국내에서 발생하는 복숭아 바이러스병

조인숙* · 조점덕 · 최승국 · 최국선

국립원예특작과학원 원예특작환경과

Occurrence of Stone Fruit Viruses on Peach Trees (*Prunus persica* L. Batsch) in Korea

In Sook Cho*, Jeom Doeg Cho, Seung Kook Choi and Gug Seoun Choi

Horticultural & Herbal Crop Environment Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science,
Rural Development Administration, Suwon 441-440, Korea

(Received on October 11, 2012; Revised on November 9, 2012; Accepted on November 14, 2012)

To investigate the occurrence of viruses in peach, leaf samples were collected from peach trees in commercial orchard of six areas in Korea. Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to identify the presence of the following stone fruit viruses: *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV), *Apple mosaic virus* (ApMV), *Prune dwarf virus* (PDV), *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV) and *Plum pox virus* (PPV). About 65.0% of the 515 samples were infected with ACLSV and PNRSV. Virus-like symptoms showing mosaic on leaves was observed in ACLSV infected peach trees. However, PNRSV infected peach trees showed no symptoms. These viral DNAs by sequence analysis were confirmed 4 ACLSV isolates and 3 PNRSV isolates. The Korean peach isolates of ACLSV and PNRSV showed 70–99% and 88–99% amino acid sequence identities, respectively, with those reported previously and their amino acid sequence identities with each other were approximately 95% and 88%, respectively. Phylogenetic analysis indicated that the Korean ACLSV isolates belong to the A group of ACLSV. The Korean PNRSV isolates reported in this study were grouped into I (PV32), II (PV96) and III (PE5) groups.

Keywords : ACLSV, PNRSV, Peach tree (*Prunus persica* L. Batsch), Sequence analysis

복숭아(*Prunus persica* L. Batsch)는 장미과(*Rosaceae*) 벚나무속(*Prunus*)에 속하는 과수작물로 국내 총 재배면적은 14,000 ha이고 생산액은 연간 143,000톤 정도이다(한국농촌경제연구원, 2011). 국내 복숭아에서 발생하는 병은 탄저병 등 21종이 보고되어 있으며, 이 중 바이러스병은 *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV), *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV) 2종이 기록되어 있다(한국식물병목록, 2009). 전 세계적으로 복숭아에 발생하는 바이러스병은 이들 2종 바이러스를 포함하여 *Plum pox virus* (PPV) 등 22여종이 보고되어 있으며(Fauquet 등, 2005) 이들 바이러스는 단독 혹은 복합감염 형태로 잎과 과실에 모자이크, 기형 등의 이상 증상으로 수세 약화 및 생산량 감

소로 경제적 피해를 주고 있다(Cambra 등, 2006; Pusey 등, 1991; Topchiiska, 1982). 복숭아 등 과수작물은 대부분 접목 또는 삽목을 통한 영양번식을 하므로, 일단 바이러스에 감염되면 계속적으로 후대에 전염되므로 이를 방지하기 위해서 무독묘(Virus-free)를 이용하는 방안이 제시되었다(Penrose 등, 1988).

지금까지 국내에서 발생된 ACLSV와 PNRSV는 진단과 바이러스의 일부 특성에 대한 연구(Kim 등, 2009; Lee 등, 2004)가 이루어졌지만 복숭아 바이러스병에 관한 전반적인 발생 등에 관련하여 보고된 바 없다. 따라서 본 연구에서는 2010년부터 2012년까지 국내 복숭아 주산단지인 경북 영천 등 6개 지역을 중심으로 주요 바이러스의 종류와 발생 정도를 조사하고, 분리주들에 대한 동정 결과를 토대로 국내 복숭아 무독묘 생산과 보급을 위한 기초 자료로 제공하고자 수행하였다.

*Corresponding author

Phone) +82-31-290-6237, Fax) +82-31-290-6259

Email) tuat@korea.kr

바이러스 검정 및 증상. 2011년 5월부터 2012년 5월 까지 복숭아 주산단지인 경북 영천, 청도, 충북 음성, 충주, 경기 이천, 강원 춘천 6지역에서 재배 농가별로 복숭아나무 10–20그루를 무작위로 선발하고, 복숭아나무 1그루당 3–5점의 잎을 채집하여 바이러스 검정에 사용하였다. 조사된 농가수는 41농가이고, 채집시료 수는 백도계 327점, 황도계 188점으로 총 515점이었다. 백도계 품종은 ‘천중도백도’, ‘상도백도’, ‘미백도’, ‘마도카’, ‘대월’ 등, 황도계 품종은 ‘장호원황도’와 ‘광월’을 사용하였다.

복숭아에 주로 발생한다고 보고된 ACLSV, *Apple mosaic virus* (ApMV), *Prune dwarf virus* (PDV), PNRSV, PPV 5종의 바이러스를 대상으로 검정하였다(Myrita 등, 2003). 전체 RNA는 NucliSens Extractor (Biomerieux)를 이용하여 추출하였으며, RT-PCR은 기존에 보고된 특이적 프라이머와 PCR 방법에 준하여 실시하였다(Cho 등, 2011; Lee 등, 2002).

RT-PCR 검정결과 전체 시료 515점 중 ACLSV가 334점, PNRSV가 22점 검출되었으며, 특히 PNRSV는 시료 21점이 ACLSV와 복합감염된 것을 알 수 있었다(Table 1). 정확한 동정을 위하여 RT-PCR 산물을 정제하여 염기서열을 분석한 결과, ACLSV 679–680 bp와 PNRSV 675–681 bp의 염기서열을 확인하였다. ACLSV는 외피단백질

유전자의 일부분과 3'UTR 부분의 염기서열이 분석되었고, PNRSV는 외피단백질 유전자 전체의 염기서열이 분석되었다. 그러나 PDV, PNRSV 및 PPV는 검출되지 않았다. 채집된 복숭아 시료는 총 335점 바이러스가 검출되어 65.0%의 감염률을 보였다. 조사 지역에 따른 바이러스 감염률은 청도 88.0, 영천 87.0, 이천 81.5, 충주 56.0, 춘천 49.0 및 음성 44.9% 순이었다. 이천과 춘천 지역에서는 ACLSV 만이 검출되었고, 청도, 영천, 충주, 음성 지역은 ACLSV와 PNRSV가 검출되었다. 바이러스 종류별 감염률은 ACLSV 64.9%, PNRSV 4.3%로 발생하였으며,

Fig. 1. Virus-like mosaic symptoms on peach tree leaves (*Prunus persica* L. Batsch) infected with ACLSV. **Left:** White flesh 'Kawanakajima Hakuto' cultivar, **Right:** Yellow flesh 'Changhowon Hwangdo' cultivar.

Table 1. Detection of five viruses infecting stone fruits by RT-PCR in peach orchards during 2011 to 2012

Location	No. of samples		Infection rate (%)	No. of samples infected with					Single Infection	Mixed Infection
	Tested	Infected		ACLSV ^a	ApMV	PDV	PNRSV	PPV		
Yeongcheon	69	60	87.0	60	0	0	8	0	52	8
Cheongdo	83	73	88.0	72	0	0	12	0	62	11
Eumseong	98	44	44.9	44	0	0	1	0	43	1
Chungju	100	56	59.0	56	0	0	1	0	55	1
Icheon	65	53	81.5	53	0	0	0	0	53	0
Chuncheon	100	49	49.0	49	0	0	0	0	49	0
Total	515	335	65.0	334	0	0	22	0	314	21

^aACLSV, *Apple chlorotic leaf spot virus*; ApMV, *Apple mosaic virus*; PDV, *Prune dwarf virus*; PNRSV, *Prunus necrotic ringspot virus*; PPV, *Plum pox virus*.

Table 2. Detection of five viruses infecting stone fruits by RT-PCR on different peach cultivars during 2011 to 2012

Cultivar	No. of samples		Infection rate (%)	No. of samples infected with					Single Infection	Mixed Infection
	Tested	Infected		ACLSV ^a	ApMV	PDV	PNRSV	PPV		
White flesh	327	204	62.4	203	0	0	21	0	184	20
Yellow flesh	188	131	69.7	131	0	0	1	0	130	1
Total	515	335	65.0	334	0	0	22	0	314	21

^aACLSV, *Apple chlorotic leaf spot virus*; ApMV, *Apple mosaic virus*; PDV, *Prune dwarf virus*; PNRSV, *Prunus necrotic ringspot virus*; PPV, *Plum pox virus*.

Fig. 2. Amino acid sequence alignments of CP of ACLSV (A) and PNRSV(B) of Korean peach isolates and other isolates. Previously reported sequences: (A) ACLSV-PE118D (AJ586646), PE56 (AJ586652), PE297 (AJ586651), PE154 (AJ586650), PE153 (AJ586649), PE152 (AJ586648), HBP (AY728180), PE150 (AJ586645), PE-FC (AJ586644) and Z1 (JN634760). (B) PNRSV-PV96 (SY8312), PV32 (Y07568), PE5 (L38823), PchCL.POM1 (EF565254), PchCL.sum1 (EF565259), PchBr.unk1 (EF565264), PchBr.unk3 (EF565266), PchUy.ear1 (EF565268) and PchAr.cril1 (AY007217).

품종별 감염률은 백도계 62.4%, 황도계 69.7%로 품종 간 큰 차이는 보이지 않았다(Table 2).

ACLSV가 검출된 이병주 앞에서 백도계와 황도계 품종 모두 5-6월경에 모자이크 증상이 관찰 되었으며(Fig 1), PNRSV가 검출된 이병주에서는 Kim 등(2009)이 보고

한 약한 모자이크 증상이 나타난다는 것과는 달리 이상 증상 등은 관찰되지 않았다. ACLSV와 PNRSV가 복합적으로 검출된 이병주에서도 모자이크 증상 이외에는 별다른 증상을 찾아볼 수 없었다.

외피단백질 유전자 분석. ACLSV가 검출된 영천 등

(A)

(B)

Fig. 3. Phylogenetic tree analysis of ACLSV (A) and PNRSV (B) of Korean peach isolates and other isolates based on CP amino acids. The Phylogenetic tree were generated by the neighbor-joining method with 1000 bootstrap replicates, using MEGA 5.0 software.

6개 지역에서 무작위로 선발한 이병시료 30점과 PNRSV가 검출된 영천, 청도, 음성, 충주 4개 지역의 모든 이병시료 22점으로부터 RT-PCR 산물의 유전자 염기서열을 분석한 결과, ACLSV 4개와 PNRSV 3개의 분리주들을 확인하였다. 이들 ACLSV 분리주들 간에는 82% 이상의 염기서열 및 95% 이상의 아미노산 서열 상동성을, PNRSV 분리주들 간에는 87% 이상의 염기서열 및 88% 이상의 아미노산 서열 상동성을 나타내었다. 바이러스 분리주들을 NCBI에 등록된 기존 분리주들과 아미노산 서열 상동성을 비교해 본 결과, ACLSV 분리주들은 70–99%, PNRSV 분리주들은 88–99%의 아미노산 서열 상동성을 보였다 (Fig. 2). 또한, 기존에 보고된 분리주들과 국내 복숭아 이병주에서 분리한 바이러스들의 계통학적 분석에서 ACLSV 분리주들은 분류된 A와 B 그룹(Al-Rawhni et al., 2004) 중 A그룹에 모두 속하였고, PNRSV 분리주들은 분류된 I (PV32), II (PV96), III (PE5) 그룹(Hammond, 2003)에 각각 하나씩 속하는 것으로 나타났다 (Fig. 3). 그리고 ACLSV

및 PNRSV 분리주들은 기존에 보고된 복숭아 분리주들과 지리적 분포에 따른 특별한 차이는 보이지 않았다. 앞으로 국내 복숭아 이병주에서 검출된 바이러스 분리주들이 복숭아 품질과 수량 등에 어떤 영향을 미치는지에 대해서는 추가적인 연구가 필요할 것이다.

본 연구는 2011년에서 2012년까지의 국내 복숭아 바이러스병의 전반적인 발생현황에 대한 보고로서 바이러스 검정 기술과 이들 바이러스 분리주들의 유전자 분석 자료는 금후 복숭아 등 핵과류 작물에 발생하는 바이러스병을 지속적으로 모니터링 하고 그 피해를 구명하는데 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

요 약

국내에서 재배되는 복숭아에 발생하는 바이러스병을 조사하기 위하여 경북 영천 등 복숭아 주산단지 6개 지역에서 전체 시료 515점을 채집하여 5종(ACLSV, ApMV, PDV, PNRSV, PPV) 바이러스의 감염여부를 RT-PCR 방법을 이용하여 바이러스 검정을 실시하였다. RT-PCR 검정 결과 전체 시료 515점 중 335점의 시료에서 ACLSV와 PNRSV가 검출되어 검정한 시료의 65.0%가 바이러스에 감염된 것을 확인하였다. ACLSV가 검출된 복숭아나무는 잎에 모자이크 증상이 관찰되었으며 PNRSV가 검출된 복숭아나무는 별다른 이상증상이 관찰되지 않았다. 검출된 바이러스의 유전자 염기서열 분석으로 ACLSV 4개와 PNRSV 3개의 분리주들을 확인하였으며 ACLSV 분리주들 간에는 95% 이상, PNRSV는 88% 이상의 아미노산 서열 상동성을 나타냈다. 기존에 보고된 ACLSV 및 PNRSV 분리주들과의 아미노산 서열 비교에서는 ACLSV 분리주들의 경우 70–99%, PNRSV 분리주들의 경우 88–99%의 상동성을 보였다. 이들 바이러스 분리주들의 계통학적 분석에서 ACLSV 분리주들은 A, B 그룹 중 A그룹에, PNRSV 분리주들은 I (PV32), II (PV96), III (PE5) 그룹에 각각 하나씩 속하는 것으로 나타났다.

References

- Al-Rawhni, M., Turturo, C., Minafra, A., Saldarelli, P., Myrta, A., Pallas, V. and Savino, V. 2004. Molecular variability of *Apple chlorotic leaf spot virus* in different hosts and geographical regions. *J. Plant Pathol.* 86: 117–122.
- Cambra, M., Capote, N., Myrta, A. and Llacer, G. 2006. *Plum pox virus* and the estimated costs associated with sharka disease. *EPPO Bull.* 36: 202–204.
- Cho, I. S., Chung, B. N., Cho, J. D., Choi, S. K., Choi, G. S. and

- Kim, J. S. 2011. *Hop stunt viroid* (HSVd) sequence variants from dapple fruits of plum (*Prunus salicina* L.) in Korea. *Res. Plant Dis.* 17: 358–363. (In Korean)
- Fauquet, C. M., Mayo, A. M., Maniloff, J., Desselberger, U. and Ball, L. A. 2005. Virus taxonomy. Eight Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier-Academic Press, Amsterdam.
- Gumus, M., Paylan, I. C., Matic, S., Myrta, A., Sipahioglu, H. M. and Erkan, S. 2007. Occurrence and distribution of stone fruit viruses and viroids in commercial plantings of *Prunus* species in western anatolia, Turkey. *J. Plant Pathol.* 89: 265–268.
- Hammond, R. W. 2003. Phylogeny of isolates of *Prunus necrotic ringspot virus* from the Ilarvirus ringtest and identification of group specific features. *Arch. Virol.* 148: 1195–1210.
- Kim, H. R., Lee, S. H., Shin, I. S., Kim, J. H., Cho, K. H., Heo, S., Kim, J. S. and Choi, Y. M. 2009. Characterization of *Prunus necrotic ringspot virus* isolate from peach in Korea. *Res. Plant Dis.* 15: 170–174. (In Korean)
- Lee, G. P., Ryu, K. H., Kim, H. R., Kim, C. S., Lee, D. W., Kim, J. S., Park, M. H., Noh, Y. M., Choi, S. H., Han, D. H. and Lee, C. H. 2002. Cloning and phylogenetic characterization of coat protein genes of two isolates of *Apple mosaic virus* from ‘Fuji’ apple. *Plant Pathology J.* 18: 259–265.
- Lee, S. H., Kim, H. R., Kim, J. H. and Kim, J. S. 2004. Improvement of RT-PCR sensitivity for fruit tree viruses by small scale dsRNA extraction and sodium sulfite. *Plant Pathology J.* 20: 142–146.
- Myrta, A., Di Terlizzi, B., Savino, V. and Martelli, G. P. 2003. Virus diseases affecting the mediterranean stone fruit industry: a decade of surveys. *Options Mediterraneennes: Serie B. Etudes et Recherches.* 45: 15–23.
- Niu, F., Pan, S., Wu, Z., Jiang, D. and Li, S. 2012. Complete nucleotide sequences of the genomes of two isolates of *Apple chlorotic leaf spot virus* from peach (*Prunus persica*) in China. *Arch. Virol.* 157: 783–786.
- Penrose, L. J., Davis, K. C. and Valentine, B. J. 1988. Comparative performance of three apple clones derived from a virus-tested scheme, with clones infected with latent viruses and a mycoplasma. *Sci. Hortic.* 36: 55–65.
- Pusey, P. L. and Yadava, U. L. 1991. Influence of *Prunus necrotic ringspot virus* on growth, productivity and longevity of peach trees. *Plant Dis.* 75: 847–851.
- Rana, T., Chandel, V., Hallan, V. and Zaidi, A. A. 2009. Molecular evidence for the presence of *Apple chlorotic leaf spot virus* in infected peach trees in India. *Sci. Hortic.* 120: 296–299.
- Topchiiska, M. 1982. Effect of *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV) and *Prune dwarf virus* (PDV) on some biological properties of peach. *Acta Hortic.* 130: 307–312.