

지황(*Rehmannia glutinosa* Libosch)에서 분리한 Tobacco Mosaic Virus의 특성

박준식, 최민경, 유강열¹⁾, 이귀재*

전북대학교 농생물학과, ¹⁾코메드생명과학연구소

Characterizations of Tobacco Mosaic Virus isolated from Chinese Foxglove(*Rehmannia glutinosa* Libosch)

Jun Sic Park, Min Kyung Choi, Kang-Yeol Yu¹⁾, Kui Jae Lee*

Department of Agricultural Biology Graduate School,
Chonbuk National University Jeonju 561-756, Korea

¹⁾ KOMED Institute for Life Science

ABSTRACT

This study was conducted to investigate the occurrence and characterization of tobacco mosaic virus(TMV) in Chinese foxglove isolated from the field of the Chonbuk province(Jinan, Jangsu, Jeongeup). TMV was detected in all three regions and confirmed positive reaction by ELISA test. In the host range test, *Chenopodium amaranticola*, *Nicotiana glutinosa*, *N. tabacum* cv. 'Bright yellow', *N. tabacum* cv. 'KY-57', *Datura stramonium* were locally infected with the virus. The virus produced mosaic symptom on inoculated leaves of *N. tabacum* cv. 'Samson'. However, *Chenopodium quinoa*, *Glycine max*, *Raphanus sativus*, *Cucumis sativus*, *Cucurbita moschata*, *Brassica rapa* and *Lycopersion esculentum* did not show any symptoms. TMV particles were revealed as a stiff rod shape by transmission electron microscopic(TEM) and measured as 300 nm in length with 18 nm in diameter. Total RNA was extracted from showing symptom leaves infected with TMV and the reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) obtained 531 bp DNA product of RNA with specific primer used. The capsid protein of TMV - RE showed higher amino acid sequence homology(97.7%) with TMV - To than with TMV - P(72.2%). The capsid protein of TMV - 152 showed same amino acid sequence homology with TMV - F. The result of comparison of nucleotides sequence homology between TMV - RE strain and other TMV strain showed 94% homology with others except TMV - P(67.3%) and TMV - C(68.6%).

Key words : *Rehmannia glutinosa*, RT-PCR, TMV

* 교신저자 : E-mail : kjlee@mail.chonbuk.ac.kr

서론

지황(*Rehmannia glutinosa* Libosch)은 현삼과에 속하는 다년생 숙근성 초본식물로서 중국이 원산지로서 한국, 일본, 베트남 등의 온대지역에서 광범위하게 분포되어 있다(최, 1995; 안, 1999; 유, 1999; 일본 식물병해 대사전). 지황은 중국에서 1590년경부터 재배되었고 우리나라에서는 경북 안동과 영양, 전북 정읍을 비롯하여 충북 제천, 단양 등지에서 많이 재배되고 있다(박, 1998, 1999). 지황은 전형적인 영양 번식작물로서, 분근 또는 세근으로 번식되기 때문에 증식율이 낮을 뿐만 아니라 번식용 뿌리를 저장하는 동안 병원균에 의한 감염과 발병율이 높다(채와 박, 1999; 박 등, 1999). 특히 7월말부터 9월 초순사이에 고온 다습한 기후가 계속되어 배수가 잘 되지 않거나, 연작 또는 질소비료의 과용으로 인하여 경엽이 도장하였을 때, *Fusarium* spp.균에 의해서 뿌리 썩음병이 많이 발생한다(유 등, 1999).

담배 모자이크 바이러스(tobacco mosaic virus, TMV)는 대표적인 식물바이러스로서 담배 뿐만 아니라 고추, 가지 등 주요 작물에 피해를 주는 광범위한 숙주범위를 나타내어 그 피해가 점차 커지고 있다. 박 등(1997)과 박(1998)은 관별식물에서의 병징 반응, 혈청학적 관련성 및 외피단백질의 peptide mapping 조사 등 생물학적, 물리화학적 및 혈청학적 특성 등에 의해서 한국의 담배, 토마토 및 고추에서 TMV의 3계통으로 구분하였다.

지황에 발생하는 바이러스에 대한 연구는 TMV, cucumber mosaic virus(CMV), rehmannia potexvirus 등이 일본 식물병해 대사전에서 보고되어 있으며, 최 등(1995)은 지황에서 TMV를 분리하여 기주식물의 반응 및 전자현미경을 이용, 입자의 형태를 관찰하였다.

또한 박(1998)은 지황 1호와 서천재래를 공시하여 투과전자현미경(TEM)을 이용하여 검출된 바이러스는 막대형인 TMV와 사상형인 PVX(potato virus x)로 동정하였으며, 명아주의 19종의 지표식물을 이용하여 기주식물의 반응을 조사한 바 있다.

그러나, 우리나라의 지황에 발생하는 바이러스의

분리 및 동정이 정확하게 보고되어 있지 않아 본 실험에서는 지황의 지역별 바이러스 조사와 접종실험을 통한 기주반응, 혈청학적 진단, 전자현미경을 이용한 입자관찰 등을 통해 정확한 동정과 RT-PCR을 이용하여 TMV 지황 계통의 신속한 진단과 외피단백질의 염기서열을 분석하여 gene bank(NCBI)에 등록된 다른 TMV계통과 비교 및 분석하여 지황 바이러스의 동정 및 유연관계를 조사하고자 실시하였다.

재료 및 방법

조사지역 및 공시지황

우리나라 지황 재배 포장에 발생하고 있는 바이러스의 분포를 알아보기 위해 전라북도의 진안·약초시험장, 정읍, 장수 등 3개 지역을 조사하였으며 실험에 이용한 지황은 진안 약초시험장에 재배중인 '서천배양'을 이용하여 바이러스 순수 분리용 기주로 *Chenopodium amaranticolor*와 *Ch. quinoa*, *Nicotiana glutinosa*를 이용하였다.

즙액접종에 의한 기주반응

접종원 바이러스는 전북 진안약초 시험장의 '서천배양' 수집종에서 병징이 뚜렷한 이병엽 2~3엽을 채취하여 ELISA법으로 TMV, PVX와 broad bean wilt virus(BBWV), cucumber mosaic virus(CMV)바이러스의 감염여부를 확인하였다. 또 *Ch. amaranticolor* 및 *N. glutinosa*에 즙액접종한 후, 단일 반점을 얻어 계대증식하여 접종원 바이러스로 이용하였으며, 즙액접종은 병징이 뚜렷한 이병엽 2~3엽에 약 5배량(w/v)의 0.1 M 인산완충액(pH 7.0) 및 금강사(600 mesh)를 멸균된 유발에 넣고 마쇄하여 1.5~2엽기의 지황 수집종의 유묘잎에 상이접종 시켰다. 접종 30분 후 증류수로 접종 잎을 수세하고 반차광막이 설치된 유리온실에서 생육시켰다. 기주반응의 조사는 명아주 2종, 담배 3종, 오이, 호박, 무, 순무, 콩(대두) 등을 접종 실험에 이용하였다. 즙액접종 후 1~2주 사이에 병징을 육안으로 조사하였으며, 병징이 뚜렷하지 않은 것은 ELISA로 검정하였다.

전자현미경 관찰

1) Dipping 방법

Dipping법은 모자이크 증상이 뚜렷한 이병엽을 면도칼로 가늘게 절단하여 탄소코팅니켈 그리드 위에 2% PTA 용액을 떨어뜨린 후, PTA용액에 5분간 침지 시켜 자연건조시킨 후 검경하였다.

2) Epoxy 수지포매 및 초박절편 관찰

이병조직의 관찰은 발병된 잎을 면도날로 1 mm² 크기로 절단하고 3% 글루타알데하이드 0.1 M 인산완충액(PBS, pH 7.0)으로 2시간 전고정 후, 0.1 M 인산완충액(pH 7.0)으로 충분히 수세하고, 1% OsO₄(0.1 M PBS, pH 7.0)에서 2시간 후고정 하였다. 고정한 시료는 에칠 알콜로 탈수시켜, 100% propylene oxide로 치환하여 epoxy 수지(Epon 812)에 포매하였다.

절편제작은 초박절편기(Ultramicrotome, LKB type V)로 초박절편을 만들고, 4% 우라닐아세테이트(50%에탄올 포화) 및 2% lead citrate로 염색하였다. 검경은 전자현미경(Carl Zeiss EM 10C)을 이용하여 관찰하였다.

외피단백질 Cloning 및 Sequencing

1) Total RNA 분리

TMV에 단독 감염된 지황잎(서천배양)을 재료로 핵산추출 시약인 Sepa Gene Kit(三光)를 이용하여 total RNA를 분리하였다. 이병잎 3 mg과 tris-buffer(sol. I, 50 μl)를 넣고 power homogenizer로 마쇄한 후, guanidine thiocyanate가 함유된 단백질 변성제(sol. II, 50 μl) 및 acetate buffer(sol. V, 25 μl)를 첨가하여 잘 혼합하였다. 그리고 클로로포름(sol. III, 350 μl) 및 추출제인 sodium acetate(sol. II, 200 μl)를 넣고 15,000 rpm으로 10분간 원심분리하였다. 상등액에 glycogen 1 μl 및 iso-propanol 250 μl를 혼합하고 -70℃에 10분간 방치 후 원심분리 시켜 핵산을 침전시켰다. 그리고 70%에탄올로 수세한 후 진공건조기(Vision, Cetra-Vac)를 이용하여 5분간 건조시켜 멸균증류수에 재회석하여 RT-PCR시료로 사용하였다.

2) RT-PCR 반응

RT-PCR 반응은 RT-PCR high kit(Toyobo co.) 사용 설명서에 준하였다. 분리된 total RNA 1 μl에 reverse

primer 1 μl를 넣고 RT-PCR high 5×RTase buffer 2 μl, 0.1 M DTT 1 μl, 10 mM dNTPS 1 μl, superscript II RT (20 unit/ μl) 0.2 μl RNase inhibitor (40 unit/ μl) 0.3 μl, dH₂O 2.4 μl를 넣고 42℃/30분간 역전사 반응을 시켜 first strand cDNA를 합성시켰다. First strand cDNA를 주형으로 해서 Thermophilic DNA poly 10× buffer 4 μl, 25mM MgCl₂ 4 μl, Amplitaq 0.5 μl, forward primer(20 pmol/ μl) 1 μl, dH₂O 31.24 μl를 혼합하고 PCR반응에 따라 증폭시켰다. Primer는 TMV의 염기서열에 준하여 reverse primer로 MKZR(5'-TTTAGAATTCATCTTGACTACC-3')를 forward primer로 MK1F(5'-CTACTGTCCCGAATTCGATTCG-3')를 이용하였다. PCR 반응조건은 94℃/ 1 min, 55℃/ 2 min 및 72℃/ 3 min에서 30 cycle의 조건으로 수행하였고 72℃/ 7 min간 신장반응을 시켰다. PCR 증폭산물은 1.2% agarose gel에 전기영동하고 ethium bromide(1 mg/μl)에 염색 후 전기영동대를 확인하였다.

3) RT-PCR 재료

RT-PCR 재료는 전라북도 진안약초시험장에서 TMV에 이병된 개체를 *N. glutinosa*에 계대 접종시킨 이병엽에서 total RNA를 분리하여 사용하였다.

4) Cloning 및 Sequencing

Cloning은 RT-PCR 결과 얻어진 생산물을 QIAquick PCR purification kit(QIAGEN Co.)를 이용하여 정제하고 에탄올 침전법에 따라 침전시켜 사용하였다. Ligation반응은 합성물(90 ng)과 pT7 Blue(Novagen Co. 50 ng) 벡터를 이용하였고, *Escherichia coli* JM109 competent cell에 형질전환시켰으며, Sequencing은 ABI PRISM dye primer cycle sequencing core kit(Perkin elmer Co.), MKZR reverse 및 MK1F forward primer를 이용하여 반응시키고, ABI PRISM 377 DNA sequencing system을 이용하여 sequencing하였다.

외피단백질 유연관계분석

지황에서 sequencing한 data와 다른 TMV계통과 유연관계를 비교해 보기 위해서 한국에서 분리한 Tomato 및 Pepper 계통(Accession No. L35073,

L35074), 중국에서 분리한 Fujian 및 *Vicia faba*계통 (Accession No. AF395127, AJ011933), TMV - 152계통 (Accession No. AF395129), TMV RNA중 Coat protein부분(Accession No. X68110, NC001367), TMV rakkyo계통(Accession No. D63809)을 이용하였다. 유연관계 분석은 Genetyx - Win 프로그램을 이용하여 분석하였다.

결과

바이러스 발생상황

우리나라 지황 포장에 발생하고 있는 지황 바이러스의 분포를 알기 위해, 전라북도의 진안 약초시험장, 정읍, 장수 등 3개 지역에 지황 바이러스병 이병주를 채취하여(Fig. 1) ELISA 검정을 한 결과 Table 1과 같다.

담배 모자이크 바이러스(TMV) 및 동부 위조 바이러스(BBWW)는 3개 지역 모두에서 ELISA 양성반응을 나타내었으나, CMV 및 PVX는 장수지역에서만



Fig. 1. Symptoms of tobacco mosaic virus(TMV) in *Rehmannia glutinosa*.

ELISA 양성반응을 나타내었다(Table 1).

즙액접종에 의한 기주반응

전북 진안 약초시험장의 서천배양으로부터 분리한 TMV를 13종의 지표식물에 즙액접종한 결과, 접종 2주 후부터 초기 병징으로 담배잎의 경우 본엽에만 necrotic ring spots 증상이 보이다가 2-4주의 시간이 경과하면서 chlorotic ring spots 되면서 괴사하였다(Fig. 2). 접종한 지표식물 중 *Ch. amaranticola*, *N. glutinosa*, *N. tabacum* cv. 'Bright Yellow', *N. tabacum* cv. 'KY-57', *Datura stramonium* 등은 국부병징이 보였다(Fig. 3).

또한 *Nicotiana tabacum* cv. 'Samson' 은 mosaic 증상이 나타났다. *Glycine max*, *Raphanus sativus*, *Cucumis sativus*, *Cucurbita moschata*, *Brassica rapa*, *Lycopersion esculentum*에서는 증상이 나타나지 않았다(Table 2).

전자현미경 관찰

이병된 서천배양 수집종을 담배에 접종하여 뚜렷한 괴사증상이 나타난 이병잎을 면도날로 잘라 엽면에서 나오는 즙액을 그리드에 올려 전자염색한 후 투과 전자현미경으로 관찰한 결과 TMV의 입자는 막대모양이었다(Fig. 4). 또한 이병주를 epoxy 수지에 포매하여 전자현미경으로 관찰한 결과 Fig. 5와 같다. 이병조직의 세포질에서 바이러스 입자가 균집을 이루고 있는 것이 관찰되었고, 세포질 내에 바이러스 입자가 산재해 있는 것이 관찰되었다.

RT-PCR 반응

Table 1. Species of *Rehmannia glutinosa* virus by the ELISA in three different areas of Jeonbuk province

Location	ELISA test			
	TMV	*BBWV	**CMV	***PVX
Jangsu	+	+	+	+
Jinan	+	+	-	-
Joungup	+	+	-	-

+: positive reaction, -: No reaction. *BBWV: Broad Bean Wilt Virus, **CMV: Cucumber Mosaic Virus, ***PVX: Potato Virus X.

Table 2. Various symptoms appeared on indicator plants after TMV inoculation isolated from *R. glutinosa*

Indicator plant	Reaction on leaves
<i>Chenopodium amaranticola</i>	Necrotic local
<i>Chenopodium quinoa</i>	No symptom
<i>Nicotiana glutinosa</i>	Necrotic local
<i>Nicotiana tabacum</i> cv. 'Bright Yellow'	Necrotic local
<i>Nicotiana tabacum</i> cv. 'KY - 57'	Necrotic local
<i>Nicotiana tabacum</i> cv. 'Samson'	Mosaic
<i>Datura stramonium</i>	Necrotic local
<i>Raphanus sativus</i>	No symptom
<i>Cucumis sativus</i>	No symptom
<i>Cucurbita moschata</i>	No symptom
<i>Brassica rapa</i>	No symptom
<i>Lycopersion esculentum</i>	No symptom
<i>Glycine max</i>	No symptom



Fig. 2. *N. glutinosa* symptoms after mechanical inoculation with TMV. Arrow indicate necrotic and chlorotic ring spots.



Fig. 3. Ring spots symptoms of *Ch. amaranticolor* leaves after inoculation with TMV.



Fig. 4. Electron micrograph of TMV particles.



Fig. 5. Electron micrograph of tobacco leaf infected with TMV aggregated particles.

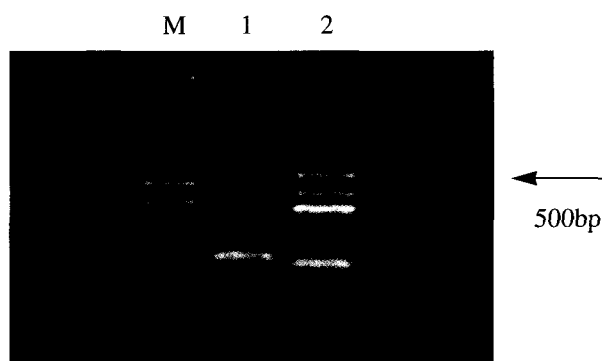


Fig. 6. RT-PCR products from total RNA by using specific primers on 1.2% agarose gel. Lane 1 : DRI gester III marker as a standard size, Lane 2 : Virus RNA of Seochon - culture Lane 3 : 100 bp ladder.

고찰

RT-PCR 재료는 전라북도 진안에서 채취한 TMV의 감염주를 순수분리하여 *N. glutinosa*에 계대접종 중인 재료를 채취하여 total RNA를 분리하여 TMV의 RNA를 RT-PCR을 실시한 결과 Fig. 6에서 보는 바와 같다. 즉 531 bp에서 band가 형성되어 증폭되는 것을 알 수 있다.

외피단백질 유연관계 분석

지황에서 분리한 TMV-Re와 Gene bank에 등록된 한국에서 분리된 두 계통 TMV - Pepper, Tomato(Accession No. L35073, L35074), 중국에서 분리된 계통 TMV-Fujian, *Vicia faba*(Accession No. AF395127, AJ011933), TMV-152계통(Accession No. AF395129), TMV RNA중 coat protein부분(Accession No. X68110, NC001367) TMV-rakkyo계통(Accession No. D63809)을 Genetyx win program을 통하여 바이러스의 외피단백질을 비교 분석한 결과 아미노산 수준에서 TMV-T, V, To 세 계통에서 각각 97.65%로 가장 높게 나타났고, TMV-P계통에서 72.22%로 가장 낮게 나타났다. 기타 계통들간에는 TMV-152, F 계통에서 94.05%, TMV-C 계통에서 68.63% 유사도를 나타냈다(Table 3). 염기수준에서는 TMV-Tomato, *Vicia faba*, To 세 계통에서 각각 94.83%로 가장 높게 나타났고, TMV- Pepper계통에서 67.35%로 가장 낮게 나타났다(Table 3).

우리나라 지황재배지에 발생하고 있는 바이러스 이병주를 3개 지역에서 채취하여, ELISA 방법으로 TMV의 감염여부를 확인한 결과 진안, 장수, 정읍 등의 3개지역 모두에서 ELISA 양성반응을 나타내었다. 뿐만 아니라 TMV외에 BBWV, CMV, PVX등의 바이러스도 재배포장에 발생하였다.

이는 일본 식물 병해 대사전에 보고된 TMV, *rehmannia potexvirus*, 박(1998)이 보고한 TMV, PVX는 물론 BBWV, CMV의 바이러스도 발생하여 다양한 바이러스에 감염되는 것이 확인되었다.

즙액접종에 의한 기주반응을 조사하기 위하여 명아주 외 12종에 반응시킨 결과 *Ch. amaranticola*, *N. glutinosa*, *N. tabacum* cv. 'Bright Yellow', *N. tabacum* cv. 'KY-57', *D. stramonium* 등은 국부 병징이 보였다. 최 등(1995)이 보고한 즙액접종 반응에서는 *N. tabacum* cv.' Bright Yellow'은 전신감염이 된다고 보고하였는데, 본 실험결과와 차이를 보여 재검토가 요구된다.

*N. glutinosa*를 이용, 순수분리 및 증식한 이병주의 바이러스 입자를 관찰한 결과, 폭 18 nm, 길이 300 nm의 막대모양의 바이러스였다. 이러한 결과는 최 등(1995), 박(1998)이 보고한 TMV 크기의 결과와 일치하였다.

Epoxy 수지를 통해 이병조직의 세포질내에서, 바

Table 3. Comparison of amino acid sequence homology analysis among the capsid protein of the TMV strains

	TMV-RE*	TMV-152	TMV-F	TMV-P	TMV-R	TMV-C	TMV-T	TMV-V	TMV-To
TMV-RE	-								
TMV-152	96.87	-							
TMV-F	96.87	100	-						
TMV-P	72.22	73.01	73.01	-					
TMV-R	96.09	96.09	96.09	74.42	-				
TMV-C	74.80	75.59	75.59	96.03	74.01	-			
TMV-T	97.65	99.21	99.21	73.01	96.87	75.59	-		
TMV-V	97.65	99.21	99.21	73.01	96.87	75.59	100	-	
TMV-To	97.65	99.21	99.21	73.01	96.87	75.59	100	100	-

* RE: *Rehmannia*, F: Fujian, P: Pepper, R: Rakko, C: Coat protein, T: Tomato, V: *Vicia faba*, To: Total RNA.

이러스 입자가 균집을 이루고 있고, 정상적인 세포질이 관찰되지는 않았으나 세포질내에 바이러스 입자가 많이 산재되어 있음이 관찰되었다. 이러한 결과는 최 등(1995)이 보고한 결과와 일치하였다.

TMV의 병징은 즙액 접종 4주 후부터 담배잎의 본엽에 부분적으로 반점(spot)이 보이다가 4~6주 후에는 황화현상과 괴사현상이 나타났다. 또한 *N. tabaccum* cv. 'Samson'에 접종한 결과 mosaic증상이 나타났는데 이러한 결과는 박(1998)의 보고와 일치하였다.

RT-PCR을 이용하여 TMV의 감염여부를 조사하기 위해 이병주로부터 total RNA를 분리하여 RT-PCR을 수행한 결과 531 bp 부위에 증폭산물을 얻었다. 이러한 결과는 최 등(1998)의 결과와 일치하였다.

또한 TMV-V, R, To, P, F, C, 152 계통들의 유전자의 길이는 479 bp이며 TMV-T 계통의 유전자의 길이는 474 bp(이 등, 1996a, 1996b)로 다른 계통들보다 5 bp의 염기가 적으며 지황에서 분리한 RE 계통과 비교해 보면 약 60 bp 정도의 염기가 적다.

Genetyx win program을 통하여 바이러스의 외피 단백질을 비교 분석한 결과 염기수준에서는 TMV-T, V, To 세 계통에서 각각 94.83%로 가장 높게 나타났고, TMV-P 계통에서 67.35%로 가장 낮게 나타났다.

아미노산 수준에서는 TMV-T, V, To 세 계통에서 각각 97.65%로 가장 높게 나타났고, TMV-P 계통에서 72.22%로 가장 낮게 나타났다. 기타 계통간에는 TMV-152, F 계통에서 94.05%, TMV-C 계통에서 68.63% 유사도를 나타냈다.

이 등(1996a, 1996b)이 TMV common계통과 TMV-P, T에 대한 외피단백질의 염기서열을 분석한 결과, 69%와 70%로 나타난 반면 서천배양에서 분리한 TMV-RE계통과 TMV-P, T계통을 비교하였을 때 67%와 94%로 나타났다.

또한 TMV common계통과 TMV-P, T에 대한 외피 단백질의 아미노산을 분석한 결과, 81%와 86%로 나타난 반면 서천배양에서 분리한 TMV-RE계통과 TMV-P, T계통을 비교하였을 때는 72%와 97%로 나

나왔다.

적요

전라북도의 진안, 장수, 정읍 등의 3개 지역에서 재배하고 있는 지황에 바이러스 병징이 관찰되어 ELISA 방법으로 TMV의 감염여부를 확인한 결과 3개 지역 모두에서 ELISA 양성반응을 나타내었다.

*N. glutinosa*를 이용, 순수분리 및 증식한 이병주의 바이러스 입자를 관찰한 결과, 폭 18 nm, 길이 300 nm의 막대모양의 바이러스가 관찰되었다.

또한 epoxy 수지를 통해 이병조직의 세포질내에서 많은 바이러스 입자가 균집 또는 산재되어 있음이 관찰되었다.

TMV의 병징은 즙액 접종 4주 후부터 담배 잎의 본엽에 부분적으로 반점이 보이다가 4~6주 후에는 황화현상과 괴사현상이 나타났다. 이병주로부터 total RNA를 분리하여 RT-PCR을 수행한 결과 531 bp DNA 증폭 산물을 얻었으며 genetyx win program을 이용하여 외피단백질의 염기수준에서 비교 분석한 결과, TMV-T, V, To 세 계통에서 각각 94.83%로 가장 높게 나타났고, TMV-P계통에서 67.35%로 가장 낮게 나타났다. 아미노산 수준에서는 TMV-T, V, To 세 계통에서 각각 97.65%로 가장 높게 나타났고, TMV-P계통에서 72.22%로 가장 낮게 나타났다. 기타 계통들간에는 TMV-152, F 계통에서 94.05%, TMV-C 계통에서 68.63% 유사도를 나타냈다.

인용문헌

1. Ahn, S. W., Y. G. Kim, M. H. Kim, H. Y. Lee and N. S. Seong. 1999. Comparison of biological activities on *Rehmannia radix* and *R. radix Preparata* produced in Korea. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* 7(4) : 257~262.
2. Choi, H. S., J. W. Park, K. H. Lee and J. U. Cheon. 1995. Identification of tobacco mosaic virus isolated

지황(*Rehmannia glutinosa* Libosch)에서 분리한
Tobacco Mosaic Virus의 특성

- rehmannia(*Rehmannia glutinosa*). Korean J. Plant Pathol. 11(4) : Abstracts.
3. Lee, Y. H., C. H. Lee, S. W. Kang and E. K. Park. 1996a. Complementary DNA cloning and nucleotide sequence analysis of coat protein gene from TMV pepper strain. Korean J. Plant Pathol. 12(2) : 182~186.
 4. Lee, C. H., Y. G. Lee, S. W. Kang and E. K. Park. 1996b. Complementary DNA cloning and nucleotide sequence analysis of coat protein gene from TMV tomato strain. J. of the Korean Society of Tobacco Science 18(2) : 101~106.
 5. Park, C. H. 1998. Evaluation of cytogenetic characters and in vitro micropropagation on Chinese foxglove(*Rehmannia glutinosa*). Chungbuk Nat. Univ. Ph.D. thesis. 1~51.
 6. Park, C. H., C. G. Park, H. S. Yu, N. S. Seong, B. H. Lee and R. P. Chung. 1999. Characteristics of collected lines and effect of environmental conditions on growth of *Rehmannia glutinosa* Lib. Korean J. Medicinal Crop Sci. 7(2) : 138~142.
 7. Park, E. K., Lee, C. H., Lee, Y. K., and Kim, Y. H. 1997. Biological, physico-chemical and serological characteristics of TMV strains isolated from tobacco, tomato and pepper plants. J. of the Korean Society of Tobacco Science 19(1) : 5~10.
 8. Yu, C. Y., Z. L. Jin, J. Y. Jeong, J. D. Lim and Y. A. Chae. 1999. In vitro selection and plant regeneration from fusaric acid-tolerant cell lines of *Rehmannia glutinosa* Lib. Korean J. Medicinal Crop Sci. 7(4) : 245~250.
 9. 日本植物病害大事典. 1999. 安國平編. 全國農村教育協會. p208~209.
- (접수일 2003. 9. 5)
(수락일 2003. 10. 15)