/흑종호박을 접목 14일 후에 CGMMV를 오이의 잎에 접종하였다. 접종 65일 후에 RT-PCR로 바이러스를 검정하였다. 또한 흑종호박에 오이를 접목한 후, 이들 두 식물체가 함께 자라게 하였다. 이어서 10일 후 오이 잎에 바이러스를 접종하여, 30일 후에 각각의 식물체 부위별 바이러스 이행성을 RT-PCR, 전자현미경 검경 및 지표식물 검정을 실시하였다. 상호 호접한 오이와 흑종호박의 식물체를 각각 수확하여 *Tobacco mosaic virus*의 정제 방법(이, 2000)으로 바이러스를 순화하여 자외선 흡광도 측정과 전자현미경으로 CGMMV의 입자를 검경하였다.

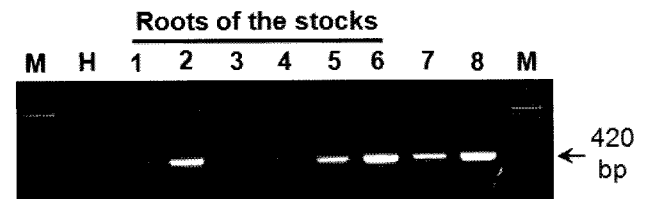
**‘흑종호박’ 뿌리 접종.** 대목용 흑종호박의 뿌리로부터 CGMMV의 감염 여부를 조사하기 위하여 이 종자를 습

실 처리하여 발아근의 선단 부위를 면도칼로 0.5 mm 크기로 단근 처리한 후, CGMMV의 조즙액이 담긴 1.5 ml 튜브에 3일간 침지하여 상토에 정식하였다. 대조구로 CGMMV에 감수성 수박 대목용 참박을 상기와 동일 처리를 하였다. 처리한 식물체는 정식 40일 후에 RT-PCR로 바이러스 감염 여부를 조사하였다.

### 결과 및 고찰

**농가 채집 오이 접목료 검정.** 2008년 3월 하순 충남 천안시 오이 시설재배지역에서 흑종호박에 접목한 오이 품종 ‘다맛다다기’에서 CGMMV의 이병율은 5%였으나, 수확말기인 7월 초순에는 100% 발생한 농가에서 대목인 흑종호박 뿌리와 접수인 오이 엽을 채집하여 바이러스를 검정하였다. 접수인 오이 잎에서는 전자현미경에서 Tobamovirus 입자가 검경되었고 즙액접종에서 *Nicotiana benthamiana*에 전신감염이 확인되었다. 그러나 대목 뿌리에서는 바이러스 입자가 관찰되지 않았고, 이 검정식물에도 감염이 되지 않았다. 하지만 RT-PCR에서는 접수뿐만 아니라 대목인 흑종호박 뿌리에서도 예상 합성 DNA 크기인 420 bp가 모두 검출되었다(Fig. 1).

**흑종호박 즙액접종.** 대목용 흑종호박에 CGMMV의 인위적 감염 여부를 조사하기 위하여 CGMMV를 오이 품종 ‘다맛다다기’ 13주와 ‘은성백다다기’ 15주의 자엽에 즙액



**Fig. 1.** Detection of CGMMV in the roots of figleaf gourds collected from a field growing cucumber (scion) grafted onto figleaf gourd (stock) in Cheonan, Chungcheongnam Province in 2008. M: marker, H: Healthy figleaf gourd root of the stock, 1-6: figleaf gourd roots of the stocks collected from the field, 7: Cucumber root of the scion collected from the field, 8: Leaf of cucumber mechanically inoculated with CGMMV.

**Table 1.** Reaction of cucumber and figleaf gourd mechanically inoculated with CGMMV

Cucurbits	No. of plants inoculated	No. of plants infected (%) <sup>a</sup>
Cucumber “Damatdadagi”	13	13(0)
Cucumber “Eunsungbakdadagi”	15	15(100)
Figleaf gourd “Hukjonghobak”	25	25(100)

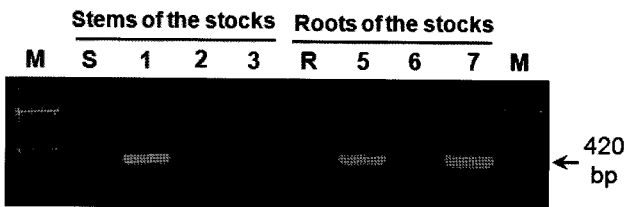
<sup>a</sup>Detection of the virus was done by RT-PCR and electron microscopy.

접종 한 결과, 100% 감염이 되었으나 ‘흑종호박’ 25주에서는 모두 증상이 나타나지 않았으며(Table 1), RT-PCR에서도 바이러스가 검출되지 않았다. 따라서 오이 2품종은 CGMMV에 이병성이었으나, 오이 대목으로 널리 사용되고 있는 흑종호박은 즙액접종으로 이 바이러스에 감염이 되지 않았다.

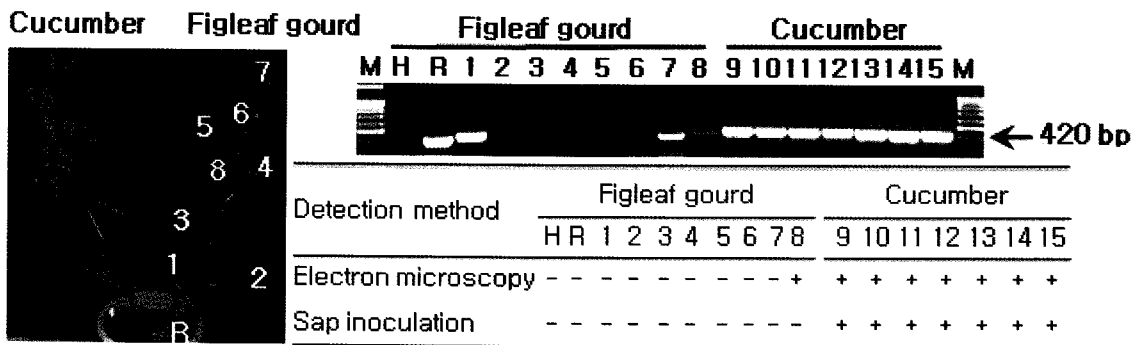
**접목묘에서 CGMMV 이행성.** CGMMV가 100% 감염된 오이재배 농가에서 채집한 흑종호박 뿌리에서는 RT-PCR에서 모두 양성반응을 나타냈지만, 인위적으로 접종한 흑종호박에서는 감염이 되지 않은 상반된 결과를 해석하기 위하여 흑종호박에 오이를 접목하여 CGMMV의 이행성 여부를 검토하였다. 우선 CGMMV에 즙액접종시 감염이 되지 않는 흑종호박에 오이를 접목하고 2주 후 오이 본엽에 이 바이러스를 접종하였다. 접종 65일 후에 RT-PCR로 바이러스 검정을 한 결과, 대목 흑종호박 줄기와 뿌리에서 모두 CGMMV가 검출되었다(Fig. 2). 또한 오이를 흑종호박에 접목 10일 후에 상기와 동일한 방법으로 바이러스를 접종한 다음, 두 식물체를 상호 자라게

하면서 30일 후하엽에서 상업 단계별 바이러스를 RT-PCR, 전자현미경 검경 및 지표식물로 생물검정을 하였다(Fig. 3). 오이와 흑종호박의 본엽과 덩굴손에서 RT-PCR에서 CGMMV의 420bp의 합성 DNA가 모두 검출되었다(Fig. 3). 이 DNA는 흑종호박의 뿌리와 제 1 본엽을 제외하고는 오이에서 상대적으로 높은 농도로 검출되었고 도관부위의 조직에 바이러스가 집적한 상태로 검경되었다. 이러한 현상은 오이에서 CGMMV는 어린 잎의 도관부위에 바이러스가 집적하여 존재한다는 보고와 일치하였다(Moreno 등, 2004). 그러나 흑종호박을 전자현미경으로 검경한 결과, 단지 덩굴손에서 극소수의 바이러스 입자가 확인되었다. 하였으나, RT-PCR로 바이러스가 상당히 고농도로 검출된 흑종호박의 뿌리, 제1본엽 및 제7본엽에서는 전자현미경으로 바이러스 입자는 검경되지 않았다. CGMMV의 입자를 재확인하기 위하여 상호 호접한 흑종호박과 오이의 엽을 각각 수확하여 바이러스를 정제하였다. 그 결과 오이에서는 다량의 바이러스 입자가 확인되었고 spectrophotometer로 흡광도 측정에서도 전형적인 바이러스 흡광도 패턴을 보였으나, 흑종호박에서는 몇몇 바이러스의 입자가 관찰되었고 대조구인 증류수와 동일한 흡광도 패턴을 나타냈다(자료생략). 또한 접목한 두 식물체의 부위별로 지표식물인 *N. benthamiana*에 즙액 접종한 결과, 오이의 모든 부위의 접종원은 지표식물에 모자이크 증상이 발현되었으나 흑종호박의 접종원에서는 감염이 되지 않음을 재확인하였다.

Moreno 등(2004)은 CGMMV의 전신이동은 바이러스 입자 형태로 체관과 도관을 통하여 이동한다고 하였다. 이러한 결과를 미루어 볼 때, 오이/흑종호박 접목시스템에서 오이에서 증식한 CGMMV가 흑종호박의 체관 및 도관을 통하여 극히 적은 농도의 바이러스 입자가 기계



**Fig. 2.** Detection of CGMMV in the stems and roots of figleaf guards in the grafting system. The analysis of RT-PCR was done at 65 days post inoculation in cucumber leaf of the grafting system, cucumber/figleaf gourd. M: marker, S: Healthy figleaf gourd stem, 1~3: Figleaf gourd stems in the grafting system inoculated, R: Healthy figleaf gourd root, 5~7: Figleaf gourd roots in the grafting system inoculated.



**Fig. 3.** Detection of CGMMV in figleaf gourd and cucumber growing simultaneously in the grafting system by RT-PCR, electron microscopy by dipping method, and sap inoculation on *N. benthamiana*. The virus was mechanically inoculated on the cotyledon of cucumber 5 days after cucumber seedling was grafted onto figleaf gourd. M: marker, H: Healthy leaf of figleaf guard, R: Figleaf guard root of the stock, 1~7: Leaves of figleaf guard, 8: Tendril of figleaf guard, 9~14: Leaves of cucumber, 15: Tendril of cucumber, +: Positive, -: Negative.

적 이동을 할 뿐 흑종호박 세포내에서는 바이러스가 증식을 하지 못하는 것으로 추정되었다. 금후 접목 시스템에서 흑종호박으로 바이러스의 정확한 이동 및 세포내에서 증식 방해 기작에 대해서는 더 많은 연구가 이루어져야 될 것이다.

**흑종호박 발아근 바이러스 접종.** 오이/흑종호박 접목묘에 대한 토양전염의 가능성을 확인하고자 다음과 같이 실시하였다. 흑종호박과 CGMMV의 기주식물인 수박 대목용 참박 종자를 습실 처리하여 발근 부위의 선단을 면도칼로 절단한 후, 이 바이러스의 조즙액이 담긴 1.5m/튜브에 발근부위가 절단된 발아 종자를 3일 침지하였다. 이어서 발아 종자 각각 상토에 정식하여 병징 발현 여부를 관찰하였다. 그 결과 참박은 30 시료 중 2 시료에서 바이러스에 감염되었고, 흑종호박은 29 시료에서 모두 감염이 인정되지 않았다. 이것은 흑종호박이 사용된 오이 접목묘에서는 토양으로 CGMMV가 전염이 되지 않는다는 것을 간접적으로 의미하고 있다. 따라서 전작기에 CGMMV가 오염된 토양에서 흑종호박에 접목한 오이 묘를 사용하면 토양전염을 방지할 수가 있다. 그러나 오이/흑종호박 접목묘의 접목부위가 지표면에 맞닿거나 깊이 정식할 경우에는 오이의 실생근이 형성되어, CGMMV가 오염된 토양으로부터 이 실생근을 통하여 바이러스가 전염할 가능성을 완전히 배제할 수는 없다고 사료된다.

따라서 오이 접목 재배에서 대목으로 널리 사용하고 있는 흑종호박의 잎에 즙액 접촉을 하였으나 감염이 되지 않았고, 접목 전염에서 바이러스 입자는 이 대목의 유관을 통하여 단순한 기계적 이동, 발아근 단근처리 접종에서 무감염 등의 결과로부터 오이 대목용 흑종호박은 CGMMV에 면역성 표현을 확인할 수 있었다. CGMMV로 오염된 토양에 오이를 재배할 경우에는 흑종호박을 대목으로 사용하고, 접수인 오이의 실생근이 출현하지 않도록 대목의 높이를 토양으로부터 충분히 노출시키면 이 바이러스의 토양전염을 예방할 수 있을 것으로 생각된다.

## 요 약

오이녹반모자이크바이러스(*Cucumber green mottle mosaic virus*, CGMMV)는 오이 대목용 흑종호박(figleaf gourd)에 즙액 전염이 되지 않았으나, 2008년 충남 천안지역에서 CGMMV의 발병율이 100%를 나타내는 오이재배 하우스에서 채집한 이 대목은 RT-PCR에서 모두 바이러스가 검출되었다. 흑종호박에 오이를 접목한 후 오이 잎에 CGMMV

를 접종하여 RT-PCR을 실시한 결과, 흑종호박에서 목표 합성 DNA가 검출되었다. 검출된 DNA의 농도는 흑종호박 보다 오이에서 훨씬 높게 나타났다. 그러나 바이러스 입자는 대목 부위에서 검경이 되지 않았을 뿐만 아니라, *Nicotiana benthamiana*에도 감염이 되지 않았다. 대목에서 CGMMV 입자를 확인하기 위하여 흑종호박과 오이를 접목하여 상호 성장하게 한 후 오이 잎에 바이러스를 접종한 다음, 각각 식물체로부터 바이러스를 정제하였다. 오이 추출물에서는 전형적인 바이러스 순화 흡광도 곡선이 나타났지만, 흑종호박 추출물에서는 흡광도 곡선이 나타나지 않았고 단지 극소수의 바이러스 입자가 검경되었다. 이러한 결과에서 CGMMV의 입자는 대목으로 단순하게 이동이 확인되었지만, 흑종호박은 이 바이러스의 기주식물이 아님을 입증하였다.

## 감사의 글

본 연구는 농촌진흥청에서 시행한 Biogreen 21 사업의 연구비 지원으로 수행한 연구결과물의 일부이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Ainworth, G. C. 1935. Mosaic disease of cucumber. *Ann. Appl. Biol.* 22: 55-67.
- Brunt, A. A., Crabtree, K., Dallwitz, M. J., Gibbs, A. J., Watson, L. and Zurcher, E. J., eds. 1996. *Plant Viruses Online: Descriptions and Lists from the VIDE Database*. Published by the Australian National University, Canberra, Australia.
- Choi, G. S. 2001. Occurrence of two tobamovirus diseases in cucurbits and control measures in Korea. *Plant Pathol. J.* 17: 243-248.
- 최국선, 김재현, 김정수. 2004. 수박에 오이녹반모자이크바이러스의 토양전염과 예방대책. *식물병연구* 10: 44-47.
- 고숙주, 이용한, 차광홍, 박진우, 최형국, 2004. 오이 종자로부터 CGMMV의 검출과 저항성 검정. *식물병연구* 10: 154-158.
- Lee, K. W., Lee, B. C., Park, H. C. and Lee, Y. S. 1990. Occurrence of cucumber green mottle mosaic virus disease of watermelon in Korea. *Korean J. Plant Pathol.* 6: 250-255.
- 이상용. 2000. 식물바이러스 실험서: 6-1-1 *Tobacco mosaic virus* 정제. 도서출판 서운. pp 124-124.
- Moreno, I. M., Thompson, J. R. and Garcia-Arenal, F. 2004. Analysis of the systemic colonization of cucumber plants by *Cucumber green mottle mosaic virus*. *J. Gen. Virol.* 85: 749-759.