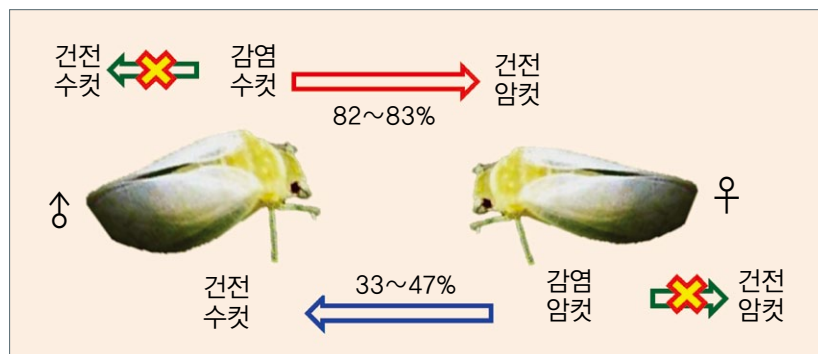


## 8. 담배가루이 증체 간 바이러스 전염

토마토황화잎말림바이러스(TYLCV)에 감염된 담배가루이 수컷과 바이러스에 감염되지 않은 암컷 집단의 바이러스 전염률은 82~83%로 매우 높다. 그러나 바이러스에 감염된 암컷에서 건전한 수컷으로의 바이러스 전염은 33~47%로 상대적으로 현저히 낮다. 암컷과 수컷의 동성간에는 접촉에 의해서 바이러스가 전염되지 않는 것으로 알려져 있다.

토마토황화잎말림바이러스가 발생한 토마토 재배 온실에서 매개충인 담배가루이가 발생되면 보독 담배가루이가 식물체에 바이러스를 전염시키면서 지속적으로 보독충이 되므로 담배가루이의 보독충률이 높아진다.

또한, 담배가루이가 교미를 하면서 담배가루이의 바이러스의 감염률도 동시에 높아지므로 토마토황화잎말림바이러스의 보독충률과 식물체 감염률은 급격히 증가하여 피해가 커진다.



Ghanim, M. and Czosnek, H. 2000. J. Virology 74: 4738-4745.

## 9. 바이러스와 담배가루이 상관 전염

담배가루이 성충은 식물체 표면에 알을 낳고, 알은 부화하여 1령에서 4령까지 어린 시기인 유충 시기를 거친다. 4령 유충은 번데기 시기인데 이 시기를 제외하면 유충 시기에 바이러스를 획득할 수 있으며, 성충이 되면 바이러스를 전염시킨다.

담배가루이의 알을 통해서 바이러스가 전염되는 수직전염(경난 전염)은 매우 낮으므로 새로 부화한 담배가루이는 항상 감염 식물체에서 새로 바이러스를 획득하여야만 바이러스를 전염시킬 수 있다.

따라서 담배가루이 생활사를 통하여 본 바이러스의 전염은 성충 시기가 전염에 가장 중요하므로 성충을 방제하여 밀도를 낮추는 것이 중요하다.



## 10. 바이러스 종자전염과 담배가루이 상관 전염



토마토황화잎말림바이러스(TYLCV)에 감염된 토마토에서 종자를 채종(F2 세대) 한 후 유묘를 기르고 유전자 진단(PCR)을 하여 바이러스의 감염을 확인하였다.

바이러스 감염 식물체의 후대인 F2 세대의 유묘에 바이러스에 감염되지 않은 담배가루이 매개충을 방사하면 건전한 토마토

유묘가 바이러스에 감염되어 토마토황화잎말림바이러스의 종자 전염되는 것을 확인할 수 있었다.

또한, 그 다음세대인 F3 세대인 토마토 유묘의 경우에도 건전한 담배가루 매개충을 방사하고 약 1달이 경과하면 유묘가 모두 (8개체) 토마토황화잎말림바이러스에 감염되어 3세대까지 바이러스의 종자전염이 되는 것을 알 수 있다. 실험한 개체가 적은 단점이 있으나 종자전염의 질적 확인은 가능한 것으로 생각된다.

토마토황화잎말림바이러스는 감염식물체의 종자를 통하여 지속적으로 바이러스가 종자전염되며 또한 바이러스의 증상 발현에 매개충인 담배가루이가 관여하는 것으로 확인되어 종자전염과 병증발현에 매개충의 상관성이 있는 것이 확인되었다.

토마토의 경우 토마토황화잎말림바이러스(TYLCV)의 일차 전염원은 종자전염이며, 또한 감염 종자와 함께 작물 주변의 잡초 등이 일차 전염원 역할을 한다. 감염 식물체에서 바이러스에 감염된 담배가루이에 의하여 2차 전염되는데, 담배가루이 교배에 의한 총체간 바이러스 전염이 되고, 보독 담배가루이에 의하여 건전한 토마토 식물체가 감염된다.

토마토황화잎말림바이러스(TYLCV)의 토마토 발병은 토마토 종자에 의한 전염, 담배가루이 총체간 바이러스 획득 전염, 감염 식물체에서 담배가루이의 바이러스 획득으로 복잡한 감염 상관성에 의하여 병이 발생한다.

## 11. 담배가루이와 온실가루이의 형태 비교

담배가루이(*B. tabaci*)와 온실가루이(*T. vaporariorum*)를 구분하는 것은 육안으로는 곤란하지만, 돋보기로 보면 전체적으로 담배가루이는 날개가 아래쪽으로 기울어져 있어 몸통이 길쭉한 둥근형으로 날씬해 보이며, 날개 아래의 몸통이 약간 보인다. 담배가루이 4령 중(번데기)은 빨간색의 확실한 눈을 볼 수 있으며 몸통색은 황색이고 돌기가 매우 약하게 있어서 거의 없는 것처럼 보인다. 알은 갈색으로 진하지 않게 보인다.

온실가루이는 날개가 수평으로 보여서 몸통이 통통해 보이며 위에서 보면 전체적인 성충의 모양은 삼각형으로 보인다. 온실가루이 4령 중(번데기)는 몸통이 흰색이며, 몸통 전체에 돌기가 길게 뚜렷하게 보인다. 알은 진한 갈색이다.

담배가루이와 온실가루이의 성충은 날개의 부착 형태가 달라서 담배가루이 성충이 온실가루이 성충보다 약간 작게 보이는 경향이 있다.





## 토마토황화잎말림바이러스(TYLCV) 실용적 진단기술

김정수, 최홍수  
이석찬, 한정헌  
신준성

1. 진단기술의 특성
2. 바이러스 순화, 항혈청 생산 및 진단
3. 유전자 진단
4. 램프 유전자 진단
5. 바이오큐브 유전자 진단

## 1. 진단기술 특성

토마토황화잎말림바이러스(TYLCV)는 즙액 접종에 의한 인공 감염이 되지 않기 때문에 지표식물을 이용하여 병증 특성을 이용한 생물학적 진단, 병원성 변이 추적, 기주 범위 연구에 제약이 있다.

따라서 생물적 진단과 특성은 매개충인 담배가루이를 보독시킨 후 보독충을 밀폐된 공간에 식물을 키우고 방사하여 검정을 할 수 있다. 실용적으로 이용되는 진단기술은 항혈청을 이용한 엘라이자(ELISA) 진단기술이며 ELISA 진단키트는 시중에서 구입이 가능하지만, 계통 진단은 정확히 할 수 없는 단점이 있다.

식물체나 보독 매개충을 검정하는 데는 유전자 진단기술(PCR)이 개발되어 활용되고 있으며, 가장 널리 사용되는 진단기술이다.

## 2. 바이러스 순화, 항혈청 생산 및 진단

### 바이러스 순화

- 감염 식물체 400~500g의 유묘를 0.1M sodium citrate 완충액을 사용한다.
- 엽록체 제거를 위하여 8% 클로로포름을 사용하여 원심분리 후 침전물 제거한다.
- 바이러스 침전은 10% PEG (polyethylen glycol)를 사용하여 저속 원심분리하여 침전물을 얻는다.
- 초고속 원심분리 (10만g)와 저속 원심분리 2회 반복하여 부분 순화한다.

- 설탕밀도구배 원심분리 (10~40%)로 바이러스 층을 얻는다.
- 농축된 바이러스는 0.1M sodium citrate 완충액 250~500 $\mu$ l로 희석하여 사용한다.

### 항혈청 생산

- 뉴질랜드 흰토끼에 바이러스 단백질 농도 1mg를 일주일 간격 3회 근육 주사한다.
- 바이러스 1mg과 동량의 항혈청 생산 부스터(Freund incomplete adjuvant)와 완전히 혼합하여 사용한다
- 채혈은 최초 주사 후 5주째에 전 채혈을 한다
- 전채혈한 항혈청은 실온에 두고 상층액을 얻어 -20°C에 보관한다.

### 엘라이자 검정

1) 완충액 조성은 다음과 같다.

- ① 즙액 추출완충액은 0.05M Tris-HCl 6.05g, 0.06M Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> 7.56g을 녹인 다음 HCl로 pH 8.5에 맞추고 증류수로 1L로 맞춘다.
- ② 항혈청 코팅 완충액은 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1.59g, NaHCO<sub>3</sub> 2.93g을 증류수에 녹인 다음 pH9.6에 맞추고, 0.01% sodium azide를 첨가한다.
- ③ 세척 인산 완충액은 10배 인산완충액을 제조한다. NaCl 80g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O 11.5g, KCl 2g을 증류수 1L에 녹인 다음 pH 7.2에 맞춘다. Tween 20이 들어있는 세척 인산완충액은 10배 인

산완충액 100ml에 10% Tween 20, 5ml과 증류수 895ml을 잘 섞어 준다.

- ④ 항체 희석 완충액은 PBS-T 완충액 100ml에 5% 탈지분유 5g을 넣고 잘 섞어서 사용 전에 바로 만들어 사용한다.
- ⑤ 기질 희석 완충액은 1M diethanolamine 95ml과 증류수 800ml에 잘 섞은 후 conc HCl로 pH 9.8에 맞춘다. 총 1L로 맞추고 MgCl<sub>2</sub> 0.203g을 녹인다. 기질인 p-nitrophenyl phosphate 5mg (Sigma 104)를 10ml 기질 희석 완충액에 녹여서 사용 전 바로 만들어 사용한다.
- 2) 폴리스티렌(96well) 플레이트에 구멍에 항혈청을 코팅한다. 37°C에서 3시간 처리하거나 하룻밤 냉장고에 둔다.
- 3) 플레이트를 세척한 후 항혈청이 코팅된 플레이트에 시료 즙액을 200ml 처리한다. 37°C에서 3시간 처리하거나 하룻밤 냉장고에 둔다.
- 4) 세척한 후 항혈청 컨쥬게이트 (1:5000 희석 Alkaline phosphatase, 0.01M PBS, 0.05% Tween 20, 2% PVP-40, 0.2% Ovalbumin)를 만들어 처리한다. 37°C에서 3시간 처리한다.
- 5) 세척 후 발색 효소를 처리한다 (1mg/ml p-nitrophenyl phosphate tablet in 97ml diethanolamine, 0.2g sodium azide/l, pH 9.8). 발색 농도 측정은 실험실 형광등을 끄고 발색효소 처리 후 30분 후 육안 조사하거나 405nm에서 조사한다.

### 3. 유전자 진단

#### 1) 핵산 추출

##### (1) 준비

- ① Extraction buffer (EB) 50mM Tris-HCl, pH 8.0 10 mM EDTA, pH 8.0 100mM NaCl 1% SDS 10mM  $\beta$ -mercaptoethanol
- ② 액체질소 ③ 5M Potassium acetate, pH 7.5 ④ Isopropanol
- ⑤ 80% EtOH ⑥ 3M Sodium acetate, pH 5.2 ⑦ 65 °C Temperature block or water bath ⑧ E-tube ⑨ Falcon 2059 tubes ⑩ Miracloth (Calbiochem 475855) filters ⑪ Powder Funnel (15mm Stem) ⑫ Spatula ⑬ 막자 사발과 막자

##### (2) 방법

- ① 에펜돌프튜브(E-tube)에 750 $\mu$ l EB를 넣어 준비한다. 100mg의 식물조직을 막자 사발에 넣은 후 액체질소를 넣는다. 질소가 증발하면 즉시 조직을 고운 가루가 될 정도로 간다. 감염 식물체와 건전 식물체에서 모두 전체 핵산(DNA)을 추출한다.
- ② 미리 액체질소에서 냉각시킨 spatula를 사용해 조직가루를 추출 완충액(EB)이 들어있는 E-tube에 옮겨 담는다. 가루로 된 조직과 EB를 살균된 스파툴라로 재빨리 섞는다.
- ③ E-tube의 뚜껑을 닫고 7~8번 심하게 흔든다. 다음 조직을 갈

고 추출할 때까지 65°C에 둔다. 모든 E-tube를 65°C에서 적어도 10분간 반응시킨 후 5M potassium acetate 250 $\mu$ l을 넣고 뚜껑을 닫은 후 심하게 흔들어 섞어준다. 그런 다음 E-tube를 얼음에서 적어도 20분간 둔다.

- ④ E-tube를 4°C, 8,000×g에서 10분간 원심분리 한다. 6) Pipette-man을 사용하여 상층액을 얻어 Miracloth로 거른 다음 상층액과 같은 부피의 isopropanol이 든 Falcon tube에 담는다. 뚜껑을 닫고 DNA를 침전 시키기 위해 여러 번 가볍게 흔들어 섞는다. 8,000×g에서 10분간 원심분리 하여 DNA를 침전 시킨다.
- ⑤ 80% EtOH로 침전물 (pellet)을 씻고 tube를 paper towel에 거꾸로 해서 말린 후 DNA를 50 $\mu$ l TE에 녹인다. 50 $\mu$ l 3M sodium acetate와 500 $\mu$ l isopropanol로 DNA를 다시 침전 시킨다. 30초간 원심분리 하여 DNA를 침전 시키고 80% EtOH로 침전물을 씻은 다음 가볍게 말린다. 완전히 말리면 genomic DNA를 다시 녹이는 것이 힘들다.
- ⑥ 20~30 $\mu$ l TE로 다시 녹인다.
- ⑦ DNA를 효소반응이나 PCR분석에서 사용하기 전에 녹지 않은 불순물 (다당류 등)제거를 위해 5분간 상온에서 3,000rpm으로 원심분리 한 후 상위 70% 정도만 사용한다. 아래쪽의 끈적거리는 부분은 다당류이다.

Ali-Shtayeh, M.S., et al. 2014. Virus Genes 48: 320-328  
Kuan, C.P. et al. 2012. Journal of Virological Methods 179: 367-372.

## 2) 프라이머 종류 및 방법

### (1) TYLCV-Kr 진단용 프라이머

| 프라이머 | 염기서열 (5'~3')                   | 산물    |
|------|--------------------------------|-------|
| AV1  | TTT CCT GAA TCT GTT CAC GGA TT | 740bp |
| AV2  | AAC TAA TGC CTG TTC CTT CAT TC |       |

PCR : 3분 95°C, 35회 증폭 (30초 94°C, 30초 55°C, 30초 72°C), 7분 72°C  
Park et al. 2014, J. Phytopathol. 162: 209-17.

### (2) TYLCV와 ToMV 진단용 프라이머

| 프라이머 | 염기서열 (5'~3')                          | 산물    |
|------|---------------------------------------|-------|
| TY1  | GCC CAT GTA (T/C)CG(A/G) AAG CC       | 740bp |
| TY2  | GG(A/G) TTA GA(A/G) GCA TG(A/C) GTA C |       |

OEPP/EPPO Bulletin 35, 319-325, 2005

### (3) TYLCV 모든 계통의 공통 진단 프라이머

| 프라이머  | 염기서열 (5'~3')                | 산물    |
|-------|-----------------------------|-------|
| OTYA3 | GGG TCG ACG TCA TCA ATG ACG | 649bp |
| OTYA6 | CTA CAT GAG AAT GGG GAA C   |       |

PCR : 1분 95°C, 25회 증폭 (35초 55°C, 30초 72°C), 7분 72°C  
Morilla et al. 2005. Phytopathology 95: 1089-1097

### (4) TYLCV-IL (Japan) 진단 프라이머

| 프라이머 | 염기서열 (5'~3')          | 산물    |
|------|-----------------------|-------|
| TYF  | ACT ATG TCG AAG CGA C | 750bp |
| TYR  | GGG ATT CAC AAA TGT T |       |

PCR : 4분 94°C, 35회 증폭 (1분 94°C, 1분 50°C, 1분 72°C), 10분 72°C  
Mohammad S.S. et al. 2012. Report and Opinion 4: 5: 65-75

#### (5) TYLCV-IL 계통 진단용 특이 프라이머

| 프라이머      | 염기서열 (5'~3')                        | 문헌 |
|-----------|-------------------------------------|----|
| TYV2337   | ACG TAG GTC TTG ACA TCT GTT GAG CTC | 1  |
| TYc138    | AAG TGG GTC CCA CAT ATT GCA AGA C   |    |
| PTYCPV369 | ACG CCC GYC TCG AAG GTT CG          | 2  |
| TYCPc1023 | GTA CAW GCC ATA TAC AAT AAC AAG GC  |    |
| TY1021v   | AAT CCA GTG TAT GCA ACT             | 3  |
| TY1041c   | TTT GAT ATT GAA TCA TAG             |    |
| TY2330v   | AAT GTT CGG ATG GAA ATG             |    |
| TY2350c   | TTC TTC GAC CTG GTA TCC             |    |

1. Anfoka et al, 2005, Journal of Plant Pathology 87, 61,6.

2. Navot et al, 1991, Virology 185, 151,61

3. Anfoka et al, 2009, Phytopathology 58: 754,762.

#### (6) TYLCV-Mid 계통 진단 특이 프라이머

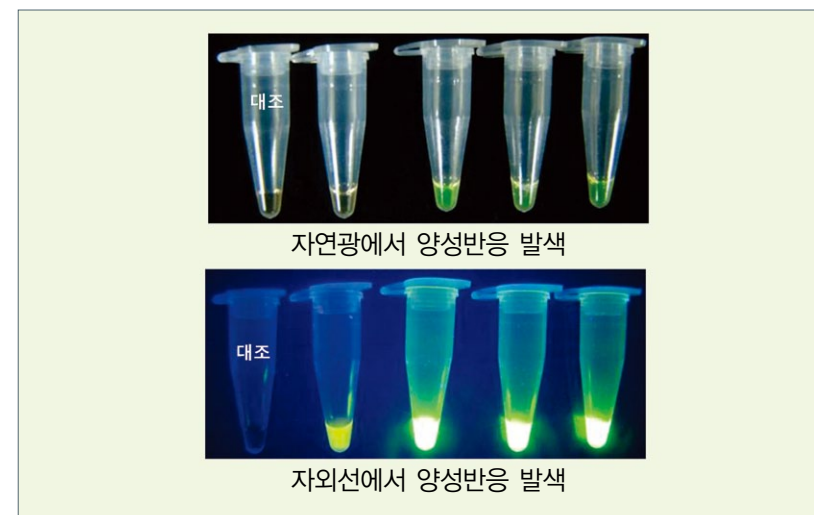
| 프라이머    | 염기서열 (5'~3')                                | 문헌 |
|---------|---------------------------------------------|----|
| TYV2664 | ATT GAC CAA GAT TTT TAC ACT TAT CCC         | 1  |
| TYSacv  | AAG AGC TCT TAG CTG CCT GAA TGT TTG GAT     |    |
| TYNcoc  | TAC CAT GGA GAC CCA TAA GTA TT GTC ATT GAG  | 2  |
| TYSphv  | TAG CAT GCC TCT AAT CCA GTG TAT GCA AC TATG |    |

1. Nakhla et al, 1993, Phytopathologia Mediterranea 32, 163,73

2. Anfoka et al, 2009, Phytopathology 58: 754,762.

## 4. 램프 유전자 진단

LAMP (Loop Mediated Isothermal Amplification)



### 1) 장점

램프 진단기술은 바이러스, 세균 등 병원체의 급속 진단에 유용한 유전자 진단기술이며, 병원체의 종(Species), 속(Genus)을 분류 동정 하는데 유용한 진단기술이다.

램프진단기술의 원리와 장점은 다음과 같다.

- (1) 하나의 튜브에 진단하고자 하는 DNA, 중합효소, 프라이머와 완충액을 동시에 넣은 다음, 온도 변화 없이 하나의 온도(63 to 65℃)에서 핵산을 증폭 시킨다.
- (2) 고온에서 dsDNA의 변성 과정이 필요 없다.

- (3) 진단하고자 하는 목적 유전자에 대하여 4개의 프라이머를 만들어 사용하며, 이 프라이머는 6개의 다른 부위를 인식하여 진단하므로 진단 특이성이 높다.
- (4) 핵산 증폭을 위한 시약이나 고가의 장비가 필요하지 않아 경제적이다.
- (5) 역전사 효소를 첨가하면 RNA 유전자를 진단할 수 있다.
- (6) 핵산 증폭과 결과를 인식하는데 진단 시간이 짧다.
- (7) 반응 결과인 흰색 침전물 형성을 육안으로 알 수 있으며, 발색 유전자(SYBR green)을 첨가하면 일반 광조건 또는 자외선 하에서 쉽게 반응을 육안으로 확인할 수 있어 전기영동에 필요 없다.

## 2) 식물체에서 핵산 분리

토마토황화잎말림바이러스(TYLCV)에 감염된 어린 토마토 어린잎을 완충액과 함께 마쇄하고 핵산 분리 키트(DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen))를 사용하여 전체 핵산을 분리한다. 분리한 핵산 1 $\mu$ l을 25 $\mu$ l LAMP 반응에 사용한다.

담배가루이는 한 마리를 유발에 100 mM Tris-HCl (pH 8.0) 20 $\mu$ l와 함께 마쇄한 다음 25 $\mu$ l LAMP 반응에 사용한다.

## 3) 진단 방법

진단 프라이머는 3종류의 세트를 사용한다. 프라이머와 추출 핵

산 혼합은 1.6 $\mu$  M (각각 FIP and BIP 프라이머), 0.2 $\mu$  M F3 프라이머, 0.2 $\mu$  M B3 프라이머, 1.4mM dNTPs, 8 Units Bst DNA polymerase (New England Biolabs in Thermopol buffer containing 2 mM of MgSO<sub>4</sub>), 0.8M betaine (Sigma-Aldrich), 2mM MgSO<sub>4</sub>를 조제하고 1 $\mu$ l 감염 식물체 또는 담배가루이 한 마리를 마쇄하여 섞는다. DNA 증폭은 65°C 단일 온도에서 반응 시킨다.

## 4) 프라이머 종류

| 프라이머      | 염기서열 (5'~3')                                                     | 위치                      |                           |
|-----------|------------------------------------------------------------------|-------------------------|---------------------------|
| F3 SF371  | TGC AGT CCG TTG AGG AAA C                                        | 387,405                 | Region-1<br>(TYLCV-Aichi) |
| B3 SF372  | CCT GTA CGT CCA TGA TCG TC'                                      | 598,617                 |                           |
| FIP SF373 | AGT CAC GGG CCC TTA CAA CAG<br>CCC AAT ACA TTG GGC CAC G         | 453,473,<br>413,431     |                           |
| BIP SF374 | CTC GAA GGT TCG CCG AAG GCG<br>ACA ATG GGG ACA GCA GC            | 515,534,<br>564,581     |                           |
| F3 SF448  | GAG CCT CTG ACT TAC TGC C                                        | 2349,2367               | Region-2<br>(TYLCV-Aichi) |
| B3 SF449  | CAT CCA AAC ATT CAG GGA GC                                       | 2507,2526               |                           |
| FIP SF450 | GAC GGA CGA TCT GCA CGT GGA<br>GTT AAG AGC TGC GGC GTA           | 2414,2433,<br>2370,2388 |                           |
| BIP SF451 | GAA ACT CAC CCC AGT CGA CGG<br>ATC CAG TTC AGA CGT CAA GT        | 2439,2459,<br>2484,2504 |                           |
| F3 SF432  | GCA TGT TGA AAT GAA TCG GTG                                      | 2784,17                 | Region-3<br>(TYLCV-Is)    |
| B3 SF433  | CAT CTG TGT AAC CCT CGT G                                        | 203,221                 |                           |
| FIP SF434 | ACC AAA TAG CCA TTA GGT GTC CAA<br>TCC CTC AAA GCT CTA TGG CAA T | 65,88,<br>18,39         |                           |
| BIP SF435 | CAA ATC ATT AAA GCG GCC ATC CGT<br>CCA CAT AAA AGG AAA AGG CG    | 135,158,<br>179,198     |                           |
| SF301     | GTC TTA TGA GCA ACG GGA TG                                       | 701,720                 | Region-4<br>(TYLCV-Aichi) |
| SF303     | GAA CAT GAC CTG ATT AGT GTG                                      | 867,887                 |                           |

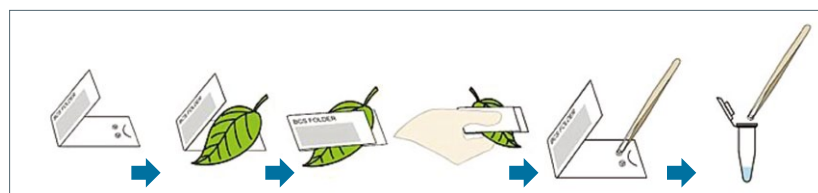
Shiro Fukuora, et al. 2003. Journal of Virological Methods 112: 35.40.

## 5. 바이오큐브 유전자 진단

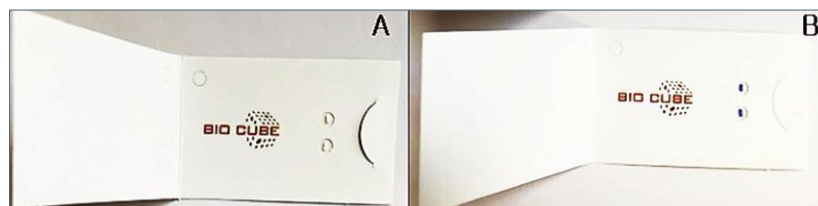
### 1) 장점과 방법

바이오큐브(biocube)를 이용한 유전자진단의 장점은 감염 식물체에서 바이러스의 핵산을 순수분리하지 않고 바이오큐브(2×3mm)를 감염 식물체의 잎 등에 살짝 눌러 주는 것만으로 핵산을 바이오큐브에 포획할 수 있다.

따라서 유전자 진단을 위한 핵산분리 단계를 생략할 수 있는 간편한 방법이며, 사용방법은 다음과 같다.



바이오큐브가 부착된 홀더를 떼다.    감염 잎을 홀더 사이에 놓고 살짝 누른다. 세게 누르지 않는다.    홀더에서 바이오 큐브를 핀셋으로 떼어낸다.    큐브를 직접 PCR 튜브에 넣고 핵산 증폭을 한다.



바이오큐브(백색)가 부착된 홀더

바이오큐브(청색)가 부착된 홀더

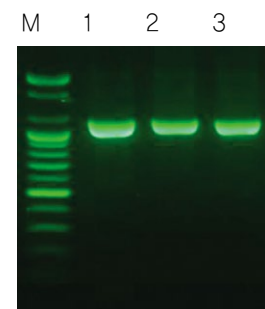
### 2) 재료 준비

- ① 토마토황화잎말림바이러스(TYLCV) 감염 토마토 잎
- ② Biocube: 제품명(BCS folder, 바이오큐브시스템 제품)
- ③ BCS one step PCR premix (바이오큐브시스템 제품)
- ④ 특이 프라이머(10pmol/μl)

| 프라이머    | 염기서열 (5'~3')               | 산물크기   |
|---------|----------------------------|--------|
| TYLCV-F | CTA CAC GCT TAC GCC TTA TT | 1100bp |
| TYLCV-R | ACA CCG ATT CAT TTC AAC AT |        |

### 3) PCR 반응 조건 및 결과 확인

- ① PCR 튜브에 멸균수(9μl), 각 프라이머(0.5μl), premix(10μl)에
- ② 핵산 주형을 포획한 바이오큐브(biocube) 한 개를 첨가하고
- ③ 95℃ /10분 후 (95℃ /20초, 60℃ /20초, 72℃ /45초)에서 35회 증폭한 다음,
- ④ 1% 아가로스 젤에서 전기영동하여 증폭산물(크기 1,100bp) 유무를 확인하여 감염여부를 판단하며, 아래 사진과 같이 명확한 양성반응 밴드를 확인할 수 있다.



M: 분자마커 100bp DNA ladder

1~3: 토마토황화잎말림바이러스 감염시료의 전기영동 후 유전자 증폭 밴드



## 토마토황화잎말림바이러스(TYLCV) 방제 대책

김정수, 최홍수  
이석찬, 김창석  
이관석

1. 일반 사항
2. 매개충 유인 방제
3. 토마토 저항성 품종
4. 우리나라 최초 발생 농가의 방제 성공 사례

## 1. 일반 사항

모든 식물 바이러스를 직접 방제할 수 있는 화학제제는 아직까지 모든 인체, 동물, 식물 바이러스에 대하여 개발되어 있지 않다. 가장 안정적인 피해방지 방법은 저항성 품종을 이용하는 것이 가장 안정적인 방법이다.

토마토황화잎말림바이러스(TYLCV)의 상습 발생지에서는 기주가 아닌 작물인 콩등을 이용하도록 하며, 토마토 재배포장의 주변에 바이러스 전염원이 되는 감염식물인 잡초류가 없도록 포장위생을 잘 하도록 한다.

특히, 토마토황화잎말림바이러스는 종자전염을 하는 것으로 우리나라에서 최근에 알려져 있으므로, 정상적으로 유통되는 토마토 종자를 반드시 이용하면 농가 포장에서 토마토황화잎말림바이러스가 발생하였을 때 병발생의 책임 소재가 감염된 종자인지, 묘를 구입한 육묘장에서 감염되었는지 또는 농가 포장에서 감염되었는지를 알 수 있기 때문이다.

기타 일반적인 방제방법으로 매개충 발생을 억제할 수 있는 반짋이 필름을 피복하여 햇빛의 반짝임으로 해충이 근접하는 것을 적게하거나, 감염주는 신속히 제거하고 재배포장 외부에서 땅에 묻거나, 가능하면 하우스나 유리온실은 망실재배를 하도록 한다. 망 설치의 출입구를 비롯하여 측면, 상면 모두 꼼꼼히 설치하여 철저히 하도록 한다.

담배가루이가 전염하는 호박잎말림바이러스(SLCV)의 경우에 감수성인 박과식물에서는 대체로 담배가루이의 증식이 잘되어 바이러스의 전염도 매우 잘된다. 그러나 박과 식물의 계통에 따라서 담배가루이의 분포 밀도가 10배 이상 차이가 있으며, 어린 잎과 늙은 잎의 경우에도 계통별로 다양한 차이가 있고, 담배가루이 밀도와 바이러스의 증상발현과의 상관성 또한 매우 높다.

이와 같이 토마토황화잎말림바이러스(TYLCV)의 경우에도 호박잎말림바이러스(SCLV)와 같이 토마토 뿐만 아니라 기주인 잡초류에서도 매개충인 담배가루이 분포 밀도 차이가 많고 바이러스의 계통 별 병원성 차이가 있을 것이기 때문에 피해 발생 양상은 농가별로 차이가 있음을 유념하도록 한다.



## 2. 매개충 유인 방제

토마토황화잎말림바이러스(TYLCV)에 대한 매개충의 가시광선의 파장에 대한 유인방제 연구가 미흡하여 담배잎말림바이러스(TLCV) 또는 호박잎말림바이러스(SCLV)의 연구결과를 소개하며 이 결과는 토마토황화잎말림바이러스의 매개충인 담배가루이를 유인하여 방제하는데 동일한 효과를 예상할 수 있다.

| 파 장        | 조사 시간별 성충 유인률 (%/30마리) |          |
|------------|------------------------|----------|
|            | 30분                    | 90분~180분 |
| 청색 (470nm) | 74.0                   | 89.0     |
| 녹색 (520nm) | 73.3                   | 85.3     |
| 황색 (590nm) | 70.0                   | 87.7     |
| 적색 (625nm) | 46.7                   | 84.3     |

담배가루이에 대한 가시광선 파장 별 유인률은 청색과 황색 광의 강도 40%에서 90분 이상이 되면 85% 이상 유인 효과가 있다. 담배가루이가 반응하는 빛의 파장에 따른 유인률은 빛의 강도 20, 40, 60, 80, 100%에서 30분 처리 결과, 강도 40%에서 가장 유인이 잘되었으며, 청색광과 녹색광에서 유인이 가장 잘 된다.

또한 강도 40%에서는 조사 시간이 30분, 60분, 90분 처리에서는 90분이 가장 유인이 잘되었고 90분 이후 120분, 150분, 180분에서는 처리별 유인율 차이가 거의 없었음을 알 수 있다.

## 3. 토마토 저항성 품종

토마토잎말림바이러스(TYLCV)는 인공접종 접종이 되지 않기 때문에 인공접종이 가능하도록 바이러스를 세균 유전자에 도입시켜 간편하게 시험 한 결과인데,

피망 품종 별 10주에 인공접종 하여 바이러스 감염률을 조사한 결과, 감염이 되지 않은 품종은 6개 품종이었다. 중 저항성과 약 저항성 품종은 상습 발생지에서 재배에 주의가 필요하며, 감수성 품종 재배는 가급적 재배를 하지 않아야 피해를 예방할 수 있다.

| 저항성 정도 | 품종명                                                        | 감염률     |
|--------|------------------------------------------------------------|---------|
| 강 저항성  | Cathern, Dolpin, Easy, Gentra, Mandy RZ, Vargas            | 0%      |
| 중 저항성  | Kori, Bachata RZ, Benino RZ, Top star                      | 20%     |
| 약 저항성  | Buffalo, Yecla, Silver star                                | 30~40%  |
| 감수성    | Super red, Super yellow GS, Cupra, Sunnys, Zafer, Flamingo | 50~100% |

## 4. 우리나라 최초 발생 농가의 방제 성공 사례



2008년 우리나라에서 토마토황화잎말림바이러스(TYLCV)가 처음 발생한 경남 통영지역의 한 농가에서 현지 방제 지도를 한 결과, 매우 심하게 발병한 온실이었음에도 동계 기간 중 온실을 개방하

여 매개충인 담배가루이를 동사시켜 방제하면 병 발생 없이 안전하게 토마토 재배를 할 수 있었다.

2008년 8월 통영 토마토 재배 농가의 포장은 토마토황화잎말림 바이러스에 100% 감염되었으며, 피해 증상도 식물체가 위축, 기형이 되어 재배가 불가능하였다. 농업인은 감염된 식물체를 철거한 후 다시 동일한 온실에서 토마토를 육묘하였고 다시 재배를 하였지만 당연히 매개충이 상존하는 온실에서 기른 묘를 바이러스에 감염되어 모든 토마토가 바이러스에 감염되어, 그 당시 토마토 가격으로 보면 2작기에 약 10억을 손실을 입었다.

이와 같이 큰 손실이 발생하고 난 후 그 농가는 바이러스 전문가의 현지 지도를 따르게 되었으며, 겨울 기간에 온실을 2개월간 개방하고 담배가루이를 동사시키고 살충제 살포로 온실 내부를 청결하게 한 다음, 토마토를 재배하여 더 이상 토마토황화잎말림 바이러스의 발생과 피해가 없었다.

우리나라는 제주도를 제외한 지역에서는 현재까지 담배가루이가 노지 상태에서 월동하지 못하는 것으로 알려져 있다. 통영지역에서 월동 가능성을 검토한 결과 정상적인 담배가루이로 월동하기 어려운 것으로 보고하고 있다.

토마토황화잎말림바이러스와 같이 식물 바이러스는 바이러스에 직접적인 방제 농약이 없다 하여도, 전염원과 매개충을 없애므로서 안전한 영농이 가능하며, 이것은 바이러스병 뿐만 아니라 모든 병 방제의 기본이다.

- ACUÑA, R. 1993. Outbreaks of plum pox virus in Chile. Conference on Plum Pox Abhary M, Patil B, Fauquet C. 2007. Molecular biodiversity, taxonomy, and nomenclature of tomato yellow leaf curl-like viruses. In: Czosnek H, editor. Tomato yellow leaf curl virus disease. pp. 85–118.
- Abrahamian, P.E., and Abou-Jawdah, Y. 2013. Detection and quantitation of the new world Squash leaf curl virus by TaqMan real-time PCR. *Journal of Virological Methods* 191: 76–81.
- Aggi Horticulture. 2014. Squash leaf curl virus. Texas A&M University. 4pp.
- Al-Musa, A., Anfoka, G., Misbeh, S., Abhary, M., and Ahmad, F.H. 2008. Detection and molecular characterization of Squash leaf curl virus (SLCV) in Jordan. *J. phytopathology* 156: 311–316.
- Ali-Shtayeh, M.S., Jamous, R.M., Hussein, E.Y., Mallah, O.B., Abu-Zeitoun, S.Y. 2014. Squash leaf curl virus (SLCV): a serious disease threatening cucurbits production in Palestine. *Virus Genes* 48: 320–328
- Anfoka GH, Abhary M, Nakhla MK, 2005. Molecular identification of species of the tomato yellow leaf curl virus complex in Jordan. *Journal of Plant Pathology* 87, 61–6.
- Anfoka, G., F. Haj Ahmad, M. Abhary and A. Hussein. 2009. Detection and molecular characterization of viruses associated with tomato yellow leaf curl disease in cucurbit crops in Jordan *Phytopathology* 58: 754–762
- Antignus Y, Cohen S (1994) Complete nucleotide-sequence of an infectious clone of a mild isolate of Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV). *Phytopathology* 84: 707–712.
- Bananej K, Ahoonmanesh A, Shahraeen N (1998) Occurrence and identification of Tomato yellow leaf curl virus from Khorasan province of Iran. 193 p. *Proc the 13th Iranian Plant Protec Karaj, Iran*.
- Bananej K, Kheyr-Pour A, Salekdeh GH, Ahoonmanesh A (2004) Complete nucleotide sequence of Iranian tomato yellow leaf curl virus isolate: further evidence for natural recombination amongst begomoviruses. *Arch Virol* 149: 1435–1443.
- Bananej K, Vahdat A, Hosseini-Salekdeh G (2009) Begomoviruses Associated with Yellow Leaf Curl Disease of Tomato in Iran. *J Phytopathol* 157: 243–247.
- Behjatnia SAA, Izadpanah KA, Dry I, Rezaian MA (2003) Molecular characterization and taxonomic position of the Iranian isolate of Tomato leaf curl virus. *Iran J Plan Pathol* 40: 77–94.
- Briddon RW, Bull SE, Mansoor S, Amin I, Markham PG (2002) Universal primers for the PCR-mediated amplification of DNA beta: a molecule associated with some monopartite begomoviruses. *Mol Biotechnol* 20: 315–318.
- Brown, J.K., Ostrow, K.M., Idris, A.M., and. Stenger, D.C. 1999. Biotic, molecular, and phylogenetic characterization of Bean calico mosaic virus, a Distinct Begomovirus Species with affiliation in the Squash leaf curl virus cluster. *Phytopathology* 89: 273–280.
- Brunt, A.A., Molyneux, S., Cohen, S. 1986. Squash leaf curl bigeminivirus. *Plant Virus Online*.
- CABI and EPPO. 2014. Squash leaf curl bigeminivirus. 4pp.
- CABI. 2012. Squash leaf curl virus. page 30pp
- CABI. Invasive species compendium. 2013. Tomato yellow leaf curl virus. [www.cabi.org](http://www.cabi.org).
- Center for invasive species and ecosystem healthy. 2013. Squash leaf curl virus. University of Georgia 2pp.
- Crescenzi A, Comes S, Napoli C, Fanigliulo A, Pacella R, et al. (2004) Severe outbreaks of tomato yellow leaf curl Sardinia virus in Calabria, Southern Italy. *Commun Agric Appl Biol Sci* 69: 575–580.
- Czosnek H, Laterrot H (1997) A worldwide survey of tomato yellow leaf curl viruses. *Arch Virol* 142: 1391–1406.
- Czosnek, H., Ghanim, M., and Ghanim, M. 2002. The circulative pathway of begomoviruses in the whitefly vector *Bemisia tabaci* - insights from studies with Tomato yellow leaf curl virus. *Ann. appl. Biol.* 140:215–231.
- Davino S, Napoli C, Dellacrose C, Miozzi L, Noris E, et al. (2009) Two new natural begomovirus recombinants associated with the tomato yellow leaf curl disease co-exist with parental viruses in tomato epidemics in Italy. *Virus Res* 143: 15–23
- Delatte H, Holota H, Naze F, Peterschmitt M, Reynaud B, et al. (2005) The presence of both recombinant and nonrecombinant strains of Tomato yellow leaf curl virus on tomato in Reunion Island. *Plant Pathol* 54: 262–262.
- Devaraja, et al. 2005. Purification fo TYLCV and production polyclonal antibodies. *Current science* 89(1): 83–89.
- Díaz-Pendón JA, Nizares MC, Moriones E, Bejerano ER, Czosnek H, et al. (2010) Tomato yellow leaf curl viruses: ménage à trois between the virus complex, the plant and the whitefly vector. *Mol Plant Pathol* 11: 441–450.
- Duffus, J. E., Stenger D. C. 1998. Squash leaf curl virus. *Descriptions of Plant Viruses* 358
- Duffy S, Holmes EC (2007) Multiple introductions of the Old World begomovirus Tomato yellow leaf curl virus into the New World. *Appl Environ Microbiol* 73: 7114–7117.
- Duffy S, Holmes EC (2008) Phylogenetic evidence for rapid rates of molecular evolution in the single-stranded DNA begomovirus tomato yellow leaf curl virus. *J Virol* 82: 957–965.
- Edelbaum, D., Gorovits, R., Sasaki, S., Lkegami, M., and Czosnek, H. 2009. Expressing a whitefly GroEL protein in *Nicotiana benthamiana* Plants confers tolerance to Tomato yellow leaf curl virus and Cucumber mosaic virus, but not to Grapevine virus A or Tobacco mosaic virus. *Arch Virol* 154:399–407.
- Fauquet CM, Briddon RW, Brown JK, Moriones E, Stanley J, et al. (2008) Geminivirus strain demarcation and nomenclature. *Arch Virol* 153: 783–821.
- Fauquet CM, Sawyer S, Idris AM, Brown JK (2005) Sequence analysis and classification of apparent recombinant begomoviruses infecting tomato in the Nile and Mediterranean basins. *Phytopathology* 95: 549–555.
- Fauquet, C.M., R. W. Briddon, J. K. Brown, E. Moriones, J. Stanley, M. Zerbini, X. Zhou. 2008. Geminivirus strain demarcation and nomenclature. *Arch Virol*
- Fazeli R, Heydarnejad J, Massumi H, Shaabani M, Varsani A (2009) Genetic diversity and distribution of tomato-infecting begomoviruses in Iran. *Virus Genes* 38: 311–319.
- García-Andrés S, Accotto GP, Navas-Castillo J, Moriones E (2007) Founder effect, plant host, and recombination shape the emergent population of begomoviruses that cause the tomato yellow leaf curl disease in the Mediterranean basin. *Virology* 359: 302–312.
- García-Andrés S, Monci F, Navas-Castillo J, Moriones E (2006) Begomovirus genetic diversity in the native plant reservoir *Solanum nigrum*: Evidence for the presence of a new virus species of recombinant nature. *Virology* 350: 433–442.
- Ghanim, M., and Medina, V. 2007. Localization of Tomato yellow leaf curl virus in its whitefly vector *Bemisia tabaci*. in *Tomato yellow leaf curl virus disease* pp171–183.
- Ghanim, M., Morin, S., Zeidan, M., and Czosnek, H. 1998. Evidence for transovarial transmission of Tomato yellow leaf curl virus by its vector the whitefly *Bemisia tabaci*. *Virology* 240: 295–301.
- Ghanim, M. and Czosnek, H. 2000. Tomato yellow leaf curl geminivirus (TYLCV-IS) is transmitted among whiteflies (*Bemisia tabaci*) in a sex-related manner. *J. Virology* 74: 4738–4745.
- Grasso C, Lee C (2004) Combining partial order alignment and progressive multiple sequence alignment increases alignment speed and scalability to very large alignment problems. *Bioinformatics* 20: 1546–1556.

- Guindon S, Gascuel O (2003) A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Syst Biol* 52: 696–704.
- Hajimorad M, KheyrPour A, Alavi V, Ahoonmanesh A, Bahar M, et al. (1996) Identification of whitefly transmitted tomato yellow leaf curl geminivirus from Iran and a survey of its distribution with molecular probes. *Plant Pathol* 45: 418–425.
- Hanssen IM, Lapidot M, Thomma BPHJ (2010) Emerging viral diseases of tomato crops. *Mol Plant Microbe Interact* 23: 539–548.
- Hoefert, L.. 1987. Association of Squash leaf curl virus with nuclei of squash vascular cells. *Phytopathology* 77: 1596-1600.
- Idris AM, Brown JK (2005) Evidence for interspecific-recombination for three monopartite begomoviral genomes associated with the tomato leaf curl disease from central Sudan. *Arch Virol* 150: 1003–1012.
- Idris, A.M., Abdel-Salam, A., Brown, J.K. 2006. Introduction of the New World Squash leaf curl virus to Squash (*Cucurbita Pepo*) in Egypt: A Potential threat to important food crops. *Plant disease* 90(9): 1262
- Idris, A.M., Mills-Lujan, K., Martin, K. and Brown, J.K. 2008. Melon chlorotic leaf curl virus: Characterization and differential reassortment with closest relatives reveal adaptive virulence in the Squash leaf curl virus cluster and host shifting by the host-restricted Bean calico mosaic virus. *J. Virol.* 82(4): 1959.
- Jungan park, Eui-joon Kil, Jaedeok kim, Yong-gil shin, Noh-youll Heo and Sukchan Lee. 2014. Rapid Detection and Identification of six Tomato Yellow leaf curl virus isolates from Different Regions Using Polymerase Chain Reaction and Restriction Enzyme Analysis. *Journal of Phytopathology* 162: 209-217
- Just,K., W. N. Leke, M. N. Sattar, A. Luik and A. Kvarnheden. 2014. Detection of tomato yellow leaf curl virus in imported tomato fruit in northern Europe. *Plant Pathology* 63: 1454-1460
- Khan AJ, Idris AM, Al-Saady NA, Al-Mahraki MS, Al-Subhi AM, et al. (2008) A divergent isolate of tomato yellow leaf curl virus from Oman with an associated DNA beta satellite: an evolutionary link between Asian and the Middle Eastern virus-satellite complexes. *Virus Genes* 36: 169–176.
- Kil, E.J., H.S. Byun, S. Kim, and H. Hwang, 2014. First Report of Tomato yellow leaf curl virus Infecting Eustoma (*Eustoma grandiflorum*) in Korea. *Plant Disease* 98(8): 1163.
- Kil, E.J., H.S. Byun, S.H. Kim, J.D. Kim, J.G. Park, S.C. Cho, D.C. Yang, K.Y. Lee, H.S. Choi, J.K. Kim, S.C. Lee. 2014. Sweet pepper confirmed as a reservoir host for tomato yellow leaf curl virus by both agro-inoculation and whitefly-mediated inoculation. *Arch Virol.* 159(9):2387-2395.
- Kil, E.J., H.S. Byun, S.H. Kim, J.D. Kim, J.G. Park, S.C. Cho, D.C. Yang, K.Y. Lee, H.S. Choi, J.K. Kim, S.C. Lee. 2014. First report of TYLCV infecting flower plant in Korea. *Plant Disease* 98.
- Kim, M.G., Yang, J.Y., Chung, N.H., and Lee, H.S. 2012. Photo-response of tobacco whitefly, *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae), to Light-emitting Diodes. *J Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 55: 567-569.
- Kliot, A., and Ghanim, M. 2013. The Role of bacterial chaperones in the circulative transmission of plant viruses by insect vectors. *Viruses* 5: 1516-1535
- Kon, T., Dolores, L.M., Bajet, N.B., Hase, S., Takahashi, H., and Ikegami, M. 2003. Molecular characterization of a strain of Squash leaf curl China virus from the Philippines. *J. phytopathology* 151, 535-539.
- Kuan, C.P., Huang, H.C., Chang, C.C., and Lu, Y.L. 2012. TaqMan real-time PCR for detection and quantitation of Squash leaf curl virus in cucurbits. *Journal of Virological Methods* 179: 367-372.
- Kuan, C.P., Wu, M.T., Lu, Y.L., and Huang, H.C. 2010. Rapid detection of Squash leaf curl virus by loop-mediated isothermal amplification. *Journal of Virological Methods* 169 : 61-65 .
- Lee, H.J., W.G. Song, H.R. Kwak, S.C. Lee, and H.S. Choi. 2010. Phylogenetic analysis and inflow route of TYLCV and *B. tabaci* in Korea. *Mol. Cells* 30: 467-476.
- Lefevre P, Martin DP, Harkins G, Lemey P, Gray AJA, et al. (2010) The Spread of Tomato Yellow Leaf Curl Virus from the Middle East to the World. *PLoS Pathog* 6(10): e1001164. doi:10.1371/journal.ppat.1001164
- Liao, J.Y., Hu, C.C., Lin, T.K., Chang, C.A., and Deng, T.C. 2007. Identification of Squash leaf curl Philippines virus on *Benincasa hispida* in Taiwan. *Plant Pathol. Bull.* 16:11-18.
- Martin D, Rybicki E (2000) RDP: detection of recombination amongst aligned sequences. *Bioinformatics* 16: 562–563.
- Martin DP, Posada D, Crandall K, Williamson C (2005) A modified bootscan algorithm for automated identification of recombinant sequences and recombination breakpoints. *AIDS Res Hum Retro* 21: 98–102.
- Martin DP, Williamson C, Posada D (2005) RDP2: recombination detection and analysis from sequence alignments. *Bioinformatics* 21: 260–262.
- McCreight, J.D., and Kishaba, A.N. 1991. Reaction of cucurbit species to Squash leaf curl virus and Sweet potato Whitefly. *J. AMER. SOC. HORT. SCI.* 116(1):137-141.
- McGlashan D, Polston J, Bois D (1994) Tomato Yellow Leaf Curl Geminivirus in Jamaica. *Plant Disease* 78: 1219–1219.
- Medina, V., Pinner, M.S., Bedford, I.D., Achon, M.A., Gemenio, C., and Markham, P.G. 2006. *Journal of Plant Pathology* 88: 299-308.
- Medina,V., M.S. Pinner, I.D. Bedford, M.A. Achon, C. Gemenio and P.G. Markham. 2006. Immunolocalization of Tomato yellow leaf curl Sardinia virus in natural host plants and its vector *Bemisia tabaci*. *Journal of Plant Phytopathology* 88: 299-308
- Miwa Uchibori, Aiko Hirata, Masashi Suzuki, Masashi Ugaki. 2013. Tomato yellow leaf curl virus accumulates in vesicle-like structures in descending and ascending midgut epithelial cells of the vector whitefly, *Bemisia tabaci*, but not in those of nonvector whitefly *Trialeurodes vaporariorum*. *J Gen Plant Pathol.* 79: 115-122
- Mohammed S.A., Jamous, R.M., Mallah, O.B., and Abu-Zeitoun. 2014. Molecular characterization of watermelon chlorotic stunt virus (WmCSV) from Palestine. *Viruses* 6: 2444-2462.
- Mohammed, E.F., Azza G. Farag, Osman T. A. M., and Eman, A. A. 2012 Histo-pathological changes in leaves cells of squash plants infected with Squash leaf curl begomovirus (SqLCV). *Report and Opinion* 4: 5: 65-75.
- Mohammed, R.S.U., Deepan, S., Dharanivasan, G., Jesse, M.I., Muthuramalingam, R., and Kathiravan, K. 2013. First report on a variant of Squash leaf curl China virus (SLCCNV) infecting *Benincasa hispida* in India. *New disease Reports* 28: 20.
- Morilla,G., D. Janssen, S. Garcia-Andres, E. Moriones, I. M. Cuadrado, and E. R. Bejarano. 2005. Pepper(*Capsicum annuum*) is a Dead-End Host for tomato yellow leaf curl virus. *Phytopathology* 95: 1089-1097
- Moriones E, Navas-Castillo J (2008) Rapid evolution of the population of begomoviruses associated with the tomato yellow leaf curl disease after invasion of a new ecological niche. *Span J Agric Res* 6: 147–159.
- Muhammad Shafiq Shahid, Takuya Ito, Junji Kimbara, Ayumu Onozato, Keiko T, Natsuaki and Masato Ikegami. 2013. Evaluation of tomato Hybrids Carrying Ty-1 and Ty-2 Loci to Japanese Monopartite Begomovirus Species. *Journal of Phytopathology* 161: 205-209
- Nakhla MK, Mazyad HM, Maxwell DP, 1993. Molecular characterization of four tomato yellow leaf curl virus isolates from Egypt and development of detection methods. *Phytopathologia Mediterranea* 32, 163–73
- Navas-Castillo J, Sánchez-Campos S, Díaz A, Sáez E, Moriones E, 1999. Tomato yellow leaf curl virus-*IS* causes a novel disease of common bean and severe epidemics in tomato in Spain. *Plant Disease* 83, 29–32.

- Navas-Castillo J, Sanchez-Campos S, Diaz J, Saez-Alonso E, Moriones E (1999) Tomato yellow leaf curl virus-Is causes a novel disease of common bean and severe epidemics in tomato in Spain. *Plant Disease* 83: 29–32.
- Navas-Castillo J, Sánchez-Campos S, Noris E, Louro D, Accotto GP, et al. (2000) Natural recombination between Tomato yellow leaf curl virus-is and Tomato leaf curl virus. *J Gen Virol* 81: 2797–2801.
- Navot N, Pichersky E, Zeidan M, Zamir D, Czosnek H (1991) Tomato yellow leaf curl virus: a whitefly-transmitted geminivirus with a single genomic component. *Virology* 185: 151–161.
- Navot N, Pichersky E, Zeidan M, Zamir D, Czosnek H, 1991. Tomato yellow leaf curl virus: a whitefly-transmitted geminivirus with a single genomic component. *Virology* 185, 151–61
- OEEP/EPPO. 2005. Tomato yellow leaf curl and Tomato mottle begomoviruses. *Bulletin* 35: 319-325.
- Owor BE, Shepherd DN, Taylor NJ, Edema R, Monjane AL, et al. (2007) Successful application of FTA Classic Card technology and use of bacteriophage phi29 DNA polymerase for large-scale field sampling and cloning of complete maize streak virus genomes. *J Virol Methods* 140: 100–105.
- Padidam M, Sawyer S, Fauquet CM (1999) Possible emergence of new geminiviruses by frequent recombination. *Virology* 265: 218–225.
- Paul J. De Barro, Sri Hendrastuti Hidayat, Don Frohlich, Siti Subandiyah, Shigenori Ueda. 2008. A virus and its vector, pepper yellow leaf curl virus and Bemisia tabaci, two new invaders of Indonesia. *Biol Invasions* 10: 411-433
- Peter E. A. and Abou-Jawdah, Y. 2013. Detection and quantitation of the new world Squash leaf curl virus by TagMan real tie PCR. *Joournal of Virological Methods* 191: 76-81
- Peterschmitt M, Granier M, Mekdoud R, Dalmon A, Gambin O, et al. (1999) First report of tomato yellow leaf curl virus in Reunion Island. *Plant disease* 83: 303–303.
- Pico B, Diez M, Nuez F (1996) Viral diseases causing the greatest economic losses to the tomato crop. 2. The Tomato yellow leaf curl virus - A review. *Sci Horti* 67: 151–196.
- Polston J, McGovern R, Brown L (1999) Introduction of tomato yellow leaf curl virus in Florida and implications for the spread of this and other geminiviruses of tomato. *Plant Disease* 83: 984–988.
- Polston, J. E., Dodds, J. A., Perring, T. M. 1989. Nucleic acid probes for detection and strain discrimination of cucurbit geminiviruses. *Phytopathology* 79: 1123-1127
- Rojas MR, Gilbertson RL, Russell DR, Maxwell DP (1993) Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminiviruses. *Plant disease* 77: 340–347.
- Russo, M., S. Cohen, G.P. Martelli. 1980. Virus-like Particles in Tomato Plants Affected by the Yellow Leaf Curl Disease J. gen. Virol 49, zo9-213.
- Sánchez-Campos S, Díaz JA, Monci F, Bejarano ER, Reina J, et al. (2002) High Genetic Stability of the Begomovirus Tomato yellow leaf curl Sardinia virus in Southern Spain Over an 8-Year Period. *Phytopathology* 92: 842–849.
- Sanchez-Campos S, Navas-Castillo J, Camero R, Soria C, Diaz J, et al. (1999) Displacement of tomato yellow leaf curl virus (TYLCV)-Sr by TYLCV-Is in tomato epidemics in Spain. *Phytopathology* 89: 1038–1043.
- Sawangjit, S. 2009. The complete nucleotide sequence of Squash leaf curl China virus-Wax gourd and its phylogenetic relationship to other geminiviruses. *Science Asia* 35: 131-136.
- Shahriary D, Bananej K (1998) Occurrence of Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) in tomato fields of Varamin. *J Appl Entomol Phytopathol* 29–30.
- Shepherd DN, Martin DP, Lefevre P, Monjane AL, Owor BE, et al. (2008) A protocol for the rapid isolation of full geminivirus genomes from dried plant tissue. *J Virol Methods* 149: 97–102.
- Shiro Fukuta , Shinro Kato, Keiko Yoshida, Yuko Mizukami, Akira Ishida, Junnichi Ueda, Michio Kanbe, Yoshiyuki Ishimoto. 2003. Detection of tomato yellow leaf curl virus by loop-mediated isothermal amplification reaction. 112: 35–40
- Siobain Duffy and Edward C. Holmes. 2007. Effect of sweetpotato whitefly, Bemisia tabaci(Homoptera:Aleyrodidae) infestation on eggplant (Solanum melongena L.)leaf. *J Pest Sci* 82: 211-215
- Siobain Duffy and Edward C. Holmes. 2007. Multiple Introductions of Old World Begomovirus Tomato yellow leaf curl virus into the New World. *Applied and environmental microbiology* 73: 7114-7117
- Stonor J, Hart P, Gunther M, DeBarro P, Rezaian M (2003) Tomato leaf curl geminivirus in Australia: occurrence, detection, sequence diversity and host range. *Plant Pathol* 52: 379–388.
- Sufrin-Ringwald, T., and Lapidot, M. 2011. Characterization of a synergistic Interaction Between two Cucurbit-Infecting Begomoviruses: Squash leaf curl virus and Watermelon chlorotic stunt virus. *Phytopathology* 101: 281-289.
- Sugiyama K, Matsuno K, Doi M, Tatara A, Kato M, et al. (2008) TYLCV detection in Bemisia tabaci (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) B and Q biotypes, and leaf curl symptom of tomato and other crops in winter greenhouses in Shizuoka Pref., Japan. *Appl Entomol Zool* 43: 593–598.
- Tahir, M., Haider, M.S., Briddon, R.W. 2010. First report of Squash leaf curl China virus in Pakistan. *Australasian Plant Disease Notes*. Volume 5, Issue 1, pp 21-24
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S (2007) MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol Biol Evol* 24: 1596–1599.
- Webb, S. E., Akad F., Nyoike T. W., Liburd O. E., and Polston J. E. 2013. Whitefly-transmitted Cucurbit leaf crumple virus in Florida. University of Florida IFAS Extension.
- Xie, Y., Zhou, X.P. 2003. Molecular characterization of Squash leaf curl Yunnan virus, a new begomovirus and evidence for recombination. *Arch Virol* 148: 2047-2054.
- Yueyan Yin, Kuanyu Zheng, Jiahong Dong, Qi Fang, Shiping Wu, Lishuang Wang and Zhongkai Zhang. 2014. Identification of a new tospovirus causing necrotic ringspot on tomato in China. Yin et al. *Virology Journal* 2014, 11:213.
- Zambrano K, Carballo O, Geraud F, Chirinos D, Fernandez C, et al. (2007) First report of Tomato yellow leaf curl virus in Venezuela. *Plant Disease* 91: 768–768.

# 토마토황화잎말림바이러스

## *Tomato leaf curl virus*

---

초판인쇄 | 2016년    월    일

초판발행 | 2016년    월    일

저    자 | 김정수

발 행 인 | 김경자

발 행 처 | 국립안동대학교, 국립농업과학원,  
태현미디어

기    획 | 태현미디어

편    집 | 이성기, 김혜진

제    작 | 태현미디어

등록번호 | 제2014-000151호

문 의 처 | 태현미디어 (02)2266-8826

ISBN 979-11-953827-5-0

본서의 내용은 온·오프라인을 통해서 전재·복사·  
모방·배포가 저작권법에 의해 금지되어 있습니다.