

과 제 구 분	대형공동	Code: LS0601	수행구분	전반기	연구기간	'00 ~ '02(완결)
연구 과제명	원예작물 국내 미동정 바이러스 분리, 동정 및 진단법 개발				과제책임자	권 순 배
세부 과제명	기타 원예작물 국내 미동정 바이러스 분리, 동정 및 진단법 개발					
연구원별임무						
구 분	소 속	성 명	담 당 임 무			
세부과제 책임자	특화작목개발시험장	권 순 배	설계 및 시험총괄			
공동 연구자	"	허 수 정	분리·동정 및 기주식물관리			
색인용어	<i>Zantedeschia mosaic virus</i> , <i>Dasheen mosaic virus</i> , <i>Lily symptomless virus</i> , <i>cucumber mosaic virus</i>					

ABSTRACT

Four kinds of plant viruses (*Zantedeschia mosaic virus*, *Dasheen mosaic virus*, *Lily symptomless virus*, *cucumber mosaic virus*) were isolated from *Zantedeschia* spp., *Colocasia esculenta*, *Pimpinella brachycarpa*, *Lilium lancifolium*.. A novel virus, *Zantedeschia mosaic virus*(ZaMV-Kr), causing mosaic and malformation symptoms was isolated from calla lily (*Zantedeschia* spp) in Korea and its biological and molecular properties were characterized. The virus was distinct from *Dasheen mosaic virus*, an araceae-infecting potyvirus, by serological and sequence analyses. Multiple alignments of the CP amino acid sequence between the virus and other potyvirus showed 51.8 to 62.1% identity. Phylogenetic analyses of the CP revealed that the virus could be clustered with Plum pox virus and Turnip mosaic virus. sequence comparison of the CP gene between the virus and three other ZaMV isolates from Taiwan showed over 93.9% identity, and most of amino acids changes occurred in the N-terminal region. sequence comparison of the 3' NTR revealed homology levels 27.0 to 47.9% between the virus and other potyviruses. Our results support ZaMV as a distinct species of the genus *Potyvirus*.

Taro *Colocasia esculenta* Schott originated in India and adjacent areas of southeast Asia and is now widely cultivated in Asia and Oceania. In some Pacific Coast countries, this crop is one of the main sources of starchy food. In Korea, the crop has been cultivated constantly over 4,000tons/year. In this study, Dasheen mosaic virus(DsMV-Kr), causing mosaic symptoms was isolated from taro, and its properties were characterized.

The local lesion symptom was found in inoculated leaves of *Tetragonia expansa* and systemic mosaic symptoms on *Zantedeschia aethiopica*, while 11 species of indicator plants did not infect. In an electron microscope, DasMV particles were long filamentous type, with about 850nm in length and 12 nm in width. Molecular weight of the viral CP was about 34 kDa in SDS-PAGE. Gel double diffusion test revealed

that DsMV was not serologically related to *Zantedeschia mosaic virus* (ZaMV) which has been reported an *Araceae*-infecting another *potyviruses*.

The coat protein(CP) gene of DsMV(-Kr) was cloned and their nucleotide sequences was determined. The sequence of the 3'-terminal 1,199 nucleotides, which consisted of the 3'-terminus of the partial nuclear inclusion body (Nlb), coat protein (CP) genes and 3'-non coding region. Similarity at the nucleotide and amino acid levels of CP and 3'-NCR were from 51.0 to 91.5% and from 49.1 to 93.9%, respectively, when compared with those of other potyviruses. Phylogenetic analysis of selected potyviral CP sequences indicates that the virus is an isolate of DsMV and distinguishable from other potyviruses. These results indicate a new strain of DsMV, and the name Kr strain of DsMV is hereby proposed. Lily symptomless virus(LSV) causing mild mosaic symptoms was isolated from *Lilium lancifolium* and its biological properties were characterized. Cucumber mosaic virus (CMV) causing yellow mosaic virus and malformation symptom was isolated from its biological properties. Each of virus, which was multiplied in in propagation host plants was purified. Antiserum against each virus produced by injecting rabbits with purified viruses. The titer of each antiserum against ZaMV, DsMV, CMV, LSV was 1/1,024, 1/512, 1/2048, 1/1024 by micro precipitin test, respectively.

1. 연구배경

지금까지 세계적으로 알려진 식물바이러스는 약1,000종 이상으로 다양한 원예작물 수입증가와 유용 자생식물의 재배면적 확대에 따라 새로운 바이러스병이 증가추세에 있다. 따라서 이들 바이러스병을 예방하기 위한 다양한 기술을 개발하여 새로운 바이러스의 확산방지대책 확립이 원예산업계에 요구되고 있다. 최근 국내에는 여러 종류의 칼라(*Zantedeschia* spp) 품종이 뉴질랜드, 호주 및 네델란드에서 도입되어 절화용으로 재배되고 있다. 지금까지 칼라에서는 DsMV와 CMV가 보고되어 있으나, 2000년도 강원도 평창의 칼라재배포장에서 새로운 바이러스병이 발견되었다. 본 연구에서는 칼라에 발생하는 새로운 *potyvirus*인 ZaMV의 외피단백질의 염기서열 등 제 성질을 규명하였다. 천남성과에 속하는 *Caladium*, *Dieffenbachia*, *Zantedeschia*, *Clolcasia* spp.등에 폭 넓게 감염하여 큰 피해를 야기하는 DsMV는 750nm의 사상형으로 *potyviridae*에 속하는 바이러스이다. 이 바이러스는 1970년 Zettler 등에 의해서 *Z. ellottina*에서 최초 보고되었다. LSV는 *Carlavirus*에 속하는 사상형으로 1944년 미국의 Brierley 와 Smith에 의하여 *Lilium* spp에서 최초 보고되었다. CMV는 *Bromoviridae cucumovirus*에 속하는 다립자성 구형바이러스로 1934년 미국의 Price에 의하여 *Cucumis sativus*에서 처음 보고되었다.

본 과제에서는 국내에서 아직까지는 소규모로 재배되고있으나, 수출유망작목으로 부가가치가 높아 재배면적의 확대가 기대되는 유색칼라, 토란 및 나리류에서 발생하는 바이러스 중에서 국내에서 미보고된 바이러스를 분리하여 각각의 특성을 규명하고 또한 진단기술을 개발하고자 시험을 수행하였다.

2. 재료 및 방법

가. 바이러스 이병주의 채집

칼라, 토란, 나리, 참나물의 바이러스병 증상주를 각 재배지에서 채집하여 본 실험에 공시하였다.

나. 전자현미경 검경

각 작목별 바이러스 이병주에 존재하는 바이러스입자의 형태관찰을 위해 전자현미경 검경을 하였다. 이병조직을 0.01M 인산 (pH7.0)으로 마쇄한 다음 dip 방법을 이용하여 이병즙액을 미리 탄소막을 코팅한 grid (300nm) 에 1분간 띄워 2% phosphotungstic acid (pH 7.2)로 역염색하고 멸균된 여과지에서 grid에 남은 여분의 염색액을 제거하고 건조시킨 뒤 전자현미경관찰을 실시하였다.

다. 바이러스 순수분리 및 지표식물을 이용한 기주범위 조사

항혈청 검정법으로 바이러스 감염이 확인된 각각의 이병시료를 0.01M 인산완충액 (pH 7.0)을 넣고 멸균 막자사발에서 마쇄한 다음, carborundum (600mesh)을 이용하여 공시 지표식물에 즙액접종 하였다. 각 작목별로 순수분리를 목적으로하는 바이러스가 단 병반 분리법으로 분리가능한 경우는 3회의 단일병반분리법으로 분리하였고, 단일병반분리로 분리가 어려운 경우는 전신 감염기주의 상엽에 나타난 모자이크의 잎조직을 수회 계대 접종하여 목적바이러스를 순수분리하여 지표식물에서의 기주범위 조사 등의 접종원으로 사용하였다. 즙액접종된 판별식물은 25℃ 온실에서 20여일간 접종엽 및 상엽에 발현되는 병징을 조사하였다.

라. 바이러스 정제

바이러스의 정제는 각각의 바이러스별로 기존의 문헌에 보고된 표 1의 순화법을 참조하여 수행하였다

표 1. 본 시험에 이용된 바이러스 순화방법

바이러스 명	증식기주	순화법
ZaMV	칼라 cv. Black magic	Dijkstra 등 (1996)
DsMV	토란 cv. Paldoo	Dijkstra 등 (1996)
LSV	나리 cv. Casa blanca	Van Lent 등 (1980)
CMV	담배 cv. Samsun	Takanami (1981)

마. 바이러스의 항혈청 생산

바이러스의 항혈청 제조는 Koenig (1985)와 Xu 등 (1988)의 방법을 사용하였다. 순화 바이러스 (1mg/ml)를 항원으로 Freund's complete adjuvant와 각각 1ml씩을 주사기 (3ml용) 2개와 주사기 연결쇄 (syringe adaptor)를 이용하여 혼합한 후, New Zealand White 토끼 뒷다리에 1차 근육주사하였으며, 10일 간격으로 incomplete adjuvant를 사용

하여 1차와 동일한 방법으로 2차와 3차 근육주사를 하였다. 마지막 booster injection은 순화 바이러스 (1mg/ml)을 직접혈관 주사하였다. 항혈청의 채혈은 마지막 혈관주사 일주일 후 채혈전 24시간 동안 절식시킨 토끼의 귀정맥을 살균한 면도칼로 부분절단하여 원심분리용 튜브에 20ml씩 받은 후 37°C에서 1시간-냉장고 (4°C)에서 12시간정도 정치시킨 후 원심분리하여 맑은 상등액을 항혈청으로 취하였다. 분리한 항혈청에 0.02%NaN₃를 첨가하여 50% glycerol 첨가 후 -20°C에 보관 혹은 동결건조시켜 보관하였다. 제조된 항혈청은 순화 바이러스 및 이병증액을 사용하여 미침강 반응법 (S. Wakimoto, 1993) 및 한천 겔 내 이중 확산법 (Ouchterlony, 1968)을 이용하여 역가 및 비특이반응 여부를 조사하였다

바. 유전자진단(RT-PCR)을 위한 potyvirus 범용 primer 개발

RT-PCR은 8개의 potyvirus의 보존배열을 참조하여 디자인되었다.

Poty-P(5'-ATGGT/G,T or C/TGGTG/C or T/AT/A, T or C/GA-3') and Poty-M (5'CCATCCAG/G or C/CC/G or A/AA/C or T/A-3')의 pair로 외피단백질 영역의 340bp 유전자가 증폭되도록 설계되었다.

사. cDNA합성 및 크로닝

cDNA합성은 plasmid choice cDNA Synthesis & Cloning kit (Gibco BRL, MD)을 이용하여 정제 RNA 각 10ug으로 수행하였다. ZaMV의 double stranded cDNA는 pSPORT 1 vector의 Not I/Sa II site에 크로닝하였고, *E. coli* JM 109로 형질전환하였다.

아. 염기배열 결정 및 분석

각 바이러스의 cDNA는 제한효소 가수분해를 통해 적절한 크기로 만든 후 subcloning하였다. 각 clone들은 dideoxynucleotide chain termination method로 염기서열을 결정하였다.. 염기서열과 아미노산배열은 DNASTAR software package(Madison, WI)로 결정하였다. Phylogenetic analysis는 DNAMAN package의 neighbor-joining algorithm을 이용하여 수행하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 바이러스병 발생양상조사

칼라 등 4종의 소면적 재배작물에 대한 바이러스병 발생양상을 평창 및 춘천지역에서 조사한 결과 표 2, 3과 같은 결과를 보였다.

표 2. 4종의 공시작물에서의 바이러스 병징 발현주율 조사

공시작물	병징	조사 주수	발병 주수	발병 주율(%)	조사지역	조사연도
칼라	잎위축, 기형, 모자이크	200	85	42.5	평창	'00
토란	엽맥투화, 모자이크	100	100	100	춘천	'00 ~ '01
참나리	모자이크, 잎위축	40	26	65.0	춘천	'00 ~ '01
참나물	황화모자이크	40	2	5.0	평창	'02

표 3. 바이러스 이병식물에서 분리한 바이러스 입자형태

구분	바이러스 입자의 형태	
	형태	길이(nm)
칼라	사상형	750×13nm
토란	사상형	750×13nm
참나리	사상형	750×12nm
참나물	구형	30nm

나. 바이러스의 분리, 동정

1) 칼라 (*Zantedeschia* spp)에 발생하는 *Zantedeschia* mosaic virus(ZaMV)분리

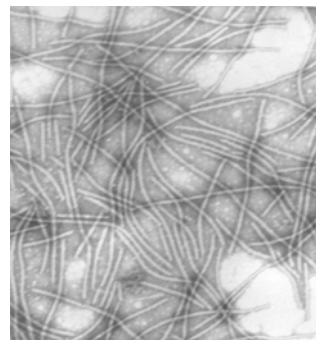


그림 1. ZaMV-Kr에 감염된 칼라 (cv. Black magic)의 병징 및 바이러스 입자의 EM 사진

◦ 지표식물 검정

표 4. 칼라에서 분리한 ZaMV-Kr의 기주식물 반응

지표 식물	병징
Aizoaceae	
<i>Tetragonia expansa</i>	-
Araceae	
<i>Zantedeschia aethiopica</i>	M
<i>Colocasia esculenta</i>	-
Chenopodiaceae	
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	-
<i>C. quinoa</i>	-
Leguminosae	
<i>Glycine max</i>	-
<i>Phaseolus vulgaris</i>	-
<i>Vicia faba</i>	-
<i>Vigna sinensis</i>	-
Solanaceae	
<i>N. glutinosa</i>	-
<i>N. tabacum</i> cv. Samsun	-
<i>N. tabacum</i> cv. White Burley	-

◦ 혈청학적 특성

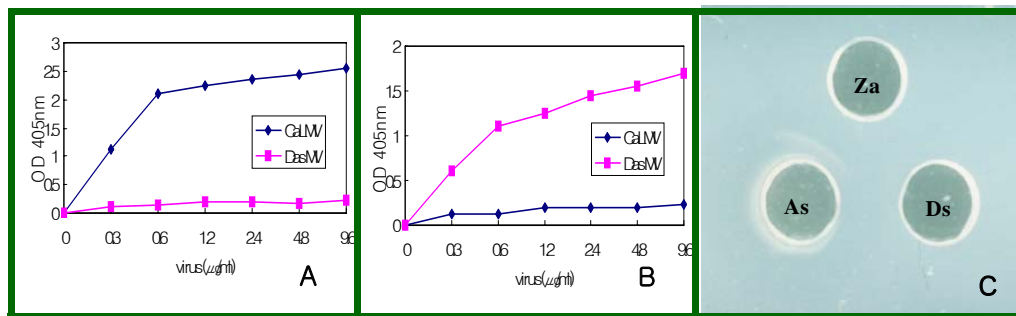


그림 2. DAS-ELISA에서의 ZaMV and DsMV의 혈청학적 유연관계 (A and B).
한천겔내 이중확산법에서 ZaMV and DsMV의 혈청학적 유연관계 (C).

◦ 외피단백질 유전자의 염기서열 분석

```

61 ATGTTCTATT CTCTATTGCG ATCTGGTGTC TCGTTAAAGG AGCACAAGAA
   AGTAATTCAT
121 TTCTTTATAA ATGGCGACGA TCTCATCATA GCAGTCAAAC CTGAGGTGCA
   GCATCTTTTG
181 GATGTGATGG CAACACACTT CTCAGAATTG GGACTTAATT ATGATTTTAC
   CTCGAGATCA
241 ACACAAAAGA AGGATCTTTG GTTTATGTCT CATAGAGGTG TTGAACGAGA
   AGGAATCTAT
301 ATACCAAAC TGGAGGAAGA ACGGATAGTT TCAATTTTGG AGTGGGATAG
   ATCAACAGAA
361 CCATCACATA GGCTTGAAGC AATCTGTGCA GCTATGATTG AGGCATGGGG
   TTATGATTGG

```

421 TTGGTGCACG AAATCCGACT TTTCTATAGT TGGTACTCG AGCAATACCC
 ATACAACCAG
 481 TTGGCAGAGC AAGGTAAAGC ACCGTACATA GCAGAAACAG CACTGCGCAA
 GCTCTATCTA
 541 GACCGTGATG CCAATGAGGA GGAGCTACTA AAGTATGCCA TTGAACAGAA
 CATTGAATGG
 601 CCACAGGAGG AGCAAGTGTA TCATCAGAGT GGAGAGGAAG ATAAGGACGG
 GGATAAAAAG
 661 TTGGATGCTG GGAAGCAGCC ACCAACGAAA GACAAAGAAA AAGAATCTGA
 CCCCTCCAAC
 721 ACAGAAAAGG ATGGGAACAA ACAAGTGCAA ACACACAAGG ACAGGGATAT
 TGACATGGGC
 781 ACCAGTGGTA CAATTGCTGT ACCAAAGTAT AAGATCTTTA AATCTAGACT
 TAGGTTTCCA
 841 ATGGTGCAGG GGAGGAAAAT CATGAACATG AGCCATCTCG CCCAGTACAA
 TCCAGAGCAA
 901 ACGGATTTAG CAAACACGAG AGCAACACAG AATCAGTTTG CCCGTTGGTT
 TGATGGTGTT
 961 AAAGGGGACT ATGGATTGAA TGATGCAGAG ATGGACGTTA TGTTAAATGG
 TCTTGTCGTC
 1021 TGGTGCATCG AGAATGGGAC CTCTCCAAAC ATAAACGGAT TGTGGACTAT
 GATGGATGGT
 1081 GAGGAGCAAA TTGAGTATCC AATCAAACCA TTAATAGATC ATGCGTCACC
 CACATTCCGT
 1141 CAAATTATGG CGCATTTCAG TGACATTGCC GAGGCGTATA TAGAGAAGCG
 CAATTTTGAT
 1201 GGTAATATA TGCCACGGTA CGGTCTACTC AGAACTTGA ACGACTTCAG
 TCTTGCGAGA
 1261 TATGCATTTG ATTTCTATGA AATGACATCC AAGACACCCA ACAGGGCAAG
 AGAGGCTCAC
 1321 TTGCAGATGA AAGCAGCCGC CCTGCGAAGC GCGAACACGC GCATGTTTGG
 TTTAGACGGG
 1381 AAAGTTACAA CAAAGGAAGA GGACACAGAG AGACATACAG CTGAAGATGT
 GACGCGCAAT
 1441 TTGCACACTC TAATGGGTGT GCGCGCTATT TAATCAAAGT TTCTCTGGAC
 GAGCCTGCCT
 1501 TCGTATTATA GCATCGTATA ATAGTCGTGT TTATCTGCCA TGCCTTGTCT
 TTAAGTGAGT
 1561 GCTTCACTCG TGACGAGTCA TGTCTTTTAA ATAGGAG

그림 3. ZaMV-Kr 유전자의 3' 말단으로부터 1,597 nucleotides 의 염기서열
 표 5. ZaMV-Kr과 8종의 potyviruses의 외피단백질 유전자 염기 및 아미노산서열의 상동성 비교

Viruses	CP		Accession No.	Position
	NT	AA		
ZaMV-BG	93.5	94.3	AY026463	628-1473
ZaMV-Zan	93.0	94.0	AF332872	628-1473
DsMV-ND	51.5	52.7	AJ298034	631-1572
DsMV-TW	50.8	52.3	AJ298036	30-968
ZYMV-Cal	49.3	53.0	L31350	8543-9379
SMV-G2	52.6	53.6	S42280	8535-9329
PStV	52.0	52.0	U34972	8939-9799
PepMoV	47.9	53.5	M96425	8553-9371
TuMV	53.6	58.4	D10927	8755-9618

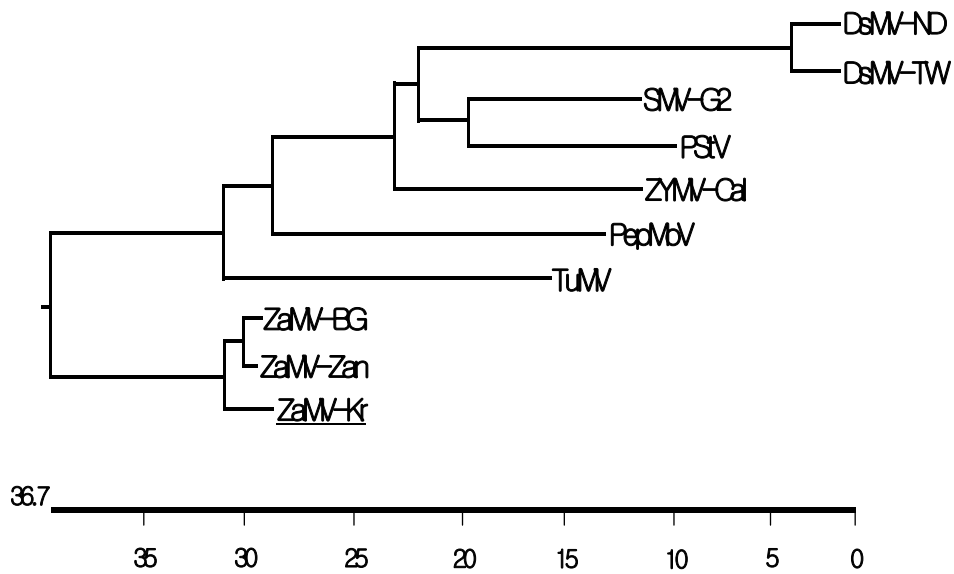


그림 4. 9종의 potyviruses의 Phylogenetic tree 분석 결과. 인용 Data : ZaMV-BG (GenBank AY026463), Zan-Zan (AF332872), DsMV-ND (AJ298034), DsMV-TW(AJ298036), ZYMV-Cal(L31350), SMV-G2(S42280), PStV(U34972), PepMoV(M96425), TuMV(D10927).

2) 토란(*Colocasia esculenta* Schott) 에 발생하는 Dasheen mosaic virus분리

- DsMV에 감염된 토란의 병징



그림 5. DsMV-Kr | 감염된 토란의 병징

- 지표식물 검정

표 6. 칼라에서 분리한 DsMV-Kr의 기주식물 반응

지표식물	병 징
Aizoaceae	
<i>Tetragonia expansa</i>	LL
Araceae	
<i>Zantedeschia aethiopica</i>	M
<i>Colocasia esculenta</i>	M
Chenopodiaceae	
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	-
<i>C. quinoa</i>	-
Leguminosae	
<i>Glycine max</i>	-
<i>Paseolus vulgaris</i>	-
<i>Vicia faba</i>	-
<i>Vigna sinensis</i>	-
Solanaceae	
<i>Nicotiana benthamiana</i>	-
<i>N. clevelandii</i>	-
<i>N. glutinosa</i>	-
<i>N. rustica</i>	-
<i>N. tabacum</i> cv. Samsun	-
<i>N. tabacum</i> cv. White Burley	-

- 형태적 특성 및 이화학적 특성

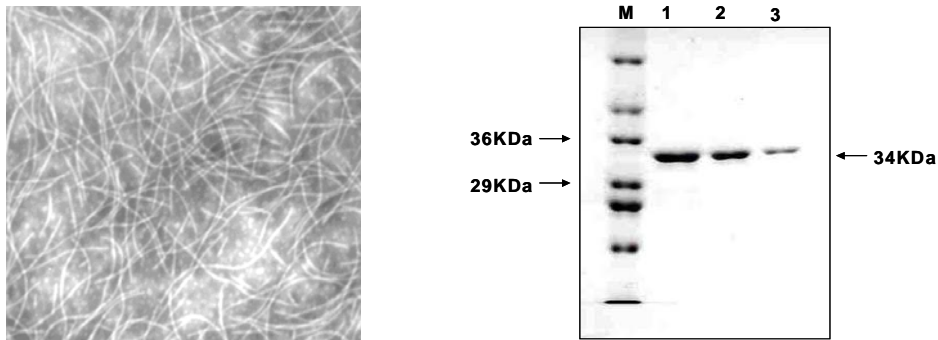


그림 6. DsMV-Kr 입자의 EM사진 및 3% and 12.5% SDS-PAGE를 이용한 DsMV-Kr의 외피단백질 subunit의 분자량 비교. Lane 1: DsMV-Kr; lane 2: TuMV; lane 3: LMV; lane M : SDS-PAGE marker (molecular weight 14-66KDa, Sigma)

표 7. DsMV-Kr과 21종의 potyviruses의 외피단백질의 아미노산서열 및 3'UTR의 유전자 염기의 상동성 비교

Virus	Accession No.	Percent similarity to DsMV-Kr (%)		
		C P		3'-NTR
		nt	aa	nt
DsMV-Cal	AF048981	88.3	92.1	86.5
DsMV-Col	U00122	83.5	93.0	90.2
DsMV-M13	AJ298033	89.9	93.3	89.3
DsMV-S	AF511485	91.5	93.6	89.3
DsMV-DK	AJ298035	80.1	85.4	90.8
DsMV-ND	AJ298034	89.4	93.9	91.8
DsMV-TW	AJ298036	90.0	92.4	93.1
BCMNV	U37076	56.9	61.1	52.8
BCMV	L15332	61.6	60.8	82.7
SMV-G2	S43380	58.7	62.3	53.8
ZYMV-Cal	L31350	57.1	62.0	41.8
TEV	M15239	53.0	56.7	52.0
PVY	AF345650	52.6	55.1	29.5
LMV	X65652	55.8	52.0	26.0
ZAMV-BG	AY026463	51.0	49.9	24.1
ZAMV-DB	AY026464	51.4	49.9	24.1
ZAMV-ZAN	AF332872	51.4	49.9	24.1
ZAMV-Kr	AB081519	51.5	49.0	24.5
PPV	M21847	55.6	49.6	23.2
TuMV	D10927	55.3	51.6	54.3
CLYVV	D86044	51.0	49.1	28.5

3) 참나리 (*Lilium lancifolium*) 에 발생하는 Lily symptomless virus(LSV)분리

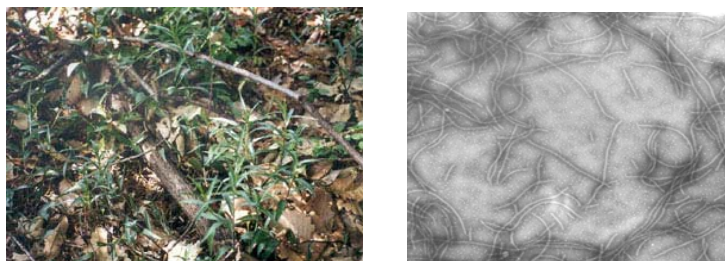


그림 7. 자생참나리 군락 및 바이러스 이병주 및 바이러스 입자 사진

◦ 지표식물 검정

표 8. 자생참나리에서 분리한 LSV의 기주식물 반응

지표식물	병 징
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	-
<i>C. quinoa</i>	-
<i>Vicia faba</i>	-
<i>Vigna sinensis</i>	-
<i>Lilium sp</i> cv. Casablanca	mM
<i>Nicotiana benthamiana</i>	-
<i>N. clevelandii</i>	-
<i>N. glutinosa</i>	-
<i>N. rustica</i>	-
<i>N. tabacum</i> cv. Samsun	-
<i>N. tabacum</i> cv. White Burley	-

mM: mild Mosaic, - : No symptom

4) 참나물(*Pimpinella brachycarpa*)에 발생하는 cucumber mosaic virus 분리

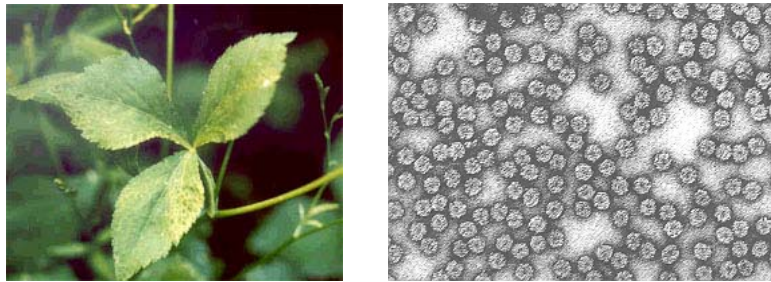


그림 8. CMV에 감염된 참나물의 병징 및 바이러스 입자사진

◦ 지표식물 검정

표 9. 참나물에서 분리한 CMV의 기주식물 반응

지표식물	병 징
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	-
<i>C. quinoa</i>	M
<i>Vicia faba</i>	L
<i>Vigna sinensis</i>	L
<i>N. clevelandii</i>	-
<i>N. glutinosa</i>	L
<i>N. rustica</i>	-
<i>N. tabacum</i> cv. Samsun	-
<i>N. tabacum</i> cv. White Burley	-

M: Mosaic, L: local lesion, - : No symptom

다. 바이러스 진단기술 개발

표 10. 항혈청진단을 바이러스 항혈청 개발 목록

바이러스명	분리기주(품종)	항혈청 역가	비특이 반응	항혈청 생산량(ml)	비 고
ZaMV-Kr	유색칼라(블랙매직)	1,024	-	40	
DsMV-Kr	토란(재래종)	512	-	40	
LSV	참나리(자생종)	1,024	-	40	
CMV	참나물(재래종)	2,048	-	40	

* 항혈청역가검정 : 미침강 반응법, ** 비특이반응 검정 : 한천 겔 내 이중확산법

4. 적 요

4 종의 식물 바이러스(*Zantedeschia mosaic virus*, *Dasheen mosaic virus*, *Lily symptomless virus*, *cucumber mosaic virus*)가 *Zantedeschia* spp, *Colocasia esculenta*, *Pimpinella brachycarpa*, *Lilium lancifolium*에서 분리되었다. 모자이크와 기형증상을 나타내는 새로운 바이러스인 *Zantedeschia mosaic virus*(ZaMV-Kr)를 한국의 calla lily (*Zantedeschia* spp)에서 분리하여 생물학적, 분자적 특성을 조사하였다. 이 바이러스는 천남성과에 감염이 되는 potyvirus인 *Dasheen mosaic virus*와는 혈청학적 분석과 염기서열 분석에서 구별되었다. CP 아미노산 분석에서는 이 바이러스와 다른 potyvirus간에 51.8%에서 62.1%의 동일성을 보였다. CP의 계통수 분석에서는 Plum pox virus, Turnip mosaic virus와 한 그룹을 이루었다. 이 바이러스와 다른 세 종의 대만에서 분리한 ZaMV분리주간에 CP gene의 염기서열 비교에서는 93.9% 이상의 동일성을 보였는데 N-말단지역에서 일어난 아미노산의 변화가 대부분이었다. 3'NTR의 염기서열의 분석에서는 이 바이러스와 다른 바이러스간에 27.0에서 47.9%의 동일성을 보였다. 이 결과는 한국에서 분리한 ZaMV가 potyvirus의 새로운 종임을 뒷받침해준다. Taro (*Colocasia esculenta* Schott)는 남동아시아에 인접한 지역과 인도가 원산으로 아시아와 오세아니아에서 널리 재배되고 있다. 일부 태평양 인접국가에서는 이 작물이 녹말식품의 주원료의 하나이다. 한국에서는 이 작물이 연간 4000톤이상 계속해서 재배되고 있다. 본 연구는 토란에서 분리한 모자이크 병징을 나타내는 *Dasheen mosaic virus*(DsMV-Kr)의 특성을 분석하였다. *Tetragonia expansa*의 접종엽에서는 국부병반이 나타나며 *Zantedeschia aethiopica*에서는 전신모자이크 병징이 나타난다. 반면에 11종의 지표식물에서는 감염이 되지 않았다. 전자현미경에서는 긴 사상형 형태의 길이 약 850nm, 폭 12nm인 DasMV 입자가 발견되었다. 바이러스 CP 분자량은 SDS-PAGE상에서 약 34kDa이었다. 겔 이중확산법에서는 DsMV가 *Zantedeschia mosaic virus* (ZaMV)와 보고된 천남성과에 감염이 되는 다른 potyvirus와 혈청학적으로 연관이 없었다. DsMV(-Kr)의 외피단백질(CP) 유전자를 클로닝하였고 염기서열을 결정하였다. 3 말단의 1,199의 염기는 부분적인 nuclear inclusion body (Nlb),외피단백질(CP), 3 말단의 non coding region으로 구성되었다. 외피단백질과 3 말단의 non coding region은 핵산과 아미노산 수준에서 비슷하여 51%~91.5%이었으며, 아미노산 배열의 상동성은 49.1~93.9%수준이었다. Phylogenetic

analysis에서 본 바이러스는 DsMV의 한 계통으로 분류가 가능하였다. 이러한 결과로부터 토란에서 분리한 DsMV는 새로운 계통이며, DsMV-Kr로 명명하기를 제안한다. 참나리 (*Lilium lancifolium*)에서 분리한 백합잠재바이러스(LSV)는 약한모자이크 증상을 나타냈으며, 이 바이러스의 특성을 규명하였다. 참나물(*Pimpinella brachycarpa* KOM)에서 분리한 오이 모자이크바이러스(CMV)는 참나물에 황화모자이크 및 잎의 기형증상을 유기하였다. 위의 바이러스들의 순화액을 면역원으로하여 각각의 항혈청을 생산하였다. 그 결과 ZaMV, DsMV, CMV, LSV 항혈청의 미침강 반응법으로 측정된 역가는 각각 1/1,024, 1/512, 1/2048, 1/1024 이었다.

5. 인용문헌

- Brierley, P. and Smith, F.F. (1944). *Phytopathology* 34: 529.
- Chen J, Chen J, and Adams MJ. (2001) Molecular characterization of an isolate of Daseen mosaic virus from *Zantedeschia aethiopica* in China and comparisons in the genus *Potyvirus*. *Arch Virol* 146:1821-1829
- Dijkstra J, Kesen E, Brinkn M, Peters D Louhuis H (1996) Identification and characterisation of a potyvirus of Bambara groundnut. *African Crops Sci J* 4:97-104
- Koenig, R. and Paul, H. J.(1982). Variants of ELISA in plant virus diagnosis. *J. of Gen. Methods* 5: 53-62
- Ouchterlony, O. (1968). *Handbook of immunodiffusion and immunoelectrophoresis*. Prog. Allery. Ann. Arbor Sci. Publ. pp135.
- Owen, J. and Palukaitis, P.(1988). Characterization of cucumber mosaic virus. I. Molecular heterogeneity mapping RNA3 in eight CMV strains. *Virology* 166: 495-502.
- Price, W.C. (1934). *Phytopathology* 24: 743.
- Takanami. Y. (1981). A striking change in symptoms on cucumber mosaic virus infected tobacco plants induced by a satellite RNA. *Virology* 109: 120-126.
- Van lent JWM, Wit AJ, Dijkstra J (1980) Characterization of carlavirus in elderberry. *Neth J Plant Pathol* 86:117-134
- Wakimoto, S., N, Matsuyama, Y, Takanami, K, Tsuna, (1993), *Laboratory guide for plant pathology and microbiology*. Soft science publications, Japan.
- Zettler, F.W., Foxe, M.J., Hartman, R.D and Christie, R.G (1970). *Phytopathology* 60:983

6. 연구결과 활용제목

- *Zantedeschia* mosaic virus causing leaf mosaic symptom in calla lily is a new potyvirus and expression of the coat protein in *E. coli*..... (2002, 논문)
- Several properties of an isolate of Dasheen mosaic virus isolated from *Colocasia esculenta* Schott in korea..... (2002, 논문)