

시판 고추 종자에서 분리한 Tobamovirus의 동정 및 특성 조사

한정헌* · 손성한¹ · 나용준서울대학교 농업생명과학대학 응용생물화학부, ¹농촌진흥청 농업과학기술연구소 생화학과

Identification and Characterization of Tobamoviruses Isolated from Commercial Pepper Seeds

Jung-Heon Han*, Seong-Han Shon¹ and Yong-Joon LaDivision of Applied Biology and Chemistry, College of Agriculture and Life Sciences,
Seoul National University, Suwon 441-744, Korea¹Biochemistry Division, National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon 441-707, Korea
(Received on October 10, 2001)

Two Tobamoviruses showing different local lesion types on *Nicotiana glutinosa* was isolated from commercial pepper seeds. These viruses were designated Tobamovirus-6 (T-6) and Tobamovirus-19 (T-19). The biological and serological assays revealed that T-6 and T-19 were closely related to *Pepper mild mottle virus* (PMMoV) and *Tomato mosaic virus* (ToMV), respectively. The isolates also had low similarity in the array of viral coat protein gene sequences, of which T-19 was most identical to known strains of ToMV, while T-6 was closely related to PMMoV.

Keywords : pepper, *Pepper mild mottle virus* (PMMoV), *Tomato mosaic virus* (ToMV)

고추에서 보고된 Tobamovirus는 *Bell pepper mottle virus*, *Mild dark-green tobacco mosaic virus*, *Para-tobacco mosaic virus*, *Pepper mild mosaic virus*(PMMoV 혹은 PMMoV), *Solanum dulcamara yellow fleck-ob virus* (ToMV-ob), *Tobacco mild green mosaic virus*, *Tobacco mosaic virus*(TMV), *Tomato mosaic virus*(ToMV) 등이 있다(Gebre-Selassie와 Marchoux, 1991; Rast, 1982; Sanfacon, 1993; Wetter, 1984; Wetter, 1986; Wetter 등, 1987).

이들 바이러스는 고추의 생육기 전반에 걸쳐 많은 피해를 주며, 관수, 일비액(guttation fluid), 토양, 종자 등을 통하여 쉽게 전염되는 TMV, ToMV, PMMoV는 노지와 하우스에서 재배되는 고추에 가장 빈번하게 발생하는 것으로 알려져 있다(Lanter 등, 1982; Pares와 Gunn, 1989).

우리나라에서는 TMV 및 ToMV와는 기주범위 및 혈청학적 특성이 다른 TMV 고추계통이 보고된 바 있다(최 등, 1989). 그러나 고추종자를 통해 바이러스 병의 1차 전염원으로 작용하는 Tobamovirus에 대한 연구는 아직까지

수행된 예가 없다.

이 연구는 국내시판고추종자에서 분리한 두 종류의 Tobamovirus를 동정하고 이들의 특성을 조사하기 위해 수행되었다.

재료 및 방법

바이러스 계통. 이 실험에 사용한 Tobamovirus는 *Nicotiana glutinosa*를 이용한 단병반 분리를 통해 국내에서 시판되는 고추종자로부터 분리하였으며, 괴사병반의 지름이 1-2 mm인 것과 3-5 mm인 것을 각각 Tobamovirus-6(T-6)과 Tobamovirus-19(T-19)로 명명하였다. 특성 비교에 사용한 ToMV-K는 광명 토마토 종자에서 분리하였고 ToMV-ob와 TMV-P8은 헝가리채소연구소(Vegetable Research Institute)와 화란의 Rijk Zwaan Seed Company로부터 각각 분양 받았으며, 담배모자이크바이러스 보통계(TMV common strain, TMV-U1)은 American Type Culture Collection으로부터 구입하였다.

생물검정. 공시한 Tobamovirus의 기주범위를 조사하기 위하여 T-6과 TMV-P8은 *Nicotiana occidentalis*에 나머지

*Corresponding author

Phone) +82-31-290-2767, Fax) +82-31-296-2768

E-mail) jhlhan@lycos.co.kr

바이러스 계통은 *Nicotiana tabacum* cv. Samsun 'nm'에 증식시켰다. 각각의 바이러스가 감염된 잎 1g에 5 ml의 Tris-HCl 완충용액(pH 8.0)을 첨가하고 유발로 곱게 마쇄하여 8,000 rpm에서 5분간 원심분리한 후 회수한 상층액을 접종원으로 사용하였다. 이들 접종액을 검정기주 별로 3개 체씩 접종하였으며 접종된 식물은 20°C~30°C의 유리온실에서 재배하면서 병징발현을 관찰하였다.

바이러스 정제. T-19와 TMV-U1은 *Nicotiana tabacum* cv. Samsun 'nm'에, T-6, ToMV-ob, TMV-P8은 *N. occidentalis*에 각각 증식한 다음 Gooding과 Herbert(1967)의 방법에 따라 부분순화하였다. 부분순화된 바이러스를 30% 설탕 용액에 치상하고 35,000 rpm에서 1시간 30분 동안 초원심분리하여 얻은 침전물을 소정의 0.01 M 인산완충액(pH 7.4)으로 용출하였다. 용출된 바이러스액을 10-40% 설탕 밀도구배(sucrose density gradient) 위에 치상하고 25,000 rpm에서 2시간동안 원심분리한 다음 주사기로 유백색의 바이러스층을 수거하였다. 그리고 35,000 rpm에서 1시간 30분간 원심분리하여 바이러스를 농축시키고 0.85% NaCl을 함유한 0.01 M 인산완충액(pH 7.4)으로 용출하여 이후의 실험재료로 사용하였다.

항혈청. 생후 약 120일 정도 되는 암토끼(NewZealand White)를 사용하여 T-6, T-19, TMV-U1에 대한 항혈청을 생산하였다. 1회 면역시 사용한 항원의 양은 1 mg/ml이었고 2주 간격으로 총 4회 토끼의 뒷다리 근육에 주사하였다. 첫 번째 주에는 Freund's complete adjuvant를 항원액과 동량 섞어 사용하였고 나머지 주사에는 Freund's incomplete adjuvant를 사용하였다. 마지막 주사 2주 후에 심장에서 전채혈하여 항혈청을 분리하였다. PMMoV의 한계종인 TMV-P와 토마토 모자이크 바이러스(TMV-L)에 대한 항혈청은 일본식물방역협회에서 구입하였다.

한천겔내이중확산법. 한천겔내이중확산법은 Wetter(1984)의 방법을 다소 改變하여 실시하였으며 그 절차는 다음과 같다. 먼저 0.1 M Tris-HCl 완충액(pH 8.0) 100 ml에 Noble agar 0.8 g, NaCl 1 g, SDS 0.5 g과 NaN₃ 0.2 g을 넣고 가열하여 용해한 후 지름이 12 cm인 플라스틱 페트리접시에 6 ml씩 분주하여 gel을 제조하였다. 反應井(well)의 지름과 반응정간의 거리가 5 mm인 gel puncher로 만든 반응정에 항원과 항혈청을 각각 12 µl씩 넣고 24°C에서 48시간동안 반응시킨 후 결과를 판독하였다. ToMV-ob를 제외한 항원의 농도는 5 mg/ml과 1 mg/ml이었고 ToMV-ob는 감염된 고추잎 즙액을 사용하였다.

효소면역항체법. 효소면역항체법은 Lommel 등(1982)의 방법을 다소 변형하여 다음과 같이 수행하였다. 항원액을 150 µl씩 반응판(Nunclon 96-well plate, Nunc., Ltd.)

의 반응정에 첨가하고 4°C에서 12시간 동안 보관한 다음 1% bovine serum albumin과 0.85% NaCl이 함유된 0.1 M 인산완충액(pH 7.4)으로 40분간 blocking하였다. 각 항원에 대한 항체(2 µg/ml)를 150 µl씩 반응정에 첨가하고 2시간 동안 보존한 다음 2차항체(1 µg/ml)에 1시간 30분 동안 반응시킨 다음 기질용액(pNPP)을 첨가하고 30분간 반응시켰다. 그리고 반응결과는 ELISA용 판독기(EL×800, Bio-Tek instruments, Inc.)를 사용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

외피단백질 유전자의 염기서열분석. SDS-phenol 추출법을 이용하여 100 µg의 정제된 바이러스액에서 RNA를 분리하고 이를 외피단백질 유전자 합성의 주형으로 사용하였다. RNA 주형으로부터 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)으로 외피단백질 유전자를 증폭하기 위하여 N-말단 primer(5'-CGGTCGCGGAATCGGATTCGGTATTAAATATGT-3')와 C-말단 primer(5'-ACCCTTCGATTAAAGTGGAGGGAAAAACACT-3')를 DNA합성기(391 DNA synthesizer, Applied Biosystems)로 합성하였다. PCR은 reverse transcriptase RNA PCR kit(Perkin Elmer Cetus, N808-0069)를 사용하여 다음과 같이 실시하였다. 먼저 C-말단 primer(100 ng)를 첨가하여 역전사반응으로 cDNA 합성을 유도하고 N-말단 primer(100 ng)를 첨가한 후 denaturation(95°C, 1분), annealing(60°C, 2분), extension(72°C, 2분)의 온도 순환과정을 53회 반복하였다. PCR로 증폭된 외피단백질(CP) 유전자를 TA cloning kit(Invitrogen, K2000-01, USA)의 pCRII 운반체에 삽입한 후 T7과 M13 reverse primer로 염기서열을 결정하였다. CP 유전자의 염기서열은 MacAlign(DNAstar 3.30C)를 사용하여 NCBI(GenBank)에 등록된 다른 TMV 계통의 유전자와 비교 분석하였다. 분석한 염기서열을 아미노산으로 번역한 후 Phylip 3.5c(Felsenstein, 1993)를 사용하여 바이러스간의 유연관계를 검색하였다.

결과 및 고찰

검정기주. T-19는 *Chenopodium amaranticolor*에서 괴사국부병반을 형성한 후 가끔 전신감염하여 接種상엽에 엽맥황화와 잎이 말리는 증상을 일으켰으나 나머지 바이러스는 접종 7일 이내에 접종엽에 괴사국부병반을 일으키고 전신감염하지 않았다. *N. tabacum* Xanthi-nc에서 T-19와 ToMV-ob는 접종엽에 괴사국부병반을 형성한 후 接種상엽에 모자이크 증상을 일으켰고 나머지 바이러스는 접종엽에 괴사국부병반을 유발하고 전신감염하지 않았다. 공시한 바이러스 모두는 접종 3-10일 이후에 *N. glutinosa*,

독말풀, *N. rustica*의 접종엽에 국부병반을 일으켰으며 전신성으로 감염하지는 않았고 *N. sylvestris*의 경우, TMV-U1은 무병징으로 전신감염하였고 T-6과 TMV-P8은 감염

하지 않았으며 나머지 바이러스는 접종엽에 국부병반을 유발하였다. 공시한 모든 바이러스는 *N. clevelandii*에 심한 모자이크 병징을 유발하며 전신성으로 감염하였다.

Table 1. Symptomatic reactions induced by pepper Tobamovirus isolates T-6, T-19 and three known Tobamovirus strains on assay hosts

Assay host	Isolate and strain ^a				
	T-6	T-19	TMV-U1	ToMV-ob	TMV-P8
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	L ^b	L(cur) ^c	L	CS	L
<i>C. quinoa</i>	CS	CS(cur)	CS	CS	CS
<i>Nicotiana clevelandii</i>	M	SM	SM	SM	M
<i>N. glutinosa</i>	sL	L	L	L	sL
<i>N. tabacum Samsun 'nn'</i>	SL	SM	SM	M	SL
<i>N. tabacum Xanthi-nc</i>	sL	L(M)	L	sL(mM)	sL
<i>N. sylvestris</i>	-	L	SL	L	-
<i>N. rustica</i>	L	L	L	L	L
<i>Datura stramonium</i>	L	L	L	L	L
<i>Lycopersicon esculantum</i> Bonnie best	-	mM	-	M	-

^aTMV-U1: TMV common strain from American Type Culture Collection, USA. ToMV-ob: *Tomato mosaic virus* strain from Vegetable Research Institute. TMV-P8: TMV pepper strain from Rijk Zwaan Seed Co., the Netherlands.

^bCS: chlorotic spot, cur: curling, M: mosaic, mM: mild mosaic, SM: severe mosaic, L: local lesions, sL: small local lesions, SL: symptomless local infection, -: no infection.

^cCharacters in parentheses indicate occasional occurrence.

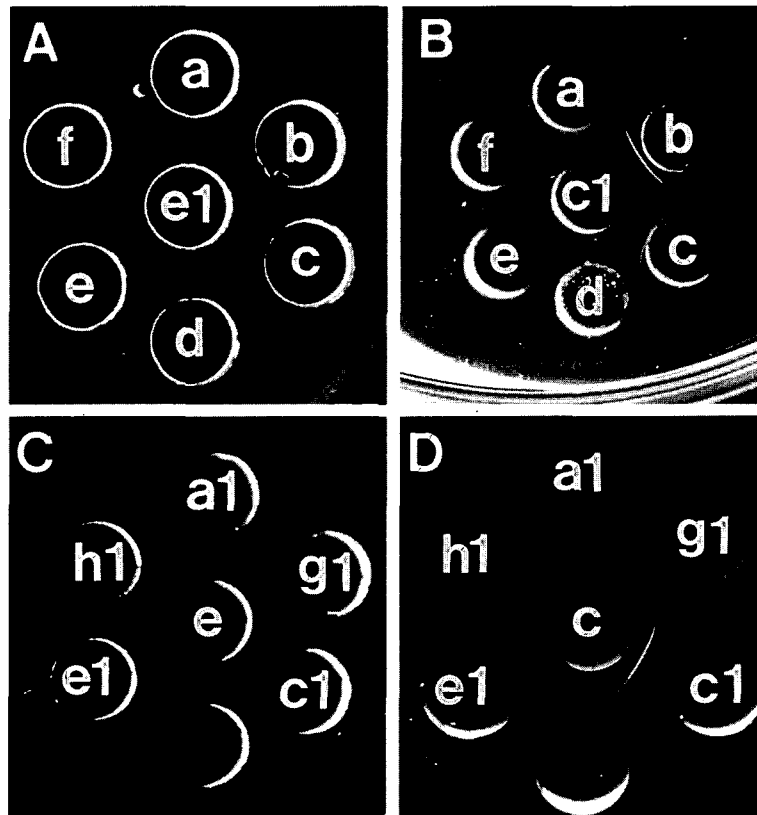


Fig. 1. Agar-gel immunodiffusion test showing serological relationships between T-6 and T-19 isolates, and three known Tobamovirus strains. **A and B:** Center wells were filled with antisera of T-6 (e1) and T-19 (c1), and peripheral wells were filled with 1 µg/ml of purified viruses of TMV-U1 (a), TMV-K (b), T-19 (c), ToMV-ob (d), T-6 (e), and TMV-P8 (f). **C & D:** Center wells were filled with purified viruses of T-6 (e) and T-19 (c), and peripheral wells filled with antisera of above mentioned viruses and TMV-L (g1) and TMV-P (h1).

Bonnie best 토마토에서 T-19는 약한 모자이크증상을 일으키는데 반하여 ToMV-ob는 심한 모자이크 증상을 유발하였고 나머지 바이러스는 감염하지 않았다(Table 1).

이상과 같이 T-6은 *N. sylvestris*, Bonnie best 토마토를 이용하여 T-19, TMV-U1, ToMV-ob와 쉽게 구별할 수 있었으며, 화란의 TMV-P8과 유사한 반응을 보였다. T-19는 *Chenopodium amaranticolor*와 *Chenopodium quinoa*에서 나타난 병징으로 다른 Tobamovirus 계통들과 구별할 수 있었고 Melchers(1966)의 dahlemense 계통과 유사한 특성을 보였다. 또한 *N. glutinosa*와 Xnathi-nc 담배에서도 국부병반 형성 후 심한괴사 병징과 함께 전신감염하였으며 이러한 현상은 초기 접종원의 농도가 높거나 온도가 30°C 이상 올라가는 여름철에 주로 관찰되었다.

혈청학적 연관성. 공시바이러스의 혈청학적 특성을 조사하기 위하여 한천내 이중확산법과 효소면역항체법을 수행하였다. 한천내 이중확산법의 경우 공시한 5가지 항혈청의 역가를 1/8로 동일하게 조정된 다음 1 mg/ml 농도의 바이러스 용액과 반응시켰을 때, T-6 항혈청은 TMV-P8과는 강하게 반응하였으나 나머지 바이러스와는 약하게 반응하였다(Fig. 1-A). T-19 항혈청은 TMV-U1, ToMV-K, T-6과는 강하게 반응하였으나 나머지 바이러스와는 약한 침강대를 형성하였다(Fig. 1-B). T-6과 T-19에 대한 공시항혈청의 반응 유형을 보면 T-6은 T-6 항혈청 및 TMV-P 항혈청과는 선명한 침강대를 형성하였으나 나머지 항혈청과는 아주 약하게 반응하였다(Fig. 1-C). 반면에 T-19는 공시한 모든 항혈청과 강하게 반응하였다(Fig. 1-D).

이처럼 T-6과 T-19 항혈청은 고농도의 이형 Tobamovirus에 대하여 서로 반응하였고 바이러스의 농도가 저농도일 때 쉽게 구별이 가능하였는데, 이것은 Alonso 등(1989), Nagai 등(1981), Wetter 등(1987)이 보고한 바와 일치하는 결과로 Tobamovirus 계통간에 존재하는 공통항원기(common epitope)의 수에 따른 차이로 보인다.

그리고 효소면역항체법의 경우, T-6 항체와 TMV-P 항체는 T-6과 TMV-P8을 제외한 나머지 바이러스와는 약하게 반응하였고, T-19와 ToMV-L 항혈청은 T-19와 TMV-U1과는 강하게 반응하였으나 나머지 바이러스와는 아주 약하게 반응하였다. 그리고 TMV-U1 항혈청은 T-19 보다 TMV-U1과 강하게 반응하였다(Table 2).

이상의 결과를 볼 때 T-6과 TMV-P8은 긴밀한 혈청학적 유연관계가 있으나 T-6과 T-19는 유연관계가 낮은 것으로 판단되었다. 또한 T-19는 혈청학적으로 TMV-U1 보다 ToMV에 근접하는 것으로 나타났다.

외피단백질 cDNA의 염기서열분석. 공시한 두 분리주에 대한 외피단백질 cDNA 유전자의 특성을 조사한 결과

cloning된 T-6과 T-19의 3'non-coding region을 포함한 염기서열의 크기는 각각 593 bp(등록 No. AF103778)와 584 bp(등록 No. AF103776)였다. 두 분리주의 외피단백질 부위에 해당하는 유전자의 길이는 480 bp로 동일하였다. 이들간의 염기서열 최대 유사도는 60%로 나타났으며(Fig.

Table 2. Extinction values in ELISA obtained by cross reaction between Tobamovirus isolates or strains and their respective antisera

Antiserum ^a	Isolate and strain ^b				
	T-6	T-19	TMV-U1	TMV-K	TMV-P8
Anti-T-6	1.466	0.308	0.241	0.280	1.226
Anti-T-19	0.314	1.329	1.172	1.318	0.322
Anti-TMV-U1	0.191	0.832	1.159	0.793	0.231
Anti-TMV-L	0.202	0.783	0.465	0.826	0.256
Anti-TMV-P	1.67	0.515	0.227	0.686	1.236

^aAnti-T-6, anti-T-19, and anti-TMV-U1 were prepared from the blood of immunized rabbits; and anti-TMV-L (*tomato mosaic virus*) and anti-TMV-P (*pepper mild mottle virus*) were purchased commercially from Research Institute of Japan Plant Protection Association, Japan.

^bTMV-U1: TMV common strain from American Type Culture Collection, USA. TMV-K: a strain of *tomato mosaic virus* isolated from 'Kwangmyeong' tomato. For each viral antigen, 10 µg/ml of purified virus was used for precoating the ELISA plate.

T-6	1	GGTCGCGGAT	TCGGATTTCGT	TT-AAATATG	GCTTACACAG	40
T-19	1	-T-----AAT	TCTGATTTCGT	ATTAATATG	TCTTACTCAA	40
	41	TTTCCAGTGC	CAATCAATTA	GTGTATTTAG	GTTCGTGATG	80
	41	TCACTTCTCC	ATCGCAATTT	GTGTTTTTGT	CATCTGTATG	80
	91	GGCCGATCCA	TTAGAGTTAC	AAAATCTATG	TACTTCGGCG	120
	91	GGCTGACCCT	ATAGAATTGT	AAAACTTTGG	TACAAATTCG	120
	121	TTAGGTAATC	AGTTTCAAAC	ACAGCAGGCT	AGAACTACGG	140
	121	TTAGGTAACC	AGTTTCAAAC	ACAGCAAGCA	AGAACTACTG	140
	141	TTCAACAGCA	GTTCTCTGAT	GTTGGAAGA	CCATACCGAC	180
	141	TTCAACAGCA	GTTCAAGCAG	GTGTGGAAGC	CTTTCCTCA	180
	181	CGTACAGT	AGATTTCTGT	CTACTGGTTT	CAAACTGTTT	240
	181	GAGCACCGTC	AGATTTCTGT	GCGATGTTTA	TAAGGTGTAC	240
	241	CGATATAATG	CCGTGCTAGA	TTCTCTAGTG	TCGGCACTTC	280
	241	AGGTACAATG	CAGTTTTTGA	TCCTCTAATT	ACTGCGTTGC	280
	281	TCGGAGCTTT	TGATACTAGG	AATAGGATAA	TAGAAGTAGA	320
	281	TGGGGTCTTT	CGATACTAGG	AATAGGATAA	TCGAAGTAGA	320
	321	AATCCTACAA	CTGCCGAGAC	GCTTGTATCG	ACGATGCGGG	360
	321	AAACCAGCAG	AATCCGACAA	CAGCTGAAAC	GTTAGATGCT	360
	361	AAATCCGCAA	TAGATGATGC	GACGGTGGCC	ATTAGGGCCA	400
	361	ACCCGACGGG	TAGACGACGC	TACGGTTGCA	ATTCCGGTCTG	400
	401	GTATAAGTCC	CATCATGAAT	GAGTTAGTTC	GTGGCACGGG	440
	401	CTATAAATAA	TTTAGTTAAT	GAAGTAGTAA	GAGGTACGGG	440
	441	AATGTACAAT	CAAGCTCTGT	TCGAGAGCGC	GAGTGGACTC	480
	441	ACTGTACAAT	CAGAATACTT	TTGAAAGTAT	GTCTGGGTTG	480
	481	ACCTGGGCTA	CAACTCCTTA	GACATGATGG	TGTAAATAAG	520
	481	GTCTGGACCT	CTGCACCTGC	ATCTTAAATG	AATAGGTGA-	520
	521	TTGGACGAAC	GTTAAACGTC	CGTGGCGAGT	ACGATAACTC	560
	521	TGAAATATAA	ACTTTGTGTT	TCTAAACAAA	ACG-TGGTAC	560
	561	GTAGTGTGTTT	TCCCTCCACT	TAAATCGAAG	GGT	600
	561	GTACGATAAC	GTACAGTGT	TTTCCT---	--CGT	600

Fig. 2. Nucleotide sequences of coat protein genes of T-6 and T-19 isolated from pepper seeds. Arrows and asterisks indicate initiation codons and termination codons, respectively.

```

T-6  M A Y T V S S A N Q L V Y L G S V W A D
T-19 M S Y S I T S P S Q F V F L S S V W A D

P L E L Q N L C T S A L G N Q F Q T Q Q
P I E L L N F G T N S L G N Q F Q T Q Q

A R T T V Q Q Q F S D V W K T I P T A T
A R T T V Q Q Q F S E V W K P F P Q S T

V R F P A T G F K R F R Y N A V L D S L
V R F P G D V Y K V Y R Y N A V L D P L

V S A L L G A F D T R N R I I E V E N P
I T A L L G S F D T R N R I I E V E N Q

Q N P T T A E T L D A T M R V D D A T V
Q N P T T A E T L D A T R R V D D A T V

A I R A S I S P I M N E L V R G T G M Y
A I R S A I N N L V N E L V R G T G L Y

N Q A L F E S A S G L T W A T T P A T *
N Q N T F E S M S G L V W T S A P A S *
    
```

Fig. 3. Amino acid sequences as determined by coat protein gene sequences of T-6 and T-19 isolated from pepper seeds. Amino acid residues are symbolized as follows. A: Ala, C: Cys, D: Asp, E: Glu, F: Phe, G: Gly, H: His, I: Ile, K: Lys, L: Leu, M: Met, N: Asn, P: Pro, Q: Gln, R: Arg, S: Ser, T: Thr, V: V, W: Trp, Y: Tyr.

2), McAlign을 이용하여 아미노산 분석을 조사한 결과 T-6과 T-19의 외피단백질은 모두 158개의 아미노산으로 구성되어 있었고 이들의 최대 유사도는 66.2%였다(Fig. 3). 외피단백질 염기서열과 아미노산 분석 및 구성을 조사에서 T-6은 우리나라에서 보고된 TMV 고추계통(이 등, 1996; 최 등, 1989), 스페인의 PMMV-S(Garcia 등, 1990), 일본의 TMV-P(Nagai 등, 1981), 이탈리아의 PMMV-W(Wetter 등, 1987)와 유사하였고, T-19는 일본의 ToMV 계통(Ohno 등, 1984)과 유사하였다(Fig. 4).

이상의 결과를 종합해 볼 때 시판고추종자에서 분리한 T-6과 T-19는 각각 *pepper mild mottle virus*와 ToMV의 한 계통인 것으로 동정되었다.

요 약

*Nicotiana glutinosa*를 이용한 단병반분리를 통해 국내에 시판되고 있는 상용고추종자로부터 괴사국부병반의 크기가 다른 두 종류의 Tobamovirus를 분리하고 이들을 각각 Tobamovirus-6(T-6)과 Tobamovirus-19(T-19)로 명명하였다. 기주범위와 혈청학적 연관성 조사에서 T-6은 *pepper mild mottle virus*(PMMoV)와, T-19는 *tomato mosaic virus*(ToMV)와 유사한 특성을 보였다. 또한 외피단백질 염기서열 분석에서 T-6은 PMMoV와 T-19는 ToMV와 매우 유사하였다.

참고문헌

Alonso, E., Garcia, L. I., Avila, R. M. J., Wicke, B., Serra, M. T. and Diaz, R. J. R. 1989. A tobamovirus causing heavy losses in protected pepper crops in Spain. *J. Phytopathol.* 125: 67-76.
 최장경, 박영섭, 김정옥, 박은경. 1989. 고추에서 분리한 담배 모자이크 바이러스의 生物의특성. *한식병지.* 5: 331-336.
 Garcia, L. I., Serra, M. T., Alonso, E., Wicke, M. L. and Diaz, R. J. R. 1990. Characterization of a Spanish strain of *pepper mild mottle virus*(PMMV-S) and its relationship to other tobamoviruses. *J. Phytopathol.* 129: 1-8.
 Gebre-Selassie, K. and Marchoux, G. 1991. Identification and characterization of tobamoviruses strains infecting L-resistant genotypes of peppers in France. *J. Phytopathol.* 131: 275-289.
 Gooding, Jr., G. V. and Hebert. T. T. 1967. A simple technique for purification of tobacco mosaic virus in large quantities.

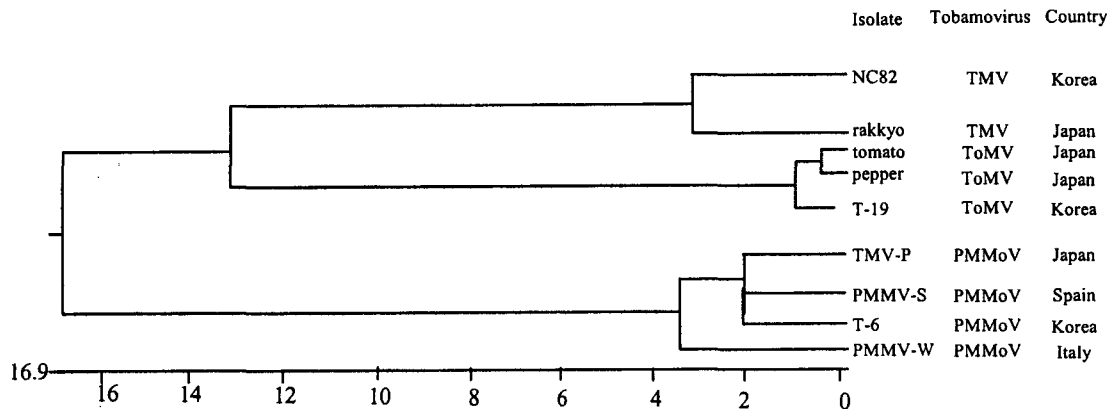


Fig. 4. Dendrogram of selected Tobamovirus isolates and strains based on coat protein gene sequences. Numbers at the bottom line designate % of dissimilarity.

- Phytopathological notes 1285.
- Lanter, J. M., MCGuire, J. M. and Goode, M. J. 1982. Persistence of *tomato mosaic virus* in tomato debris and soil under field conditions. *Plant Dis.* 66: 552-555.
- 이영기, 이청호, 강신웅, 박은경. 1996. 고추에서 분리된 담배 모자이크 바이러스 외 피단백질 유전자의 cDNA 클로닝 및 염기서열 분석. *한식병지.* 12: 182-186.
- Lommel, S. A., McCain, A. H. and Morris, T. J. 1982. Evaluation of indirect enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Phytopathology* 72: 1018-1022.
- Melchers, G., Jockusch, H. and Sengbusch, P. V. 1966. A tobacco mutant with a dominant allele for hypersensitivity against some TMV-strains. *Phytopathol. Z.* 55: 86-88.
- Nagai, Y., Takeuchi, T. and Tochiara, H. 1981. A new mosaic disease of sweet pepper caused by pepper strain of tobacco mosaic virus. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 47: 541-546.
- Ohno, T., Aoyagi, M., Yamanashi, Y., Saito, H., Ikawa, S. and Meshi, T. 1984. Nucleotide sequence of the tobacco mosaic virus(tomato strain) genome and comparison with the common strain genome. *J. Biochem.* 96: 1915-1923.
- Pares, R. D. and Gunn, L. V. 1989. The role of non-vectored soil transmission as a primary source of infection by pepper mild mottle and cucumber mosaic viruses in glasshouse-grown capsicum in Australia. *J. Phytopathol.* 126: 353-360.
- Rast, A. T. B. 1982. Resistance of capsicum species to tobacco, tomato and pepper strains of tobacco mosaic virus. *Neth. J. Pl. Path.* 88: 163-169.
- Sanfacon, H., Cohen, J. V., Elder, M., Rochon, D, A, M. and French, C. J. 1993. Characterization of *Solanum dulcamara* yellow fleck-Ob: A tobamovirus that overcomes the N resistance gene. *Phytopathology* 83: 400-404.
- Wetter, C. 1984. Serological identification of four tobamoviruses infecting pepper. *Plant Dis.* 68: 597-599.
- Wetter, C. 1986. Tobacco mild green mosaic virus, In: *The Plant viruses.* ed. by M. H. V. Van Regemortel and Heinz Fraenkel-Conrat. pp. 205-219, Plenum Press, New York, USA.
- Wetter, C., Dore, I. and Bernard, M. 1987. *Bell pepper mottle virus*, a distinct tobamovirus infecting pepper. *J. Phytopathol.* 119: 333-344.