노지재배 질경이(*Plantago asiatica*)에서 봉선화괴저반점바이러스병 발생 국내 첫 보고

First Report of Impatiens Necrotic Spot Virus on *Plantago asiatica* Cultivated in Open Fields

*Corresponding author

Tel: +82-63-238-6322

Fax: +82-63-238-6305

E-mail: chbn7567@korea.kr

정봉남^{1*} · 안태진² · 조인숙¹ · 윤주연¹

¹농촌진흥청 국립원예특작과학원 원예특작환경과, ²농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부

Bong Nam Chung^{1*}, Tae Jin An², In-Sook Cho¹, and Ju-Yeon Yoon¹

¹Horticultural and Herbal Crop Environment Division, National Institute of Horticultural and Herbal Science, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea

²Department of Herbal Crop Research, National Institute of Horticultural and Herbal Science, Rural Development Administration, Eumseong 27709, Korea

In August 2020, necrotic ringspots on leaves were observed on 20 from 143 *Plantago asiatica* plants in open fields in Eumseong, Chungcheongbuk-do. Eight symptomatic *Plantago asiatica* plants were subjected to investigation on viral infection by reverse transcription and polymerase chain reaction. Impatiens necrotic spot virus, tomato spotted wilt virus and cucumber mosaic virus were detected from the symptomatic plants. Two impatiens necrotic spot virus (INSV) isolates ('INSV-plantain kr1' and '-plantain kr5') were sequenced and analyzed by comparing L genomic segment, nucleoprotein (N) gene and non-structural protein 5 (NS5) gene sequences. The nucleotide sequence of 'INSV-plantain kr1' isolate (MW114834) was most closely related to that of a 'Phalaenopsis' isolate (GQ336991) from China in the L genomic segment. 'INSV-plantain kr1' and '-plantain kr5' isolates shared the highest identities with those from 'Pepe' isolate (LC384872) and 'J' isolate (AB109100) in the NS5 gene, respectively, and with that from 'YSMi-SH' isolate (FN400773) in the N gene. Phylogenetic analysis based on L genomic segment grouped the INSV-plantain kr1 isolate together with isolates from Korea (LC384870), China (GU112505, GQ336991), and Italy (DQ425094). This is the first report on INSV in *P. asiatica* from Korea.

Keywords: Impatiens necrotic spot virus, Necrotic ringspots, *Plantago asiatica*

Received November 4, 2020

Revised January 11, 2021

Accepted January 20, 2021

서론

질경이(*Plantago asiatica*)는 질경이과(*Plantaginaceae*)에 속하는 다년생 초본식물로서 주요 분포지는 한국, 일본, 사할린,

중국, 말레이시아 및 시베리아 동부이며(Kobayashi 등, 2001), 약용작물로서 이용되는 부위는 식물체 전체와 종자이다(Yin 등, 2010).

봉선화괴저반점바이러스(impatiens necrotic spot virus, INSV)와 토마토반점위조바이러스(tomato spotted wilt virus, TSWV)는 총채벌레류에 의해 전염되며 특히 꽃노랑총채벌레(*Frankliniella occidentalis*)에 의해 전염된다(Sakurai 등, 2004). INSV와

Research in Plant Disease

pISSN 1598-2262, eISSN 2233-9191

www.online-rpd.org

© The Korean Society of Plant Pathology

© This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

TSWV는 *Orthotospovirus*속에 속하는 바이러스로 INSV가 최초 발견시에는 TSWV 분리주로 분류하였으나, 1980년대 말부터 TSWV로부터 구분했다(Law와 Moyer, 1990). 유럽에서는 네덜란드에서 뉴기니아봉선화로부터 최초로 INSV 발생을 보고하였으며(De Ávila 등, 1992), 이후 이탈리아 등 지중해 국가에서 INSV 발생을 보고하였다(Vaira 등, 1993). INSV는 기주범위가 광범위하여 freezia, impatiens, primula, ranunculus, begonia, gerbera, gardenia와 hibiscus과 같은 화훼작물 및 원예작물에 피해를 주는 것으로 알려져 있다(Elliott 등, 2009). 네덜란드에서는 1998년에 파프리카, 시금치 및 토마토에서 INSV 발생을 보고하였다(Verhoeven과 Roenhorst, 1998). 이탈리아에서는 상추에 괴사 증상(Beris, 2020), 오이에서는 과일에 심각한 기형을 유발하는 것으로 보고하였다(Vicchi 등, 1999). 고추에는 신초의 기형, 황화 및 괴사 증상을 일으키는 것으로 보고하였다(Roggero 등, 1999). INSV는 현재 우리나라에는 발생이 되지 않는 바이러스로 검역관리병으로 지정하여 관리하고 있다. 그렇지만 2009년 강원도 삼척 등 고추 재배지 150농가(20 ha)에서 INSV가 발생하여 감염된 고추는 모두 폐기하였으며(미보고), 2017년에는 하우스에서 재배하는 관엽식물인 호야(*Hoya carnosa*)에서 발생하여 폐기된 바 있다(Kim 등, 2017).

2020년 8월 충청북도 음성 소재 국립원예특작과학원 실험포장에서 약용작물 실험용으로 재배하는 질경이 잎에 고리 형태의 괴사 증상이 관찰되었다. 이러한 증상을 포함한 바이러스 유사 증상이 실험 포장에서 재배하는 질경이 총 143개체 가운데 20여개체에서 나타났다. 고리 형태의 괴사증상을 일으킨 질경이 개체 모두에서 INSV가 검출되었는데 본 연구에서는 질경이

에서 검출한 INSV의 염기서열 분석을 통하여 기존 보고된 분리주들과의 분자적 유연관계를 비교하였다.

재료 및 방법

바이러스병 발생조사 및 증상. 2020년 8월 충청북도 음성군에 위치한 국립원예특작과학원 약용작물 시험포장에서 재배 중인 질경이 잎에서 전형적인 *Tospovirus* 감염 증상인 원형의 괴사 증상이 관찰되었다. 원형의 괴사 증상을 포함한 다양한 바이러스 증상을 나타내는 질경이 8 개체 및 바이러스 증상을 나타내지 않는 한 개체를 대상으로 바이러스 감염 여부를 확인하였다(Fig. 1).

Reverse transcription polymerase chain reaction 진단. 바이러스 정밀 검정을 위하여 INSV 분리주의 L 분절 유전체, nucleoprotein (N) 유전자 및 non-structural protein S (NSs) 유전자, cucumber mosaic virus (CMV)와 plantago asiatica mosaic virus (PIAMV)의 coat protein 유전자, TSWV의 N 유전자 특이 진단용 프라이머를 이용하여 reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)을 수행하였다. 핵산 추출은 RNeasy plant mini kit (Qiagen, Hilden, Germany)를 이용하여 9개의 샘플로부터 제조사의 권장 방법대로 식물체 전체 RNA를 추출하였다. RT-PCR 반응은 one-step RT-PCR 제품(Genetbio, Nonsan, Korea)을 이용하여 제조사의 권장 방법대로 수행하였다. RT-PCR에 사용한 바이러스 특이 프라이머의 염기서열은 Table 1과 같다.

Fig. 1. Detection of viruses in symptomatic *Plantago asiatica* plants cultivated in open fields by reverse transcription and polymerase chain reaction with specific primer pairs. Lanes 1–8, eight samples from eight symptomatic plants, each sample for each lane. Lanes 1–3, INSV infection; lanes 4, 7, and 8, TSWV infection; lane 5, CMV infection; lane 6, mixed infection by TSWV and CMV. PC, positive control; NC, non-symptomatic plant for negative control; INSV, impatiens necrotic spot virus; TSWV, tomato spotted wilt virus; CMV, cucumber mosaic virus; PIAMV, plantago asiatica mosaic virus.

Table 1. List of primers used to detect viruses from *Plantago asiatica* plants

Virus	Name	Nucleotide sequences (5'-3')	Product size (bp)
TSWV	TSWV865F	GATAAAGAAAGCTTTATATATTTA	865
	TSWV865R	TCAAAGCATATAACAACCTTCTACG	
INSV	INSV789F	ATGAACAAAGGAAAGATTACCAAG	789
	INSV789R	TTAAATAGAGTCATTTTCCCAAA	
CMV	CMV909F	GCTTCTCCGCGAGATTGCGT	909
	CMV909R	ATTCTCCACGACTGACCAT	
PIAMV	PIAMV508F	TTCGTCACCCTCAGCGG	508
	PIAMV508R	AAACGGTAAAATACACACCGGG	

TSWV, tomato spotted wilt virus; INSV, impatiens necrotic spot virus; CMV, cucumber mosaic virus; PIAMV, plantago asiatica mosaic virus.

Fig. 2. *Plantago asiatica* plants infected with INSV, TSWV, or CMV exhibit necrotic or chlorotic ringspots, chlorosis and crumpled leaves. Necrotic ringspots (A, E), chlorosis and vein necrosis (B, E) were observed from plants infected with INSV. Small necrotic ringspots and chlorotic spots were developed from plants by double infection with CMV and TSWV (C, E). Crumpled and stunted growth of leaves were observed from plants infected with CMV (D, E). INSV, impatiens necrotic spot virus; TSWV, tomato spotted wilt virus; CMV, cucumber mosaic virus.

바이러스 유전자 염기서열 및 유연관계 분석. RT-PCR 후 PCR 산물을 pGEM-T easy 벡터에 클로닝하여 Sanger-sequencing 방법으로 염기서열을 결정하였다. INSV는 'INSV-plantain kr1'

분리주의 L 분절 유전체의 전체 염기서열 및 'INSV-plantain kr1'와 'INSV-plantain kr5' 분리주의 N과 NSs 유전자의 염기서열을 결정하였다. TSWV와 CMV는 'TSWV-plantain kr8'와 'CMV-

plantain kr2' 분리주에 대한 각각 N 유전자와 coat protein 유전자에 대한 염기서열을 결정하였다. 염기서열이 결정된 유전자들에 대하여 GenBank 데이터베이스(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>)에 등록된 다른 분리주들과의 염기서열 상동성을 보기 위하여, DNASTar 프로그램의 ClustalW 방

법으로 정렬하여 비교하였다. 다른 분리주들과의 계통학적 연관성을 추정하기 위해서 MEGA X 프로그램을 사용하여 maximum likelihood method로 분석하였다(Kumar 등, 2018). 계통수의 가지에 대한 통계적 유의성은 bootstrap 1,000반복을 수행하는 방법으로 분석하였다.

Fig. 3. Phylogenetic analysis by Maximum Likelihood method showing the evolutionary relationship of genes of 'INSV-plantain kr1' and 'INSV-plantain kr5' isolates with other INSV isolates available in GenBank databases. (A) Complete nucleotide sequences of L genomic segment of 'INSV-plantain kr1' isolate. (B) N and NSs genes of 'INSV-plantain kr1' and 'INSV-plantain kr5' isolates. The percentage of trees in which the associated taxa clustered together is shown next to the branches. The tree is drawn to scale with branch lengths measured in the number of substitutions per site. Evolutionary analysis was conducted in MEGA X (Kumar et al., 2018). Phylogeny test was conducted by bootstrap method and number of bootstrap replications are 1,000. INSV, impatiens necrotic spot virus; N, nucleoprotein; NS, non-structural protein S.

결과 및 고찰

RT-PCR 진단 및 증상. 질경이 증상주 8 개체와 증상이 없는 한 개체에 대하여 표 1에 제시된 TSWV, INSV, CMV 및 PIAMV 특이 프라이머를 이용하여 RT-PCR한 결과, 증상을 나타내는 8 개체 가운데 3개체로부터는 INSV, 3개체로부터는 TSWV, 2개체로부터는 CMV, 이들 가운데 한 개체에서는 TSWV와 CMV가 모두 검출되었다(Fig. 1). 증상을 나타내지 않는 개체로부터는 4종 바이러스 어느 것도 검출되지 않았다(Fig. 1).

직경 약 8 mm 크기의 고리모양의 괴사 증상 또는 엽맥괴사를 포함한 부정형의 괴사증상을 나타내는 개체에서는 INSV가 검출되었다(Fig. 2A, B, E). 잎 괴사 및 황색반점을 보이는 잎에서는 TSWV가 검출되었다(Fig. 2C, E). 위축과 함께 잎이 쭈글쭈글해지는 증상을 나타내는 개체에서는 CMV가 검출되었으며(Fig. 2D, E), 직경 약 4 mm 크기의 고리 모양의 괴사증상과 더불어 황색반점, 위축 및 쭈글쭈글해지는 증상을 나타내는 개체

에서는 TSWV와 CMV가 모두 검출되었다(Fig. 2C, E).

바이러스 유전자 염기서열 및 유연관계 분석. ‘INSV-plantain kr1’ 분리주의 L 분절 유전체(MW114834)의 전체 염기서열을 대상으로 GenBank에 등록된 다른 INSV 분리주들과의 계통학적 유연관계를 비교한 결과, 한국에서 보고한 ‘Pepe’ 분리주(LC384870), 중국에서 보고한 ‘HDL’ 분리주(GU112505)와 ‘Phalaenopsis’ 분리주(GQ336991) 및 이탈리아에서 보고한 분리주(DQ425094)들과 같은 그룹으로 분류되었으며, 미국에서 보고한 ‘UP01’ 분리주(MH171172) 및 네덜란드에서 보고한 분리주(NC003625)와는 상대적으로 먼 연관관계를 보였다(Fig. 3A).

‘INSV-plantain kr1’ (MT951395)와 ‘INSV-plantain kr5’ (MW051707) 분리주의 N 유전자에 대하여 GenBank에 등록된 다른 분리주들과의 계통학적 유연관계를 비교한 결과, 우리나라에서 보고한 ‘Pepe’ 분리주(LC384872) 또는 ‘Hy-2’ 분리주(MG257892)에 비해 ‘L7075Gr’ 분리주(MN553562), ‘J’ 분리주(AB109100),

Fig. 4 . Comparisons of the sequence identity of INSV-plantain kr1 and -kr5 isolates with other INSV isolates available in GenBank, based on a CLUSTAL alignment prepared using DNASTAR software. Alignments were conducted with complete nucleotide sequences of L genomic segment of INSV isolates (A), N and NSs genes of INSV isolates (B, C). INSV, impatiens necrotic spot virus; N, nucleoprotein; NS, non-structural protein S.

‘YSMi-SH’ 분리주(FN400773)들과 연관성이 가까운 것으로 나타났다(Fig. 3B). NSs 유전자 부위에 대한 다른 INSV 분리주들과의 계통학적 연관성은 ‘INSV-plantain kr1’ 분리주(MW051708)의 경우 우리나라에서 보고한 ‘Pepe’ 분리주(LC384872) 및 중국에서 보고한 ‘Phalaenopsis’ 분리주(GQ336989)와 연관성이 높으며, ‘INSV-plantain kr5’ 분리주(MW051709)는 일본에서 보고한 ‘J’ 분리주(AB109100)와 유연관계가 높다(Fig. 3B).

‘INSV-plantain-kr1’ 분리주의 L 분절 유전체의 GenBank에 등록된 다른 분리주들과의 염기서열 상동성의 범위는 97.9–98.9%로 중국에서 보고한 ‘Phalaenopsis’ 분리주(GQ336991)와 98.9%의 가장 높은 상동성을 보였다(Fig. 4A). ‘INSV-plantain kr1’과 ‘INSV-plantain kr5’ 분리주의 GenBank에 등록된 다른 INSV 분리주들과의 N 유전자 부위의 염기서열 상동성은 98.1–99.6% 범위이며, 중국에서 보고한 ‘YSMi-SH’ 분리주(FN400773)과 99.6%로 상동성이 가장 높다(Fig. 4B). 우리나라에서 보고한 ‘Pepe’ 분리주(LC384872) 또는 ‘Hy-2’ 분리주(MG257892)들과는 각각 99.2% 또는 98.4%로 상대적으로 상동성이 낮다(Fig. 4B). NSs 유전자 부위에 대한 GenBank에 등록된 다른 INSV 분리주들과의 염기서열 상동성은 97.8–99.5% 범위이며, ‘INSV-plantain kr1’ (MW051708)의 경우 우리나라에서 보고한 ‘Pepe’ 분리주(LC384872)와 99.5%, ‘INSV-plantain kr5’ 분리주(MW051709)는 일본에서 보고한 ‘J’ 분리주(AB109100)와 99.3%로 가장 높은 상동성을 보였다(Fig. 4C).

‘TSWV-plantain kr8’ 분리주의 N 유전자 및 ‘CMV-plantain kr2’ 분리주의 coat protein 유전자 염기서열은 GenBank 데이터베이스 등록번호 MT951396와 MT951394에서 각각 확인할 수 있다.

본 연구에서 INSV 감염된 질경이에서 관찰한 고리모양의 괴사 및 엽맥괴사를 포함한 조직괴사 증상은 INSV에 감염된 다른 작물에서도 나타난 증상(Baker, 2007; Elliott 등, 2009; Kim 등, 2017)으로, 질경이에서도 INSV 감염에 의해 괴사증상이 나타나는 것으로 보인다.

최근 콩(*Glycine max*)을 감염시키는 *Tospovirus*속에 속하는 soybean vein necrosis virus가 종자에 의한 전염률이 6%라는 보고(Gloves 등, 2016)가 있기는 하지만, *Tospovirus*속 바이러스는 일반적으로 종자에 의해서는 전염되지 않는 것으로 알려져 있다(Moyer 등, 1999). 따라서 질경이를 감염시킨 INSV는 질경이 재배지 주변에 존재하던 전염원에 의해 총채벌레에 의해 전염되었을 것으로 추정된다. 본 연구에서 INSV 질경이 분리주들의 N유전자 염기서열 비교 분석결과로 보아 중국에서 보고된 ‘YSMi-SH’ 분리주(FN400773)와 상동성이 가장 높으며 우리나라에서 보고한 ‘Hy-2’ 분리주(Kim 등, 2017) 및 ‘Pepe’ 분리주(LC384872)와는 상동성이 상대적으로 낮지만, NSs 유전자

는 다른 분리주에 비해 ‘Pepe’ 분리주(LC384872)와 상동성이 가장 높았다. 그렇지만 GenBank 데이터베이스에 등록된 INSV 유전정보가 많지 않으며 특히 국내에서 가장 최근에 보고되었으며 질경이에서 INSV가 발생한 동일한 음성 지역에서 분리한 ‘Hy-2’ 분리주(MG257892)에 대한 염기서열 정보가 N 유전자 외에는 없어서 질경이에서 분리한 INSV의 유래에 관해서는 추정하기는 어렵다.

요 약

2020년 8월 충청남도 음성지역에서 노지에서 재배중인 질경이 143 개체 가운데 약 20개체의 잎으로부터 고리형태의 괴사 증상을 포함한 바이러스 유사증상이 나타나는 것을 발견하였다. 다양한 바이러스 증상을 나타내는 8개체로부터 *impatiens necrotic spot virus* (INSV), 토마토반점위조바이러스(*tomato spotted wilt virus*) 및 *cucumber mosaic virus*가 검출되었으며, 질경이모자이크바이러스(*plantago asiatica mosaic virus*)는 검출되지 않았다. 질경이로부터 분리한 ‘INSV-plantain kr1’ 분리주(MW114834)의 L 분절 유전체 전체 염기서열을 GenBank에 등록된 6개의 다른 INSV와 비교하였을 때 중국에서 보고한 ‘Phalaenopsis’ 분리주(GQ336991)와 가장 높은 상동성을 보였다. ‘INSV-plantain kr1’ (MT051395)과 ‘INSV-plantain kr5’ (MT051707) 두개의 분리주의 N 유전자는 중국에서 보고한 ‘YSMi-SH’ 분리주(FN400773)와 가장 높은 상동성을 보였으며, ‘INSV-plantain kr1’과 ‘INSV-plantain kr5’ 분리주의 NSs 유전자는 각각 ‘Pepe’ 분리주(LC384872)와 ‘J’ 분리주(AB109100)와 가장 높은 상동성을 보였다. ‘INSV-plantain kr1’ 분리주의 L 분절 유전체에 대하여 MEGA X 프로그램을 사용하여 다른 INSV 분리주와의 계통학적 연관성을 살펴본 결과, 우리나라에서 보고한 ‘Pepe’ 분리주(LC384870), 중국에서 보고한 ‘HDL’ 분리주(GU112505), ‘Phalaenopsis’ 분리주(GQ336991) 및 이탈리아에서 보고한 분리주(DQ425094)와 하나의 그룹으로 분류되었다. 질경이는 종자에 의해서 번식하기 때문에 INSV에 감염된 질경이가 해외에서 유입되었다기보다는 국내에서 감염되었을 가능성이 높다. 그렇지만 GenBank에 등록된 INSV 분리주에 대한 염기서열 정보가 많지 않기 때문에 질경이에서 분리한 INSV의 유래를 찾을 수는 없었다. 이 연구는 우리나라에서 질경이(*P. asiatica*)에 발생한 INSV에 관한 최초의 보고이다.

Conflicts of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was

reported.

Acknowledgments

This study was carried out with the support of the “Cooperative Research Program for Agriculture Science & Technology Development (Project No. PJ01260902)” of the Rural Development Administration, Republic of Korea.

References

- Baker, C. A., Davison, D. and Jones, L. 2007. Impatiens necrotic spot virus and tomato spotted wilt virus diagnosed in phalaenopsis orchids from two Florida nurseries. *Plant Dis.* 91: 1515.
- Beris, D. Malandraki, I., Kektsidou, O., Vassilakos, N. and Varveri, C. 2020. First report of Impatiens necrotic virus infecting lettuce in Greece. *Plant Dis.* 104: 2742.
- De Ávila, A. C., De Haan, P., Kitajima, E. W., Kormelink, R., Resende, R. D. O., Goldbach, R. W. et al. 1992. Characterization of a distinct isolate of tomato spotted wilt virus (TSWV) from *Impatiens* sp. in the Netherlands. *J. Phytopathol.* 134: 133-151.
- Elliott, D. R., Lebas, B. S. M., Ochoa-Corona, F. M., Tang, J. and Alexander, B. J. R. 2009. Investigation of impatiens necrotic spot virus outbreaks. *Australas. Plant Pathol.* 38: 490-495.
- Groves, C., German, T., Dasgupta, R., Mueller, D. and Smith, D. L. 2016. Seed transmission of soybean vein necrosis virus: the first *Tospovirus* implicated in seed transmission. *PLoS ONE* 11: e0147342.
- Kim, M., Kang, H.-J., Kwak, H.-R., Kim, J.-E., Kim, J., Seo, J.-K. et al. 2017. First report of impatiens necrotic spot virus in *Hoya carnosa* in Korea. *Res. Plant Dis.* 23: 383-387. (In Korean)
- Kobayashi, T., Okamoto, K. and Hori, Y. 2001. Variations in size structure, growth and reproduction in Japanese plantain (*Plantago asiatica* L.) between exposed and shaded populations. *Plant Species Biol.* 16: 13-28.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. and Tamura, K. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 35: 1547-1549.
- Law, M. D. and Moyer, J. W. 1990. A tomato spotted wilt virus-like virus with a serologically distinct N protein. *J. Gen. Virol.* 71: 933-938.
- Moyer, J. W., German, T., Sherwood, J. L. and Ullman, D. 1999. An update on tomato spotted wilt virus and related Tospoviruses. *APSnet Features*. Online publication. <https://doi.org/10.1094/APSnetFeatures-1999-0499>.
- Roggero, P., Dellavalle, G., Ciuffo, M. and Pennazio, S. 1999. Effects of temperature on infection in *Capsicum* sp. and *Nicotiana benthamiana* by impatiens necrotic spot tospovirus. *Eur. J. Plant Pathol.* 105: 509-512.
- Sakurai, T., Inoue, T. and Tsuda, S. 2004. Distinct efficiencies of impatiens necrotic spot virus transmission by five thrips vector species (Thysanoptera: Thripidae) of tospoviruses in Japan. *Appl. Entomol. Zool.* 39: 71-78.
- Vaira, A. M., Roggero, P., Luisoni, E., Masenga, V., Milne, R. G. and Lisa, V. 1993. Characterization of 2 tospoviruses in Italy: tomato spotted wilt and impatiens necrotic spot. *Plant Pathol.* 42: 530-542.
- Verhoeven, T. J. and Roenhorst, J. W. 1998. Occurrence of tospoviruses in the Netherlands. In: Fourth International Symposium on Tospoviruses and Thrips in Floral and Vegetable Crops, eds. by D. Peters and R. Goldbach, p. 77. Graduate Schools of Experimental Plant Sciences and Production Ecology, Wageningen, The Netherlands.
- Vicchi, V., Fini, P. and Cardoni, M. 1999. Presence of impatiens necrotic spot tospovirus (INSV) on vegetable crops in Emilia-Romagna region. *Inf. Fitopatol.* 49: 53-55.
- Yin, J.-Y., Nie, S.-P., Zhou, C., Wan, Y. and Xie, M.-Y. 2010. Chemical characteristics and antioxidant activities of polysaccharide purified from the seeds of *Plantago asiatica* L. *J. Sci. Food Agric.* 90: 210-217.