

콩 (*Glycine max*)에서 콩위축바이러스 (*Soybean dwarf virus*)의 최초 발생보고김상목 · 이재봉 · 이영훈 · 최세훈 · 최홍수 · 박진우 · 이준성 · 이관석¹ ·문중경² · 문제선³ · 이기운⁴ · 이수현*농업과학기술원 식물병리과, ¹농업과학기술원 농업해충과, ²작물과학원 작물기능개발과,³한국생명공학연구원 식물유전체연구센터, ⁴경북대학교 응용생명과학부First Report of *Soybean Dwarf Virus* on Soybean (*Glycine max*) in Korea

Sang-Mok Kim, Jae-Bong Lee, Yeong-Hoon Lee, Se-Hoon Choi, Hong-Soo Choi, Jin-Woo Park,

Jun-Seong Lee, Gwan-Seok Lee¹, Jung-Kyung Moon², Jae-Sun Moon³,Key-Woon Lee⁴ and Su-Heon Lee*

Plant Pathology Division, National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon 441-707, Korea

¹Division of Entomology, National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon 441-707, Korea²Breeding Resource Development Division, National Institute of Crop Science, RDA, Suwon 441-707, Korea³Plant Genome Research Center, Korea Research Institute of Bioscience & Biotechnology, Daejeon 305-333, Korea⁴School of Applied Biosciences, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

(Received on May 31, 2006)

In year 2003, a soybean (*Glycine max*) sample showing severe dwarfing symptom was collected from a farmers' field in Cheongsong in Korea. The results from the diagnosis of the sample by RT-PCR revealed that it was infected by *Soybean dwarf virus* (SbDV), SbDV-L81. This study could be the first report of the occurrence of the virus in Korea. To further characterize the virus, the partial nucleotide sequence of the genomic RNA of SbDV-L81 was determined by RT-PCR using species-specific primers. The sequences were analyzed and subsequently compared to previously characterized strains of SbDV based on the pattern of symptom expression and vector specificities. The intergenic region between ORF 2 and 3 and the coding regions of ORF 2, 3 and 4 were relatively similar to those of dwarfing strains (SbDV-DS and DP) rather than those of yellowing strains (SbDV-YS and YP). Likewise, the result from the analysis of 5'-half of the coding region of ORF5 indicated that SbDV-L81 was closely related to strains (SbDV-YP and DP) transmitted by *Acyrtosiphon pisum*. These data from the natural symptom and the comparisons of five regions of nucleotide sequences of SbDV suggested that SbDV-L81 might be closely related SbDV-DP.

Keywords : *Glycine max*, Soybean, *Soybean dwarf virus* (SbDV), Strains, Symptom, Vector

콩위축바이러스(*Soybean dwarf virus*, SbDV)는 1952년 일본 북쪽지방의 콩에서 처음 발생한 것으로 보고되었으며(Tamada 등, 1969), 그 지역 콩 생산에 심각한 피해를 주었다(Tamada, 1975). SbDV는 분류학적으로 Luteoviridae에 속하며, 한 가닥 positive-sense RNA를 포함하고 있는 직경 약 26 nm의 구형 바이러스이다. SbDV의 Australian 분리주는 5개의 ORF를 가진 5,861 뉴클레오타이드로 구

성되어 있다(Rathjen 등, 1994). ORF 1과 2는 복제와 관련된 단백질이 코드되어 있으며, ORF 3은 외피단백질, ORF 4는 이동과 관련된 단백질, 그리고 ORF 5는 ORF 3의 readthrough 단백질이 코드되어 있다(Rathjen 등, 1994). ORF 3, ORF 4, 그리고 ORF 5는 subgenomic RNA1에 의해 발현된다(Rathjen 등, 1994; Yamagishi 등, 2003). 3'말단 220 뉴클레오타이드 염기서열을 포함하고 있는 작은 subgenomic RNA는 genomic RNA와 ORF 3, ORF 4, 그리고 ORF 5와 관련된 subgenomic RNA와 비슷한 시기에 나타나며 보다 많은 양이 축적되는데, 이 작은 subgenomic

*Corresponding author

Phone)+82-31-290-0436, Fax)+82-31-290-0406

E-mail) suheon@rda.go.kr

RNA는 SbDV 감염과정에 어떤 역할을 담당하는 것으로 생각된다(Yamagishi 등, 2003).

SbDV는 콩에서의 병징과 진딧물 매개충 특이성에 따라 4가지(YS, YP, DS, DP) 계통으로 분류된다. 병원성 유형으로 볼 때, YS와 YP 계통은 콩에서 황화(yellowing) 증상을 일으키며, DS와 DP 계통은 위축(dwarfing) 증상을 일으킨다(Tamada, 1973, 1975; Damsteegt 등, 1990; Mikoshiba 등, 1991; Honda 등, 1999). 그리고 매개충 특이성 측면으로 볼 때, YS와 DS 계통은 싸리수염진딧물 (*Aulacorthum solani*)에 의해 전염되며, YP와 DP 계통은 완두수염진딧물 (*Acyrtosiphon pisum*)과 진딧물의 일종인 *Nearctaphis bakeri*에 의해 전염된다(Tamada, 1975; Mikoshiba 등, 1991; Honda 등, 1999). 이들 SbDV의 계통들은 일본 북쪽지방에서 각각 일정한 분포 양상을 보인다(Mikoshiba 등, 1995).

SbDV 4 계통의 전체 염기서열 비교에서 ORF 5의 5' 쪽 절반을 제외한 나머지 영역에서는 같은 병원성을 나타내는 계통끼리 즉, 황화증상을 나타내는 YS와 YP 그리고 위축 증상을 나타내는 DS와 DP가 서로 높은 상동성을 나타낸다(Terauchi 등, 2001). ORF 5의 5'쪽 절반 영역은 싸리수염진딧물이 매개충인 YS와 DS 그리고 완두수염진딧물이 매개충인 YP와 DP가 서로 높은 상동성을 나타내어 매개충 특이성과 밀접한 관련이 있다(Terauchi

등, 2001). 이러한 염기서열 특성을 이용하여 ORF 5의 5' 쪽 절반 영역에서 매개충 특이적 프로브를 그리고 3' 말단 작은 subgenomic RNA 염기서열을 포함하는 noncoding 영역에서 병징 특이적 프로브를 제작하여 4가지 계통을 구별할 수 있는 dot-blot hybridization 방법을 개발하였다(Yamagishi 등, 2006).

콩에서는 세계적으로 약 30종 이상의 바이러스가 자연 발생하고 있다(Demski 등, 1989). 그러나 국내에서는 콩에 발생하는 바이러스병의 동정에 관한 연구는 극히 미흡하였으며, 지금까지 3종의 바이러스, *Soybean mosaic virus*, *Alfalfa mosaic virus*, *Soybean stunt virus*(*Cucumber mosaic virus*로 분류됨)만이 기록되어 있을 뿐이다(Cho 등, 1975; Lee 등, 1980, 1985; 한국식물병리학회, 2004). 우리는 한국 콩과 작물에 발생하는 바이러스의 분리·동정에 관한 연구를 2003년부터 지금까지 수행하고 있으며, 본 논문에서는 청송 지역에서 채집된 콩에서 검출된 SbDV의 최초 발생보고와 염기서열 분석에 기초한 이 바이러스의 특성에 대하여 보고하고자 한다.

재료 및 방법

바이러스 분리주. 2003년 청송 지역의 한 포장(Fig. 1A)에서 심한 위축 증상을 보이는 콩(Fig. 1B)으로부터

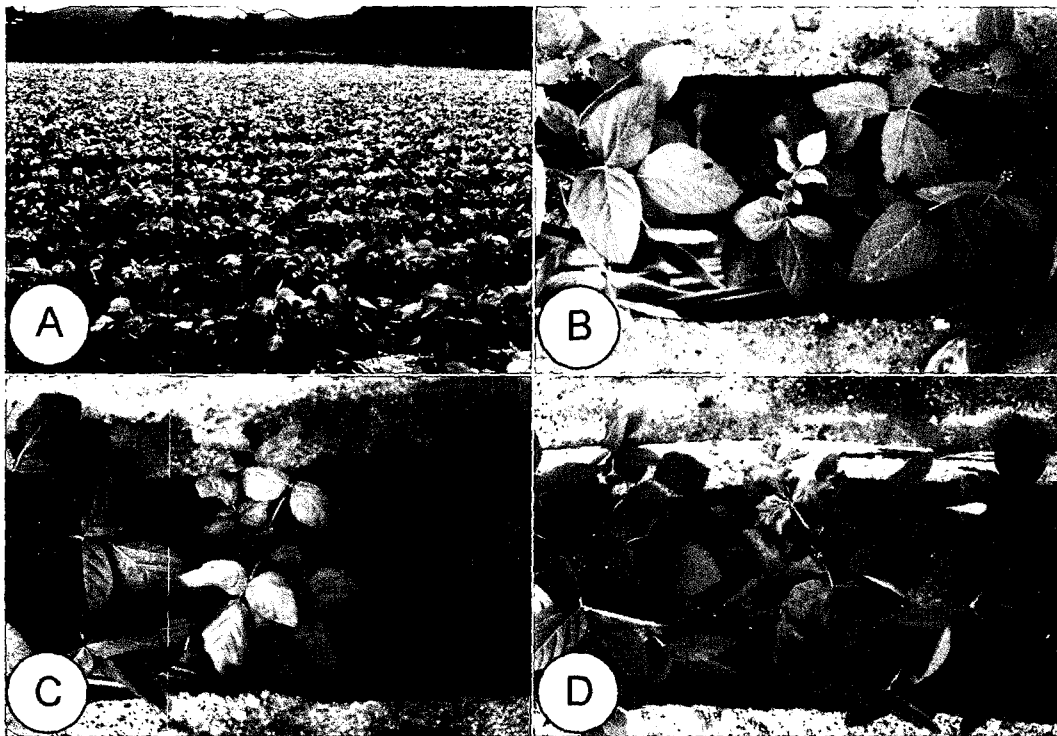


Fig. 1. Landscape of the soybean field infested by *Soybean dwarf virus* (SbDV) in Cheongsong and three samples collected in this field. A: Soybean field naturally infected with SbDV, B: Symptom of SbDV, C and D: Symptoms of *Soybean mosaic virus* (SMV).

Table 1. Primers used in this study

Primers	Sequence	Length	Position ^a
SbD-N10	CGTTGGGAAAGGAAATGAGGAGT	24	1432-1455
SbD-N20	TGGGGGTAGAAGCACTCC	18	1929-1946
SbD-N21	GATAATAGGTTGAGTTATTGGGAG	24	2630-2653
SbD-N30	TCTGTGTCGCTACCAATACTT	21	2798-2818
SbD-N31	GAGTATGGTCGCGGTTAGCA	20	3031-3050
SbD-N40	GGCCTCTTCCACCTCGTCA	19	3379-3397
SbD-C10	ATTCCATCTTTCTCGACTACTTG	23	4154-4176
SbD-C11	CTGGTCTTCACTGGTATCATGCCA	24	3524-3547
SbD-C12	GTGTGAGCCTTGCCTGATCCT	21	3205-3225
SbD-C20	TTTGAAAGTATTGGTAGCGACACA	24	2800-2823
SbD-C30	TTCAATCTGCATGTCAAACC	20	2265-2284
SbD-C40	AAATCTGCTCGCATCAACACCTAT	24	1895-1918

^aThe positions of the nucleotides on the SbDV-YS (Genbank AB038147) in each primer.

채집된 시료에서 SbDV가 RT-PCR 진단으로 검출되었다. 본 연구에서는 콩에서 검출된 SbDV 분리주(SbDV-L81)를 동정하기 위하여 일련의 분석을 실시하였다.

바이러스 진단. SbDV를 RT-PCR로 진단하기 위하여 Genbank로부터 지금까지 알려진 SbDV 4가지 계통의 염기서열(YS; AB038147, YP; AB038148, DS; AB038149, DP; AB038150)를 토대로 공통염기서열을 탐색하였다. 그리고 이들 공통염기서열은 같은 luteovirus 속(genus)의 *Potato leafroll virus*(PLRV)와 *Barley yellow dwarf virus*(BarYDV) 계통들의 염기서열과 비교하여 특이적 영역을 탐색하여 진단용 프라이머를 설계하였다(Table 1). 아울러 SbDV와 함께 콩과 작물에 발생하는 13종 바이러스, *Alfalfa mosaic virus*, *Bean common mosaic virus*, *Bean pod mottle virus*, *Bean yellow mosaic virus*, *Broad bean wilt virus 2*, *Cowpea chlorotic mottle virus*, *Cowpea mosaic virus*, *Cowpea mottle virus*, *Cowpea severe mosaic virus*, *Cucumber mosaic virus*, *Soybean mosaic virus*, *Tobacco ringspot virus*, 그리고 *Tobacco streak virus*도 함께 RT-PCR로 진단하여 복합감염 여부를 확인하였다.

전체 RNA 분리 및 RT-PCR 조건. 식물체 100 mg으로부터 Trizol 용액(Invitrogen Co.)을 이용하여 제공자의 방법에 따라 분리하였다. 전체 RNA는 최종적으로 50 μ l의 RNase-free 증류수에 녹여 RT-PCR에 사용하였다. RT-PCR은 역전사(Reverse transcription)와 중합효소연쇄반응을 각각 실시하였다. 역전사반응은 전체 RNA 0.5 μ l, 다운스트림(downstream) 프라이머 12.5 pmole, AMV 역전사효소(Roche Co.) 9 U, 그리고 RNase inhibitor(Roche Co.) 20 U를 첨가한 역전사완충액(50 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 10 mM MgCl₂, 10 mM DTT, 0.5 mM Spermidine, 2 mM

dNTP) 5 μ l를 42°C에서 30분간 처리하였다. 중합효소연쇄반응(PCR)은 역전사반응액 5 μ l에 업스트림(upstream) 프라이머 12.5 pmole, 그리고 Taq DNA polymerase(Roche Co.) 2.5 U를 첨가한 PCR 완충액(10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl) 25 μ l를 94°C 45초, 55°C 60초, 72°C 90초로 35회 증폭시켰다. RT-PCR 산물은 0.5×TBE를 이용하여 1% 아가로스 겔에서 확인하였다.

SbDV cDNA 합성 및 염기서열 분석. SbDV 염기서열을 결정하기 위하여 감염된 식물체로부터 분리한 전체 RNA와 종 특이적으로 설계한 프라이머를 이용하여 Table 2와 같은 프라이머 조합으로 RT-PCR을 수행하였다. 합성된 각각의 cDNA는 QIAquick gel extraction kit(QIAGEN Co.)를 이용하여 정제하였다. 정제한 cDNA는 DTCS

Table 2. RT-PCR primer pairs for cDNA synthesis of *Soybean dwarf virus*

Primer pairs		Product size (bp)
Downstream	Upstream	
SbD-C40	SbD-N10	487
SbD-C30	SbD-N10	853
SbD-C20	SbD-N10	1392
SbD-C30	SbD-N20	356
SbD-C20	SbD-N20	895
SbD-C12	SbD-N21	596
SbD-C11	SbD-N21	918
SbD-C10	SbD-N30	1379
SbD-C12	SbD-N31	195
SbD-C11	SbD-N31	517
SbD-C10	SbD-N40	798

sequencing kit(BECKMAN COULTER Co.)를 이용하여 cycle sequencing하였으며, 제공자 방법에 따라 정제한 산물은 CEQ 8000(BECKMAN COULTER Co.)을 이용하여 염기서열을 결정하였다. 결정된 염기서열은 SbdV의

ORF(open reading frame)에 기초하여 5가지 영역으로 나누어 기존에 보고된 SbdV 계통과 비교분석하였다(Fig. 3). 염기서열 분석에는 LaserGene 프로그램(Version 1.02, DNASTAR Inc.)을 사용하였다.

```

---ORF2 →
CTACCTTACAAGAATACATCCGAAATCTTCTCTAATCTTGATTATTTCCGCAAATCTATTGTGGACAAGGTTGGTTGCCAGGACGTTTC 90
L P Y K N I P G I F S N L D Y F R K S I V D K V G C P R T F
TCCCCTGAAGAACTTGCACGCGACGTATCACTCTGGTAAGAGAAGCTGTATAATGCTGCTGTTCAAAGCCTTAAACGTAAGGCTGTTGAG 180
S P E E L A A T Y H S G K R T L Y N A A V Q S L K R K A V E
AGGAGTGACCGGAATGACAGCTTTCCCTTAAGATGGAGAAGCATCTTATGTGAAGAAGATAGCACCAGGTTGATATGTCGCCGCAAC 270
R S D A N V T A F L K M E E K H L M C K K I A P R L I C P R N
AAAAGATAAATGTTGATTTGGACGTCGATGAAATCCAATGAGAAGAAATTCATGKATGCAATGCACTCAACTTTTTCATTTCCCAACT 360
K R Y N V E L G R R L K S N E K K F M H A I D S T F D S P T
GTATTAAGTGGATATGACAGTTTTAAAGTTGGGAAGATAATAGCCAATAAATGGTCGAAATTTAAACGACCAGTTGCAATAGGTGTTGAT 450
V L S G Y D S F K V G K I I A N K W S K F K R P V A I G V D
GCAAGCAGATTTGATCAACATGTGGGGGTAGAAGCACTCCAATGGGAGCACTCAATCTATAACGGTGCATCAATGATCCCATTCTGAAAT 540
A S R F D Q H V G V E A L Q W E H S I Y N G A F N D P I L N
GAGTTGCTACACTGGCAACAGAAAACAAAATAATGCTGTTTGTGAAGCAAAAATCCTCAAGTTCAGAGTCAAAGGACAGACAGAAATGTC 630
E L L H W Q T E N K I M L F V E D K I L K F K V K G H R M S
GGTGACATTAACCTCTTCTGGCAACAATAATCATGTGTGGTATGATGACTACTACTTCAAGTCACTTGGAGTCAAAGCCGAACTC 720
G D I N T S S G N K L I M C G M M H Y Y F K S L G V K A E L L
TGCAATAACCGGATGTTGTTATCATATGCGAGAAGAAAGATGAAAATAAGTTCTCACACATGCATAGCTGGTTTAAAGCATATGG 810
C N N G K D C V I I C E K K D E N K F S H M H S W F K D Y G
TTTGACATGACAGATGACACTCTGTCTACAAGATGGACAGATAGAGTTTGTCAAAGTAAACCGTAAAAATTAATGGCTATTATAGA 900
F D M Q I E T P V Y K I G Q I E F C Q S K P V K I N G Y Y R
ATGGTGGCTAAACAAGAAAGCATATCCAAGACGCCCATTCCTCATTTCCATGGCATCAGCTGAAGATGTCAAACATTTATGAGTGCC 990
M V R K Q E S I S K D A H S L I S M A S A E D V K T F M S A
ACCGCTCAATCGGGGATGATCTGAATAGTGGTGTACCTGTCTTGTGATGCTTTTCACAAATGCTATATAAAGCATCGGGGTACAAGAAA 1080
T A Q C G M I L N S G V P V L D A F H K C L Y K A S G Y K K
GTATCGCAGGAAGCATCGAGGATAGTCTCTTCGGAACCGCAGGCAAACTCGGGCTCAGGAAAGAGCGAGTTGAAGAACCAATAACG 1170
V S Q E A I E R I V S F G T Q D K L G L R K E R V E E P I T
ATGGATAATAGTTGAGTTATGGGAGTCCCTTTGGGGTTGACCGCAGACAGGTTCTTGTGCAACGATATTTTGAACATTCGACAGG 1260
M D N R L S Y W E S F G V D P Q T Q V L V E R Y F D N L Q V
CATATCGAACCCGCGCGTAAAGAGATTGACGCCTTTACTCGATAAAACTTTGCTTTCAATGGCAGTGTAGCAGCAACATCTGTGTCG 1350
H I E P R G V K R L T P C L L D K T L L S I A S V A R T S A V
CTACCAATACCTTTCAAAAATAGAGCACTATAATCCATAGTAGTATAGTACTAGTAGTACTAGTACTAGTACTAGTACTAGTACTAGT 1440
L P I L S K
ACAAGTAAAGTGAACCGGATTACCGATTTTTATCTGGGTTTGTCTATCGGCTTTATAGCTAGCATACCAATATCAATATTTGGCAATTTACT 1530
TTGTTTACCTAAAAATTTCAAAGAATCTGAGAGGGATCATCAACGAATATGGTCGCGGTTAGCAATGTCACAATACAACGACGACGCAAT 1620
M V A V S N V T I Q R R R N
M S Q Y N D D A I
CGTAGAGCCGCACGAAGCGCTCCACGAGTTTCAGCTCATGGCTATTCCAACGACCACCGGCGCAACACAGCGCAGAGAAGACACGACGAC 1710
R R A A R S A P R V Q L M A I P T T T G A T Q R R R R R
V E P H E A L H E F S S W L F Q R P P A Q H S A E E D N D D
CGAAGGAGAAAATAGAGGAGGCAATATTTCCGGAGGATCAGGCAAGGCTCATACTCCAGTTTTCGAAGGACGGCATCAATGGC 1800
R R R N N R G G N I S G S G K A H T F Q F S K D G T A I N G
E G E I I E E A I F P E D Q A R L I H S S F R R T G A S M A
AGTTCGAAGGAACTATCACTTTCCGGCCGCTTTTATCAGAGTGAAGCCACTCTCTGATGGAATACTCAAGGCTACCATGAATATAAG 1890
S S K G T I T F G P S L S E C K P L S D G I L K A Y H E Y K
V P R E L S L S G R L Y Q S A S H S L M E Y S R P T M N I R
ATCAGGATATCTTATACAGTTTATCCGAGGCTCTTCCACTCGTCAAGGCTCCATCGCTTATGAGCTTGACCCACACTGCAAGTAC 1980
I T S I L Q F I S E A S S T S S G S I A Y E L D P H C K Y
S R V S Y Y S S P R P L P P R Q A P S L M S L T H T A S T
TCCGAAATCAATCGTACTCAATAAATTTCTCAATTACAAGAGCGGTTGCAAAAGGATTCGCCCAAGGTTATCAATGGCCTCGAATGG 2070
S E I Q S L L N K F S I T K S G S K R F P T K V I N G L E W
P K F N R Y S I N S Q L Q R A V R N D S P P R L S M A S N G
CATGATACAGTGAAGACCAAGTCCACTACAAGGGGAACGGAGACGCCAAGATCGCAGGCTCCTTCAAGATCAGCATCGTTGTC 2160
H D T S E D Q F K V H Y K G N G D A K I A G S F K I T I V V
M I P V K T S S R S T T R G T E T P R S Q A P S R S R S L S
ORF5 →
TTAACTCAGAATCCCAAATAGGTAGACGGAGAACCAGGGCCGAAACCAGGTCGGACCCACACCCCCACAGCACCACCCTGAACCG 2250
L T Q N P K . V D G E P G P K P G P D P T P P P A P P P E P
ACGCCAGCAAACATGAAAGGTTCAATGTTTACACGGTACATGTGTAACACTCATCAGTGCAGCAAAACTCAGACAGTATATCACTC 2340
T P A K H E R F I V Y T G T L S T L I S A R Q N S D S I S L
TACTCGATTAGAGACAGAGAATCAGATATATAGAAAACGAGATAAGTCAAACTGGGCGAACATCAAAGCGCAATGGTACTCACAGAAATTC 2430
Y S I R D Q R I R Y I E N E N A N W A N I K A Q W Y S Q N S
GTGAAGCAGTGCATGTTTATTTACCCAGTTCGCAAGGTAATGGTCAATGGATCTCATGTGAAGGCTACCAGGCGACATCAAGC 2520
V E A V P M F I Y P V P Q G T W S I E I S C E G Y Q A T S S
ACCACGGACCCACCAGGGGAAGTCCGATGGAGTGATTGCTTATGATGATGATCAAAAACAAGGTGTGGAATGATGGTGTGCAAAAATAAT 2610
T T D P H R G K S D G V I A Y D G D D Q N K V W N D G V Q N N
GTAACCATAACCAACAACAAGCCGATGCTGATTTGAAATACGGCCATCTGATTTAAACAATCAATGGT 2679
V T I T N N K A D A D W K Y G H P D L T I N G

```

Fig. 2. 2679 nucleotide sequence and the deduced amino acid sequence of Soybean dwarf virus isolate L81 determined in this study. It covered partial ORF 2 (1371nt), intergenic region between ORF 2 and ORF 3 (207nt), ORF 3 (603nt), ORF 4 (570nt) and partial ORF 5 (498nt). Each ORF encodes a replication related protein, the coat protein, a putative movement protein, and a readthrough domain, respectively. Underlined sequences show that the consensus sequence of readthrough region, AAATAGGTAGAC, which is consistent with those of luteovirus and polerovirus in Luteoviridae.

결과 및 고찰

SbDV 발생확인 및 감염주의 병징. 2003년 청송 지역의 한 농가 포장(Fig. 1A)에서 채집된 콩 시료를 RT-PCR로 진단한 결과 SbDV와 양성 반응을 나타내었다. SbDV 감염여부를 확실히 구명하기 위하여 이 바이러스와 특이적으로 설계된 프라이머(Table 1)를 사용하여 Table 2의 조합으로 RT-PCR를 수행한 결과 모든 조합에서 예상한 산물을 확인할 수 있었다. 한편 RT-PCR 진단결과 다른 13종 바이러스에는 감염되어 있지 않았다. SbDV가 검출된 콩은 자연상태에서 심한 위축증상을 나타내었으나, 잎에 뚜렷한 모자이크나 황화증상은 보이지 않았다(Fig. 1, B). 이러한 SbDV의 병징은 생리장해 또는 영양장애에 의한 생육불량과 상당히 혼동될 수 있을 것으로 판단되었다. 지금까지 보고된 SbDV는 콩에서의 병징과 진딧물 매개충 특이성에 기초하여 4가지 계통(YS, YD, DS, DP)으로 구분되며(Terauchi 등, 2001), 병징은 위축형(Dwarfing)과 황화형(Yellowing)으로 나누어진다. 본 연구에서 발생이 확인된 SbDV는 자연상태에서 병징으로 볼 때 위축형과 밀접한 관련이 있는 것으로 생각된다. 한편 SbDV가 검출된 포장은 육안으로 볼 때 바이러스 감염율은 약 5% 정도 이었다. 이 콩 포장은 다양한 식물들이 존재하고 있는 낮은 야산지역과 접하고 있어 매개충이 서식하기 좋은 조건으로 보여 졌다. 이 포장에서는 대체로 3가지 형태의 바이러스 병징을 관찰할 수 있었다. 심한 위축증상을 보이는 시료(Fig. 1B)에서는 SbDV가 검출되었으며, 황화 모자이크(Fig. 1C)와 잎기형 및 위축(Fig. 1D)을 나타내는 시료에서는 콩에 일반적으로 발생하고 있는 SMV가 검출되었다. 본 연구에서 발생이 확인된 청송지역 SbDV의 병징은 잎에 특별한 증상이 없이 전체적인 생육 위축 증상을 보인다는 점에서 SMV에 의한 병징과는 쉽게 구별할 수 있었다.

염기서열 결정 및 비교분석. 정확한 바이러스의 동정을 위하여 Table 2의 프라이머 조합과 분리한 전체 RNA를 이용하여 합성한 SbDV cDNA의 염기서열을 결정하였다. 중복된 염기서열을 포함하고 있는 11가지 cDNA의 염기서열을 결정하고 조합한 결과 SbDV의 중간영역에 해당하는 2,679개의 염기서열을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 결정된 염기서열 내에서 SNP(Single nucleotide polymorphism)는 존재하지 않았다. SbDV의 전체 계놈은 5개의 ORF로 구성되어 있는데(Rathjen 등, 1994), 본 연구에서 결정된 염기서열은 ORF 2 중간 앞부분에서 시작하여 ORF 5의 약 3분의 1 지점까지에 해당된다(Fig. 3a). 본 연구에서 확인된 SbDV-L81의 계통을 분석하기 위하여 결정된 염

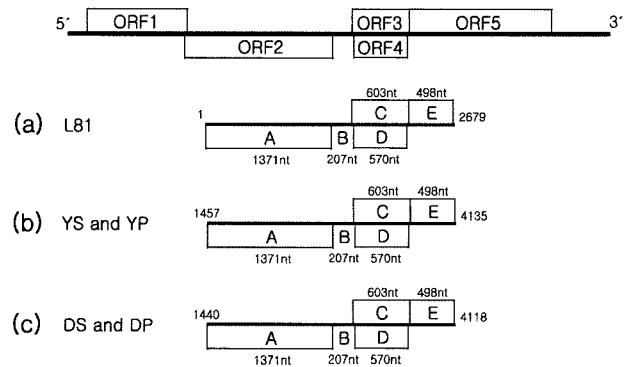


Fig. 3. Genomic organization of *Soybean dwarf virus* and schematic representation of the sequence analysis in this study. **a:** Determined nucleotide sequence of SbDV-L81, **b:** Genbank AB038147 (SbDV-YS) and AB038148 (SbDV-YP), **c:** Genbank AB038149 (SbDV-DS) and AB038150 (SbDV-DP). **A:** Partial of ORF 2, **B:** Intergenic region between ORF 2 and ORF 3, **C:** ORF 3, **D:** ORF 4, **E:** Partial of ORF 5.

기서열 영역을 SbDV의 ORF 구조에 기초하여 5가지 영역(A: ORF 2, B: ORF 2와 ORF 3 사이의 Intergenic region, C: ORF 3, D: ORF 4, E: ORF 5)으로 구분하여 기존에 알려진 4가지 계통들과 비교하였다(Fig. 3). SbDV-L81과 4가지 SbDV 계통들을 다중비교한 결과 5가지 영역 모두에서 동일한 구간 길이(A: 1371nt, B: 207nt, C: 603nt, D: 570nt, E: 498nt)를 가지고 있었다. 그러나 전체 계놈 중에서 5가지 영역의 해당되는 위치는 황화 계통(SbDV-YS, SbDV-YP)과 위축계통(SbDV-DS, SbDV-DP)이 구별되었다(Fig. 3b,c). SbDV-L81의 염기서열 2176에서 2187 사이의 AAATAGGTAGAC는 Luteoviridae의 luteovirus와 polerovirus에서 나타나는 readthrough 영역의 염기서열과 일치하였으며(Hull, 2002), 나머지 SbDV 4가지 계통 또한 모두 동일한 readthrough 염기서열을 가지고 있었다.

SbDV-L81의 유전적 특성을 알아보기 위하여 Fig. 3에서 나타난 5가지 영역에서 SbDV-L81과 4가지 SbDV 계통의 염기서열 및 아미노산 서열의 상동성을 비교하였다(Table 3). ORF 2에 해당하는 A 영역에서는 병원성 위축 계통(SbDV-DS, SbDV-DP)과 99% 이상의 아미노산 상동성을 보였으며, 황화계통(SbDV-YS, SbDV-YP)과는 약 94%의 높은 상동성을 보여 병원성 위축계통과 약간 더 높은 상동성을 나타내었다. 매개충 특이성 측면에서 볼 때, 찌리수염진딧물(*Aulacorthum solani*)이 전파시키는 두 가지 계통(SbDV-YS, SbDV-DS)과는 각각 94.5%와 99.1%의 상동성을 보였으며, 완두수염진딧물(*Acyrtosiphon pisum*)이 옮기는 두 가지 계통(SbDV-YP, SbDV-DP)과는 각각 93.9%와 99.6%의 상동성을 나타내어 매개충 특이성과는 특별한 관련이 없는 것으로 나타났다. ORF 2와 ORF 3 사이

Table 3. Nucleotide and deduced amino acid sequence comparisons between five different regions from the strains of *Soybean dwarf virus*^{a, b}

SbDV isolates	L81	YS	YP	DS	DP
Region A Partial sequence of ORF 2(1371nt)					
L81	*	94.5	93.9	99.1	99.6
YS	90.2	*	96.7	94.5	95.0
YP	89.0	93.2	*	93.9	94.3
DS	98.3	89.3	88.8	*	99.6
DP	98.9	88.8	89.2	98.5	*
Region B Intergenic region between ORF 2 and ORF 3(207nt)					
L81	*	-	-	-	-
YS	80.2	*	-	-	-
YP	79.7	93.2	*	-	-
DS	99.0	80.2	79.7	*	-
DP	99.0	78.7	78.3	99.0	*
Region C ORF 3(603nt)					
L81	*	88.1	88.1	98.5	99.0
YS	91.2	*	98.0	87.6	87.6
YP	90.9	97.5	*	87.6	87.6
DS	99.0	91.0	90.7	*	98.0
DP	99.5	91.4	90.5	98.8	*
Region D ORF 4(570nt)					
L81	*	85.3	84.2	98.4	97.9
YS	91.4	*	93.2	85.3	86.3
YP	91.1	97.4	*	84.2	84.2
DS	99.1	90.9	90.5	*	97.9
DP	99.5	91.6	90.7	98.9	*
Region E Partial sequence of ORF 5(498nt)					
L81	*	84.9	92.2	84.3	99.4
YS	75.7	*	85.5	99.4	85.5
YP	86.1	76.5	*	86.1	92.8
DS	75.5	98.2	76.5	*	84.9
DP	98.6	75.3	86.7	75.1	*

^aThe sources of sequence data were Genbank accession numbers AB38147(SbDV-YS), AB038148(SbDV-YP), AB038149(SbDV-DS), and AB038150(SbDV-DP). The sequence of SbDV-L81 was determined in this study.

^bComparisons above the diagonal refer to percentage amino acid sequence identities and comparisons below the diagonal refer to percentage nucleotide sequence identities.

의 B 영역에서는 병원성에 따라 뚜렷이 구분되는 염기서열 상동성을 보여 주었다. SbDV-L81은 위축형과는 약 99%의 높은 상동성을 보인 반면 황화형과는 약 80%의 상동성을 보여 위축형과 밀접한 관련이 있는 것으로 나타났다. 외피단백질이 코드된 ORF 3의 C 영역과 바이러스 이동과 관련된 단백질이 코드된 ORF 4의 D 영역은

서로 겹쳐져 있으며, 두 영역의 아미노산 상동성 또한 거의 유사하게 나타났다. SbDV-L81은 이 두 영역에서 위축형과는 약 98% 이상의 높은 상동성을 보였으며, 황화형과는 약 84~88%의 상동성을 나타내어 위축형과 더 높은 상동성을 보였다. 지금까지 언급한 A, B, C, 그리고 D 영역에서 SbDV-L81은 위축형의 병징을 보이는 DS와 DP 계통과 더 높은 상동성 보였으며, 진딧물 매개충 특이성과는 연관성이 없는 것으로 나타났다. ORF 5의 5'쪽 498nt가 포함되는 E 영역은 ORF3의 readthrough domain (RTD)으로 앞에서 언급한 4가지 영역(A, B, C, D)과는 상당히 다른 유형의 상동성을 나타내었다. SbDV-L81은 완두수염진딧물(*Acyrtosiphon pisum*)이 옮기는 두 가지 계통(SbDV-YP, SbDV-DP)과는 각각 92.2%와 99.4%의 높은 상동성을 보인 반면, 싸리수염진딧물(*Aulacorthum solani*)이 전파시키는 두 가지 계통(SbDV-YS, SbDV-DS)과는 각각 84.9%와 84.3%의 상동성을 나타내었다. 다시 말해서 E 영역은 병원형과는 관련이 없었으며, 진딧물 매개충의 특이성과 밀접한 관련이 있었다. SbDV-L81은 E 영역에서 완두수염진딧물이 매개충인 DS와 DP 계통과 훨씬 높은 상동성을 나타내었다. 이러한 결과는 Terauchi 등(2001)의 ORF 1, 2, 3, 4, 그리고 5의 염기서열 비교에서 매개충의 특이성과 병원성에 따라 차이가 난다는 것과 일치하였다. 전체적으로 볼 때 SbDV의 ORF 2와 ORF 3 사이의 intergenic region(207nt)은 병원형에 따라 상당한 차이를 보였으며, ORF 5의 5'쪽 498nt는 매개충의 특이성과 밀접한 관련이 있었다. 결론적으로 염기서열 분석과 자연상태에서의 병징으로 판단할 때, SbDV-L81은 지금까지 알려진 4가지 계통 중에서 위축형의 병원성을 보이며 완두수염진딧물이 매개충인 SbDV-DP와 밀접한 관련이 있는 것으로 판단된다.

SbDV 발생예찰 및 앞으로의 과제. 본 논문에서 보고된 SbDV는 전국적인 콩 바이러스병 조사 과정중 청송지역 한 농가에서 채집된 3점의 시료중에서 검출되었다. 시료채집 과정에서 잎에 바이러스 병징을 보이지 않고 위축증상만을 보이는 콩은 거의 채집이 이루어지지 않아 전국적인 SbDV의 발생정도는 파악되지 못하였다. SbDV의 더 자세한 연구를 수행하기 위하여 2004년 발생포장을 재방문하였으나 콩이 재배되지 않아 추가적인 시료를 확보하지 못하였다. 한편 2003년 채집된 시료를 콩에 즙액 접촉하였으나 감염에는 실패하였다. 이것은 SbDV가 다른 luteovirus와 마찬가지로 즙액접종이 되지 않는 바이러스이기 때문이며(Brunt 등, 1999), SbDV-L81 또한 같은 특성을 보였다. SbDV는 종자전염, 접촉전염 및 토양전염이 되지 않는 바이러스이기 때문에(Brunt 등, 1999) 전염

원과 매개충이 있어야만 콩에서 발생이 가능하다. SbDV의 자연상태에서의 전염원으로는 콩과 식물의 잡초(토끼풀류, 루피너스류, 알팔파류 등)들이 알려져 있으며(Brunt 등, 1999), 이들 잡초들은 경작지 포장주변에서 흔히 볼 수 있는 종들이다. 또한 SbDV의 매개진딧물인 싸리수염진딧물과 완두수염진딧물은 우리나라 전국적으로 분포하고 있으며(Lee 등, 2002), 콩에서 발생하고 있는 종들이다(Blackman과 Eastop, 2000). 이런 점에서 볼 때 SbDV가 발생할 수 있는 생태적인 환경은 이미 갖추어져 있다고 볼 수 있을 것이다. 본 논문에서 보고한 SbDV-L81은 염기서열 분석 결과 완두수염진딧물이 매개충인 SbDV-DP 계통과 밀접한 관련이 있으나, 다행히도 이 진딧물은 현재 우리나라 콩에서 흔하게 발생하는 진딧물은 아니다. 그러나 SbDV는 다양한 생물학적 특성을 가지는 계통들이 존재하고 있으며(Terauchi 등, 2001), 일본에서의 경우를 볼 때(Tamada, 1975) SbDV가 대발생할 경우 콩생산에 심각한 피해를 초래할 수 있다는 점에서 SbDV의 발생 정도, 계통, 매개충, 그리고 중간기주에 대한 구체적인 조사가 시급히 이루어져야 할 것으로 보인다.

요 약

2003년 청송지역 농가포장에서 심한 위축증상을 나타내는 콩 시료를 채집하였다. 이 시료를 RT-PCR로 진단한 결과 콩위축바이러스, *Soybean dwarf virus*(SbDV-L81)에 감염된 것으로 확인되었다. 본 연구는 우리나라에서 콩위축바이러스의 발생에 관한 최초 보고이다. 이 바이러스의 추가적인 특징을 알아보기 위하여 종 특이적 프라이머를 이용한 RT-PCR로 계놈의 부분 염기서열을 결정하였다. 결정된 염기서열은 병징 발현 유형과 매개충 특이성에 기초하여 이전에 조사된 SbDV 계통들과 비교분석하였다. ORF 2와 ORF 3 유전자사이 영역(intergenic region)과 ORF 2, ORF 3 및 ORF 4의 코딩영역에서 SbDV-L81은 황화계통(SbDV-YS and YP) 보다 위축계통(SbDV-DS and DP)과 유사한 특징을 보였다. 한편, ORF 5의 5'쪽 코딩영역은 완두수염진딧물(*Acyrtosiphon pisum*)이 매개충인 계통(SbDV-YP and DP)과 밀접한 관련이 있는 것으로 나타났다. SbDV-L81은 자연상태에서의 병징과 5가지 영역의 염기서열 비교결과에서 SbDV-DP 계통과 밀접한 관련이 있는 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 농림부의 농림기술개발사업 및 농촌진흥청

국책과제의 연구 개발비에 의해 수행된 연구 결과의 일부입니다.

참고문헌

- Blackman, R. L. and V. F. Eastop. 2000. Aphids on the world's crops: An identification and information guide. 2nd ed. The Natural History Museum, London. 466 pp.
- Brunt, A. A., Crabtree, K., Dallwitz, M. J., Gibba, A. J., Watson, L. and Zurcher, E. J. (eds.). 1999 onwards. 'Plant Viruses Online : Description and Lists from the VIDE Database. Version : 20th August 1996.' URL <http://biology.anu.edu.au/Groups/MES/vide/>
- Cho, E. K., Chung, B. J. and Lee, J. Y. 1975. 대두의 새로운 바이러스병에 대한 연구. *Korean J. Pl. Prot.* 14(4): 234.
- Damsteegt, V. D., Hewings, A. D. and Sindermann, A. B. 1990. *Soybean dwarf virus*: Experimental host range, soybean germ plasm reactions, and assessment of potential threat to U.S. soybean production. *Plant Dis.* 74: 992-995.
- Demski, J. W., Kuhn, C. W. and Sinclair, J. B. 1989. Virus diseases, p. 50-51. In: Sinclair, J. B. and Backman, P. A. Compendium of soybean diseases. Third edition. APS press. 106 pp.
- 한국식물병리학회. 2004. 한국식물병명명목록 제 4판. 정행사. 779 pp.
- Honda, K., Kanematsu, S. and Mikoshiba, Y. 1999. Dwarfing strain of soybean dwarf luteovirus transmitted by *Nearctaphis bakeri* and *Acyrtosiphon pisum*. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan* 65: 387.
- Hull, R. 2002. Expression of viral genomes, p. 267-268. In: Matthews' Plant Virology. Fourth edition. Academic Press. 1056 pp.
- Lee, S. H., Choi, Y. M., Kim, J. S. and Chung, B. J. 1985. Identification of alfalfa mosaic virus from Soybean. *Korean J. Plant Pathol.* 1(1): 33-37.
- Lee, S. H., Lee, M. H. and Tochiara, H. 1980. An infectious virus isolated from soybeans. *Korean J. Pl. Prot.* 9(3): 175-179.
- Lee, S., Holman, J. H. and Havelka, J. 2002. Illustrated catalogue of Aphididae in the Korean Peninsula. Part 1, Subfamily Aphidinae (Hemiptera: Sternorrhyncha). Insects of Korea 9. KRIB & CIS, Seoul. 331 pp.
- Mikoshiba, Y., Fujisawa, I. and Honda, K. 1991. A new strain of soybean dwarf virus transmitted by *Acyrtosiphon pisum* in Japan. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan* 57: 448.
- Mikoshiba, Y., Honda, K., Kanematsu, S. and Fujisawa, I. 1995. Distribution of soybean dwarf virus strains in Japan. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan* 61: 276.
- Rathjen J. P., Karageorgos, L. E., Habili, N., Waterhouse, P. M. and Symons, R. H. 1994. Soybean dwarf luteovirus contains the third variant genome type in the luteovirus group. *Virology*

- 198: 671-679.
- Tamada, T. 1973. Strains of *soybean dwarf virus*. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan* 39: 27-34.
- Tamada, T. 1975. Studies on the soybean dwarf disease. Rep. Hokkaido. *Prefect. Agric. Exp. Stn.* 25: 1-144.
- Tamada, T., Goto, T., Chiba, I. and Suwa, T. 1969. Soybean dwarf, a new virus disease. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan* 35: 282-285.
- Terauchi, H., Kanematsu, S., Honda, K., Mikoshiba, Y., Ishiguro, K. and Hidaka, S. 2001. Comparison of complete nucleotide sequences of genomic RNAs of four *soybean dwarf virus* strains that differ in their vector specificity and symptom production. *Arch Virol* 146: 1885-1898.
- Yamagishi, H., Terauchi, H., Kanematsu, S. and Hidaka, S. 2003. Characterization of the small subgenomic RNA of *Soybean dwarf virus*. *Arch Virol* 148: 1827-1834.
- Yamagishi, N., Terauchi, H., Honda, K., Kanematsu, S. and Hidaka, S. 2006. Discrimination of four *soybean dwarf virus* strains by dot-blot hybridization with specific probes. *Journal of Virological Methods* 133: 219-222.