

CGMMV-CP 형질전환 수박대목의 CGMMV 내성시험 및 계통확보

박상미¹, 권정희¹, 임미영¹, 신윤섭¹, 허남한¹, 이장하¹, 류기현², 한지학^{1*}

¹(주)농우바이오 생명공학연구소, ²서울여자대학교 환경생명과학과

CGMMV Tolerance Test of CGMMV-CP Transgenic Watermelon Rootstock and Establishment of Transgenic Line

Sang Mi Park¹, Jung Hee Kwon¹, Mi Young Lim¹, Yoon Sup Shin¹, Nam Han Her¹, Jang Ha Lee¹, Ki Hyun Ryu², and Chee Hark Harn^{1*}

¹Biotechnology Institute, Nongwoo Bio Co., Ltd., Yeosu 469-885, Korea

²Department of Environmental and Life Science, Seoul Women's University, Seoul 139-774, Korea

ABSTRACT Previously developed transgenic watermelon rootstocks (gongdae) inserted by CGMMV-CP were examined to test the virus tolerance levels. In the restricted plastic house, the T₃ watermelon rootstock showed tolerance to CGMMV until 70 days after inoculation on the leaves while the non-transformed watermelon rootstock became susceptible at 20 days after inoculation. In the field, tolerance efficiency of transgenic rootstocks maintained up to 40% at 71 days after contamination with CGMMV in the soil while all of the non-transformed rootstocks became susceptible at 37 days with the same condition. In the same field, transgenic rootstocks showed more tolerance to CGMMV than the non-transformed rootstocks as those were inoculated on the leaves, but it showed only 10 days delay before being susceptible. Therefore, transgenic rootstocks have a characteristic of delay effect against CGMMV susceptibility, rather than resistance character. From T₃ rootstocks homozygous for the CGMMV-CP, horticulturally favorable individuals were selected for further breeding and a transgenic line was finally obtained at the BC₁T₅. A material transfer experiment was conducted to find out if the DNA, RNA or expressed protein in the transgenic rootstocks could move to the grafted scion (non-transformed watermelon, Super-Kumcheon). PCR, northern, and western blot analysis were performed and no evidence of transferring of those materials from rootstock to scion was ever found.

서론

수박, 오이, 멜론, 참외 등 박과 작물의 재배 시 토양 적응성을 높이고, 토양으로부터 전염되는 병해를 줄이기 위하여 대목을 이용하는 접목방법 (grafting)이 일반화 되어 있다. 수박공대는 야생 수박으로 토양 적응성이 높아서 수박품종의 대목으로 이용되고 있으나 오이녹반모자이크 바이러스 (CGMMV: cucumber green mottle mosaic virus)에 대한 저항성이 없다. CGMMV는 병원성이 강하고 물리적으로 안정화 되어 있는 tobamovirus 속으로 우리나라에는 1989년 경남 진주 수박농가에서 최초로 발생하였고, 1995년 오이 농가에

서도 발생된 이후 종자, 접촉, 토양전염으로 현재 전 박과 작물에 전염되고 있다 (Lee et al. 1990, Choi 2001, Ko et al. 2004). 또한, 국내 박과작물 종자의 해외 채종지인 중국 등에서 수입된 대목용 박과작물 종자들이 CGMMV에 심하게 오염되기 때문에 CGMMV는 2001년서부터 규제비검역병으로 지정고시가 되어있다. 따라서 수입종자 검역결과 불합격시에는 외국 채종지에서의 종자수급이 어려워짐으로서 종자 시장에 미치는 파장이 매우 크다. CGMMV 증상은 발병 초기에 어린잎 황색반점이 나타나고, 잎의 크기가 정상 잎보다 작으며 잎 전체가 가늘어지고 황색으로 변한다. 과일의 꼭지 부분에 갈색의 무늬가 있으며 과일 표피에 짙은 녹색의 둥근 무늬가 생기고, 과육은 흑적색 및 공동과 현상으로 상품성이 거의 없어 경제적으로 막대한 손실을 초래 한다 (Lee

*Corresponding author Tel 031-883-7055 Fax 031-884-7065
E-mail: chham@nongwoobio.co.kr

et al. 1990, Lee 1996, Choi 2001). CGMMV 방제 방법은 이병 추가 발생할 경우 빠르게 제거하여 전염을 방지하고, 작업 시 손이나 작업도구를 제 3인산소다 10% 용액에 소독하며, 오염된 토양에는 3년 동안 동일한 과에 속하는 작물의 경작을 피해야 한다. 또한, 정식 시 10% 탈지분유액을 처리하면 뿌리의 상처 또는 뿌리의 접합 부분을 코팅하는 효과를 보여 토양으로부터의 감염을 억제시켜준다 (Choi et al. 2004). 그러나 방제 방법이 있어도 토양이 감염되면 무의미하기 때문에 저항성 품종개발이 절실히 요구되었다. 현재로서는 유전자원이 없어서 관행육종 방법을 통해서 CGMMV 내성 품종을 만들 수 없다. 따라서 바이러스 유전자인 CP (coat protein) 등이 내성유전자를 이용한 형질전환체 개발과 선발을 통하여 유전자원을 제공할 수 밖에 없다 (Gaba et al. 2004, Park et al. 2005).

농업경영에 중요한 작물인 담배 (Sohn et al. 1997, Sinister et al. 1999), 파파야 (Bau et al. 2003), 멜론, 호박 (Fuchs et al. 1998), 수박 (Xu et al. 2004), 감자 (Kaniewski et al. 1990) 등에 CP 유전자를 도입하여 여러 바이러스의 저항 효과를 보고하였다. Amit 등 (2005)의 보고에 의하면 오이 대목에 CFMMV (*cucumber fruit mottle mosaic tobamovirus*)의 replicase 유전자를 도입한 후 형질전환하지 않은 오이 접수를 접목하여 1차적 원인인 토양 오염으로부터 접수를 보호하였다. 실험결과 대목과 접수에서 높은 저항성을 보였으며, 일부 line에서는 CFMMV 뿐만 아니라 CGMMV, KGMMV (*kyuri green mottle mosaic virus*), ZGMMV (*zucchini green mottle mosaic virus*)에서도 저항성을 보였다.

본 실험에서는 이미 개발된 CGMMV-CP 형질전환 수박공대 (Park et al. 2005)를 자가수분하여 세대진전 후 형질전환 계통을 선발하였으며 형질전환 육성세대를 이용하여 CGMMV 내성 검정을 격리하우스 또는 노지 포장에서 실시하여 내성 정도를 조사하였다. 본 실험을 통하여 처음으로 LM 수박공대 대목으로부터 non-LMO 수박을 생산하였다.

재료 및 방법

식물재료

연구에 이용된 식물체 재료는 수박대목용 수박공대 (*Citrullus lanatus* (Twinsen) cv. gongdae)이며 특히 육성계통인 찰떡공대 [(주)농우바이오]를 사용하였다. 찰떡공대에 *Agrobacterium tumefaciens* strain LBA4404를 매개로 하여 CGMMV-CP 유전자를 도입하였고 형질전환 개체 C line (Park et al. 2005)을 개발한 다음 본 실험에서는 그 후대를 육성하여 재료로 이용하였다.

Homozygote 선발

T₁ 식물체를 자가수분하여 세대를 진전시켰으며, 매 세대마다 PCR 분석과 CGMMV 내성 검정을 실시하여 내성이 있는 형질전환 식물체를 선발하였다. 세대진전 시 한 식물체가 하나의 sub-line 이므로 개체별 채종하였다. Homozygote를 선발을 위해서 T₃, T₄세대에 있는 66개의 sub-line를 PCR 분석하였다. 식물체 수는 sub-line 당 50개체씩 사용하였다. Genomic DNA 추출은 Dellaporta (1983) 등의 방법을 응용하였으며 primer는 35S primer (5'-CAGAAGACCAAAGGGCAA-3')와 reverse primer (5'-GACCAGACTACCGAAAACG-3')를 이용하였다. PCR 반응 조건은 94°C에서 5분간 pre-denaturation 후 94°C에서 1분 denaturation, 60°C에서 1분 annealing, 72°C에서 1분 extension을 35회 반복한 후 72°C에서 5분간 post extension하는 조건으로 하였고, PCR 산물은 0.8% agarose gel을 이용하여 전기영동으로 확인하였다.

유전자 이동 분석

형질전환 대목에서 CGMMV-CP 유전자에 의해 형성된 물질이 형질전환 하지 않은 접수로 이동하는지의 여부를 알아보고자, 선발된 homozygote 수박공대 (T₃)를 파종하여 자엽 전개 시에 일반 수박 품종인 슈퍼금천수박 [(주)농우바이오]과 접목하였다. 접목 방법은 호접을 하였으며, 1주 동안은 접합부위를 접목 핀으로 고정시킨 후, 습도를 높게 유지하였다. 4주 동안 온실에서 재배한 후 대목인 뿌리와 접수인 잎을 채취하여 PCR, northern, western 분석하였다. DNA의 이동여부를 알아보고자 위와 같은 방법으로 PCR를 수행하였다. RNA 이동여부를 위한 northern 분석은 채취한 뿌리와 잎을 1g 마쇄한 후 Chomczynski와 Sacchi (1987)의 방법을 따라 total RNA를 분리하였다. 분리한 RNA (30 µg)를 1.0% formaldehyde agarose gel에 전기영동한 후 nylon membrane에 고정시켰다. CGMMV-CP 유전자 (576 bp)를 ³²P-dCTP로 표지하여 probe를 만들어서 60°C에서 24시간 동안 hybridization 시켰다. X-ray 필름에 1주 정도 exposure 한 후 현상하였다. Protein 이동여부를 알아보고자 식물체를 바이러스에 노출되지 않도록 관리한 후 western blot을 실시하였다. 채취한 뿌리와 잎 1g 마쇄한 후 0.01 M phosphate buffer를 이용하여 total protein을 추출하였다. Protein (3 µg)을 12% SDS-polyacrylamide gel에 전기영동한 후 nitrocellulose membrane으로 electro-blotting 하였다 (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA). Membrane을 TBST buffer (20 mM Tris [pH 7.5], 150 mM NaCl, 0.1% Tween 20)에 10분간 세척한 후, TBST에 5% nonfat dry milk가 포함된 용액으로 45분간 blocking하였다. 1차 항체는 서울

여자대학교에서 토끼로부터 제작한 것을 1:1,500의 비율로, 2차 항체로 구입한 antibody (Promega Crop, Madison, WI)를 1:7,500의 비율로 TBST용액에 희석하여 사용하였다. 반응 후, ECL buffer (Amersham Biosciences)를 1:1로 섞어 1분간 반응한 후 X-ray 필름에 5분간 exposure 한 후 현상하였다.

CGMMV 내성 검정

접종원은 수박에서 분리한 CGMMV (W-strain)를 참박에서 증식하여 약 3주 후에 모자이크 증상을 보이는 이병엽을 수확하여 이용하였다. 격리하우스에서 대조구는 50립을 파종하였고 형질전환체 종자는 다수 파종하여 PCR로 유전자 삽입이 확인된 자엽 50점을 실험에 사용하였다. 본엽이 보이기 시작하는 시기에 자엽 2매에 접종원을 0.01 M 인산완충액 (pH 7.0)에 넣고 (1:5, w/v), 마쇄한 후 carborundum (600 mesh)을 이용하여 붓으로 접종하였다. 접종 후부터 일주일 간격으로 육안검정과 ELISA (DAS-ELISA, Agdia) 검정을 병행 실시하여 바이러스 증상을 확인하였다.

포장시험

포장시험은 토양전염 시험과 접촉전염 시험으로 나누어 시행하였다. 토양전염 시험은 인위적으로 포장을 오염시키기 위하여 CGMMV (W-strain)를 접종한 이병된 수박공대를 포장에 4주간 재배한 후 식물체를 제거하였다. 일주일 후에 이병되지 않은 대조구와 형질전환 식물체를 정식하였다. 접촉전염을 막기 위해 한 식물체당 하나의 면도날을 이용해 식물체를 관리하였다. 접촉전염 시험은 자엽이 전개된 후 본엽이 보이기 시작하는 시기에 자엽 2매에 carborundum을 이용하여 붓으로 접종하였다. 접촉전염을 높이기 위해서 접종된 식물체와 접종하지 않은 식물체를 번갈아 가면서 정식하였으며 한 실험구 당 하나의 전정가위를 이용하여 접촉전염을 유도하였다. 실험구 당 33개체를 정식하였고, 식물체의 주 당 간격은 50 cm로 하였다. 조사는 정식 후부터 과실 수확기까지 일정한 간격으로 육안검정과 ELISA 검정을 병행 실시하였다.

결과 및 고찰

Homozygote 선발

T₁세대에서 CGMMV-CP 유전자가 1 copy 삽입된 C line (Park et al. 2005)을 계속 육성하여 T₂, T₃, T₄ 세대를 차례로 구축하였다. T₃, T₄ 세대 중에서 66개의 sub-line을 PCR 분석한 결과 25개의 sub-line에서 30개체 모두 밴드가 확인되어

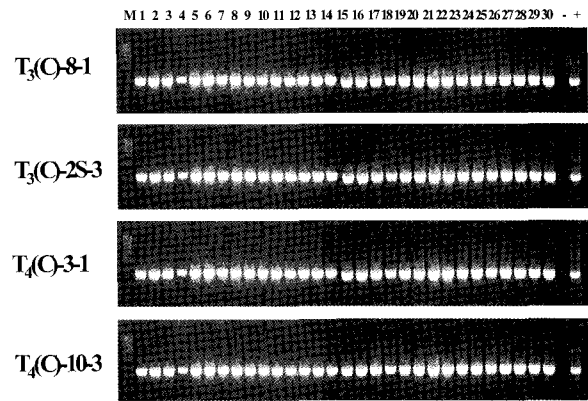


Figure 1. By PCR analysis, T₃ and T₄ sub-lines (8-1, 2S-3, 3-1, 10-3) were conformed as homozygotes. Lane M: 1 kb ladder (Gibco BRL Co.); -: negative control (non-transformed plant); +: positive control (*Agrobacterium* with CGMMV-CP); Lane 1-30: shoot samples grown from seeds of each sub-lines.

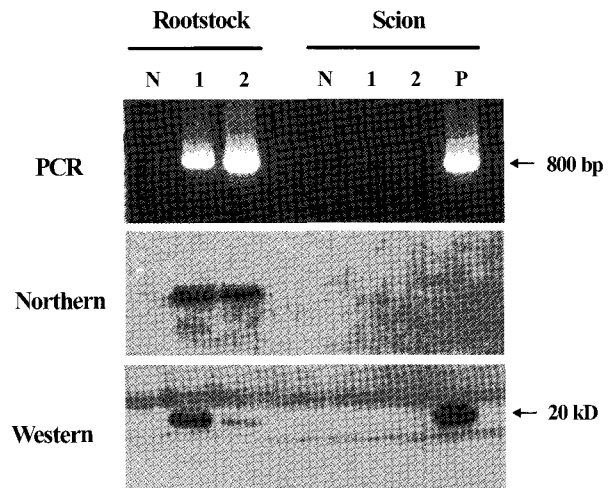


Figure 2. Material transfer experiment from rootstock to scion. Levels of DNA, transcript and protein of CGMMV-CP were detected by PCR, northern and western blot analysis, respectively. Rootstock, transgenic watermelon rootstock (T₃); Scion, non-transformed watermelon (Super-Kumcheon) grafted to rootstock. N, non-transformed; P, positive control.

homozygote을 선발할 수 있었다 (Fig. 1).

유전자 이동 여부

자엽 전개 시에 형질전환 (LM) 수박공대와 형질전환 하지 않은 슈퍼금천수박 (non-LM 수박)을 접목하였다. 대목의 뿌리와 접수의 잎을 채취하여 PCR, northern, western을 분석하였다. 분석 결과 대조구의 뿌리와 잎에서는 모두 밴드가 나타나지 않았으나, 형질전환 수박공대의 뿌리에서는 PCR, northern, western 모두 밴드가 나타났고, 접수인 잎에서는 모두 밴드가 나타나지 않았다 (Fig. 2). 따라서, 수박공대 형질전환체내에서 형성되는 CGMMV-CP 유전자와 관련된 DNA, RNA, protein 물질이 지상부인 접수로 이동하지 않음을 알 수

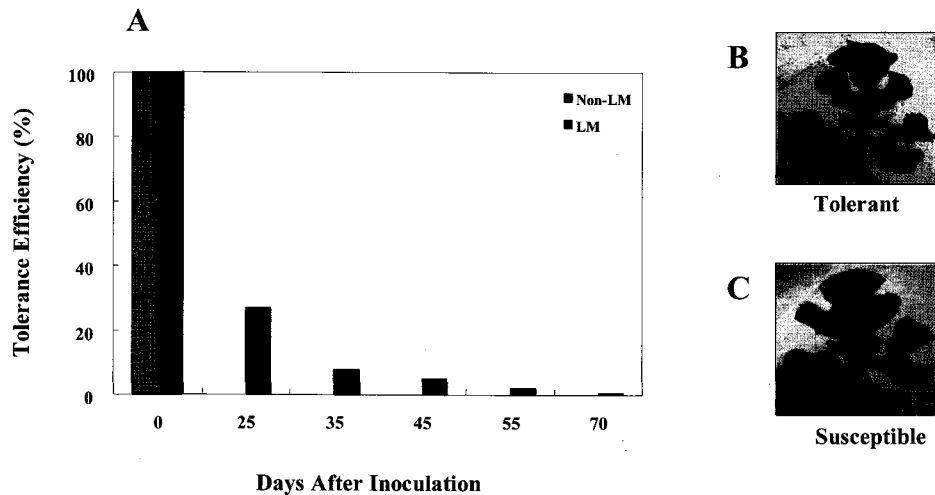


Figure 3. Tolerance Efficiency (%) of transgenic watermelon rootstock (T_3) after inoculation with CGMMV in the isolated plastic house. A, ELISA analysis of transgenic watermelon rootstock along with days after inoculation with CGMMV. B, Transgenic watermelon rootstock showed no symptom; C, Non-transformed watermelon rootstock showed mosaic symptoms and leaf distortion.

있었다. 즉 대목은 LMO이지만 접수체인 슈퍼금천수박은 non-LMO이므로 LM 대목에서 처음으로 슈퍼금천수박 (non-LM)을 확보하였다. 본 실험에서는 슈퍼금천수박에 대한 내성 실험을 하지는 않았지만, 기초 실험으로서 형질전환하지 않은 수박공대를 형질전환된 수박공대에 접수하였을 때 결국에는 다른 접촉에 의해서 CGMMV에 이병되는 것을 확인하였다 (자료 미제시). 만약 슈퍼금천수박 접수체에 형질전환 대목의 유전물질이 이동하지 않고서도 SAR (Systemic Acquired Resistance)과 같은 작용으로 바이러스에 내성을 갖는다면 이상적인 결과가 될 것이다. 최근 Amit 등 (2005)에 의하면 CFMMV-replicase를 도입한 오이대목 (LMO)에 비형질전환체인 오이 (non-LMO)를 접수한 결과 non-LMO 오이에도 바이러스 내성을 관찰할 수 있었다고 보고하였다. 이들 non-LMO 오이에 유전물질이 이동되었는지는 조사 되어 있지 않지만 대목과 접수의 여러 대사산물의 이동 여부에 대한 연구가 중요할 것으로 사료된다.

바이러스 내성 시험

격리하우스 내에서 형질전환체와 대조구의 어린 자엽 각각 50점에 CGMMV를 접종한 후 모자이크 병징을 관찰한 결과 대조구에서는 25일 만에 모두 이병이 되었으나 형질전환 식물체에서는 같은 기간에 30%의 내성률을 보였다 (Fig 3A). 또한 형질전환체 일부 식물체들은 70일까지 내성을 보이다가 결국에는 모두 이병 되었다. 접종 후 형질전환체 (내성)와 대조구 (이병)의 잎 모양은 현저히 차이가 났으며 (Fig. 3B, C) 형질전환체가 발병 지연 효과에 의해 나중에 이병되었더라도 이병 정도가 대조구에 비해서 비교적 약했으며 (자료 미제시) 모자이크 크기도 작았다. 따라서 T_1 세대에서도 부분 내성이

로 확인되었던 형질전환체 (Park et al. 2005)가 T_3 , T_4 세대에서도 대조구에 비해 지연효과를 보이는 내성특성을 계속 유지하고 있다고 사료된다. PRSV-CP 유전자를 도입한 파파야 형질전환 식물체의 여러 T_1 line에 바이러스 저항성 시험을 한 결과 저항성의 정도는 이병성, 지연효과가 낮은 저항성, 지연효과가 높은 저항성, 완전 저항성 등으로 구분하였다 (Bau et al. 2003). CGMMV-CP 수박공대인 경우 완전 저항성은 확보를 하지 못하였는데 이는 유전자의 삽입 위치에 따라 저항성 정도가 차이날 수 있을 것으로 사료되며 그 외 여러 보고에서도 CP 유전자는 완전 내성보다는 부분 내성의 특성을 보인다는 보고가 일반적이다 (Sohn et al. 1997, Fuchs et al. 1998, Sinisterra et al. 1999). 또한, 같은 형질전환체라도 이른 시기에 이병된 식물체는 늦게 이병된 식물체에 비해서 초장, 잎의 크기 등 전반적인 생육이 저하되었으며 병징 역시 심하게 나타났다. Sohn 등 (1997)의 보고에서도 생장 억제정도, 병징 발현에 따른 잎 모양의 변화로서 내성의 정도를 판정하였다.

노지 포장시험

크게 2가지 노지 포장시험을 실시하였는데 토양을 CGMMV로 전염시킨 후 정식한 토양전염 시험과 어린 자엽에 carborundum (600 mesh)을 이용하여 붓으로 접종하고 토양에 정식한 접촉시험이었다. 토양전염 시험에서 대조구 수박공대는 접종 후 30일부터 이병 개체가 관찰되었으며 37일에는 모두 이병 되었다 (Fig. 4A). 반면에 형질전환 식물체는 42일까지 80%의 내성률을 보이다가 과실 수확기인 71일에는 40%의 내성률을 보였다. 어린 자엽에 CGMMV를 접종한 접촉시험에서는 토양전염에 비해 빠른 속도로 이병 되었다 (Fig. 4B). 대조구와 형질전환체가 20일까지는 비슷한 내성률을 보이다가 대

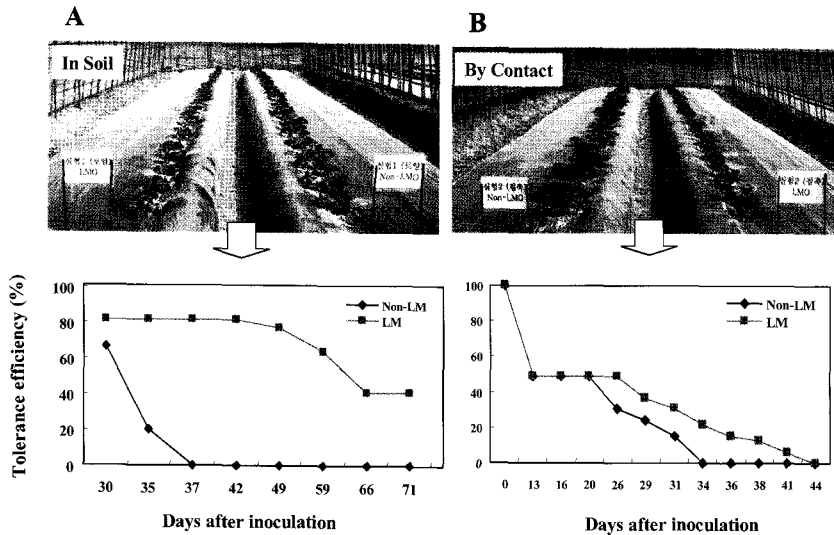


Figure 4. Tolerance test of transgenic watermelon rootstock (T_3) and non-transformed watermelon rootstock in the field. A, The soil was contaminated with CGMMV before planting the transgenic and non-transformed watermelon rootstocks. B, The transgenic and non-transformed watermelon rootstocks were planted after inoculating by CGMMV on the cotyledons.

조구는 34일에 모두 이병되었고, 형질전환체는 44일에 모두 이병되었다. 즉 대조구에 비해 형질전환체가 약 10일 정도의 지연효과를 보였다. 이와 대조적으로 격리하우스에서는 접종 후 70일 까지 내성을 갖는 형질전환체들이 존재하였기 때문에 (Fig. 3A) 노지 포장의 내성 결과와 많은 차이가 있다. 이는 노지에서의 일정치 않은 환경변화가 지연효과를 단축할 수 있다고 사려된다. Ko 등 (2004)의 보고에 의하면 CGMMV 감염시기별 수박 생육의 차이를 조사한 결과, 무치리에 비해 정식기 접종이 37.4%로 감소하였고, 경엽신장기 접종은 20% 정도 감소하였다. 착과기 이후의 접종은 생육에 큰 차이를 나타내지 않아 CGMMV 감염시기가 빠를수록 생육이 저하되었다. 그리고 수박의 품질을 좌우하는 과중, 당도, 피수박 여부에 대한 조사에서도 감염시기가 빠를수록 품질이 저하되는 경향을 보이고 있어 CGMMV의 감염시기도 품질에 큰 영향을 끼치는 것을 알 수 있었다. 본 실험에서도 CGMMV-CP 유전자가 완전 내성을 갖지는 못하였으나 부분 내성으로 CGMMV의 감염시기를 지연시킴으로써 이병된 식물체의 생육과 품질이 감소되는 것을 줄일 수 있었다. 또한, Amit 등 (2005)의 보고에 의하면 CP 유전자 도입은 바이러스의 균주 범위는 넓으나 내성은 떨어지고, replicase 도입은 homology가 높은 균주에 제한되어 있으나 높은 내성을 나타냄을 제시함으로써 삽입 유전자 종류에 따라서 내성정도가 노지나 격리 포장에서 차이가 날 수 있다고 사료된다.

형질전환체 계통선발

수박공대 형질전환체 육성 시 자식열세 영향으로 원예적으로 비형질전환체인 대조구에 비해 약간 차이가 있는 경우

도 발견되었으며 재배과정에서 somaclonal variation 역시 많이 발견되었다 (자료 미제시). 따라서 T_4 세대에서 원예적으로 거의 차이가 없는 개체를 대조구와 여교잡을 하였고 (BC_1T_4) (Fig. 5A) 여교잡된 세대를 정식하여 원예적으로 이상이 없음을 확인하였다 (Fig. 5B). 여교잡된 세대를 자가수분하여 BC_1T_5 를 확보하였으며 (Fig. 5C) 그 종자를 파종하여 homozygote를 선발하였다. 이들은 원예적으로 대조구와 차이가 없으며 부분 내성이 있는 수박공대로 확인됨으로서 (자료 미제시) 향후 F_1 조합 작성에 이용 될 형질전환체 계통을 확보하였다.

적 요

수박작물의 대목용으로 사용하는 수박공대에 CGMMV-CP 유전자를 도입하여 개발된 LM 수박공대의 CGMMV 내성 정도를 격리하우스와 노지 포장내에서 조사하였다. 격리온실에서 T_3 형질전환 수박대목의 CGMMV 내성은 접종 후 70일 까지 유지되는 반면 대조구는 접종 후 20일에 전부 이병되었다. 인위적 토양전염 포장에서 형질전환체는 접종 후 71일 까지 약 40%의 내성률을 보였으며, 대조구는 접종 후 37일에 모두 이병되었다. 인위적 접촉전염 포장에서 형질전환체는 대조구에 비해 약 10일 정도 지연효과를 보였다. 따라서 CGMMV-CP 형질전환체는 CGMMV에 저항성을 가진 것이 아니라 감염시기를 지연시키는 부분 내성으로 나타났다. CGMMV-CP homozygous T 세대를 진전시켜서 형질전환 수박공대 계통을 BC_1T_5 세대에서 선발하였다. 또한 LM 수박공대에 형질전환 되지 않은 접수 (슈퍼금천수박)를 접목하여 non-LM 수박을 생산하고 CGMMV-CP 유전자에 관련된 물질

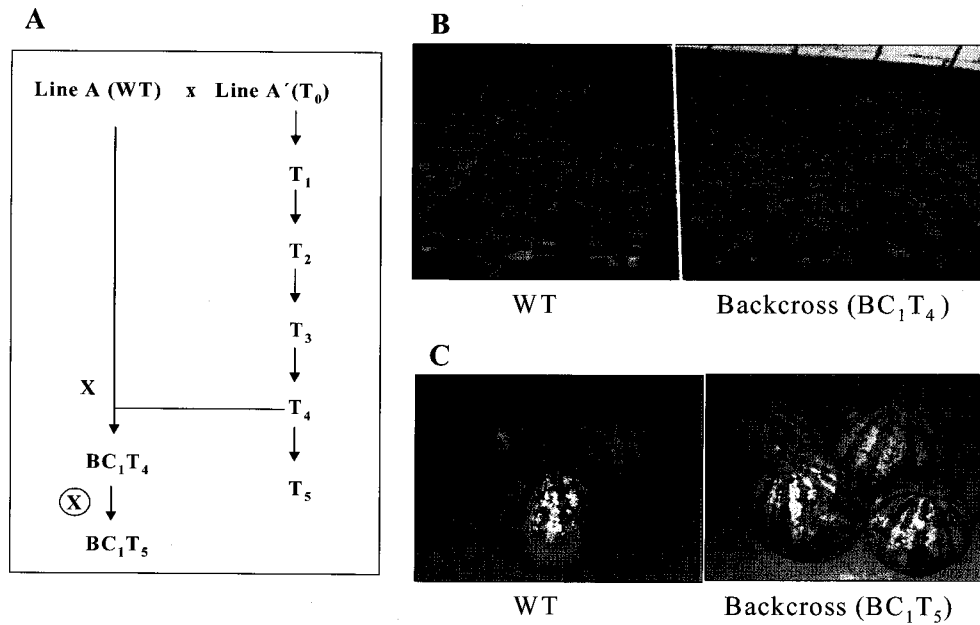


Figure 5. A, A diagram for breeding the transgenic watermelon rootstock. B, Comparison between WT (non-transformed watermelon rootstock) and BC₁T₄ of transgenic watermelon rootstock. C, Fruits obtained from non-transformed WT and BC₁T₅.

의 이동 여부를 조사하였다. PCR, northern, western 분석한 결과 수박공대 대목에서 형성되는 DNA, RNA, protein 물질이 접수로 이동되지 않음을 확인하였다.

사 사

본 연구는 농진청 바이오그린 21 연구사업단과 과기부 프론티어 작물유전체기능연구사업단 (과제번호: CG2242) 연구비 지원에 의하여 수행되었습니다.

인용문헌

- Amit GO, Dalia W, Yehezkel A, Larisa P, Ryu KH, Byoung EM, Malenia P, Oded L, Victor G, Yongzeng W, Yoel MS, Jee Y, Aaron Z (2005) Transgenic cucumbers harboring the 54-kDa putative gene of cucumber fruit mottle mosaic tobamovirus are highly resistant to viral infection and protect non-transgenic scions from soil infection. *Trans Res* 14: 81-93
- Bau HJ, Cheng YH, Yu TA, Yang JS, Yeh SD (2003) Broad-spectrum resistance to different geographic strains of papaya ringspot virus in coat protein gene transgenic papaya. *Virology* 93: 112-120
- Choi GS (2001) Occurrence of two tobamovirus diseases on cucurbits and control measures in Korea. *Plant Pathol J* 17: 243-248
- Choi GS, Kim JH, Kim JS (2004) Soil transmission of cucumber green mottle mosaic virus and its control measures in watermelon. *Res Plant Dis* 10(1): 44-47
- Chomczynski P, Sacchi N. (1987) Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 162(1): 156-9
- Dellaporta SL, Wood J, Hicks JB (1983) A simple and rapid method for plant DNA preparation. *Version II Plant Mol Biol Rep* 1: 19-21
- Fuchs M, Klas FE, Mcferson JR, Gonsalves D (1998) Transgenic melon and squash expressing coat protein genes of aphid-borne viruses do not assist the spread of an aphid non-transmissible strain of cucumber mosaic virus in the field. *Trans Res* 7: 449-462
- Gaba V, Zelcer A, Gal-On A (2004) *Cucurbit* biotechnology-the importance of virus resistance. *In Vitro Cell Dev Biol Plant* 40: 346-358
- Ko SJ, Lee YH, Lee TS, Yang KY, Park JW, Choi HS (2004) Influence of CGMMV infection times on growth and quality of watermelon and cucumber. *Res Plant Dis* 10(1): 48-52
- Kaniewski W, Lawson C, Sammons B, Haley L, Hart J, Delannay X, Turner NE (1990) Field resistance of transgenic russet burbank potato to effects of infection by potato virus X and potato virus Y. *Bio/Technol* 8: 750-754
- Lee KY (1996) Current occurrence and control of CGMMV 'Konjak' disease. *Plant Dis Agric* 2: 38-39
- Lee KY, Lee BC, Park HC (1990) Occurrence of cucumber green mottle mosaic virus disease of watermelon in Korea. *Kor J Plant Pathol* 6: 250-255
- Park SM, Lee JS, Jegal S, Jeon BY, Jung M, Park YS, Han SL, Shin YS, Her NH, Lee JH, Lee MY, Ryu KH, Yang SG, Harn CH (2005) Transgenic watermelon rootstock resistant to CGMMV (cucumber green mottle mosaic virus) infection. *Plant Cell Rep* 24: 350-356
- Sinisterra XH, Polston JE, Abouzid AM, Hiebert E (1999) Tobacco plants transformed with modified coat protein of tomato mottle begomovirus show resistance to virus infection. *Virology* 89(8): 701-706

Sohn SH, Kim KH, Park JS, Hqang DJ, Hahn JH, Lee KW, Hwang YS (1997) Virus-resistance analysis in transgenic tobacco expressing coat protein gene of cucurnber mosaic virus. Kor J Plant Tiss Cult 24(3): 153-160

Xu Y, Kang D, Shi Z, Shen H, Wehner T (2004) Inheritance of resistance to zycchini yellow mosaic virus and watermelon mosaic virus in watermelon. J Heredity 95(6): 498-502

(접수일자 2007년 1월 8일, 수리일자 2007년 2월 4일)