

옥수수에 발생하는 벼검은줄오갈병의 유전자 비교

이봉춘* · 윤영남 · 홍성준 · 홍연규 · 황재복 · 송석보 · 강항원 · 이기운¹
농촌진흥청 국립식량과학원 기능성작물부, ¹경북대학교

Characterization of Rice black-streaked dwarf virus in Maize

Bong-Choon Lee*, Young-Nam Yoon, Sung-Jun Hong, Yeon-Kyu Hong, Jae-Bok Hwang,
Sek-Bo Song, Hwang-Won Kang and Key-Woon Lee¹

Department of Functional Crop, NICS, RDA, Milyang 627-803, Korea
¹Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea

(Received on October 7, 2008)

This study was carried out to identify the *Rice black-streaked dwarf virus* that infected maize plants collected from Gochang-gun in Jeollabukdo in 2005. The genomic dsRNA from infected plants was extracted and the genome pattern was analyzed by polyacrylamide gel electrophoresis. Results of the electrophoresis revealed the already known 10-segment genome and the difference of mobility was confirmed in isolates by collected areas. The RBSDV was identified from the result of RT-PCR using the template of extracted dsRNA and specific primer. The results of S10 cloned to pGEM-T vector and the conducted in sequence analysis consisted of 1,801nt and 559aa. This was of the same size as the RBSDV S10 identified in rice, and the change was confirmed in 18 base and displayed homology of 99%.

Keywords : Genomic dsRNA, Nucleotide sequence, *Rice black-streaked dwarf virus*

벼 검은줄오갈병(*Rice black-streaked dwarf virus*, RBSDV)은 *Reoviridae*과의 *Fijivirus* 속에 속하고 벼, 옥수수, 수수, 보리, 밀을 기주로 하며, 애멸구(*Laodelphax striatellus*)에 의해 증매전염된다(Shikata와 Kitagawa, 1977; Wang 등, 2003). 계놈은 dsRNA 이며 S1~S10의 10분절로 이루어져 있으며, 10분절의 염기서열이 모두 결정되었다(Fang 등, 2001; Zhang 등, 2001). 벼의 RBSDV는 우리나라, 일본, 중국에서 발생이 보고되었으며, 1941년에 일본에서 대발생한 적이 있으며(우리나라와 중국에서는 1960년대에 대발생한 적이 있다(Isogai 등, 2001; Shikata와 Kitagawa, 1977). 그러나 1970년대 이후 발생이 감소하기 시작하여 2000년도까지 거의 발생이 없었다. 최근 들어 남부지역에서 벼에 RBSDV가 조금씩 발생하기 시작하여 2004년도에는 지금까지 발생이 없었던 전북 고창지역에서 발생이 확인되었다(Lee 등, 2005). 또한 지금까지 조금씩 발

생하였던 영덕, 울진 지역에서도 발생이 확대되는 경향을 나타내고 있다. 2004년도의 고창지역 발생을 보면 발생이 많은 포장은 약 80%의 이병율을 나타내기도 하였다(Lee 등, 2005). 2005년도에는 벼에 RBSDV가 발생하였던 전북 고창지역에서 옥수수에 RBSDV가 발생하였다. 고창지역의 사료용 옥수수 재배지에서 약 22 ha에 피해가 나타났으며, 발생이 심한 포장은 95% 이상의 이병율을 나타내었다(Lee 등, 2006). 본 논문에서는 옥수수에 발생한 RBSDV의 계놈 dsRNA 패턴을 분석하고 벼 및 옥수수 이병주로부터 S10 분절의 염기서열을 분석하였다.

발생현황. 2004년에 벼에 RBSDV가 발생한 인근 사료용 옥수수 포장 약 22 ha에서 RBSDV가 대발생하였다. 대부분 포장에서 80% 이상의 이병율을 나타내었으며 발생이 심한 포장은 100%의 이병율을 나타내었다(Fig. 1). 옥수수의 RBSDV는 1970년대까지는 남부지방을 중심으로 년도에 따라 차이는 있으나 약 65~65%의 수량감소를 야기시키기도 하였다(Lee 등, 1989). 그러나 이후 발생이 점차 줄어들기 시작하여 거의 발생이 없었으나 최근 들어 옥수수에서 발생이 조금씩 확대되고 있다. 2005년의

*Corresponding author
Phone) +82-55-350-1273, Fax) +82-55-352-3059
E-mail) bclee@rda.go.kr

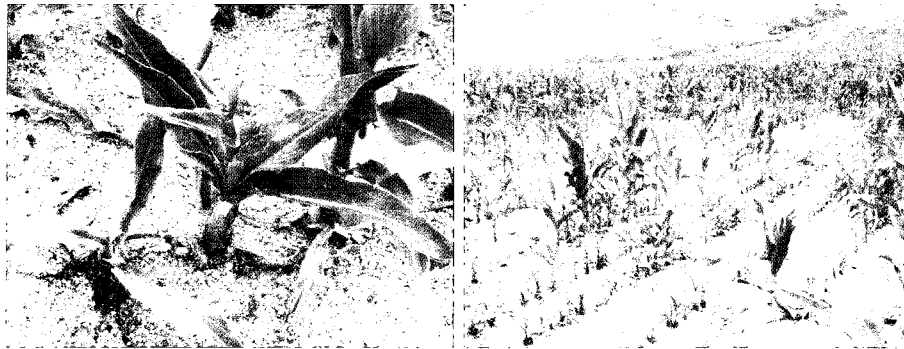


Fig. 1. Severe stunt and yellow streak on maize infected with RBSDV at Gochang area, Jeollabukdo. **Left;** Magnified symptom. **Right;** Almost all maize plants in field damaged by RBSDV with the infection rate of 95%.

고창지역의 대발생은 원인으로서는 전년도 인근 벼포장의 RBSDV의 발생으로 인하여 매개충인 애벌구의 보독충율이 높아져 있었으며, 겨울철 기온상승으로 인하여 이들 애벌구의 월동 밀도가 높아진 것 등이 원인으로 생각된다.

DsRNA 분리 및 polyacrylamide gel 분석. 벼 및 옥수수 병든 잎 100 mg으로부터 직접 dsRNA를 분리하여 (Uyeda 등, 1998) 1% agarose gel에서 전기 영동하여 확인하였다. 추출된 dsRNA는 agarose gel에서 분절을 확인한 다음 RT-PCR의 주형으로 사용하였다. DsRNA 계층 패턴 분석은 9% polyacrylamidegel을 사용하여 200V에서 24시간 전기영동하였다. 추출한 dsRNA를 agarosegel 전기영동 결과 분절계층을 확인하였으나 10개의 분절은 확인

이 불가능하였다. 정확한 dsRNA패턴 분석을 위하여 9% polyacrylamidegel에서 전기영동 결과 각각 다른 지역에서 채집한 분리주에서 이동도의 차이가 아주 적은 S3과 S4, S9와 S10계층은 겔상에서 겹쳐서 확인 되었으며, 이를 포함 10개의 분절계층이 확인 되었으며 계층의 이동도가 조금씩 차이가 있음을 확인하였다(Fig. 2). 그러나 이러한

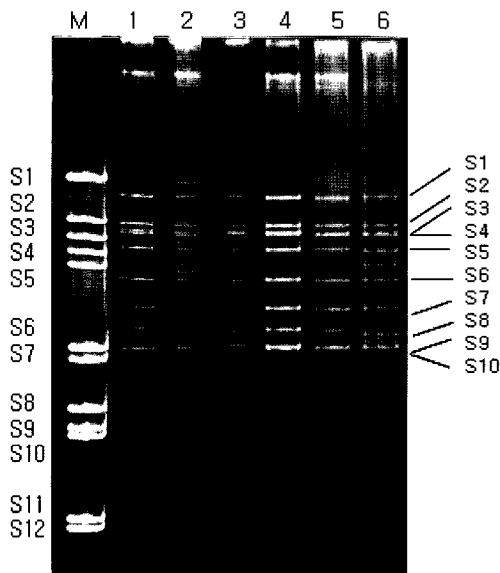


Fig. 2. Genomic dsRNA migration profiles of RBSDV isolates from rice and maize. Upper number on the columns shown dsRNA extracted from rice plants (1-3) and maize (4-6) infected with RBSDV. Lane 2 (Number 2) shown mixed infection of RDV and RBSDV. M is dsRNA size marker S1-S12 of RDV.

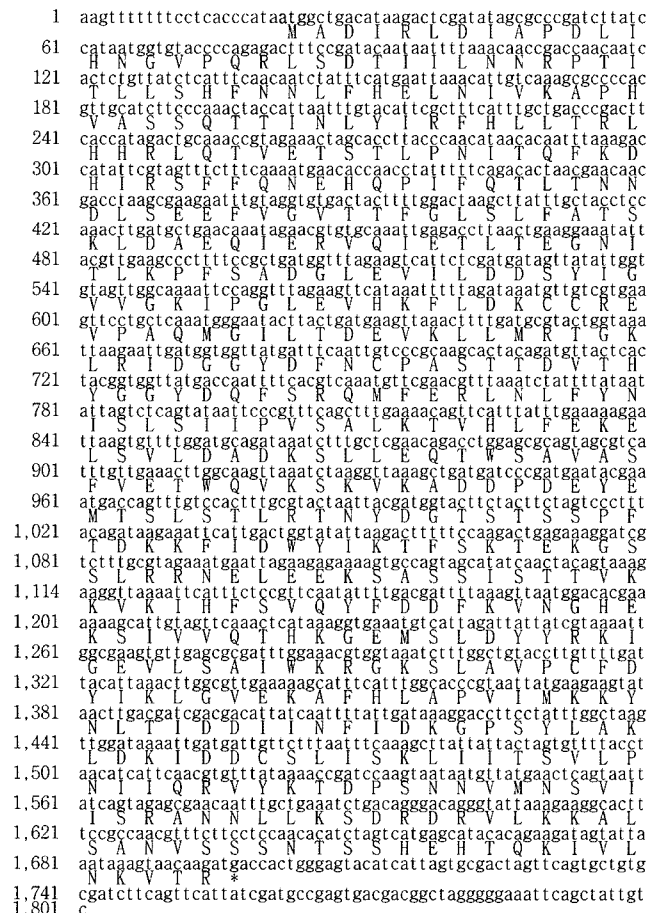


Fig. 3. Complete nucleotide sequence of RBSDV S10 from maize. The RBSDV S10 consisted of 1801nt and 559aa.

이동도의 차이로서는 각각 분리주를 구별하기는 곤란하였다.

RT-PCR 및 크로닝. 현재까지 벼 및 옥수수에서 발생하는 RBSDV의 분절계놈간 비교 분석 결과는 없으므로 우선 S10을 대상으로 하여 실험을 실시하였다. 벼 및 옥수수 이병주로부터 추출한 dsRNA를 주형으로 하고 S10(GenBank AF 227205)의 full-length 특이적인 primer를 사용하여 RT-PCR 하였다. Primer sequence는 upstream에 5'-GAG AAG CCA TAT GGC TGA CAT AAG ACT CG-3' downstream에 5'-CCG CTT AAG TCA TCT TGT TAC TTT ATT TA-3'를 사용하였다. RT-PCR로부터 얻어진 S10을 정제한 후 pGEM-T vector에 크로닝 하였다. 크로닝후 ABI377 DNA sequencer에 의해 염기서열을 분석하였다. S10의 염기서열 분석 결과 1,801 nt, 559 aa로 구성되었다(Fig. 3). 이는 전체길이에 있어서는 벼의 RBSDV S10과 동일하였다. 벼와 비교하였을 때 18개의 염기치환 변이가 확인되어 99%의 상동성을 나타내었다. 이 실험의 결과로서 국내에서 발생하는 옥수수의 RBSDV는 벼의 RBSDV와 동일한 것으로 확인되었다.

요 약

2005년 전북 고창에서 채집한 옥수수 이병주로부터 벼검은줄오갈병 바이러스를 동정하였다. 이들 이병주로부터 계놈 dsRNA를 추출하여 polyacrylamide gel 전기영동으로 계놈 패턴을 분석 하였다. 전기영동 결과 이미 알려진 10개의 분절계놈을 확인하였으며 채집지역별 isolate에서 계놈 dsRNA 이동도의 차이를 확인하였다. 추출된 dsRNA를 주형으로 하여 S10의 full-length 특이 primer를 사용하여 RT-PCR한 결과 1,801의 예상되는 band를 확인하여 RBSDV로 동정하였다. S10을 pGEM-T vector에 크로닝하여 염기서열 분석 결과 1,801nt, 559aa로 구성되어 있

었다. 이는 벼에 발생하는 RBSDV S10의 크기와 동일하였으며 상동성 분석결과 18개 염기에서 변이가 확인되어 99%의 상동성을 나타내었다.

참고문헌

- Lee, B. C., Hong, Y. K., Hong, S. J. and Park, S. T. 2006. Occurrence of *Rice black-streaked dwarf fijivirus* in maize. *Res. Plant Dis.* 12: 62-64.
- Lee, B. C., Hong, Y., K. Hong, S. J., Park, S. T. and Lee, K. W. 2005. Occurrence and detection of *Rice black-streaked dwarf virus* in Korea. *Plant Pathol. J.* 21: 172-173.
- Lee, M. H., Hey, C. H., Park, K. B. and Lee, Y. S. 1989. Productivity of silage by chemical control under different planting date in the *Rice black-streaked dwarf virus* of corn. *Res.Rept. RDA* 31: 31-35.
- Fang, S., Yu, J., Feng, J., Han, C., Li, D. and Liu, Y. 2001. Identification of *Rice black-streaked dwarf fijivirus* in maize with rough dwarf disease in China. *Arch Virol.* 146: 167-170.
- Isogai, M., Uyeda, I. and Choi, J.K. 2001. Molecular Diagnosis of *Rice black-streaked dwarf virus* in Japan and Korea. *Plant Pathol. J.* 17: 164-168.
- Shikata, E. and Kitagawa, Y. 1977. *Rice black-streaked dwarf virus*: Its properties, morphology, and intracellular localization. *Virology* 77: 826-842.
- Uyeda, I., Lee, B. C. and Ando, Y. 1998. Reovirus isolation and RNA extraction. In : Foster GD, Taylor SC (eds). *Methods in Mol. Biol.* 81: 65-75.
- Wang, Z. H., Fang, S. G., Xu, J. L., Sun, L. Y., Li, D. W. and Yu, J. L. 2003. Sequence analysis of the complete genome of *Rice black-streaked dwarf virus* isolated from maize with rough dwarf disease. *Virus Genes* 27: 163-168.
- Zhang, H. M., Chen, J. P. and Adams, M. J. 2001. Molecular characterization of segments 1 to 6 of *Rice black-streaked dwarf virus* from China, provides the complete genome. *Arch Virol.* 146: 2331-2339.