

# 학 술 연 구 발 표 회

## 제 1 발표장 : 진균병학

좌 장: 이 영 희

13:00 A01. 박과 채소작물에서 분리한 *Rhizoctonia solani* 균주들의 균사융합별 병원성.-----김완규. 조원대.

13:15 A02. *Stemphylium lycopersici*에 의한 토마토 점무늬병.  
----- 민지영. 김병섭. 조광연. 유승헌.엄명호.

13:30 A03. 인삼 근<sup>부</sup>균병(*Cylindrocarpon destructans* Zine)의 후막포자 발아에 관하여. ----- 유성준. 조진웅. 유승헌.조재성.

13:45 A04. Induction of smut on Corn Seedlings by Sporidia and Teliospore Inoculation of *Ustilago maydis* in Greenhouse.  
----- Chooge Hoe Kim, Hyun Joo Lee.

좌 장: 김 장 규

14:00 A05. Rice blast Forecasting System based on near Real-Time Microclimatic data.----- Kyu Rang kim. Eun Woo Park. Jang Souck Yang.

14:15 A06. Evaluation of a Forcasting System for Scheduling Fungicide Sprays to Control AppleInfection by *Botryosphaeria dothidea*.  
----- Ki Woo Kim. Eun Woo Park. Seong Bong Kim.

14:30 A07. 칼슘화합물 처리가 사과 겹무늬썩음병 발생에 미치는 영향.  
----- 김기훈. 이상범. 최용문. 김기열. 문병우.

14:45 A08. 사과 겹무늬썩음병 방제를 위한 전염원 밀도 경감법의 개발 방향 모색.  
----- 김대희. 김이부. 엄재열.

좌 장: 엄 재 열

- 15:00 A09. Benzimidazole계, Dicarboximide계 및 N-phenylcarbamate 계 살균제에 다  
중 저항성(multiple resistance)인 잭빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*)의 발생.  
----- 김병섭, 임태현, 박은우, 조광연.
- 15:15 A10. Dichlofluanid 에 저항성인 잭빛곰팡이병균(*Bortytis cinerea*)의 특성.  
----- 임태현, 김병섭, 차병진, 조광연.
- 15:30 A11. 수간주입구멍에 대한 밤나무의 반응.----- 차병진, 윤정구.
- 15:45 A12. Carpropamid 수면부상성 입제의 제제 및 이화학적 성질에 관한 연구 .  
----- 장성식, 한정길, 박창석, 김희규.
- 16:00 A13. Carpropamid 수면부상성 입제의 벼도열병에 대한 효과.  
----- 장성식, 박창석, 김희규, 한정길.

제 2 발표장 : 병원균 유전학,  
생물학적 방제 및 세균병학

좌 장: 황 병 국

- 13:00 B01. 고추 탄저병균의 *nit* 변이주 선발과 이를 이용한 체세포 화합성 검정.  
----- 오인석, 유승현.
- 13:15 B02. Further genetic analysis of an appressorium-deficient mutant (MG01)  
of *Magnaporthe grisea*.----- Sam Jae Chun, Sung Wook Chung,  
Seong baek Lee, Yong Hwan Lee.
- ✓13:30 B03. DNA -RFLP에 의한 벼도열병균의 유전적 분포 및 기주의 변이 분석.  
----- 한성숙, 최성호, 한경숙, 김장규.

13:45 B04. Isolation and Characterization of Molecular Marker for Several Races of *Pyricularia oryzae* using Random Amplified Polymorphic DNA. ----- Sun Min Hong, Dong Won Bae, Mee Hyang Kim, Chang Ki Shim, Kyu Young Kang, Nam Soo Kim, Hee Kyu Kim.

14:00 B05. Phylogenetic Grouping of *Pyricularia oryzae* Isolates on the basis of Random Amplified Polymorphic DNA Profiles. ----- Sun Min Hong, Dong Won Bae, Mee Hyang Kim, Chang Ki Shim, Kyu Young Kang, Nam Soo Kim, Soo Woong Kang, Hee Kyu Kim.

좌 장: 최 용 철.

14:15 B06. Biological Control of *Pythium* Seed rot and Preemergence Damping-off of Chickpea by Fluorescent Pseudomonads.----- Ju Ho Yun, D. M. Weller.

14:30 B07. 근권에 정착하는 Pseudomonad의 경시적인 밀도 변화와 존재 양상.  
----- 강지효, 박창석.

14:45 B08. Chitin분해세균을 이용한 벼 잎집무늬마름병의 생물학적 방제.  
----- 성기철, 정영륜.

15:00 B09. 제지 슬릿지 부숙과정에 포함된 미생물을 활용한 토양병의 생물적 방제.  
----- 김주실, 강지효, 박창석, 정영륜.

좌 장: 최 재 을.

15:15 B10. Univresal Primers 를 이용한 PCR 방법에 의한 벼종자전염성 세균의 검정방법.----- 노태환, 송환엽, 김형무, 소인영.

15:30 B11. *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* 에 의한 치커리의 세균성무름병.  
----- 전용태, 임춘근, 최준근.

15:45 B12. *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* 에 의한 콩세균성갈색점무늬병.  
----- 김현석, 최성호, 홍진성, 임춘근.

16:00 B13. 국내 감귤퀘양병균 (*Xanthomonas campestris* pv. *citri*)의 Phage type 조사. ----- 명인식, 이영희, 조용섭, 이은중.

16:15 B14. 감귤퀘양병균 (*Xanthomonas campestris* pv. *citri*) Bacteriophage (CPK-P5) 의 배양적 특성.----- 명인식, 이영희, 조용섭.

### 제 3 발표장 : 바이러스 병학

좌 장: 이 기 운

- 13:00 C01. Soil Transmission, Screening of Resistant Variety and Incidence of Ribgrass Mosaic Virus Occurring Chinese cabbage in Autumn Growing Season.-----Yoon, Mu-Kyung,  
Jin-Young Kim, Guk-Seoun Choi and Jeong-soo Kim.
- 13:15 C02. 남부지역에서 발생하는 토양전염성 맥류바이러스의 발병상황.  
-----소인영, 이귀재, 전길형, 장영선, 가시와사기 사도시.
- 13:30 C03. 페츄니아에서 분리한 Petunia Asteroid Mosaic Virus에 대하여.  
----- 노케미, 최충원, 최장경.
- 13:45 C04. 복숭아에 발생하는 바이러스(P-4)분리 동정.  
----- 김선희, 최용문, 김현관, 최장경.
- 14:00 C05. 3종식물바이러스에 대한 Gelrite gel과 Agar gel 이중확산법의 검출효율 비교.----- 나용준, 정효원.

좌 장: 박 은 경.

- 14:15 C06. Coinfection of Cucumber Mosaic Virus and Turnip mosaic virus to Chinese cabbage.----- Yoon, Mu-Kyung,  
Jin-young Kim, Guk-Swoun Choi, Jeong-Soo Kim
- 14:30 C07. Ultrastructural Comparison for the Cells of Chinese Cabbage Infected with Ribgrass Mosaic Virus and Turnip Mosaic Virus.  
----Cho, Jeom-Deog, Gug-Seoun Choi, Jeong-Soo Kim . Kyung-Soo Kim
- 14:45 C08. Dot Hybridization Detection of Potato Leafroll Virus Using Digoxigenin-Labeled RNA Probe.----- Choi, G. S.,  
Y. I. Ham, J. S. Kim, Y. M. Choi, J. K. Choi
- 15:00 C09. Molecular Cloning of cDNA and Restriction Mapping of cDNAs of an New Isolate of Odontoglossum Ringspot Virus..  
-----Ki Hyun Ryu, Jang Kyung Choi, Chang Won Choi , Won Mok Park

15:15 C10. Complete Nucleotide Sequence and Genome Organization of Odontoglossum Ringspot Virus and Relationships with Other Tobamoviruses.----- Ki Hyun Ryu . Won Mok Park.

좌 장: 이 재 열.

15:30 C11. Detection of Cucumber Mosaic Virus and Potato Virus Y by Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction.

----- Won Mok Park, Su Joong Kim and Ki Hyun Ryu.

15:45 C12. Restriction Primers as Short as 6-Mers by Reverse Transcription-Random Amplified Polymorphic DNA (RT-RAPD) for Amplification of Plant Virus RNA.

----- Won Mok Park, Su Joong Ki and Ki Hyun Ryu.

16:00 C13. 담배 모자이크 바이러스 고추계(TMV-P)의 외피단백질 및 이동단백질 유전자를 도입한 형질전환 담배의 TMV-P에 대한 반응.

----- 최장경. 홍은주. 이재열. 장무웅.

16:15 C14. GENOMIC ANALYSIS OF POTATO VIRUS Y-VN AND PROGRESS TOWARDS DEVELOPMENT OF PVY RESISTANT *NIVOTIANA TABACUM* VAR. BURLEY 21.

----- Hye Sun Cho, Eun Kyung Park and Kyung-Hee Paek

# 연 구 발 표 요 지

## 제 1 발표장 : 진균병학

A01

박과 채소작물에서 분리한 *Rhizoctonia solani* 균주들의 균사 융합군별 병원성. 김완규. 조원대. 농업과학기술원 병리과.

4종의 각 박과 채소작물에서 분리한 *Rhizoctonia solani* Kiihn 의 균사융합군별 각 기주에 대한 병원성검정을 실시하였다. 수박에서 분리한 *R.solani* 균사융합군 AG-1(1B)과 AG-2-2(III B)는 유묘에 병원성이 없고, 줄기에는 병원성이 약하였으며, AG-4는 모잘록증상 및 줄기썩음증상을 심하게 일으켰다. 호박에서 분리한 AG-1(1B),AG-4,AG-5는 줄기에 병원성이 약간 있었다. 오이에서 분리한 AG-1(1B)는 모잘록증상을 일으켰으나,줄기에는 병원성이 약하였으며,AG-4는 묘잘록증상 및 줄기 썩음증상을 심하게 일으켰다. 참외에서 분리한 AG-4는 모잘록증상 및 줄기썩음증상을 심하게 일으켰다.일반적으로 박과 채소작물에서는 호박을 제외한 3종의 기주에서 AG-4의 병원성이 가장 강한 것으로 나타났다.

A02

*Stemphylium lycopersici*에 의한 토마토 점무늬병. 민지영. 김병섭. 조광연. 유승현\*. 한국화학연구소 스크리닝연구부. \*충남대학교 농과대학 농생물학과.

우리나라 주요 토마토 시설재배단지인 충남 부여군 세도면에서 토마토 잎에 이미 알려진 병징과는 다른 점무늬 병징을 발견하였다. 이 병의 병징은 감염 초기에는 잎이 작고 불규칙한 흑갈색의 점무늬로 나타나며 병이 진전됨에 따라 점무늬가 확대, 융합되어 잎 전체가 고사탈락하게 된다. 이 병반으로 부터 병원균을 분리하여 건전한 토마토 잎에 병원균의 분생포자를 접종한 결과 포장에서와 같은 병징이 재현되었으며 다시 이 병반으로 부터 동일한 병원균을 재분리하였다. 병원균의 분생포자는 타원형으로 정단부의 크기가 12.5-17.5 x 45-75um로 가로:세로 비율이 약 1:3.5였다. 따라서 이 병원균을 *Stemphylium lycopersici* 로 동정하였고,이 병을 토마토 점무늬병으로 명명할 것을 제안한다.

A03

인삼 근부병균(*Cylindrocarpon destructans* Zine)의 후막포자 발아에 관하여. 유성<sup>3</sup>조진웅\*. 유승현. 조재성. 충남대학교 농생물학과, \*농학과.

인삼 근부병균 *Cylindrocarpon destructans* 는 후막포자의 형태로 토양 중에서 월동하여 연작장애의 주된 원인이 되는 병원균으로서 큰 피해를 주고 있다. 인삼포 예정지나 연작장애 가능성지에서의 근부병균의 후막포자 밀도 측정은 연작장애의 진단 및 묘상의 근부병 감염여부를 조사하는 중요한 수단이 된다. 그러나 인삼 근부병균의

소형 및 대형 분생포자는 일반배지에서 잘 발아하지만 *Cylindrocarpon destructans*의 후막포자 발아생리에 관한 연구 또한 아직 미흡한 실정이다. 따라서 관행 배양법으로는 인삼근부병균 밀도조사 및 연작장해의 정확한 진단이 불가능하므로 후막포자의 발아율을 밝히는 것이 해결해야 할 시급한 과제이다. 본 연구는 인삼 근부병균의 후막포자의 발아율을 높이기 위한 배지의 종류, 배양 온도, pH 등의 영향을 조사하였고, 인삼추출액 및 효소의 첨가가 후막포자의 발아에 미치는 영향을 조사하였다. 그 결과 다량의 후막포자만을 형성시킬 수 있는 조건에서 형성된 후막포자들을 5 - 10℃의 저온에서 CDA 및 SNAY 배지의 pH를 5-6으로 조절 한 후 인삼추출액 20ppm과 lytic enzyme 20ppm 처리할 경우 기존 후막포자 발아율(5%미만)에 비하여 10배정도 높은 47%의 높은 발아율을 나타내었다. 따라서 이 조건을 이용하여 인삼포내의 근부병균의 밀도 조사를 위한 선택배지의 개발 가능성이 시사된다.

A04

**Induction of Smut on Corn Seedlings by Sporidia and Teliospore Inoculation of *Ustilago maydis* in Greenhouse.** Choong Hoe Kim and Hyun Joo Lee. Plant Pathology Division, Agricultural Science & Technology Institute, Suwon 441-707, Korea.

Most appropriate level of smut development on corn seedlings was obtained when the 4th leaf stage seedlings are inoculated with sporidial suspension of  $10^3 \sim 10^5$  sporidia/ml and subsequently incubated at 28~30℃ in a dew chamber for 24hr before placing in the greenhouse. Younger seedlings, higher inoculum concentration as  $10^9$  sporidia/ml, or longer incubation period in dew chamber resulted in early seedling death. Smut development was reduced as incubation temperature decreased. Both foliar spray and stem injection, but not soil drench, of the sporidial inoculum induced smut disease. Sporidial inoculum alone developed smut sufficiently without addition of extra nutritional sources such as glucose, ammonium nitrate, yeast extract or their combinations. Smut was also developed by teliospore inoculation by either foliar spray or stem injection, but far less severely compared to sporidia inoculation. Control efficacy of five different fungicides at two application levels was clearly differentiated by this seedling inoculation technique, and was most closely correlated with degree of inhibition on sporidial germination among three evaluation methods used in vitro tests.

A05

**RICE BLAST FORECASTING SYSTEM BASED ON NEAR REAL-TIME MICROCLIMATIC DATA** Kyu Rang Kim, Eun Woo Park, Jang Souck Yang\*, Sung Kee Kim\* and Soon Sung Hong\* Department of Agricultural Biology College of Agricultural and Life Sciences Seoul National University, Suwon

441-744, Korea, \*Kyonggi Provincial Rural Department Administration, Hwasong 445-970, Korea

A rice blast forecasting system was developed by integrating a weather monitoring system and a simulation model for rice blast development. An automated weather station(AWS) was installed in a rice paddy field to monitor air temperature, relative humidity, leaf wetness, solar radiation, wind speed, and water temperature. Near real-time weather data were transmitted directly from the AWS to a PC in the lab via the public telephone line. The rice blast model being driven by hourly weather data consisted of several submodels simulating spore dispersal, spore deposition, infection, infection rate, latent period, symptom appearance on leaves and panicles, lesion expansion, host growth and initial heading data. The whole system was programmed in C for OS/2 with graphic user interface, multitasking, and profile management subsystems. The rice blast model was tested by comparing the predicted and the observed data from 2 year field experiments. The result of validation experiment suggested possible use of the system for rice blast management although over-estimation of disease severity was noted in the late season.

A06

**Evaluation of a Forecasting System for Scheduling Fungicide Sprays to Control Apple Infection by *Botryosphaeria dothidea*.** Ki Woo Kim, Eun Woo Park, and \*Seong Bong Kim. Department of Agricultural Biology College of Agricultural and Life Sciences Seoul National University, Suwon 441-744, Korea  
\*National Horticultural Research Institute, RDA, Korea

A weather-driven forecasting system (BOTROT) to determine possible apple infections by *Botryosphaeria dothidea* was evaluated for its effectiveness in scheduling fungicide sprays at Suwon in 1994. The four spray programs included 1) predicted sprays of bitertanol based on the BOTROT warnings (BB), 2) routine sprays of bitertanol at 10-day intervals (BR), 3) routine sprays of mancozeb, benomyl, and oxime copper at 10-day intervals on June, and thereafter predicted sprays of bitertanol based on the BOTROT warnings (PB), and 4) conventional sprays of benomyl, mancozeb, chlorothalonil, bitertanol, iminoctadine triacetate, oxime copper, and nuarmol by an experienced farmer (CF). Trees under the BB spray program were sprayed one time from June 7 to harvest, whereas there were eleven, eight, and four applications in the BR, CF, PB spray programs during the same period, respectively. The BR and PB spray programs provided good control



of white rot with a mean incidence of infected fruits at harvest of 0.21 and 0.72%, respectively. The mean incidence of infected fruits was 1.67 and 3.23% in the CF and the BB spray programs, respectively. Of the fruits harvested from trees with no fungicide sprays, 11.29% were infected. No significant differences ( $P=0.01$ ) in mean incidence of infected fruits were found between the CF and the PB spray programs. The BB spray program was not effective as the CF spray program. However, the PB spray program was able to save four sprays without losing effectiveness of white rot control when compared with the CF spray program.

#### A07

**칼슘화합물 처리가 사과 겹무늬썩음병 발생에 미치는 영향.** 김기훈, 이상범, 최용문, 김기열, 문병우\*, 농촌진흥청 원예연구소 원예환경과, (주)코셀 중앙연구소\*.

사과 후지 품종에 있어서 겹무늬썩음병이 수확량을 결정하는 병해이다. 겹무늬썩음병균인 *Botryotinia dothidea*는 세포벽 분해효소인 Polygalacturonase를 생산하여 과실의 세포벽 구성성분인 펙틴질을 분해하여 연부시킨다. 따라서 세포벽 성분인 펙틴복합물질의 물리적인 결합력 강화가 병원균이 생산하는 세포벽 분해효소에 대하여 저항성을 보일 것으로 생각된다. 본 실험은 Ca화합물인 GAR-H 200ppm을 농약과 혼용하여 8월 상순부터 10월 간격으로 6회 엽면살포하여 병 발생 및 과실의 칼슘함량과 펙틴 함량변화에 미치는 영향을 보고자 실시하였다. 관행방제 + 무처리에서 수확기에 병 발생률이 11.3%이었으나 관행방제 + Ca처리구에서는 3.7%로 방제가가 86.3%에서 95.5%으로 증가되었다. 살충제 + Ca처리구에서는 발생율이 40.2%로 살충제 + 무처리의 발생을 82.6%보다 낮았다. 수확시 과실의 total Ca함량은 과피, 과육(2~5mm), 과육(5~10mm) 모두 무처리보다 많았고 total K함량은 처리구의 과피와 과육I에서 낮았고 과육II에서는 유의차가 없었다. 결합 형태별 Ca함량에서 수용성 및 치환성 Ca함량에서는 무처리보다 Ca처리구의 과피와 과육I에서 더 많았고 약산 분해성 및 강산 분해성 Ca은 처리간에 유의차가 없었다. Ca처리 과실에 겹무늬썩음병균을 접종한 후 28℃에서 7일간 배양하여 조사한 결과 병원성이 큰 균주(D1-18)에서 병반면적 63.3mm<sup>2</sup>로 무처리 과실의 병반면적 51.4mm<sup>2</sup>보다 작았다. 지장 1개월 후 과실의 펙틴 뿐만 아니라 불용성 펙틴의 함량도 Ca처리구에서 많았다.

#### A08

**사과겹무늬썩음병 방제를 위한 전염원 밀도 경감법의 개발 방향 모색.** 김대희, 김이부, 임재열, 경북대학교 농생물학과.

사과 겹무늬썩음병의 주전염원은 사과나무 가지에 형성된 병반으로부터 분산되는 병포자이므로 가지병반에서 포자의 형성을 저해하거나 또는 형성 포자의 분산을 억제하는 방법이 개발되면 병의 방제가 가능할 것으로 생각되어 그와 관련된 기술을 개발하기 위한 실험을 수행하였다. 우선 이른 봄 전정기 끝난 직후 가지 병반상의 조피 및 사마귀를 물리적 방법으로 제거하고 석회유황합제 10도액에 고착제로 whiton

powder를 첨가하여 사마귀 및 조피를 제거하고 가지에 살포한 후, 병포자의 수매분산 억제효과 및 실제 방제효과를 검토한 결과, 포자의 분산은 어느 정도 억제되었으나 실제 병방제효과는 없었다. 다음으로 이른 봄 전정 직 후 사마귀 및 조피증상을 나타내는 가지를 멀칭용 비닐로 피복하고 5월 하순부터 20일 간격으로 최소한의 살균제를 살포하여 겹무늬썩음병의 발생상황을 조사한 결과, 상당한 정도의 방제 효과가 나타났다, 비닐을 감은 가지에서 콜크층이 이상비대하는 현상을 제외하고는 신초발육 및 과실비대에 지장이 없는 것으로 나타났다. 비닐 필름을 이용하여 차단막을 형성하는 개념을 더욱 발전시켜 수용성 고분자 물질인 polyvinl alcohol을 병반이 형성된 가지에 도포하고 포자 분산량을 사한 결과, 포자의 분산량이 무처리에 비해 현저하게 감소되어 실용화의 가능성이 있을 것으로 생각되었다.

A09

**Benzimidazole계, Dicarboximide계 및 N-phenylcarbamate계 살균제에 다중 저항성(multiple resistance)인 잣빛곰팡이병균(*Botrytis cineria*)의 발생.** 김병섭, 임태현, 박은우\*. 조광연. 한국화학연구소 스크리닝연구부, 서울대학교 농생물학과\*

Benzimidazole계 살균제에 저항성인 잣빛곰팡이병(*Botrytis cineria*)의 방제를 위하여 benzimidazole계 살균제와 부상관 교차저항성(negatively correlated cross resistance) N-phenylcarbamate계(NPC) 살균제인 diethofencarb가 1992년부터 널리 사용되기 시작하였다. 이약제는 Benzimidazole계 살균제에 저항성(Ben<sup>R</sup>) 및 감수성균(Ben<sup>S</sup>) 모두를 방제하기 위해서는 benzimidazole계 살균제와 합제의 형태로 사용된다. 1994년, 1995년에 주요 채소 작물에서 분리한 잣빛곰팡이병균(*Botrytis cineria*)의 방제 살균제에 대한 저항성을 조사한 결과, 1994년 분리된 713균주 중 600균주 (84.2%)가 benzimidazole계에 저항성(Ben<sup>R</sup>)이었고, 249균주(34.9%)는 dicarboximate계 살균제에 저항성(Pro<sup>R</sup>)이었으며, benzimidazole계 및 N-phenylcarbamate계 두약제 모두에 저항성인 균주는 분리되지 않았다. 1995년에는 현재까지 520균주를 분리하였는데, 그 중 Ben<sup>R</sup>이 317균주(61%)이며 Pro<sup>R</sup>은 214균주(41.2%)이었고, Ben<sup>R</sup>이며 NPC<sup>R</sup>인 균주는 15균주(2.9%)로 나타났다. 이러한 균주의 최소억제농도는 carbendazim 1000ug/ml 이상, diethofencarb 1,000ug/ml 이상이었다. 또 Ben<sup>R</sup> + NPC<sup>R</sup>인 15균주 중 3균주는 dicarboximide계 살균제인 procymidone에도 저항성이었다.

A10

**Dichlofluanid에 저항성인 잣빛곰팡이병균(*Botrytis cineria*)의 특성.** 임태현, 김병섭, 차병진\*. 조광연. 한국화학연구소 스크리닝연구부, 충북대학교 농생물학과\*.

우리나라의 시설재배 농가의 주요 경제작물인 오이, 토마토, 딸기 재배포장으로 부터 1994년 629균주, 1995년 총 885균주를 분리하였다. Dichlofluanid가 10ug/ml 함유된 배지에서 균사생육저지법으로 약제반응을 조사한 결과 균사생육을 보인 저항성균이 125균주(14.1%) 균사생육을 저지당한 감수성균인 600(85.9%)균주로 나타났다. 이들 중 최소억제농도(MIC, minium inhibition concentration)가 100ug/ml 이상인 5균주와

10ug/ml 이하인 5균주를 선발하여 균주간의 병원력,균사생장, 포자형성,균핵형성을 비교하였다. 저항성균과 감수성균을 비교 할때 균사생장의 경우 균주간의 차이는 인정되나 두 그룹간의 차이는 인정 되지 않았다. 그러나 병원력,포자형성, 균핵형성이 경우에는 저항성과 감수성 균주간의 비교에서 균주간의 비교뿐만 아니라 두 그룹간의 비교에서도 감수성 균주들이 우수함을 보였다.

#### A11

수간 주입 구멍에 대한 밤나무의 반응. 차병진. 윤정구\*. 충북대학교 농생물학과, 충북대학교 임학과\*.

밤나무에 두가지 방법으로 oxytetracycline(OTC)을 수간주입 한 다음 주입구멍 주변의 변화를 조사하였다. 주입구멍은 지름 1cm와 0.5cm를 비교하였고, 수간주입은 9월에 실시하였다. 수간주입한 나무는 흉고직경 10, 15, 20cm 이었다. 모든 공시목들은 외견상 왕성한 수세를 유지하고 있었다. 이듬해 7월의 결과 조사에서, 외관상 부후의 징후가 보이는 나무는 없었다. 하지만, 수피를 벗겨보면 목재부분에서는 뚜렷한 변색이 일어나고 있었다.변색의 정도는 나무의 흉고직경과는 유의차가 없었으나, 주입방법에 따른 수간 주입구멍의 크기에 따라 매우 민감한 변화를 보여,1cm 주입 구멍에서의 변색부가 0.5cm주입구멍에서으 변색부보다 더 컸다.일부 공시목에서 주입구멍을 기점으로 하여 목부가 길이 방향으로 갈라져 있는 현상이 나타났는데, 그 길이는 0.5cm주입구멍에서보다는 1cm주입구멍에서 더 길었다. 갈라진 부분에서는 새조직이 자라나와 갈라진 부분을 메워가고 있었다. 수간주입이 나무에 미치는 피해는 주입구멍의 크기가 0.5cm일때보다는 1cm더 컸다.

#### A12

Carpropamid 수면부상성 입제의 제제 및 이화학적 성질에 관한 연구. 장성식. 한정길,박창석\*,김희규\*. 한농 중앙연구소,경상대학교 농생물학과\*.

수도용 살균제 처리의 성력화를 위해 Carpropamid를 유효성분으로 하고 부유제 및 확산 이동제를 사용하여 4% 수면부상성 입제를 제조하여 이화학적 안전성 및 수면 확산성을 검토하였다. Carpropamid 4% GR의 안전성은 50℃항온기에서 확대 시험한 결과 유효성분에 변화는 없었으며 상온에서 1년간 보관한 시료에서도 변화가 없어 안전성이 있는 제형임을 알 수 있었다. 수중용출도 시험 결과 수면부상성 입제는 처리 후 1hr에 0.247 ppm, 6hr에 0.636ppm, 12hr에1.343ppm, 24hr 1.680ppm의 용출도를 나타낸 반면,일반 입제의 경우 처리후 1hr내 3.43ppm의 용출도를 보였다. 어린묘를 이양한 논외 중양에 Carpropamid 4% GR를 10a 당 1kg약량으로 논뜰에서 투척하고 3일 후 투척지점으로 부터 거리별로 논물을 채취하여 Carpropamid주성분을 분석한 결과, 투척지점에서는 0.48ppm, 3m지점에서는 0.53ppm, 6m지점에서는 0.41ppm, 10m지점에서는 0.36ppm농도를 각 지점간 농도에는 큰 차가 없었다. 약제 처리후 주성분을 잔류 분석한 결과, 토양에서는 약제처리 1일후 1.17ppm, 15일후 0.98ppm 60일 후 0.67ppm,150일 후 0.26ppm,벚짚에서는 60일 후 4.86ppm, 90일 후2.6ppm,120일 후

1.03ppm,150일 후는 0.88ppm,현미에서는 60,90일 후는 약 0.04ppm정도 120,150일 후는 검출한계인 0.04ppm이하로 검출되지 않았다.

A13

**Carpropamid 수면부상성 입제의 벼 도열병에 대한 효과.** 잠성식, 박창석\*,김희규\*,한정길. 한농 중앙연구소,경상대학교 농생물학과\*.

수도 재배에 있어 중요한 병해인 벼도열병을 성력적으로 방제하기 위하여 Carpropamid를 유효성분으로한 새로운 농약제형을 개발하여 시험하였다. Carpropamid 4% 수면부상성 입제는 수중에 투척시, 최초 수용성필름이 파괴되어 논 물에 가라앉은 다음 입제자체가 지속적으로 부상하면서 이동하는 성질을 가지고 있다. 온실내에서 길이 1400cm x 폭 10cm x 높이 10cm의 반원형 플라스틱관에 논흙을 5cm정도 채우고 25cm간격으로 파종후 8 일된 어린묘를 이앙하고 약 3주간 재배한후, Carpropamid 4% 수면부상성 입제를 10a 당 1kg의 약량으로 플라스틱관의 중앙부위 (7m)에 처리한 후 7, 15, 21 일 뒤에 1m간격으로 벼를 채취하여 소형 pot 에 옮겨 심고 병원균을 접종하여 그 효과를 검정하였다. 약제처리 7일 후에는 거리는 관계없이 전체적으로 약효가 다소 저조하게 나타났다. 반면 약제처리 15일,21일 후에는 0-7cm 까지 모두 우수하였다. 이때 일반 입제의 경우는 0-1m까지는 약효가 우수하였으나, 약제 처리지점에서 거리가 멀어질수록 약효는 매우 저조하였다.포장에서 Carpropamid 4% 수면부상성 입제의 약효를 검토하기 위하여 면적 100m(길이 20m x 폭 5cm)에 10a당 1kg의 약량으로 논둑에서 중앙부위에 약제를 투척한 후 수면부상성 입제의 이동시간 및 생물효과를 조사하였다. 투척 거리에서 최초 부상개시 시간은 45초부터 시작되었고, 10m까지 이동하는데 소요되는 시간은 약 30분정도였다. 벼도열병에 대한 효과는 투척지점에서 3m내는 94%, 3-6m까지는 95%, 6-9m까지는 89.2%정도로 매우 우수하게 나타났다.

## 제 2 발표장 : 병원균 유전, 생물학적 방제 및 세균병학

B01

**고추 탄저병균의 nit 변이주 선발과 이를 이용한 체세포 화합성 검정.** 오인석, 유승현\*충남농촌진흥원,충남대학교 농생물학과\*.

고추열매에서 분리한 탄저병균 *Colletotrichum gloeosporioides* 9개균주를 공시하여 Puhalla(1985)및 Corroll등 (1987)의 방법에따라 nit 변이주(nitrate -nonutilizing mutants)를 선발하였으며 변이주는 MMC배지 (1.5% KClO<sub>3</sub> 함유 MM배지를 이용하여 선발하였는데 공시균주중 4개 균주는 nit변이주 출현율이 97-99%로 매우 높았고 phenotype은 *nit 1*, *nit 2*, *nit 3*, *nit M* 이 출현하였는데 그중 *nit 1* 출현율이 가장 높았으며 *nit 3*, *nit M* 의 순이었고 nit 2 는 4균주중 1균주중에서만 출현하였다.

한편 공시균주중 5개 균주는 nit변이주 출현율이 20-32% 였으며 phenotype은 nit 1 과 nit 3만 출현하였다. 한 균주에서 분리된 nit변이주의 화합성을 조사하여 가장 친화성이 높은 변이주를 nit tester를 이용하여 균주내 및 균주간의 화합성을 조사하였던바 nit 변이주 출현율이 높았던바 nit 변이주 출현율이 높았던 그룹내의 균주와 낮았던 그룹내의 균주끼리는 화합성이 있었으나 두 그룹사이의 균주간에는 화합성을 나타내지 않았다. 공시균주들의 형태적, 배양적 특성과 고추에 대한 병원성을 조사하였던 바 nit 변이주 출현율이 높았던 균주들은 강모(setae)와 자낭각(perithecia)을 형성하였으며 병원성이 약하였고 변이주 출현율이 낮았던 균주들은 강모와 자낭각을 형성하지 않았고 강한 병원성을 나타내었다.

B02

**Further genetic analysis of an appressorium-deficient mutant(MG01) of *Magnaporthe grisea*.** Sam Jae Chun, Sung Wook Chun, Seong Baek Lee. and Yong-Hwan Lee, Specialty Chemical research Institute, LG Chem Research Park, Taejeon.

*Magnaporthe grisea*, the rice blast fungus, forms an appressorium to infect host plants. Hydrophobicity of contact surface and cAMP play important roles in this developmental process. One of natural mutants, MG01, does not form appressoria on hydrophobic surface and on hydrophilic surface in the presence of cAMP. Morphological characteristics of MG01 are similar to wild type isolate. Preliminary genetic analysis of this mutant[MG01\*70-6(wild type)] indicated that inability to form appressoria was due to a single gene (App1) defect. We report here further genetic analyses of this mutant by backcrossings and sib-matings. All progenies from the backcross of M-6-21 (App+) \* 70-6 formed appressoria, whereas progenies from the backcross of M-6-07 (App-) \* 70-6 showed 1:1 segregation on appressorium formation. The same segregation patterns were observed in sib-matings among F1 progenies [M-6-17 (App+) \* M-6021 (App+) and M-6-17 (App+) \* M-6-15 (App-)]. In addition to nuclear genetic control, the inheritance of cytoplasmic genetic traits will be discussed.

B03

**DNA-RFLP 에 의한 벼도열병균의 유전적 분포 및 구조의 변이 분석.** 한성숙, 최성호,한경숙, 김장규, 농업과학기술원 병리과.

벼 도열병균의 유전분포 및 구조를 해석하기 위하여 RFLP pattern 및 유전적 연관관계를 종합적으로 분석하여 보았다. RFLP를 위하여 MGR 586(multilpe copy),P64(middle copy) 의 probe를 사용하였고 유전적 거리와 연관관계 tree작성을

위하여 Neid 및 Ntsys file을 이용하여 분석하였다. 첫째로 RFLP-MGR에 의한 기주 별 특성과 병원성과의 관련성을 보기 위하여 화본과 잡초 및 주요 곡류의 도열병을 채집하여 벼도열병과의 band pattern을 조사하고 상호 병원성을 검정하였다. 벼도열병 균과 같은 multiple copy의 MGR-pattern을 보인 기주의 병원균은 벼와 상호간에 각각 Cross-infection이 확인되었으며 벼와 다른 양상의 균주들은 서로 침입하지 않았다. 둘째로 지리적으로 다른 공간적인 유전분석을 위하여 중국 광둥지방 균주와 우리나라 균주의 RFLP-MGR,P94 pattern을 본 결과 서로 다른 group으로 뚜렷하게 나뉘었으며 우리나라의 지역간에는 큰 차이점을 발견할 수 없었다. 셋째로 시간적으로 벼도열병 균주간 유전분석을 위하여 84년부터 94년의 10년간의 random sampling 균주의 유전양상을 본 결과 80년 중반-90년까지는 다양한 양상을 보였으나,90년 이후 특히 일반계 품종만을 재배하게 된 93,94년 균주들은 매우 큰 한개 group에 속하는 것을 알 수 있었다. 넷째로 병원성과 RFLP-MGR과의 관련성을 본 결과 80년 중반-90년까지의 균주는 race 와 약 85%의 Similarity를 보였으며 판별품종중 통일계품종에 저항성 반응을 보인 KJ-raec group이 크게 한 group에 속하여 KI-race와는 뚜렷하게 다른 것으로 구분되었다. 또한 93-94년도 균주는 KJ/KI-race가 구분없이 매우 밀접한 유전 연관관계를 보여 병원성과는 관련성이 적은 것으로 나타났다. 따라서 RFLP에 의한 도열병균의 유전분석을 네가지 각도로 비교,분석,종합한 결과 도열병균의 유전적 분포 및 구조 변화는 기주의 저항성 유전자와 밀접한 관련이 있으며 이는 새로운 품종의 재배면적이 늘어나면서 새로운 race가 출현하여 분포증가하는 양상과 일치하는 경향이였다.

B04

**ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF MOLECULAR MARKER FOR SEVERAL RACES OF PYRICULARIA ORYZAE USING RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA.** Sun Min Hong<sup>1</sup>, Dong Won Bae<sup>1</sup>, Mee Hyang Kim<sup>1</sup>, Chang ki Shim<sup>1</sup>, Kyu Young Kang<sup>2</sup>, Nam Soo Kim<sup>3</sup>, Hee Kyu Kim<sup>1</sup>.<sup>1</sup>Department of Agricultural Biology, <sup>2</sup>Department of Agricultural Chemistry, Gyeongsang National University, <sup>3</sup>Department of Agronomy, Kangweon National University.

We analyzed the genome of blast fungi to use the RAPD specific marker of race or isolate in order to identify the race or isolate by using Random Amplified Polymorphic DNA(RAPD) assay. Total genomic DNA was isolated from hyphae of the 24 isolates of rice blast fungi. Seven hundred random primers(10mers obtained from University of British Columbia) were used to screen specific marker to distinguish races or isolates. For the primer 173(CAGGCGCGT), the same amplified DNA pattern which had six major amplified DNA fragments was observed for 21 isolates representing race KI-200 to KJ-401, whereas 3 isolates of KI-100 race clearly gave different DNA patterns distinguishable from those of the

21 isolates. This result suggested that the primer 173(CAGGCGGCGT) might be useful to distinguish isolates of KI-100 race. For the primer 155(CTGGCGGCTG), unique DNA fragment of 0.5Kb for isolates of KI race group, i. e. no other amplification products were seen. This unique band was also common for isolates of KJ race group. However several DNA fragments were also amplified for isolates of KJ race group. This result suggested that the primer 155(CTGGCGGCTG) might be useful to distinguish KI-races from KJ-100 races. For the primer 338(CGGTCGCGTC), the amplified DNA pattern of 12 isolates of KJ-races was similar to those of KI-races, with six characteristic fragments. But, the amplified DNA fragment of 1.2Kb in the isolates of KI-races was not all present in the isolates of KJ-races. The amplified genomic DNA polymorphisms of 24 isolates representing 8 races of *P. oryzae* with the primer 412 (TGCGCCGCTG) exhibited monomorphic DNA pattern among 22 isolates, except two isolates, 88-62 of KJ-201 and 86-111-4 of KI-200. The specific DNA fragments, 0.6Kb and 1.5Kb in size, were generated from isolate 88-62 and 86-111-4, respectively. We examined the specific DNA band of 88-62. The polymorphic DNA fragment was hybridized with the digested genomic DNA of 24 isolates representing 8 races of *P. oryzae* to confirm whether the specific DNA band is useful for molecular marker or not. The result was promising that this 0.6Kb DNA was hybridized distinctly to the genomic DNA of 88-62.

B05

#### **PHYLOGENETIC GROUPING OF PYRICULARIA ORYZAE ISOLATES ON THE BASIS OF RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA PROFILES.**

Sun Min Hong<sup>1</sup>, Dong Won Bae<sup>1</sup>, Mee Hyang Kim<sup>1</sup>, Chang Ki Shim<sup>1</sup>, Kyu Young Kang<sup>2</sup>, Nam Soo Kim<sup>3</sup>, Soo Woong Kang<sup>4</sup>, Hee Kyu Kim<sup>1</sup>.<sup>1</sup>Department of Agricultural Biology, <sup>2</sup>Department of Agricultural Chemistry, Gyeongsang National University, <sup>3</sup>Department of Agronomy, Kangweon National University, <sup>4</sup>Gyeongnam Provincial Rural Development Administration, Chin Ju, Korea.

The purpose of this work was to distinguish and determine genetic variation in *P. oryzae*, by which the pathogenic relationship in rice blast fungi are being inferred by Random Amplified Polymorphic DNA assay. Isolation of total DNA for 24 isolates of *P. oryzae* was carried out by the modified method of Williams et al. The size of amplified DNA fragment of rice blast fungi by RAPD ranged from 0.5Kb to 4Kb, and the number of these were between 1 and 12. Overall, about 460 polymorphic DNA fragments were generated among each of isolates. The number of RAPD products increased with increasing GC content of the primers. Although coefficients of pairwise data (similarity matrix) and UPGMA dendrogram were

defferent, they were consistent with tendency of the relatively high similarity for KI races. The genetic similarity(UPGMA dendrogram) obtained from RAPD analysis of 12 isolates of KI-races was 78.7%, and isolate 86-111-4 showed the lowest level of genetic similarity among KI isolates. The genetic similarity obtained from RAPD analysis of 12 isolates of KJ-races was 73.5%, and isolate 86-22 showed the lowest level of genetic similarity among KJ isolates. The genetic similarity obtained from RAPD analysis of 24 isolates of *P. oryzae* was 70%, and RAPD analysis of fungal DNA gave enough polymorphism to distinguish between 12 isolates, pairwise data(Similarity Matrix) of KI isolates were higher than those of KJ isolates. In comparison with 8 races, genetic similarities of KI races were higher than those of KJ races. We suggested that group of KI race has more homogenous genomic background than that of KJ races, as the isolates of KJ races have been endemic for longer period of time than those of KJ races in Korea paddy field.

B06

**BIOLOGICAL CONTROL OF PYTHIUM SEED ROT AND PREEMERGENCE DAMPING-OFF OF CHICKPEA BY FLUORESCENT PSEUDOMONADS.**<sup>1</sup>Ju Ho Yun, <sup>2</sup>D. M. WELLER, <sup>1</sup>Hahn Jung Chemicals INC, and <sup>2</sup>USDA, Agricultural Research Service, Pullman Washington, 99164, U.S.A.

A rifampicin-resistant strain of *Pseudomonas fluorescens* Q29z-80R suppressed *Pythium* seed rot and preemergence damping-off of chickpea (*Cicer arietinum* L.) caused by *Pythium ultimum* var. *ultimum*. The population distribution of strain Q29z-80R was monitored on chickpeas following application of the bacteria as seed treatment at two sites in 1991-1993. The population trends of Q29z-80R on the roots was similar at both sites and during all three seasons. The population sizes on the roots ranged from  $1 \times 10^7$  ~  $3 \times 10^8$  cfu/g root throughout growing season. Strain Q29z-80R also colonized the interior of the root. The antibiotic phenazine-1-carboxylic acid (PCA) plays a major role in the suppression of take-all of wheat caused by *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. The PCA biosynthetic locus was introduced into Q29z-80R on the plasmid pPHZ108A. The PCA-producing derivatives were more inhibitory to the growth of *Pythium* than the parental strain in vitro. However, the transgenic derivatives were less suppressive against *Pythium* damping-off and developed significantly lower populations on roots of chickpeas as compared to the parental strain or Q29z-80R containing the plasmid vector pVSP in green house. Tn5 mutagenesis of Q29z-80R was conducted to generate mutants deficient in production of the uncharacterized



antibiotic. Introduction of Tn5 apparently activated previously unknown PCA biosynthetic genes. However, the population sizes of the Tn5 mutants were significantly lower on roots of chickpeas than the wild type in green house. Strain Q29z-80R produces an uncharacterized antibiotic that is probably the primary mechanism of suppression of *Pythium* seed rot and preemergence damping-off of chickpea.

B07

**근권에 정착하는 Pseudomonad의 경시적인 밀도 변화와 존재 양상** 김지효 .박창석. 경상대학교 농생물학과.

식물의 근권에 정착하는 유용한 미생물들은 단순히 근권에 정착할 뿐만 아니라 식물의 생장을 촉진시키고 병원균의 침입을 억제 한다. 본 연구는 근권으로부터 분리된 많은 미생물을 DLF 법을 이용하여 근권 정착 능력이 있다고 인정된 미생물들을 선발 하였다. 특히 *Pseudomonas* sp.에 속하는 균 중에서 정착력이 높은 B-16, V-13균주와 이보다 정착력이 낮은 X-1균주를 공시하여 이들의 근권에서의 정착 밀도를 경시적으로 분석하고 존재 양상을 주사 전자 현미경을 통하여 관찰하였다. 미생물을 오이 종자에 접종한 후 종피에서의 증식과 들출한 유근에서의 정착 밀도는 정착 능력이 높은 미생물과 정착 능력이 낮은 미생물들간에 차이가 없었으나 그 후 계속해서 신장하는 뿌리의 근단부위에 정착하는 미생물의 밀도는 두 집단간에 현저한 차이를 나타내었다. 또한 정착 능력이 높은 세균은 주근에서 뿐만아니라 측근에서도 정착하는 것을 확인하였다. 이들을 96시간 이후 주사 전자 현미경으로 관찰하였을때 뿌리의 위부분에서는 정착하여 흩어져 증식한 것을 관찰하였고 근단부분에서는 뿌리가 뺏어나가는 방향과 같은 방향으로 이동하는 것을 관찰 할 수 있었다. 근권 정착하는 미생물들을 토마토, 시금치 종자 처리하여 밀도를 측정 한 결과, 오이에서 보다 정착 밀도가 높았다. 이들 미생물을 종자처리하여 작물의 생장을 관찰한 결과, 작물의 출현율과 유묘의 생장을 촉진하였다.

B08

**Chitin 분해세균을 이용한 벼 잎집무늬마름병의 생물학적 방제** 심기철 . 정영륜. 경상대학교 자연과학대학 미생물학과.

*Rhizoctonia solani* 에 의한 벼 잎집무늬마름병의 생물학적 방제를 위하여 갈항력이 우수한 세균 173균주를 진주, 진양지역 외 전국 토양에서 분리하였으며, 그 중에서 Chitin분해력이 좋은 2균주 *Nocardioopsis* #75, *Bacillus* #160, *Pseudomonas* #224, #233을 선발하여 실험에 사용하였다. 길항세균 현탁액( $10^{10}$  cfu/ml)과 Peat moss를 혼합하여 제조한 접종원을 3-5엽기의 벼 유묘에 처리하고 1일 후 *R.solani* 병원균을 접종하여 28℃에서 3일 후 발병정도를 조사하였다. 길항세균 중 4가지 균주를 모두 혼합하여 처리할 경우 반복실험에서 평균 78.8%의 방제가를 나타냈다. 길항균제제를 pot당 0.5g을 처리하였을때 평균 85%의 방제가를 보았으나 처리량이 감소할수록 방제가도

감소하였다. 길항균제제의 잔효력은 Pot에서 7일까지 지속되었으며 이때 미생물농도는 4균주를 모두 합하여  $3.0 \times 10^5$  cfu/ml이었으며 그 이후로는 효과와 밀도가 감소하였다. *Nocardiopsis* #75, *Bacillus* #160은 chitin분해력이 좋고 동시에 항진균 물질도 생성하므로 병원균 억제에 상승작용이 있을 것으로 생각된다. 현재 항진균 물질의 분리 및 구저결정에 관한 연구를 수행 중이다.

B09

**제지 슬릿지 부숙과정에 포함된 미생물을 활용한 토양병의 생물적 방제. 김주실, 강지효, 박창석, 정영륜\***. 경상대학교 농과대학 농생물학과, 자연과학대학 미생물학과\*.

제지 슬릿지 부숙과정에서 분리되는 미생물들 중에서 토양전염성 병원균을 억제할 수 있는 균을 선발하여 방제에 이용하는 것과 토양병을 생물학적으로 방제하려는 목적에서 본 연구를 수행하였다. 부숙된 제지 슬릿지를 토양에 처리하였을 때 토양병을 억제하는 효과와 작물의 성장을 향상 시키는 효과를 나타내었다. 이를 확인하기 위하여 슬릿지 부숙과정에 관여하는 미생물들의 길항력을 조사한 결과 조사한 결과 *Bacillus* spp. 3종과 *Streptomyces* spp. 2종은 토양병균 *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Fusarium* 등 주요 토양병균 뿐만 아니라 벼 도열병균, 오이 탄저병균에도 강한 길항력을 나타내었다. 이들 길항미생물의 포자나 세균의 현탁액을 토양에 처리한 것 보다는 슬릿지에 접종하여 처리한 것이 월등히 효과가 좋았다. 본 연구진이 선발한 G872B, MC07, Cha94 같은 길항미생물은 부숙한 슬릿지에서 2개월 이상 밀도가 감소되지 않고 접종 당시 보다 약간 증가된 밀도를 유지하였다. 이들 선발 미생물의 경우도 마찬가지로 각각 독립적으로 토양에 처리하였을 때 보다 슬릿지에 이들 길항균을 접종하였을 때 오이, 토마토, 고추 등에 발생하는 모잘록병의 방제효과가 훨씬 우수하였다. 그러나 충분히 부숙하지 않은 슬릿지는 작물생장에 해로운 영향을 주었으며 길항미생물의 생존에도 나쁜 영향을 미치는 것으로 나타났다.

B10

**Universal primer 를 이용한 PCR 방법에 의한 비종자전염성 세균의 검정방법.**

**노태환, 송환엽, 김형무, 소인영, 전북대학교 농생물학과.**

종자로 부터 종자관련 세균의 추출효율을 높이고 추출된 종자관련 세균의 PCR방법을 이용한 확인을 통한 신속한 종자검정 방법의 개발을 위하여, 이병종자로 부터 종자관련세균의 최적 추출조건 및 간편한 PCR 반응을 이용한 검정조건을 선발하였다. Tween #20이 0.001% 포함된 PBS buffer를 이용할 경우 병원균의 분리비가 23%고 가장 높았으며, pH 7.2가 병원균의 비율이 25% (133개)로 가장 높았다. 최적 추출시간은 병원균의 분리비율이 2시간추출시 22% 및 12시간 추출시 22%로 차이가 없어 2시간 추출로도 충분하였다. 추출된 세균 세포의 검정과정을 간편하게 하기 위하여, genomic DNA, whole cell 및 microwave로 lysis 시킨 cell등을 이용하여 PCR을 실시한 결과, microwave로 lysis된 세포들을 이용할 경우 genomic DNA를 이용한 경우

와 동일한 pattern, size 및 재현성을 얻을 수가 있어 번거로운 DNA 추출과정을 생략할 수 있었다. 이와같은 결과를 토대로하여 고안된 신속한 종자검정방법으로는 Tween<sup>#</sup>20이 0.001% 포함된 pH 7.2의 PBS buffer 20ml과 5g의 종자를 혼합후, 4℃에서 2기간 동안 추출하여, 원침하여 수거한 세균을 10<sup>-6</sup>으로 희석하여 KB 및 PSA배지에 100ul씩 도말하여 배양한 후, 출현하는 집락을 PCR tube에 직접 수거하여 microwave(600Kw)로 2분 용해시켜, PCR 반응혼합물과 혼합한 후 PCR 반응을 실시하여 생성된 최종 증폭산물을, 4%PAGE 및 EtBr staining을 통하여 병원성 및 부생성 세균 전체의 pattern을 빠르게 확인할 수 있었다. 이와같은 종자로 부터의 세균추출 조건 및 R 16-1과 R23-2R primer들을 이용한 간편한 증폭조건을 이용할 경우, 종자관련 세균의 신속하고 특이성 있는 동정 및 구별이 가능하며, 새로 검출되는 병원성 세균에도 적용이 가능하고 기존의 특이성이 낮고 적용범위가 제한적인 종자검정 방법을 대체할 수 있는 특이성 있고 신속한 종자검정 방법으로 이용할 수 있었다.

#### B11

***Erwinia carotovora* subsp. *carotobora*에 의한 치커리의 세균성 무름병. 전용태, 임춘근. 최준근\*. 강원대학교 농과대학 농생물학과, \*강원도 농촌진흥원 식물환경과.**

강원도 인제지역에서 집단재배되고 있는 치커리에 무름병이 관찰되었다. 병진 초기 증상은 치커리 뿌리에서 무름증상을 나타내는 것을 시작으로 시간이 지남에 따라 병징부위가 점차적으로 확대되어 뿌리가 완전히 부패되었다. 뿌리의 연부증상은 치커리 지상부위를 마르게 하여 결국은 고사 시켰다. 병반부로부터 분리한 병원균은 생리, 화학적 특징과 Biolog program의 결과에 따라 *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*로 동정되었다. 본 병원균은 치커리 뿐만 아니라 강원도의 주요경제작물인 배추, 감자, 무, 당근등에도 무름병을 일으켰다.

#### B12

***Pseudomonas syringae* pv. *syringae*에 의한 콩세균성 갈색점무늬병. 김현석, 최성호\*. 홍진성, 임춘근. 강원대학교 농과대학 농생물학과, \*농업과학기술원 농업기술연구소 병리과.**

충천의 콩재배단지에서 갈색점무늬병이 관찰되었다. 병징 초기 증상은 엽면에 갈색의 원형 병반과 그 주위를 중심으로 무리(halo)가 형성되는 것을 시간이 지남에 따라 반점의 확산으로 결국 조기 황화되어 엽면이 고사하였다. 반점 증상은 기주 식물의 줄기나 꼬투리에서는 발견되지 않았고 엽면에서만 발견이 되었다. 병반에서 분리된 병원균은 생리, 화학적 특성의 결과에 따라 *Pseudomonas syringae* 로 동정이 되었다. Pathovar에 대한 정확한 규명을 위하여 Biolog Program (Biolog Inc. U.S.A.)을 이용한 95가지의 서로 다른 탄소원들의 이용도를 조사한 결과 *P. syringae* pv. *syringae*로 동정되었다.

B13

국내 감귤퀘양병균 (*Xanthomonas campestris* pv *citri*)의 Phage type조사. 명인식, 이영희, 조용섭<sup>1</sup>, 이은종<sup>2</sup>, 농업과학기술원 해외병해충과,<sup>1</sup>서울대학교 농업생명과학대학 농생물학과,<sup>2</sup>농촌진흥청 연구관리국.

대미 수출용 감귤 표면에 감귤퀘양병균 유무를 검증하는 방법을 개발하기 위하여 국내에 분포하는 감귤퀘양병균의 phage type 및 감귤퀘양병균의 phage 종류를 조사하였다. 1993년 제주도 전지역에서 14개 다른 기주로부터 44개 감귤퀘양병균 및 28개 감귤퀘양병균의 phage를 분리하였다. 분리된 감귤퀘양병균을 박테리오파지에 대한 감수성 및 저항성에 따른 각각 Lysotype I과 Lysotype II로 구별할 수 있었고 Lysotype I은 96%, Lysotype II는 4% 분포하였다. 분리된 28개의 박테리오파지는 Lysotype I 감귤퀘양병균 strain을 침해할 수 있으나 Lysotype II 감귤퀘양병균을 침해하지 못하여 CPK로 명명하였다.

B14

감귤퀘양병균 (*Xanthomonas campestris* pv *citri*)의 bacterioPhage(CPK-P5)의 배양적 특성. 명인식, 이영희, 조용섭<sup>1</sup>, 농업과학기술원 해외병해충과,<sup>1</sup> 서울대학교 농업생명과학대학 농생물학과.

대미 수출용 감귤 표면에 감귤퀘양병균 유무를 검증하는 방법을 개발하기 위하여 CPK(P5)의 배양적 특성을 조사하였다. 박테리오파지 P5에 대한 최적 배양기 및 온도를 선발하였다. 서로 다른 배양기를 이용하여 다른 지역에서 분리된 감귤퀘양병균에 대하여 P5를 20℃에서 35℃까지 5℃간격으로 배양한 결과, WPSB에서 배양된 P5의 프라그형성 비율이 가장 좋았고 그중 25℃에서 배양 P5의 프라그형성 비율이 가장 좋았다. Lysotype I 감귤퀘양병균중 대표균주를 선발하기 위하여 분리 지역 및 기주별로 선발된 10개 감귤퀘양병균에 대한 P5의 반응효율을 조사한 결과 XCK9367균에서 효율이 가장 좋았다. P5에 대한 XCK9367균의 배양 최적 pH를 pH 4.5- pH11까지 pH0.5 간격으로 조사한 결과, pH6.5에서 효율이 가장 높았으며, pH9.5에서 반응효율이 가장 낮았다. 선발된 감귤퀘양병균,배양기,배양기 pH 및 배양온도를 이용하여 P5의 growth curve를 관찰한 결과,P5의 흡착시간은 약 100분이 소요되고 150분 내에 파지가 증식되는 one-step growth를 나타내었다.

### 제 3 발표장: 바이러스병학

C01

**Soil Transmission, Screening of Resistant Variety and Incidence of Ribgrass Mosaic Virus Occurring Chinese cabbage in Autumn Growing Season.** Yoon, Mu-Kyung, Jin-young Kim, Guk-Swoun Choi and Jeong-Soo Kim. National Horticultural Research Institute, Suwon

Chinese cabbages were cultivated in the infested soils of ribgrass mosaic virus(RMV) collected at HRI on vinyl and net house. The soil transmission rate of RMV was 13.1% on Chinese cabbage showing necrotic spots on leaves and midrib necrosis by visual inspection. However, when virus disease was detected by electron microscopy and ELISA, the infection rate was 43.3%. Antisera of RMV for Chinese cabbage, CalDN2, from Korea and *Plantago lanceolata* from ATCC were produced using rabbits. The two RMV isolates had a positive relationship serologically by agar gel double diffusion test. The concentration of r-globulin, conjugate and crude sap of infected leaves was 0.01 $\mu$ g/ml, 800X and 1000X, respectively for ELISA of RMV. The incidence of virus disease on Chinese cabbages in autumn growing season of Dec. '94 was surveyed at areas of Chungnam, Jeonnam, Kyungnam and Kyungbyuk. The occurrence of virus disease was ranged 1-5%, but that was 72.1% at naju area by visual inspection. The infection rate of RMV was ranged from 21% to 86%, and 46.6% in average, by ELISA. Two varieties of radish, Chunchidaigun, and cabbage, Early flat Duch, among 30 Cruciferae were resistant to RMV, CalDN2

C02

**남부지역에 발생하는 토양전염성 맥류바이러스의 발병상황.** 소인영, 이귀재, 전길형, 장영선. 가시와사기 사도기. 전북대학교, 호남농업시험장, 일본농업연구센터 바이러스병 방제연구실.

우리나라 남부지방에 발생되고 있는 토양전염성 맥류바이러스의 발병상황을 1993-1995년 3월 까지 조사하였다. 지역별 맥류바이러스병 발병상황은 전 남북,경남 및 충남지역 430개 포장 중 177(41.1%)개 포장에서 발생하였으며,답리작포장(334포장의 10.4%발병주율)과 밭포장(96 포장의 11%발병주율)의 발병주율은 비슷하였다. 지역적으로 충남의 공주,논산,보령,부여,서산,서천,경북의 칠곡,고령, 상주,선산,전북의 강경, 장수에서는 발병포장을 찾아볼 수 없었다.

토양전염성 바이러스는 ELISA 검정결과 BaYMV와 BaMMV가 발병되고 있었다. SBWMV는 고창과 영광포장에서만 검정되어 현재 분리 중에 있다. 포장내의 발병상태는 BaYMV와 BaMMV가 혼합감염이 되어 있는 포장과 같은 지역에서도 BaYMV 및 BaMMV가 각각 단독으로 발병되어 있는 포장도 있었다. 맥류품종별 바이러스 감

수성을 보기 위하여 맥류 124품종을 10개 상습발병포장에 파종한 결과는 BaYMV 및 BaMMV에 감수성이어서 혼합 감염되어 있는 것, 단일 감염만이 되어 있는 것, 비감수성으로 발병이 안되고 있는 것으로 구별되었다. 따라서 맥류품종별 바이러스 저항성 및 포장별 저항성 품종을 선발하는 것이 금후의 과제로 생각한다.

### C03

**페츄니아에서 분리한 Petunia Asteroid Mosaic Virus에 대하여.** 노케미, 최충원, 최장경, 강원대 농생물학과

1994년 여름, 춘천근교에서 잎에 많은 윤점과 별모양의 띠를 형성하면서 전신감염 증상을 일으킨 페츄니아(*Petunia hybrida* Vilm.)로부터 바이러스를 분리 동정하였다. 이러한 병징의 페츄니아 잎을 채취하여 *Gomphrena globosa*에 접종하고 여기에 형성된 병반을 단일 분리하여 같은 식물에 3회 계대 접종한 다음, 건전한 페츄니아에 접종하였을 때 윤점과 별모양의 띠가 관찰되었다. 이 페츄니아의 이병엽을 접종원으로 기주범위를 조사하였을 때, *Chenopodium quinoa*, *Nicotiana rustica*, *N. glutinosa*, *N. clevelandii* 등에는 접종엽에 윤문의 반점과 상엽에 윤문의 전신감염 증상을 보였고, 일부 식물은 정단부의 고사를 나타냈으며, *N. tabacum* cv. *Samsun*, *Xanthi nc* 및 *Vigna unguiculata*에는 접종엽에만 윤점이 형성되었다. 또한 *G. globosa*와 *C. amaranticolor*에는 접종엽에 괴사반을 형성하면서 상엽에 윤문이 나타났고, *Datura stramonium*과 *Vicia faba*에는 접종엽에만 괴사반점이 형성되었다. 이 바이러스의 물리적 성질을 조사한 결과, 내열성 80°C, 내회석성 10<sup>-4</sup>, 내보존성 25일 이상으로 나타나 매우 안정된 성질을 보였다. 자연 감염된 페츄니아 및 접종한 기주식물들의 이병엽을 이용하여 Dip방법으로 전자현미경 관찰을 실시한 결과, 직경 30nm의 구형 바이러스 입자가 다수 관찰되었다. 한편 tomato bushy stunt virus(TBSV)의 항혈청을 이용하여 혈청학적 성질을 조사하였을 때, TBSV와 유연관계가 인정되었다. 이상과 같은 생물적, 혈청학적 성질로 미루어 페츄니아에서 분리한 바이러스는 1957년 Lovisolo가 처음 보고한 tombusvirus group의 petunia asteroid mosaic virus(PAMV)의 계통으로 추정되었다.

### C04

**복숭아에 발생하는 바이러스(P-4) 분리 동정.** 김선희, 최용문, 김현관, 최장경\*. 파수연구소 원에환경과, \*강원대학교

원에연구소 품종보존표에 재식되어 있는 넥타린 계통의 Francesco품종에 초기에 연한 모자이크증세를 보이다가 병징이 은폐되는 복숭아 잎을 채집하여 Nicotine이 첨가된 인산완충액에 마쇄하여 *C. quinoa* 등 7과 15종의 식물에 접종한 결과 *C. quinoa*와 *C. amaranticola* 접종엽에 yellow spot, 상위엽에 모자이크 내지는 기형이 되는 병징이 나타났다. 이를 Dip법에 의하여 전자현미경 검정 결과 30nm의 구형입자가 발견되었으며, Na-citrate완충액에 chloroforme을 유기용매로 사용하여 순화결과 Beckman SW 28로타에 22,000rpm 2시간 30분 SDG에서 1개의 Band를 meniscus로 부터 2.9cm

에 band를 형성하였으며 분획하여 전자현미경 검정결과 구형의 입자가 다량 발견되었다. 이병주를 GF 305 실생묘에 Chip budding한 결과 Line pattern 또는 Yellow spot의 병징을 나타내었다. 혈청학적인 유년관계를 조사하기 위하여 PDV, PPV, PNRSV, ApMV, CLSV, ASV의 항체와 ELISA검정결과 양성의 반응을 나타내지 않았으며 순화된 virus와 PDV, BBSV, GFLV, GVA, ApMV, SLRV, RRV, BebyMV, PNRSV 항체와 Agargel Double Diffusion Test에 의하여 반응을 조사한 결과 침강대를 형성치 않았다. 핵산의 크기를 알기 위하여 Proteinase K법에 의하여 정제한 다음 1% agarose gel에서 1시간동안 전기영동한 결과 4k base 크기의 1개의 RNA Band가 나타났다. 물리적 성질은 조사를 진행중이며 항혈청은 현재 제조중이다.

#### C05

**삼종 식물바이러스에 대한 Gelrite gel 과 Aga gel 이중 확산법의 검출확을 비교.**  
**나용준, 정효원, 서울대학교 농업생명과학대학 농생물학과.**

*Cymbidium mosaic virus*(CyMV), *Odontoglossum ringspot virus*(ORSV), Tobacco mosaic virus(TMV) 등 3종의 식물 바이러스를 대상으로 Gelrite gel과 정제 agar gel을 담제호한 이중확산법간의 바이러스 검정효율을 비교하였다. Gelrite gel은 0.1M Tris 염산완충액 (pH 8.0)에 NaCl 0.85%, NaN<sub>3</sub> 0.02%, SDS 0.5%, Gelrite 0.2%, MgCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O 0.2%를 첨가해서 만들었고, agar gel은 동일한 조성에 Gelrite 대신 Noble agar(Difco) 0.8%를 첨가하여 만들었다. 정제된 CyMV, ORSV, TMV에 대한 Gelrite gel의 검출한계는 1µg/ml, agar gel은 10µg/ml로서, Gelrite gel이 agar gel에 비해 약 10배 정도의 높은 검출감도를 보였으며, 또한 이들 3종 바이러스에 각각 감염된 식물들의 잎즙액을 사용했을 경우에도 Gelrite gel은 agar gel에 비해 약 2-4배의 높은 검출감도를 보였다. 반응소요시간은 실온에서 Gelrite gel이 약 8시간, agar gel이 약 12시간으로 Gelrite gel을 사용했을 경우 반응소요시간이 약 1/3이상 단축되었으며, 침강대도 Gelrite gel에서 보다 명료하게 관찰되었다. 이상과 같이 Gelrite gel은 바이러스 검출감도, 반응소요시간, 침강대의 명료도 등 바이러스 검출효율에서 agar gel보다 우월한 것으로 확인 되었으며, 경제적으로도 Gelrite가 Noble agar보다 유리하기 때문에 Gelrite를 이용한 이중확산법은 식물바이러스 항원의 검출, 진단에 매우 유용한 방법이라고 생각된다.

#### C06

**Coinfection of Cucumber Mosaic Virus and Turnip mosaic virus to Chinese cabbage.** Kim Jin-Young, Gug-Seoun Choi, Jeom-Deog cho and Jeong-Soo Kim. National Horticultural Research Institute, RDA

The isolation rate of viruses purified biologically for rod, filament and sphere shape was 45.5%, 50.0% and 4.5%, respectively, from Chinese cabbage collected at Alpine area in 1993. An isometric virus, ACS14-3N, produced local lesions on the inoculated leaves of *Chenopodium amaranticolor*, *vicia faba* and *Vigna* species,

however, it could infect systemically on 18 kinds of indicator plants including *C. quinoa*, *Datura stramonium* and *Nicotiana* species. The isolate could not infect on 6 cultivars of Chinese cabbage even though it came from Chinese cabbage. The isometric virus reacted positively with antiserum of cucumber mosaic virus (CMV) by agar gel double diffusion test. In ultrastructural studies of infected leaves of *Nicotiana glutinosa* and Chinese cabbage 'Chunhawang', the virus particles were presented linearly with the shape of 2-3 layered rings and plates. From the above results, the virus was identified as cucumber mosaic virus. When the mixed inoculum of CMV (ACS 14-3N) and turnip mosaic virus (ACT2-4VQ) homogenated with mortar was inoculated mechanically to turnip and Chinese cabbage 'Chunhawang', turnip was infected with both virus, but Chinese cabbage 'Chunhawang', turnip was infected with both virus, but Chinese cabbage 'Chunhawang' was not infected. The CMV could infect Chinese cabbage 'Chunhawang' when inoculated with the inoculum of turnip infected with both viruses.

C07

**Ultrastructural Comparison for the Cells of Chinese Cabbage Infected with Ribgrass Mosaic Virus and Turnip Mosaic Virus.** Cho, Jeom-Deog, Gug-Seoun Choi, Jeong-Soo Kim and Kyung-Soo Kim\*. National Horticultural Research Institute, Suwon, RDA.\*University of Arkansas, Fayetteville, Arkansas, U. S. A.

The economical important virus in Chinese cabbage was ribgrass mosaic virus (RMV) and turnip mosaic virus (TuMV) in Korea. Ultrastructural differences for the cells of Chinese cabbage infected with each and double of RMV and TuMV were studied through electron microscopy. In cells infected with RMV, virus particles were scattered and aggregated, and had central channel by longitudinal and cross cutting. Inclusions of cylinders, laminated aggregates, scrolls were observed in cells infected with TuMV, but pinwheel, a typical potyvirus inclusion, was not observed. TuMV particles were adhered to tonoplast and cylinders, and jammed linearly in vacuoles, RMV particles existed in inner part of scrolls of potyvirus inclusion in cells infected compoundly with TuMV, however, any virus particles could not be observed in scrolls of cells infected with TuMV. In cells of vascular tissues, the amount of virus particles was higher than that of cells infected with each virus. Generally, virus particles and inclusion bodies of TuMV could not be seen in xylem, however, TuMV inclusions could be seen easily in xylem infected mixedly with RMV. It is considered that multiplication and translocation of RMV and TuMV were influenced positively each other. The



double infection of RMV and TuMV may be a factor to cause the serious damage on Chinese cabbage in fields.

C08

**Dot Hybridization Detection of Potato Leafroll Virus Using Digoxigenin-Labeled RNA Probe.** Choi, G. S., Y. I. Ham\*, J. S. Kim, Y. M. Choi, J. K. Choi, \*\*National Horticultural research Institute, R.D.A \*Alpine Agricultural Experiment Station, R.D.A \*\*Kangweon National University, Chuncheon.

A fragment of 620bp cDNA derived from 3' region of potato leafroll virus(PLRV)-RNA was inserted in *SacI* and *XbaI* sites of transcription vector, pSPT 19, having SP6 and T7 promoter. The recombinant plasmid was designated as a pSRPL4. After linearization of pSRPL4 at *XbaI* site for run-off transcription, the plasmid was served as a template for SP6 RNA polymerase to synthesize digoxigenin(DIG)-labeled complimentary RNA copies of PLRV-RNA *in vitro* transcription. The probe was used in dot blot hybridization assays. PLRV-RNA was detected from total RNA extraction as little as 10 mg, 8 mm diam/leaf disk, of potato leaf infected with the virus by dot blot assay. The probe would be useful for detection of PLRV on potato.

C09

**Molecular Cloning of cDNA and Restriction Mapping of cDNAs of an New Isolate of Odontoglossum Ringspot Virus.** Ki Hyun Ryu, Jang Kyung Choi\*, Chang Won Choi\*\* and Won Mok Park. Department of Agricultural Biology, College of Natural Resources, Korea University, Seoul 136-701, \*Department of Agricultural Biology, College of Agriculture, Kangwon National University, Chuncheon, \*\*Department of Biology, Pai Chai University, Taejon, Korea

Odontoglossum ringspot virus (ORSV) is a species of the tobamovirus genus. ORSV has been classified on the basis of particle length, serological and other physico-chemical properties. A new isolate, designated as ORSV-CR, was isolated from the leaf of *Cymbidium* 'Grace Kelly' showing floral necrosis and foliar distinct ringspots in Chungnam Province, Korea. The isolate reacted strongly with antisera against ORSV-Cy strain (Park et al., 1990) and TMV-common strain. The isolate had single coat protein band with Mw 18KD by SDS-PAGE analysis, and size of the genomic RNA is about 6.6Kb. For synthesis of full-length cDNA of the virus, the genomic RNA was size-fractionated and the RNAs were adenylylated at their 3'-end. These polyadenylated RNAs were reversely transcribed by oligo-dT primer-*Not* I site for first-strand cDNA, and then second-strand

cDNAs were synthesized by nick translation. The resulting double-stranded cDNA fragments were ligated to pSPORT1 phagemid vector and transformed into *E. coli* strain NM522. One to ORSV-CR genomic RNA sequence were generated. Among them, the number of recombinants harboring cDNA more than 1.2 Kb was 193 clones. The insert sizes of the cDNAs of the ORSV genomic RNA ranged from 800 bp to 4, 200 bp. Among the selected recombinant clones, pORCR-021 is covered with 3'-terminal region, and pORCR-026 is encoded with 5' half region of the viral RNA. Restriction for *Eco* RI, *Hind* III, *Kpn*I, *Pst*I and *Sph*I, respectively. In restriction pattern analysis, not all cDNAs are identical for a particular genomic RNA of the virus and the pattern also different from previously reported ORSV-Cy strain. Therefore, the cDNAs generated would be useful to determine and search for differentiating ORSV strains and their pathogenicities.

C010

**Complete Nucleotide Sequence and Genome Organization of Odontoglossum Ringspot Virus and Relationships with Other Tobamoviruses.** Ki Hyun Ryu and Won Mok Park. Department of Agricultural Biology, College of Natural Resources, Korea University Seoul 136-701, Korea

The complete nucleotide sequence of genomic RNA of odontoglossum ringspot virus (ORSV) has been determined. The ORSV genomic RNA is 6618 nucleotides in length, which is the longest one in RNAs of the known species of the tobamovirus genus. ORSV genomic RNA contains five long open reading frames (ORFs) coding for proteins of Mw 126K (1112 amino acids(aa)), 181K (1595 aa), 34K (303 aa), 18K (158 aa) and 52K (458 aa), respectively. This is the first report for complete nucleotide sequence and genome organization of ORSV. The nucleotide sequence of the ORSV appears in the EMBL, GenBank and DDBJ databases under the accession number X82130. The 126K ORF is followed in-frame by a second ORF which is expressed by readthrough of the UAG termination codon of the 126K ORF to produce a polypeptide of 181K. The readthrough region of 181K contains the characteristic core RNA polymerase motif, indicating that the ORSV replicase is expressed as a pair of overlapping proteins like other known tobamoviruses and tobnaviruses. The genomic organization and sequence analysis showed that ORSV is more closely related to tobacco mild green mosaic virus (TMGMV), pepper mild mottle virus (PMMV), tomato mosaic virus (ToMV) and tobacco mosaic virus (TMV) than cucumber green mottle virus (CGMMV) and sunn-hemp mosaic virus (SHMV). The percentages of overall homology of the ORSV RNA with those of TMV, ToMV, TMGMV, PMMV and CGMMV were 65.5%, 66.5%, 66.6%, 68.4% and 49.6%, respectively.

C11

**Detection of Cucumber Mosaic Virus and Potato Virus Y by Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction.** Won Mok Park, Su Joong Kim and Ki Hyun Ryu. Department of Agricultural Biology, College of Natural Resources, Korea University, Seoul 136-701, Korea

Cucumber mosaic virus (CMV) is a type species of cucumovirus genus which belongs to the Bromoviridae family. A sensitive, reliable and labor-saving assay is needed to detect CMV infection. A method based on reverse transcription and the polymerase chain reaction (RT-PCR) has been developed to detect two strains of CMV (CMV-As and CMV-Y). Two CMV-specific primers with each 18 nucleotides based on the nucleotide sequence of CMV-As RNA4 (Ryu et al., 1993), designated as PCMCP1 (downstream primer) and PCMCP2 (upstream primer), that flank the CMV coat protein gene were used to amplify a PCR DNA fragment of 671 bp. The lowest concentration of template RNA for detection of the virus was 1.0 fg of purified infected tobacco plant was 65,536 : 1 (v/w). No PCR product was obtained when TMV RNQ or negative control of healthy plants. Restriction enzyme analysis of the PCR amplified fragments from CMV-As and CMV-Y strains showed distinct restriction patterns : DNA fragment from CMV-As have recognition site for EcoRI and EcoRV, but DNA fragment from CMV-Y only for HindIII. This RT-PCR was successfully detected the CMV from randomly selected CMV infected pepper and tomato plants. Another RT-PCR was tested for diagnosis of PVY and it could also detected PVY.

C12

**Restriction Primers as Short as 6-Mers by Reverse Transcription -Random Amplified Polymorphic DNA (RT-RAPD) for Amplification of Plant Virus RNA.** Won Mok Park, Su Joong Kim and Ki Hyun Ryu. Department of Agricultural Biology, College of Natural Resources, Korea University, Seoul 136-701, Korea

With the availability of the polymerase chain reaction (PCR) technique, it is relatively easy to study sequence variations compared to other general properties. Amplification of DNA sequences using the PCR requires primers designed for appropriate oligonucleotides length. Such primers are generally between 18 and 30 bases long for specific amplification to detect and express the markers represent powerful tools for genome characterization of various organisms including phytopathogens like fungi, bacteria and nematodes. RAPD primers are routinely 9-10 bases. previous reports have suggested that hexamers did not produce any amplification and not even a smear in visible. Here, we report the successful

amplification of DNA and RNA with such the new primers, designated as restriction primers as short as 6 nucleotides. Two hexamer primers, denoted as PEcoRI (5'-GAATTC-3') and PHindIII (5'-AAGCTT-3'), were selected for reverse transcription and RAPD (RT-RAPD) for amplification of plant virus genomic RNA. We first applied the restriction primers to the cDNA plasmid (pORCY-072 and pCMAS-66), genomic DNAs of some *Pseudomonas spp.* and orchid plants. We observed positive amplifications (3 - 6 DNA fragments about 400 bp - 2.0 kbp) with the 6-mers. Purified TMV genomic RNA was used for template in RT reaction and then the resultant cDNAs were amplified with the restriction primer as a RAPD. We found specific amplification with a very low background at 25°C - 30°C. This technique would lead to new applications in the cloning purpose, differentiation and screening of genome characterizations of plant virus genomic RNA.

### C13

**담배 모자이크 바이러스 고추계(TMV-P)의 외피단백질 및 이동단백질 유전자를 도입한 형질전환 담배의 TMV-P에 대한 반응. 최장경, 홍은주, 이재열<sup>1</sup>, 장무웅<sup>2</sup>.** 강원대 농생물학과, <sup>1</sup>경북대 미생물학과, <sup>2</sup>영남대 생물학과

고추의 TMV-P로 부터 분리한게놈RNA에서 외피단백질 유전자(coat protein gene, CP gene)에 대응하는 cDNA를 합성한 후, pBGS 18의 SmaI site에 삽입하고 클로닝시켜 CP cDNA가 sense 및 antisense 방향으로 삽입된 2종류의 클론을 선발하였으며, 또한 movement protein gene(MP gene)에 대응하는 cDNA도 클로닝시켜 실험에 공시하였다. 이들 각 클론으로부터 cDNA를 추출하여 발현 벡터 pBII21의 SacI 및 XbaI site에 삽입시키고, *Agrobacterium tumefaciens* LBA4404에 도입한 다음, leaf disc법으로 담배(*Nicotiana tabacum* cv. Samsun)에 형질전환시켰다. 이와 같이 작성된 leaf disc들은 kanamycin-MS배지에서 배양하여 형질전환 담배를 육성하였다. 이들 형질전환 담배들로부터 DNA를 추출한 후, TMV-P의 CP 및 MP gene의 양말단에 대응하는 primer를 이용한 PCR법으로 각 유전자 cDNA의 존재를 확인하였다. 각 유전자의 cDNA가 도입된 형질전환 담배를 온실에서 육성하고 이들 식물에 TMV-P를 접종(0.5mg/ml)한 다음 각 식물체에 나타나는 반응을 조사하였다. 그 결과, sense 방향의 CP cDNA가 도입된 형질전환체(TMPC-S4)는 TMV접종에 따른 병징발현이 억제되어, 접종 1개월 후에도 병징이 나타나지 않은 반면, antisense의 CP(TMPC-AS2)나 MP cDNA(TMPM219)가 도입된 식물체는 비형질전환 담배와 마찬가지로 심한 모자이크가 발현되었다. 또한 이들 식물에 접종 후 20일째에 증식된 바이러스의 농도를 Samsun NN에서 반엽법으로 정량하였을 때, TMPC-S4는 비형질전환 담배에 증식된 TMV의 약 1/14 이었고, TMPC-AS2와 TMPM219의 바이러스 농도는 비형질전환체와 차이를 나타내지 않았다. 한편 이들 형질전환체의 자식 종자를 이용하여 조사한 T1세대의 kanamycin 내성은 약 3:1의 분리비를 보였다.

C14

**GENOMIC ANALYSIS OF POTATO VIRUS Y-VN AND PROGRESS TOWARDS DEVELOPMENT OF PVY RESISTANT *NICOTIANA TABACUM* VAR. BURLEY 21.**

Hye Sun Cho<sup>1</sup>, Eun Kyung Park<sup>2</sup> and Kyung-Hee Paek<sup>3</sup>.<sup>1</sup>Plant Molecular Biology Lab., Genetic Engineering Research Institute, KIST, Taejon 305-600, Korea, <sup>2</sup>Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Taejon 305-345, Korea:<sup>3</sup>Department of Agricultural Biology, Korea University, Seoul 136-701, Korea.

Potato virus Y-VN(PVY-VN) isolated from *Nicotiana tabacum* var. Burley 21 field in Korea was used for cDNA cloning. The size of cDNA inserts was estimated by restriction enzyme digestion analysis. The identification of coat protein gene fragment of PVY-VN was done by Southern blot analysis by using a 900bp coat protein gene fragment of PVY(isolated Amigo) as a probe. The inserts of longest cDNA clone 18 were subcloned into pUC19 and subjected to sequencing analysis. At the amino acid level the Nib and CP sequences of PVY-VN strain share 93-96% homology with those of other known PVY strains. CP, Nib region containing ATG codon in front of each construction were synthesized through RPCR by using purified PVY RNA and synthesized primers. The synthesized genes were then cloned in both sense and anti-sense orientation in plant expression vectors. Each construction was transferred into *Agrobacterium tumefaciens* LBA4404 and then transformed into *Nicotiana tabacum* var. Burley 21. Mechanical inoculation of PVY-VN upon transgenic plants showed that perfect resistance sense and anti-sense construction of CP and sense construction of Nib. Progeny analysis of these PVY-resistant transgenic plants are under investigation.