산마늘 (*Allium victorialis* var. *platyphyllum*)에서 바이러스병의 최초보고박석진 · 남문 · 김정선 · 이영훈¹ · 이재봉² · 김민경² · 이준성 · 최홍수 · 김정수 ·
문제선³ · 김홍기⁴ · 이수현*국립농업과학원 작물보호과, ¹국립식량과학원 두류유지작물과, ²국립식물검역원 중부지원,³한국생명공학연구원 식물시스템공학연구센터, ⁴충남대학교 농생물학과First Report of the Virus Diseases in Victory Onion
(*Allium victorialis* var. *platyphyllum*)Seok-Jin Park, Moon Nam, Jeong-Seon Kim, Yeong-Hoon Lee¹, Jae-Bong Lee², Min-Kyeong Kim²,
Jun-Seong Lee, Hong-Soo Choi, Jeong-Soo Kim, Jae-Sun Moon³, Hong Gi Kim⁴ and Su-Heon Lee*

Crop Protection Division, National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon 441-707, Korea

¹Legume and Oil Crop Research Division, National Institute of Crop Science, RDA, Milyang 627-803, Korea²Jungbu Regional Office, National Plant Quarantine Service, Incheon 402-835, Korea³Plant Systems Engineering Research Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology,
Daejeon 305-333, Korea⁴Department of Agricultural Biology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

(Received on November 12, 2010; Accepted on March 29, 2011)

In 2005, a survey was conducted to identify virus diseases on victory onion, *Allium victorialis* var. *platyphyllum* grown in Ulleung island located in the East Sea. A total of 61 samples were collected from victory onion in the neighborhood of Seonginbong. The identification of viruses from the samples were carried out by electron microscopy and RT-PCR using primers species specific to GCLV, LYSV, SLV, OYDV and genus specific to *Allexivirus*, respectively. From sixty-one samples, filamentous rod particles (600-900 nm) were detected from four victory onion samples in EM, three samples containing SLV and one sample containing both SLV and *Allexivirus* in RT-PCR analysis, respectively. Victory onions naturally infected by the viruses were asymptomatic apparently. The viruses detected by RT-PCR were further characterized by the nucleotide sequence analysis of the coat protein region. Three isolates of SLV showed approximately 99% identities in the nucleotide and amino acid sequences, suggesting that they were likely to be the same strain. On the other hand, they showed approximately 75.7~83.7% identities in the nucleotide and 89.2~97.0% in amino acid sequences compared with the previously reported SLV isolates in *Allium*. The CP gene of the *Allexivirus* showed approximately 99.2% nucleotide identities and 98.8% amino acid identities with *Garlic virus A*. However, there was relatively low homology ranging from 60.6% to 81.5% compared with other *Allexiviruses* (GarV-C, GarV-E, GarV-X, GMbMV, and Shal-X). These data suggested that two viruses, SLV and GarV-A identified from victory onion, are named SLV-Ulleungdo and GarV-A-Ulleungdo, respectively. This is the first report of viruses infecting victory onion.

Keywords : GarV-A, SLV, Ulleungdo, Victory onion (*Allium victorialis* var. *platyphyllum*), Virus

산마늘(*Allium victorialis* var. *platyphyllum*, Fig. 1)은 백
합과의 *Allium* 속 식물로서 아시아의 중북부, 아메리카, 히

말라야 등지의 산지에 자생하는 다년초 식물이다(최 등,
1993). 우리나라에서는 울릉도, 지리산, 설악산 등에 자생
하고 있는데 특히 울릉도에서는 산지 전역에 많이 자생
하고 있다. 산마늘은 연한 잎은 물론 인경, 꽃 등 식물체
전체를 식용으로 이용하며, 독특한 맛과 향기 그리고 각

*Corresponding author

Phone) +82-31-290-0432, Fax) +82-31-290-0406

Email) suheon@korea.kr

중 무기성분, 비타민 등을 풍부하게 지니고 있어 고급산 채로서 그 수요가 점차 늘고 있다. 최근 연구결과를 보면 식중독균에 대한 항균효과와 항산화 효과가 탁월한 것으로 밝혀졌고(Shirataki 등, 2001), 또한 인체 내의 비타민 B 흡수를 촉진하는 메카니즘과 항혈전 작용물질의 존재가 밝혀짐에 따라 기능성 식품과 의약품료로서 주목받고 있다(Yoo 등, 1998). 현재 국내 산마늘에서는 *Cladosporium alliiicola*에 의한 잎마름병(Sin과 Broun, 1995)과 *Stemphylium vesicarium*에 의한 잎마름병(유, 2001) 및 *Fusarium proliferatum*에 의한 꽃썩음병(Kim과 Shin, 2001)이 보고되어 있으며, 최근 산마늘의 근권(rhizosphere)으로부터 분리한 *Agromyces alli*에 대한 연구가 이루어졌다(Jung 등, 2007). 일반적으로 *Allium* 속 작물에서는 바이러스병이 큰 문제가 되고 있어 많은 연구가 이루어지고 있으나, 산마늘에서 바이러스병에 대해서는 세계적으로 보고된 바 없다. 본 논문에서는 *Allium* 속 식물에 발생하는 바이러스병에 대한 기초 자료를 얻기 위하여 울릉도 산마늘에 발생하는 바이러스를 탐색하고 그 동정 결과를 기술하였다.

재료 및 방법

산마늘 시료 채집. 울릉도 산마늘에서 바이러스병을

조사하기 위하여, 2005년 5월과 10월에 성인봉, 나리분지, 울릉군농업기술센터에서 총 61점의 산마늘의 잎 또는 구근을 채집하였다(Table 1). 산마늘은 해발 약 300 m 이상에서 성인봉(해발 984 m)에 이르는 산간지역 전역에 자생하고 있었으며(Fig. 1), 대체적으로 고도가 높을수록 그리고 등산로에서 멀리 떨어진 곳일수록 많은 개체군이 존재하였다. 자생 산마늘 군락지에서는 1~2점의 시료를 채집하여 많은 군락지가 시료에 포함되도록 하였다. 한편 고도 400~450 m 지역의 두 농가에서는 성인봉과 나리분지 등에서 채집한 산마늘을 농가포장에 이식하여 재배하고 있었다. 수집된 시료는 전자현미경 검정용과 RT-PCR 검정용으로 구분하여 소포장한 다음 초저온냉동고에 보관하였다.

전자현미경 검정. 채집한 산마늘의 잎과 구근 조직을 direct negative staining 방법을 이용하여 바이러스 입자를 관찰하였다(Horne와 Wildy, 1963). Formvar film으로 막을 씌운 grid(200 mesh)에 2% phosphotungstic acid(PTA, pH 7.2)를 한 방울 떨어뜨리고, 식물조직의 절단면을 침지해 1분간 놓아둔 후 여과지로 여액을 제거한 다음 투과전자현미경(Carl Zeiss LEO912AB)으로 관찰하였다.

전체 RNA 분리 및 RT-PCR 조건. 식물체 100 mg으로부터 Total RNA extraction kit(INTRON Biotechnology

Fig. 1. A community of *Allium victorialis* var. *platyphyllum* (2005. 5) (A), Flower of *Allium victorialis* var. *platyphyllum* (2005. 5) (B), Shoot of *Allium victorialis* var. *platyphyllum* (2005. 10) (C).

Table 1. Sixty-one samples of victory onions (*Allium victorialis* var. *platyphyllum*) collected in Ulleung island during 2005

Collection time	Location	No. of samples	Collected plants	Altitude (m)
May	Seonginbong ^a	33	Leaf	300~984
	Nari basin ^a	11	Leaf	400
	UATC ^b	2	Leaf	300
October	A farm at Seonginbong ^b	11	Bulb	450
	A farm at Nari basin ^b	4	Bulb	400

^a Wild plants.

^b The samples were transplanted from the surroundings of Seonginbong to the field of Ulleunggun Agriculture Technology Center (UATC) or farms.

Inc.)을 이용하여 제공자의 방법에 따라 분리하였다. 전체 RNA는 최종적으로 50 µl의 RNase-free 증류수에 녹여 RT-PCR에 사용하였다. 역전사반응은 전체 RNA 0.5 µl, 다운스트림(downstream) 프라이머 12.5 pmol, AMV 역전사효소(INTRON Biotechnology Inc.) 9U, 그리고 RNase inhibitor(Roche Co.) 20U를 첨가한 역전사완충액(50 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 10 mM MgCl₂, 10 mM DTT, 0.5 mM Spermidine, 2 mM dNTP) 5 µl를 37°C에서 1시간 처리하였다. 중합효소연쇄반응(PCR)은 역전사반응액 5 µl에 업스트림(upstream) 프라이머 12.5 pmol, 그리고 Taq DNA polymerase(Roche Co.) 2.5U를 첨가한 PCR 완충액(10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl) 25 µl를 95°C 45초, 50°C 60초, 72°C 60초로 40회 증폭시켰다. RT-PCR 산물은 0.5×TBE를 이용하여 1% 아가로스 겔에서 확인하였다.

RT-PCR 진단용 프라이머. 산마늘에 발생하는 바이러스를 RT-PCR로 진단하기 위하여 2008년 *Allium* 속 작물의 바이러스 진단을 위하여 특허출원된 진단용 프라이머를 사용하였다. *Carlavirus* 속의 *Shallot latent virus*(SLV)와 *Garlic common latent virus*(GCLV), *Potyvirus* 속의 *Leek yellow stripe virus*(LYSV), *Onion yellow dwarf virus*(OYDV) 그리고 *Shallot yellow stripe virus*(SYSV)를 종 특이적으로 진단할 수 있는 프라이머를 사용하였으며, *Allexivirus* 속은 9종(*Garlic virus A*, *Garlic virus B*, *Garlic virus C*, *Garlic virus D*, *Garlic virus E*, *Garlic virus X*, *Shallot virus X*, *Garlic mite-born mosaic virus*, *Garlic mite-born filamentous virus*)의 바이러스의 공통 염기서열에서 유래한 이질성 프라이머(degenerate primer)를 사용하여 진단

하였다(Table 2).

cDNA 합성 및 염기서열 분석. RT-PCR과 부분염기서열 분석으로 확인된 SLV와 *Garlic virus A*(GarV-A)의 유전적 변이를 알아보기 위하여 두 바이러스의 외피단백질 염기서열 분석을 실시하였다(Fig. 3). SLV는 GLV-wonju 염기서열(GenBank accession No. Z68502)에 기초하여 외피단백질이 코드된 7,085-7,969nt 영역을 포함하도록 downstream과 upstream의 프라이머를 설계하였으며, 정방향(upstream) 프라이머로 SL-N25(-ccttttggttcacttaggtataca-), GLS-N10(-ctgaaagtaacaacatggccactgc-) 그리고 GLS-N20(-agaacactaaatatgctgctttcga-)와 역방향(downstream) 프라이머로 SL-C10(-cgttcacactggacaattcggacat-), GLS-C30(-gtggtgcaatacatgcatatcc-), GLS-C20(-ctcgagaggttgaattgcagctt-) 그리고 GLS-C10(-atgttcttagctctacgactcg-)을 사용하였다. GarV-A의 외피단백질 염기서열 분석을 위하여 GarV-A 염기서열(GenBank accession No. AB010300)에 기초하여 외피단백질이 코드된 7,406-8,161nt 영역을 포함하도록 downstream과 upstream 프라이머를 설계하였으며, 정방향 프라이머로 GVA-N10(-ctcgcgtcctacacagaag-), GVA-N20(-gccccgtgtgaccgactttgaga-) 그리고 GVA-N30(-tgccgcac-tcggaactcaagacat-)와 역방향 프라이머로 GVA-C30(-cctagggggcgggtctg-), GVA-C20(-aggcgcgtcagtggtcagggtaac-) 그리고 GVA-C10(-ggcaaagtgtaggcagaaaggata-)을 이용하여 RT-PCR로 외피단백질 유전자 영역의 cDNA를 합성하였다. 각각의 RT-PCR 산물은 Gel extraction kit(INTRON Biotechnology Inc.)를 이용하여 정제한 후 pGEM-T Easy vector system(Promega Co.)을 이용하여 클로닝하였다. 클

Table 2. Primer sequences and expected size of RT-PCR products for the detection of *Allium*-infecting viruses^a

Viruses	Primer pair ^b	Sequence ^c	Length	Products (bp)
SLV	SL-C10 ⁽⁻⁾	CGTTCACGCTAGACAATTCAGACAT	25	203
	SL-N30 ⁽⁺⁾	TATGGCTAACGAAGAAGAAGAACTC	25	
GCLV	GCL-C40 ⁽⁻⁾	AGCACTCCTAGAACAACCATTA	22	481
	GCL-N30 ⁽⁺⁾	GCACCACTGGTTTGAATGA	20	
LYSV	LYS-C15 ⁽⁻⁾	ATCAAAATTCAGGCTGCTTATACAC	25	316
	LYS-N10 ⁽⁺⁾	CGCATATGCAGTGATGTTTCGGTT	24	
OYDV	OYD-C06 ⁽⁻⁾	ACTGAAATGCGCCATTATYTGCTA	25	602
	OYD-N25 ⁽⁺⁾	CACNTAYATAGCRGARACAGCTCT	25	
SYSV	SYS-C20 ⁽⁻⁾	AGCAGCGTGTGATCCTTATTC	21	682
	SYS-N10 ⁽⁺⁾	ATGTTGGCACGTCAGGCGAGTTTT	24	
<i>Allexivirus</i>	AI-C20(1) ⁽⁻⁾	CARTCRAARCAAYCKRTYRTARCG	23	331 ^d
	AI-N30 ⁽⁺⁾	CAYTCHATGAAYGCBAAATATGTC	23	

^aApplied for patents : SLV (2008-0098922), GCLV (2008-0098924), LYSV (2008-0098923), OYDV (2008-0098925), *Allexivirus* (2008-0098926).

^b(-): Downstream primer, (+): Upstream primer.

^cMixed base code : R (A, G), Y (C, T), K (G, T), H (A, T, C), B (G, T, C), N (G, A, T, C).

^dThe size of RT-PCR product could be different according to virus species or isolates.

로닝 산물은 DTCS sequencing kit(BECKMAN COULTER Co.)를 이용하여 cycle sequencing하였으며, 제공사 방법에 따라 정제한 산물을 CEQ 8000(BECKMAN COULTER Co.)을 이용하여 염기서열을 결정하였다. 염기서열 분석에는 DNAMAN 5.0 프로그램(Lynnon Biosoft, Quebec, Canada)을 사용하였다.

결과 및 고찰

산마늘에서 바이러스의 진단과 동정. 수집한 산마늘 시료 61점을 전자현미경으로 관찰한 결과 성인봉 부근 자생군락지에서 채집한 4점의 시료에서 길이 약 600~900 nm 사상형 입자가 확인되었다(Fig. 2). *Allium* 속 식물에서 이러한 사상형 바이러스는 흔히 존재하는 바이러스들이며 (Song 등, 1997; Koo 등, 2002), 형태적으로는 바이러스의 종을 구분하기는 불가능하다. 산마늘에 발생하는 바이러스의 정확한 진단을 위하여 채집한 식물체 61점의 시료를 Table 2의 진단용 프라이머를 사용하여 5종(SLV, GCLV, LYSV, OYDV, SYSV) 및 1속(*Allexivirus*) 바이러스에 대하여 RT-PCR 방법으로 진단하였다. RT-PCR 결과 전체 61점의 시료 중 SLV가 3점, SLV와 *Allexivirus*의 복합감염된 시료가 1점 검출되었다(Table 3). 정확한 동정을 위하여 RT-PCR 산물을 정제하여 염기서열을 분석한 결과 SLV 203 bp와 *Allexivirus* 331 bp의 염기서열 확인하였으며, 각각을 Blast 분석한 결과 SLV와 GarV-A로 확인되었다(자료 미제시). 그러나 채집된 산마늘 시료에서

Fig. 2. Electron micrograph of filamentous rod particles from negatively stained leaf dip preparation of victory onion samples collected in Seonginbong.

LYSV, GCLV, OYDV 및 SYSV는 RT-PCR 진단에서 검출되지 않았다. 채집된 산마늘 시료는 약 6.6%의 바이러스 감염률을 나타내었으며, 전자현미경에서 사상형 입자가 관찰된 4점의 시료와 RT-PCR 결과 검출된 시료는 정확히 일치하였다. 한편 채집 과정에서 전형적인 바이러스 병징을 보이는 산마늘은 발견되지 않았다. SLV와 같은 *Carlavirus*의 경우 자연기주에서 대부분의 경우 병징을 나타내지 않거나 또는 일시적인 병징만을 나타낸다는 점으로 볼 때(Brunt 등, 1996) 산마늘에서도 SLV의 감염으로 인한 병징은 쉽게 관찰되지 않는 것으로 생각된다.

세계적으로 *Allium* 속 작물에서는 많은 사상형 바이러스가 발생하고 있으며, 재배되고 있는 마늘은 거의 대부분은 바이러스에 감염되어 있는 것으로 판단된다(Ahlawat, 1974; Chen 등, 2001; Chen 등, 2004; Koo 등, 2002; La, 1973; Sumi 등, 1999; Tsuneyoshi 등, 1998b; Van Dijk, 1993). 울릉도 산마늘이 다른 *Allium* 속 작물과 비교하였을 때 발생하는 바이러스와 그 감염률이 적은 이유는 산마늘을 감염시킬 수 있는 바이러스와 공간적으로 격리되어 있다는 점과 종자로 번식할 수 있어 후대로 바이러스 전파가 용이하지 않다는 점, 효과적인 바이러스 매개체의 부재 그리고 산마늘의 유전적 특성 및 서식환경 등으로 생각할 수 있으며, 이러한 원인에 대해서는 추가적인 연구가 필요할 것이다.

외피단백질 유전자 염기서열 분석. 산마늘에서 검출된 SLV와 GarV-A의 유전적 변이를 알아보기 위하여 두 바이러스의 외피단백질 유전자 염기서열을 분석하였다. Fig. 3A의 방법으로 SLV-Ulleungdo 1~3의 염기서열을 결정한 결과 분리주 3개 모두에서 894개의 외피단백질 유전자 염기서열을 확인하였다(Fig. 4A). SLV-Ulleungdo 1~3 외피단백질 유전자 염기서열을 NCBI(National center for Biotechnology Information)에 등록된 SLV 분리주들 및 *Carlavirus* 속(genus)의 다른 종들의 외피단백질 유전자와 정렬하여 염기 및 아미노산 서열의 상동성 및 유연관계를 비교분석하였다(Table 4, Fig. 5). 울릉도 산마늘에서 분리된 SLV 3 분리주 간에는 약 99% 이상의 매우 높은 염기서열 상동성을 나타내었다. *Allium* 속에서 보고되어진 SLV와 *Garlic latent virus*(GLV)는 같은 종으로 분류

Table 3. The results of RT-PCR analysis using victory onion samples collected in Ulleungdo

No. of samples	Detected viruses ^a						Infection rate (%)
	SLV	LYSV	GCLV	OYDV	SYSV	SLV+ <i>Allexivirus</i>	
61	3	0	0	0	0	1	6.6

^aThe detection of *Allium*-infecting viruses, such as SLV, LYSV, GCLV, OYDV, and SYSV were carried out by species specific primers, and *Allexivirus* was diagnosed with degenerate primer sets designed to detect nine species belonging to the genus.

Fig. 3. Schematic representation of SLV (A) and GarV-A (B) genome organization. Each ORFs are shown in Roman numerals. Given nucleotide positions were based on the sequences of SLV (Z68502) and GarV-A (AB010300). Nucleotide positions of initiation and termination codons defining each ORF are labelled either above or below the rectangles. Overlapping rectangles represent overlapping ORFs. Arrows show the location of the primers used for sequencing of CP gene. Primer pairs, SL-N25/SL-C10 and AI-N30/AI-C20(1) were applied for the detection of SLV and GarV-A, respectively. The shaded rectangle represents the CP gene used for nucleotide sequence analysis.

되어지고 있는데(Tsuneyoshi, 1998a; Chen, 2001; Song, 2002), SLV 산마늘 분리주들은 이들 SLV 분리주들과 약 76~84%의 염기서열 및 90~97%의 아미노산 서열 상동성을 나타내었다. 그러나 *Carlavirus* 속의 다른 종들과는 42~50%의 염기서열 및 36~45%의 아미노산 서열 상동성을 보였다. 전체적으로 볼 때, SLV 산마늘 분리주들을 제외하고 기보고된 SLV는 한국(Z68502), 중국(AF314147, AJ292228, AJ307034, AJ310199, AJ409315, NC_003557), 일본(AB004565, AB004684, D73379, AB004457, AB004802, AB004803) 분리주간에 지리적 분포에 따른 외피단백질 유전자 염기서열 상동성의 특별한 차이는 보이지 않았으며, 또한 SLV 분리주(마늘, 쪽파, 파, 부추)에 따른 뚜렷한 상동성 차이도 발견되지 않았다(Table 4). 앞으로 중국, 일본 등의 다른 지역 산마늘에서 SLV가 보고된다면 마늘 등의 분리주와 지리적 분포에 따른 염기서열 변이에 대한 조사가 필요할 것이다.

GarV-A는 Fig. 3B의 방법으로 염기서열을 결정한 결과 756개의 외피단백질 유전자 염기서열을 확인하였다(Fig. 4B). 이 산마늘 유래 GarV-A의 외피단백질 유전자를 기보고된 *Allxivirus* 속의 다른 종들과 비교한 결과 GarV-A(AB010300)와 99.2% 염기서열 상동성 및 98.8% 아미노산 상동성을 보였다(Table 5). 또한 *Allxivirus*속 다른

종들과는 60.6~81.5%의 상대적으로 낮은 외피단백질 유전자 아미노산 서열 상동성을 나타내었다(Table 5). *Allxivirus*속은 종(species)간의 염기서열 상동성이 매우 높은 분류군으로 외피단백질 유전자 염기서열의 경우 종 내는 약 90% 이상, 종간에는 60.7~81.1%의 유사성을 가지고 있는데(Chen 등, 2004), 산마늘에서 검출된 GarV-A는 계통수(phylogenetic tree) 분석 결과 마늘에서 유래한 GarV-A와 같은 종으로 분류되었다(Fig. 6).

산마늘 바이러스의 의의 및 대책. 울릉도에 자생하는 산마늘 식물체의 형태적, 유전적 변이는 국내에 산마늘이 자생하는 오대산 집단이나 지리산 집단보다 개체 사이의 변이가 적으며, 나머지 집단과 구별이 용이하다고 보고되어 있다(Kim 등, 1997; Bae와 Hong, 1995). 울릉도 산마늘에서 검출된 SLV 분리주들 또한 다른 *Allium* 속 식물에서 보고된 분리주와 비교할 때 매우 높은 외피단백질 유전자 염기서열 상동성을 보이는데, 이것은 울릉도 성인 봉 해발 300 m 이상에 자생하는 있는 산마늘의 지리적 특성으로 인한 결과로 판단된다. 앞으로 울릉도 이외에 설악산 및 지리산 지역 등의 산마늘 자생지로부터 바이러스 연구를 진행한다면 지리적 분포에 따른 특성과 다른 *Allium* 속 식물로부터의 바이러스의 유입 등에 대한 구체적인 자료를 얻을 수 있을 것이다. 아울러 산마늘에

(A)

SLV_Ulleungdo 1	ATGGCCAACGAAGAAGAAGAACTCAGTAACGTGCAGAAATTTGCCCACTCGCGACCCGGAACAATTCTGAACGAGAGCGTAGCAAGCT	90
SLV_Ulleungdo 2	-----	90
SLV_Ulleungdo 3	-----	90
SLV 1, 2, 3	M A N E E E E L S N V Q N L P T R D P G T I P E R E R S K A	30
SLV_Ulleungdo 1	GTGAATGATGTGGGCGTAATGGAACGCGAAGGTATCGAAGCTGTACTTCGAAGGAGCGAAAAATAGGTTTAAACAAGCTTAAAGAGAAGTGC	180
SLV_Ulleungdo 2	-----	180
SLV_Ulleungdo 3	-----	180
SLV 1, 2, 3	V N D V G V M E R E G I E A V L R R S E N R F N K L K E K C	60
SLV_Ulleungdo 1	ATGTCAGAATTGTCAAGTGTGAATGTCACCAATTGTGGTTGGGAATCAGGACGGCCGAAGGCACAACCTTGCTGATAGTCTCAAAGGAGAT	270
SLV_Ulleungdo 2	-----	270
SLV_Ulleungdo 3	t-----a-----t-----	270
SLV 1, 2, 3	M S E L S S V N V T N C G W E S G R P K A Q L A D S L K G D	90
SLV_Ulleungdo 1	GCCTCTAACATTTTCACTCGTCCATCCATGGACGCTCTTCTGGTTAGGAATTACGCGCTGAAAGTAACAACATGGCGACTGCCGAGGAA	360
SLV_Ulleungdo 2	-----g-----t--tt-a-c-----	360
SLV_Ulleungdo 3	-----t-----t--tt-a-c-----	360
SLV_Ulleungdo 1	A S N I F T R P S M D A L L V R N Y A P E S N N M A T A E E	120
SLV_Ulleungdo 2	-----	
SLV_Ulleungdo 3	-----	
SLV 1, 2, 3		
SLV_Ulleungdo 1	TTGGCCAAAATCTCCGCCAAAGTACAGGCTCTTGGTGCACCTGAAGAGTGTCTAGCTGAGGTATTCTGGGATATTTGCATGTATTGCGCG	450
SLV_Ulleungdo 2	-----	450
SLV_Ulleungdo 3	-----	450
SLV 1, 2, 3	L A K I S A K V Q A L G A P E E C L A E V F W D I C M Y C A	150
SLV_Ulleungdo 1	ACGGCCGAAGTTCTCCCAACGTGAATCCCAAGGAATATCTCAGTTGGTGGTAAAGTTGTCACAAGGACATGGTCGTAGCAGTGATC	540
SLV_Ulleungdo 2	-----c-----	540
SLV_Ulleungdo 3	-----	540
SLV 1, 2, 3	T A G S S P N V N P K G T I S V G G K V V T R D M V V A V I	180
SLV_Ulleungdo 1	AAGAGTACTCAACTTTGCGACAATTTGCCGCTGCTATGCACCAAGTGGTCTGGAACATATGTTATTGAATGAACAGCCACAGCTAAC	630
SLV_Ulleungdo 2	-----	630
SLV_Ulleungdo 3	-----	630
SLV 1, 2, 3	K E Y S T L R Q F C R C Y A P V V W N Y M L L N E Q P P A N	210
SLV_Ulleungdo 1	TGGGATTGGAAGGCTTCACTGAGAACACCAATATGCCGCTTTTGACACCTTTGATGCCGTTACCAATAAGAGTGCATCCAACTCTTT	720
SLV_Ulleungdo 2	-----t-----	720
SLV_Ulleungdo 3	-----t-----c-----	720
SLV 1, 2, 3	W D S K G F T E N T K Y A A F D T F D A V T N K A A I Q P L	240
SLV_Ulleungdo 1	GAGGGTTTGATAAGGGCACCCACCGACGCGGACCGGATTCGCTTCGCAACGCACAAGAAATTTGGCTCTGGCTAAAAATTCGCAAAATTTCT	810
SLV_Ulleungdo 2	-----	810
SLV_Ulleungdo 3	-----t-----	810
SLV 1, 2, 3	E G L I R A P T D A E R I A F A T H K K L A L A K N S Q N S	270
SLV_Ulleungdo 1	CGTTACGCCAATCTTCCGCTGAAGTTACCGAGGCTTCTTCGGATGTTTCTCTAAAAACAATCTGAGGGAGAATCGATGTTGA	894
SLV_Ulleungdo 2	-----	894
SLV_Ulleungdo 3	-----	894
SLV 1, 2, 3	R Y A N T S A E V T G G F F G C F P K N N L R E N R C *	297

(B)

1	ATGAACAATCTCTGTTGATCCGAGCACGTACACAACAATGTCCGGTACTACGGGTCAAGTTAGCCAGCCTCGACCCAACGTGAACCCCTTT	
1	M N N P V D P S T S Q Q M S G T T G Q V S Q P R P N V N P F	
91	GGCCAGAGTCAGACCCGCCCTTTGGCAATCGTGATCCGCAAAATAATAGTAATGCAAGTGACGACTCCGACGCACTCATGCCGCTGTG	
31	G Q S Q T R P L G N R D P Q N N S N A S D D S D A L M P A V	
181	ACCGACTTTGAAACTCTCACTAAAGATGTCGAATCCAACCTCAGTCGCTTCAAGGTTAATTATTGCGCAGACATACTTGACATGCTACAAGCC	
61	T D F E T L T K D V E S N S V A S R L I I R D I L D M L Q A	
271	AAGCGACAAGGAGCCACCCCAAGACCTTTTCTCACTAGCCTGGACCTGCTACCACAACGGTTCATCGCGATTGTTACCCCTGACCACT	
91	K R Q G A T P K D L F S L A W T C Y H N G S S R F V T L T T	
361	GACGCGCTTTCGGCATGGCGCACTCGGAACCTCAAGACATCGTTGAAAACCTCCTGTACGCTAAGACAGTTTTGCGGTTTTTATGCTAAA	
121	D A P C G M A H S E L K D I V E N S C T L R Q F C G F Y A K	
451	GCCTGCTACGTCGAGGCAAAACAACAAAACCAACCCCTGCCAATTGGTCTAGGAAAGGTTATCAGGAAGACTCAAAATTTGCCGCTTTC	
151	A C Y V A G K Q Q N K P P A N W S R K G Y Q E D S K F A A F	
541	GACTTCTTTAAGCTGTACTCAGCGACTCTTCTCCGAGTTCTCCGGAGGTATGAGATTAAACCTACAGACGCGGAATCTCGCGCAT	
181	D F F N A V L S D S S P S S P G G M R F K P T D A E I L A H	
631	TCTATGAATGCTAAGATGTCTATTGTAGAATCTAGGCGCGCCCAACATGGTCTCCACTCGCGCGGATTTACTCGCACACAACAATTA	
211	S M N A K M S I V E S R R A T N M V S T R A D L L A Q Q Q L	
721	CATGAGCAGCCTAAACCTCCAATGATCAGCTTCTAA	
241	H E Q P K P P M I T F *	

Fig. 4. Nucleotide and deduced amino acid sequence of coat protein gene of SLV (A) and GarV-A (B). The amino acid sequence, represented as the single-letter amino acid code, is shown below the nucleotide sequence. The asterisk (*) indicates the stop codon.

Table 4. Percentage of coat protein nucleotide and amino acid sequence identity between Ulleungdo isolates of SLV and other *carlaviruses*^a

Isolates	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1. SLV-Ulleungdo 1	*	99.7	99.7	96.0	96.3	94.6	96.6	96.6	97.0	93.6	90.8	92.6	93.5	93.5	94.3	89.2	36.8	35.7	37.2	35.6	44.6	37.6	46.6	44.9
2. SLV-Ulleungdo 2	99.1	*	100	95.6	96.0	94.9	96.3	96.3	96.6	93.9	91.2	92.9	93.2	93.9	94.6	89.6	36.4	35.4	36.8	35.3	44.6	37.2	46.3	44.9
3. SLV-Ulleungdo 3	98.7	99.1	*	95.6	96.0	94.9	96.3	96.3	96.6	93.9	91.2	92.9	93.2	93.9	94.6	89.6	36.4	35.4	36.8	35.3	44.6	37.2	46.3	44.9
4. GLV (AB004565)	82.0	81.8	81.4	*	96.3	92.2	96.6	96.6	97.0	93.9	92.2	92.6	92.9	92.2	94.9	89.9	36.8	36.4	37.2	36.0	44.9	38.0	46.3	44.2
5. GLV (AB004684)	82.4	81.8	81.3	82.1	*	93.2	99.0	99.0	99.3	93.9	91.2	93.6	93.2	92.9	94.6	89.6	37.5	37.1	37.2	36.4	44.9	38.0	46.6	44.9
6. GLV (AF314147)	79.8	80.3	80.5	79.9	78.3	*	93.5	93.5	93.9	92.9	89.7	91.5	90.4	94.9	93.5	89.1	35.4	35.4	36.8	35.3	45.4	37.2	45.4	45.9
7. GLV (AJ292228)	83.3	82.7	82.2	82.9	97.2	79.0	*	98.7	99.7	94.9	91.5	92.9	93.5	93.2	94.9	90.6	37.5	37.5	37.5	36.4	45.2	38.0	47.3	45.6
8. GLV (AJ307034)	83.7	83.1	82.8	83.1	92.2	79.2	92.5	*	99.0	94.3	91.9	93.6	93.5	93.5	94.9	90.2	37.1	36.8	37.5	36.7	44.9	38.0	46.6	44.9
9. GLV (AJ310199)	83.4	82.8	82.3	82.6	97.7	79.0	98.4	93.0	*	94.6	91.9	93.3	93.9	93.5	95.3	90.2	37.5	37.1	37.5	36.4	45.2	38.0	47.3	45.2
10. GLV (AJ409315)	81.0	81.1	80.9	80.1	81.7	78.8	82.1	82.2	82.6	*	91.5	95.6	91.8	92.5	97.3	91.6	37.5	37.1	36.5	36.4	46.3	38.0	45.6	45.2
11. GLV (D73379)	75.7	76.1	76.2	78.6	76.9	76.5	77.5	78.0	77.7	76.2	*	90.5	88.7	90.4	93.2	91.9	36.7	34.9	36.4	35.2	43.8	37.1	45.6	44.5
12. GLV (NC_003557)	79.5	79.5	79.3	79.5	80.1	78.0	80.6	80.2	80.8	87.7	77.6	*	90.8	91.2	94.9	89.6	37.1	36.4	36.5	36.4	45.2	38.0	45.3	44.9
13. GLV (Z68502)	82.0	81.8	81.2	81.1	84.7	78.0	85.4	84.1	85.1	78.4	76.7	78.8	*	89.3	91.8	87.4	36.3	36.0	37.1	35.9	44.0	37.5	45.1	44.3
14. SLV (AB004457)	79.9	79.7	79.9	79.1	81.6	80.9	82.3	81.6	82.1	78.2	77.2	77.9	78.3	*	93.2	89.8	36.4	35.7	37.2	36.0	45.7	37.6	46.4	46.3
15. SLV (AB004802)	80.4	80.3	80.3	80.1	81.9	78.2	82.1	81.5	82.4	89.1	76.5	86.7	79.1	77.4	*	91.6	37.1	36.4	36.5	36.4	45.6	38.0	46.3	44.9
16. SLV (AB004803)	76.2	76.5	76.4	77.2	76.7	75.6	77.5	77.5	78.0	78.2	82.8	77.0	75.7	76.2	76.7	*	37.1	36.1	37.2	36.4	45.6	39.1	45.9	45.6
17. HpLV (NC_002552)	43.9	43.4	43.4	43.5	42.5	42.6	42.2	42.8	42.2	42.9	43.7	44.1	43.7	41.8	44.1	41.9	*	63.4	45.8	50.2	34.3	46.6	36.5	38.3
18. PVM (NC_001361)	42.5	42.5	42.3	43.0	42.1	41.0	42.2	41.8	41.8	41.6	42.0	42.3	42.9	41.6	42.5	41.3	61.5	*	44.8	53.7	35.4	45.5	36.7	44.0
19. PVS (NC_007289)	45.4	44.8	44.8	44.7	45.6	45.9	46.0	45.4	45.8	46.2	45.4	45.9	44.1	45.0	46.5	45.5	52.5	52.9	*	42.2	33.2	66.4	38.0	38.8
20. CPMV (AF024629)	42.3	42.0	42.4	42.6	43.1	41.7	43.0	43.7	42.6	42.4	41.8	43.9	41.7	42.0	42.4	42.6	55.0	54.3	46.9	*	36.0	45.0	34.9	39.3
21. PeSV (AF354652)	49.2	49.1	49.1	48.7	49.3	47.9	49.8	49.1	49.6	49.6	46.6	49.3	49.4	48.5	48.5	49.2	44.5	44.0	45.1	43.4	*	34.7	38.2	37.1
22. LSV (AJ516059)	45.0	44.5	44.5	44.6	44.0	44.7	44.1	43.7	44.0	45.0	45.2	46.1	44.1	43.7	45.9	45.9	51.6	50.2	62.9	48.4	43.2	*	39.1	36.0
23. PopMV (X65102)	49.7	49.4	49.2	49.7	51.1	48.9	51.5	50.0	50.9	49.4	48.7	50.1	49.6	50.1	49.7	49.2	42.7	42.2	48.8	41.8	52.0	45.7	*	39.7
24. GCLV (X81138)	50.1	49.9	49.6	49.3	49.9	51.4	50.4	49.4	50.2	50.2	49.4	48.6	49.8	50.3	48.8	47.5	42.1	41.7	45.9	43.7	46.9	44.7	45.2	*

^aIdentities are presented for nucleotide sequence (below: diagonal) and for a deduced amino acid sequence (above: diagonal). GLV (AB004565) was isolated from shallot in Japan; GLV (AB004684), garlic in Japan; GLV (AF314147), garlic in China; GLV (AJ292228), garlic in China; GLV (AJ307034), garlic in China; GLV (AJ409315), garlic in China; GLV (D73379), spring onion, Japan; GLV (NC_003557), garlic in China; GLV (Z68502), garlic in Korea; SLV (AB004457), garlic in Japan; SLV (AB004802), shallot in Japan; SLV (AB004803), leek in Japan. Bold characters represent the range of sequence identities between Ulleungdo isolates of SLV and other carlaviruses.

Fig. 5. Phylogenetic analysis of SLV-Ulleungdo isolate and other *carlaviruses* on the basis of amino acid sequences of a coat protein. The tree was generated using the neighbor-joining method in DNAMAN 5.0. The horizontal branch lengths are proportional to the genetic distance and numbers shown at branch points indicate bootstrap values. The data set was subjected to 1,000 bootstrap replicates.

서 검출된 두 바이러스(SLV, GarV-A)는 이 식물체로부터 세계 최초로 보고되는 바이러스이며 울릉도라는 지리적 특성을 고려할 때 바이러스의 유전자원적 가치가 크다고 볼 수 있다.

산마늘은 영양적 가치뿐만 아니라 기능성 식품과 의약품으로써 효용성 등이 밝혀지면서 그 수요는 점차 늘어나고 있다. 본 조사에서 울릉도 산마늘의 바이러스 감염율은 약 6.6%이며, 채집 과정에서 전형적인 바이러스 병징이 관찰되지 않은 점으로 보아 현 시점에서 산마늘에서 바이러스는 병으로 크게 문제되지 않는다고 볼 수 있다. 그러나 앞으로 산마늘의 본격적인 재배가 이루어진다면 바이러스 무병주로부터 종자와 종구를 생산하여야 할 것이다. 또한 울릉도에서 마늘이 일부 재배되고 있으

Fig. 6. Phylogenetic analysis of GarV-A-Ulleungdo isolate and other *Allexiviruses* on the basis of amino acid sequences of a coat protein.

므로 마늘에서 발생하는 바이러스의 산마늘에서의 병원성과 마늘로부터 산마늘로의 바이러스 전염에 관한 연구와 대책수립이 필요할 것으로 생각된다.

요 약

2005년 울릉도에 자생하고 있는 산마늘에 대하여 바이러스병을 조사하기 위하여 성인봉 부근에서 61점의 시료를 채집하였다. 채집한 시료를 동정하기 위해 전자현미경 검경과 종 특이적 프라이머(GCLV, LYSV, SLV, OYDV) 및 속 특이적 프라이머(*Allexivirus*)를 이용하여 RT-PCR을 각각 수행하였다. 전자현미경 검경을 실시한 결과 61점의 시료중 4점의 시료에서 600~900 nm의 긴 사상형 입자가 관찰되었으며, RT-PCR 진단결과 SLV가 4점, 이 중 하나는 *Allexivirus*가 복합감염되었다. 바이러스에 감염된 산마늘은 외관상으로 병징을 나타내지 않았다. RT-PCR 분석결과 SLV와 *Allexivirus*로 동정된 울릉도 산마늘 바이러스의 외피단백질 유전자 염기서열을 비교 분석하였다. 분

Table 5. Percentage of coat protein nucleotide and amino acid sequence identity between Ulleungdo isolate of GarV-A and other *Allexiviruses*^a

<i>Allexivirus</i>	1	2	3	4	5	6	7
1. GarV-A-Ulleungdo	*	98.8	60.6	72.6	64.2	81.5	63.4
2. GarV-A (AB010300)	99.2	*	61.1	72.7	64.9	81.1	63.3
3. GarV-C (AB010302)	60.2	61.0	*	60.9	62.2	61.8	64.7
4. GarV-E (AJ292230)	78.1	78.9	63.5	*	66.3	73.9	65.0
5. GarV-X (AJ292229)	63.0	63.8	70.8	65.4	*	65.1	65.2
6. GMbMV (X98991)	90.8	91.6	63.1	79.8	63.8	*	65.3
7. ShalV-X (NC_003795)	63.7	64.5	56.4	64.3	62.1	65.1	*

^aIdentities are presented for nucleotide sequence (below diagonal) and for a deduced amino acid sequence (above diagonal).

석결과, SLV로 분류된 울릉도 산마늘 바이러스 개체간은 약 99%의 상동성을 가지고 있었으며, 이전에 보고된 다양한 SLV와 GLV의 strain과의 염기 서열의 비교에서는 75.7~83.7%의 상동성을 보였으며 아미노산 서열의 비교는 89.2~97.0%의 높은 상동성을 나타냈다. 또한 산마늘에서 검출된 GarV-A는 이전에 마늘에서 보고된 GarV-A와 99.2% 외피단백질 유전자 염기서열 상동성을 보였으며, 아미노산 서열은 98% 상동성을 보였다. 그러나 다른 *Allexiviruses*(GarV-C, GarV-E, GarV-X, GMbMV and Shal X)와 아미노산 서열을 비교한 결과 60.6%~81.5%의 상대적으로 낮은 상동성을 보였다. 이러한 자료들을 바탕으로 산마늘에서 분리한 SLV와 GarV-A를 각각 SLV-Ulleungdo와 GarV-A-Ulleungdo로 명명하였다. 본 논문은 산마늘에서 발생하는 바이러스에 대한 첫 번째 보고이다.

Acknowledgements

This work was supported by the grant (No. PJ006999) from the BioGreen 21 program, by the research grant (No. PJ007898) from National Academy of Agricultural Science (NAAS), Rural Development Administration, and by 2011 Post Doctoral Course Program of National Academy of Agricultural Science (NAAS), Rural Development Administration, Republic of Korea. We thanks the Ulleunggun Agriculture Technology Center for their kind assistance in victory onion sampling.

참고문헌

- 유승현. 2001. Korean species of *Alternaria* and *Stemphylium*. *Nat. Inst. Agric. Sci. Suwon*, Korea. p. 166.
- 최상태, 이준탁, 박우철. 1993. 야생 산마늘의 생육 환경과 영양 평가. *한국농화학회지*. 36: 502-509.
- Ahluwat, Y. S. 1994. A mosaic disease of garlic in Dajeeling hills. *Sci. Cult.* 40: 466-467.
- Bae, K. H. and Hong, S. C. 1995. Morphological and genetic variation of *Allium victorialis* var. *platyphyllum*. *Agric. Res. Bull. Kyungpook Natl. Univ.* 13: 45-53.
- Brunt, A. A., Crabtree, K., Dallwitz, M. J., Gibbs, A. J., Watson, L. and Zurcher, E. J. (eds.) (1996 onwards). 'Plant Viruses Online: Descriptions and Lists from the VIDE Database. Version: 20th August 1996.' URL <http://biology.anu.edu.au/Groups/MES/videl/>.
- Chen, J., Chen, J. and Adams, M. J. 2001. Molecular characterisation of a complex mixture of viruses in garlic with mosaic symptoms in China. *Arch. Virol.* 149: 1841-1853.
- Chen, J., Zheng, H. Y., Antoniwi, J. F., Adams, M. J., Chen, J. P., and Lin, L. 2004. Detection and classification of allexiviruses from garlic in China. *Arch. Virol.* 149: 435-445.
- Horne, R. W. and Wildy, P. 1963. Virus structure revealed by negative staining. *Adv. Virus Res.* 10: 101-170.
- Jung, S. Y., Lee, S. Y., Oh, T. K. and Yoon, J. H. 2007. *Agromyces allii* sp. nov., isolated from the rhizosphere of *Allium victorialis* var. *platyphyllum*. *IJSEM*. 57: 588-593.
- Kim, J. W. and Shin, H. D. 2001. Flower pink rot of *Allium* plants caused by *Fusarium proliferatum*. *Mycobiology*. 29: 224.
- Kim, W. B., Yoo, K. O., Ryu, S. Y., Seo, J. T., Om, Y. H. and Lim, H. T. 1997. Intraspecific variations of the *Allium victorialis* var. *platyphyllum* by polymerase chain reaction. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 38: 129-132.
- Koo, B. J., Kang, S. G. and Chang, M. U. 2002. Survey of garlic virus disease and phylogenetic characterization of garlic viruses of the genus *Allexivirus* isolated in Korea. *Plant Pathol. J.* 18: 237-243.
- La, Y. J. 1973. Studies on garlic mosaic virus. *Kor. J. Pl. Prot.* 12: 93-107.
- Shirataki, Y., Motohashi, N., Tani, S., Sunaga, K., Sakagami, H., Satoh, K., Nakashima, H., Kanamoto, T., Wolfard, K. and Molnar, J. 2001. Antioxidative activity of *Allium victorialis* L. extracts. *Anticancer Res.* 21: 3331-3339.
- Sin, H. D. and Braun, U. 1995. *Cladosporium alliicola* sp. nov. on *Allium victorialis* var. *platyphyllum*. *Kor. Soc. Mycol.* 23: 139-143.
- Song, S. I., Choi, J. N., Song, J. T., Ahn, J. H., Lee, S. S., Kim, M. K., Cheong, J. J. and Choi, Y. D. 2002. Complete genome sequence of *Garlic latent virus*, a member of the carlaviruses family. *Mol. Cell.* 14: 205-213.
- Song, S. I., Song, J. T., Chang, M. U., Lee, J. S. and Choi, Y. D. 1997. Identification of one of the major viruses infecting garlic plants, Garlic virus X. *Mol. Cells.* 7: 705-709.
- Sumi, S., Matsumi, T. and Tsuneyoshi, T. 1999. Complete nucleotide sequences of Garlic virus A and C, members of the newly ratified genus *Allexivirus*. *Arch. Virol.* 144: 1819-1826.
- Tsuneyoshi, T., Matsumi, T., Deng, T. C., Sako, I. and Sumi, S. 1998a. Differentiation of *Allium* carlaviruses isolated from different parts of the world based on viral coat protein sequence. *Arch. Virol.* 143: 1093-1107.
- Tsuneyoshi, T., Matsumi, T., Natsuoka, K. T. and Sumi, S. 1998b. Nucleotide sequence analysis of virus isolates indicates the presence of three potyvirus species in *Allium* plants. *Arch. Virol.* 143: 97-113.
- Van Dijk, P. 1993. Carlaviruses isolated from cultivated *Allium* species represent three viruses. *Neth. J. Plant Pathol.* 99: 233-257.
- Yoo, K. O., Kim, W. B., Park, H. J. and Lim, H. T. 1998. Investigation on the ultrastructure of epidermis, anatomical, palynological, and cytological characteristics of *Allium victorialis* var. *platyphyllum* collected from three different habitats. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 39: 260-265.