

## 벼 줄무늬잎마름病 바이러스에 對한 血清學的인 檢討

金 基 淸\*

Serological Study on Rice Stripe Virus

Kee Chung Kim\*

(接受 75. 11. 17)

## Abstract

This experiment was performed to clarify the concentration of rice stripe virus in the rice plant leaves by serological test, and was attempted to inspect the virus carrier among small brown planthopper by antibody-sensitized hemagglutination test. The antiserum was prepared by injecting intervenously into the external marginal vein of the ear of a rabbit. The precipitin titer of it was 1 : 16. The rough virus fluid prepared from diseased leaves was centrifuged at 10,000 rpm, and then the supernatant solution was treated at 55°C for 5 minutes and the solution clarified by removing the agglutinate was used as the antigen solution. Antibody-sensitized erythrocyte solution was prepared from sheep erythrocytes sensitized by rice stripe virus with tannic acid, and its agglutination titer was 1 : 512.

The virus concentrations in flag leaves or first leaves just below them showing different symptoms was high with progressing the severity of symptoms. And the concentrations of the virus in leaves of varieties of the rice plant showing same degree symptom were lower in susceptible varieties, Sadominori, Palgoeng, Mangyong and Nihonbare, than in the resistant one, Tongil, but in Yooshin which was known as the resistant, lower rather than in Tongil. The reaction of antibody-sensitized hemagglutination test to inspect the virus carrier, was so highly sensitive that this reaction was recognized as a method which is able to identify the carrier accurately in short time.

## 서 언

벼 줄무늬잎마름病은 해를 거듭함에 따라 그被害面積이 增加하고 있다. 이에 따라 이 病에 關해서도 많은 研究가 進行되고 있으나 그 大部分은 栽培學的인 面에서의 防除方法에 關한 것이며 病原바이러스에 關한 研究結果는 거의 없는 것으로 믿어진다. 本研究에서는 이 病的 病原바이러스에 關한 여러 가지 實驗에 있어서 미리 檢討되어야 할 基本的인 몇가지 問題를 밝히려 하였다.

即, 本病은 全身病이기 때문에 全植物體內에 바이러스가 分布되어있을 것으로 생각되나 孫工 等<sup>5,6)</sup>에 依하면 人工接種結果 接種葉에서부터 上位 둘째 잎에서는 바이러스가 認定되었으나 그 以下の 葉에서는 病徵

도 나타나지 않았고 바이러스도 認定되지 않았다. 따라서 全身病이라고는 하지만 病徵의 發現程度에 따라서 바이러스의 濃도에 差異가 있을 것이 豫測되므로 이를 檢討하였고 다음 本病의 抵抗性을 달리한 品種間의 바이러스濃度差를 檢討하였다.

한편 本病의 發生豫察을 爲한 越冬 애벌거의 保毒虫率 調査는 從來 幼苗檢定으로 實施하여왔으나 이 方法의 遂行過程에서 試驗管壁에 물기가 있어 애벌거가 이에 附着하여 死滅해버리는 일이 많을 뿐 아니라 많은 벼 個體를 取扱해야 하는 등의 어려운 점이 많다. 그러므로 保毒虫率을 抗體感作赤血球凝集反應에 依해서 檢定해 보려고 試圖했으며 이의 問題點을 補完할 수 있는 基礎的인 資料를 얻고자 하였다.

\* 全南大學校農科大學

\* College of Agriculture, Chonnam National University, Kwangju, Korea

## 材料 및 方法

抗血清의 調製; 園場에서 淡黃色 줄무늬가 뚜렷한 「사도미노리」罹病葉을 採取하여 하루밤 凍結시킨 다음 生體重의 2倍量의 生理食鹽水를 加하여 잘 磨碎하고 이것을 guaze로 搾汁하여 얻은 汁液을 3,000 rpm에 15分間, 2回 遠心分離시킨 上澄液을 家兔에 靜脈注射하였다. 注射는 6, 5, 3 ml씩 1週間隔으로 實施하였으며 最終注射後 10日 만에 試探血, 15日 後에 全採血하여 하루밤 冷蔵해서 抗血清을 얻었다.

抗原液의 調製; 6品種 「사도미노리」의 止葉 및 그 下部 第一葉에서 다음과 같은 基準으로 罹病葉을 採取하여 生體重의 倍量의 生理食鹽水를 添加磨碎하였다. 이것을 10,000 rpm으로 遠沈, 沈澱物을 除去하고 上清을 55°C에 5分間 處理하여 3,000 rpm 遠沈, 凝固物

을 除去한 透明한 液을 抗原液으로 使用하였다.

實驗 3에 있어서는 統一(R), 사도미노리(S), 팔굉(S), 만경(S), 니혼바레(S), 유신(R)의 6個 品種을 供試하였는데 罹病葉은 下記區分基準의 4를 採取하여 上記의 方法으로 抗原液을 만들었다.

### 病徵의 區分基準

(記號) (症狀)

1. 健全葉
2. 不鮮명한 淡綠色 斑點이 葉全體에 散在.
3. 葉의 一部에 黃~黃白色의 條斑.
4. 病斑이 縞狀으로 連結하여 葉全體에 發生.
5. 縞狀의 病斑이 不鮮明히져서 葉全體가 黃化.
6. 全葉이 黃化하여 捲葉 下垂한 것.

沈澱反應混合法<sup>1,3,7</sup>; 村山 等<sup>2</sup>이 記述한 方法에 準하

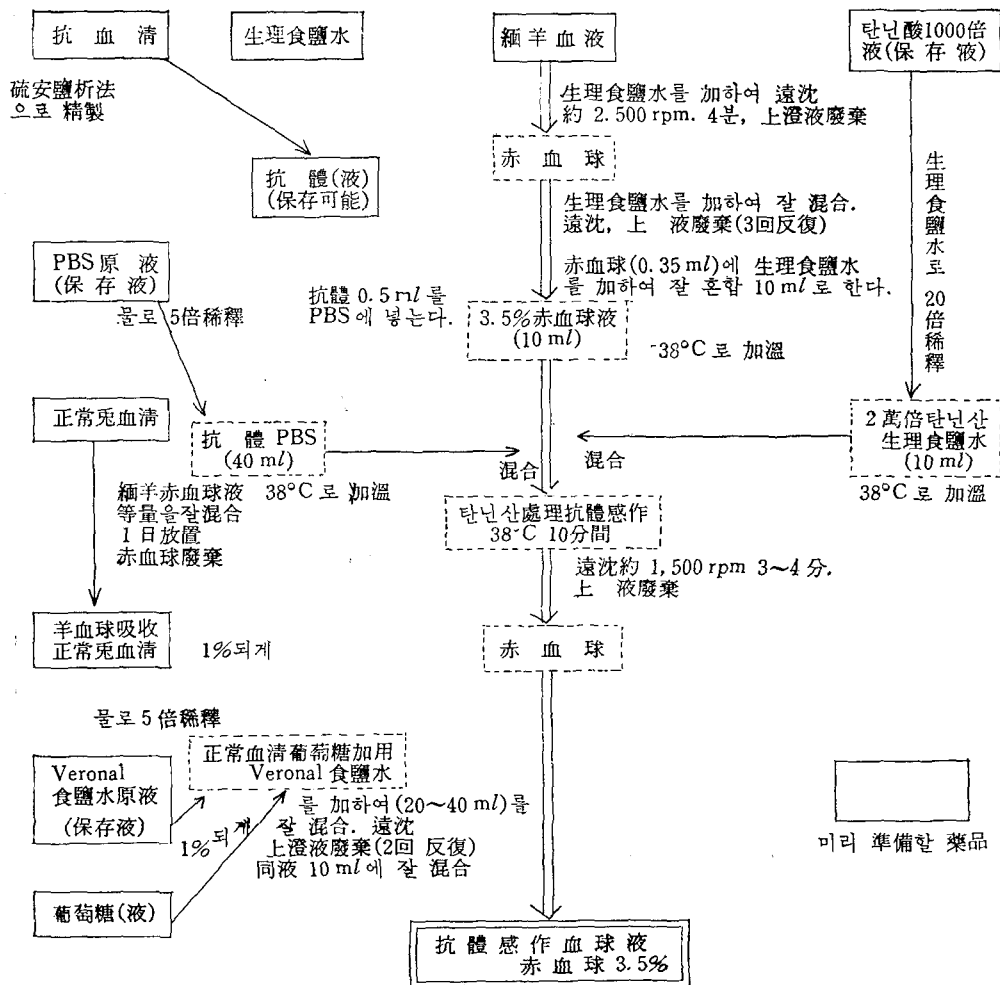


그림 1. 抗體感作赤血球調製順序

그림 1. 抗體感作赤血球調製順序

였다.

抗體感作赤血球凝集反應<sup>10,14)</sup>

抗體; 前記의 抗血清을 硫酸鹽析法에 依해서 精製하였다.

抗體感作赤血球液의 調製<sup>10)</sup>; 그림1의 調製順序에 따라 處理하였다.

保毒虫의 檢定; 小試驗管(內徑 11 mm, 길이 8 cm)에 한 마리씩 애벌거리를 넣고 유리棒으로 壓殺한 다음血清加用 Veronal solution 1.5 ml 를 加하여 유리棒으로 磨碎, 虫體內容物을 液에 잘 混合시킨다음 이것을 가볍게 遠沈하여 上澄液 0.5 ml 를 別途試驗管에 取하고 여기에 0.1 ml 의 感作赤血球를 加한 다음 잘 混合하여 하루밤 靜置시켜 凝集反應을 調査하였다.

### 結果 및 考察

#### 實驗 1. 벼줄무늬마름病 바이러스의 抗血清

벼줄무늬마름病 罹病葉汁을 家兎에 耳靜脈 注射하여 얻은 抗血清의 抗體價는 Table 1 에 表示한 바와 같이 아주 낮은 16 倍에 不過하였다. 安尾 等<sup>18,10)</sup>의 結果도 32-64 였음을 감안할 때 靜脈注射에 依한 方法으로는 그렇게 큰 抗體價를 갖는 抗血清을 얻기 어려운 듯하다. 安尾 등도 이러한 點을 指摘하였고 adjuvant 를

利用한 腹腔內注射에 依해서 抗體價를 多少 높이고 있다.

#### 實驗 2. 病徵 程度와 바이러스濃度

바이러스濃度를 定量하는 方法으로 汁液接種可能한 것이면 接種試驗에 依한 生物的 定量이 可能하나 虫媒傳染만을 하는 것은 無毒虫을 利用하여 罹病植物로부터 健全植物에의 傳染率에 依한 罹病植物中의 바이러스濃度를 定量하는 方法과 血清反應에 依해서 定量하는 方法이 있다. 本病은 虫媒傳染만을 하므로 血清反應, 即 沈降反應混合法에 依해서 反應終末點法으로 測定하였다. 그 結果는 Table 2 와 같다. Table 2 에서 보는 바와 같이 處理 2 時間後에도 陽性反應을 나타내는 것이 相當數 있었으나 大部分 病徵이 甚한 것이었으며 一貫性 있는 結果는 處理 10 時間 後였는데 病徵이 甚할수록 바이러스의 濃度는 높았다.

即, 葉全體에 줄무늬를 形成한 것이나 줄무늬가 不鮮明해져서 葉全體가 黃化한 것, 또 黃化하여 捲葉下垂한 것 등은 모두 바이러스濃度가 높았다. 이에 反하여 健全葉이나 生理食鹽水, 正常血清은 모두 陰性反應이었다. 이 結果는 安尾 等<sup>7)</sup>이 農林 29 號에 對해서 調査한 것과 一致한다.

#### 實驗 3. 벼 品種과 바이러스濃度

Table 1. Precipitin titer of rabbit antiserum immunized with rice stripe virus

Antigen	Dilution times of antiserum							saline	normal serum
	0	2	4	8	16	32	64		
sap of diseased leaf	±	+	++	+++	+	±	-	-	-

Table 2. Result of flocculation test to determine the virus concentration in stripe diseased rice leaf showing different symptoms. (antiserum final dilution 8 times)

symbol <sup>a</sup> of symptom	reaction of antigen diluted:					saline	normal serum
	0	2	4	8	16		
1	±(-) <sup>b</sup>	-(-)	-(-)	-(-)	-(-)	-	-
2	+(-)	++(±)	+(±)	-(-)	-(-)	-	-
3	+(-)	++(-)	++(-)	+(-)	±(-)	-	-
4	++(-)	+++(++)	++(++)	+(-)	+(-)	-	-
5	+(-)	++(++)	++(++)	++(+)	+(-)	-	-
6	+++(+)	++(+)	++(++)	++(+)	+(±)	-	-

- a 1. Healthy plant.
2. Distributing the indistinctly yellowish green spots throughout entire leaf.
3. Forming a yellowish or pale stripe partially.
4. Forming stripes entirely.
5. Showing the yellowing entirely.
6. Rolling up and bending down.

b Signs in ( ) are results after two hours.

實驗 2에서의 結果에 依하면 病徵이 甚한 것은 바이러스濃度가 높고 病徵이 輕微하면 그 濃度가 낮다는 것은 明白하다. 벼의 品種에 따라 一般으로 罹病性인 것은 病徵이 甚하지만 抵抗性인 것은 甚한 病徵을 나타내는 것이 많지 않다. 抵抗性品種의 病徵은 大體로 前記한 病徵區分의 2 또는 3이 大部分인 것으로 미루어 보면 罹病性인 品種에 比하여 一般으로 바이러스濃度가 높은 것이 推察된다.

그렇다면 同一程度의 病徵을 나타내는 病葉內의 바이러스濃度는 어떠한 가를 調査한 結果(Table 3), 抵

抗性 品種인 「統一」이 罹病性이라 알려진 「사도미노리」, 「팔굉」, 「만경」보다 훨씬 높은 濃度를 나타냈는데 「사도미노리」보다는 8倍 혹은 그 以上, 「팔굉」이나 「만경」보다는 4倍 혹은 그 以上 程度의 높은 바이러스濃度를 가지고 있다 할 수 있다.

이 事實만을 생각하면 同一程度의 病徵을 發現시키는데 있어서 抵抗性인 品種에서는 罹病性인 品種에서 보다 더 많은 바이러스濃度가 要求된다고 할 수 있을 것이다. 換言하면 抵抗性의 發現은 바이러스의 增殖抑制에서 오는 것이 아니라 벼의 病徵發現이 抑制된 것

**Table 3.** Results of flocculation test to determine the virus concentration of stripe disease leaf showing same symptom (symbol 4) collected from various rice varieties. (antiserum final dilution 8 times)

Variety of rice plants	Susceptibility	reaction of antigen diluted:					normal serum
		0	2	4	8	16 times	
Sadominori	S	+++	++	+	±	-	-
Palgoeng	S	+++	+++	++	+	-	-
Mankyong	S	+++	+++	++	+	+	-
Nihonbare	S	++	+++	++	++	+	-
Tongil	R	±	++	+++	+++	+++	-
Yooshin	R	++	++	++	±	±	-

으로 解析할 수 있다. 그러나 抵抗性인 것으로 알려진 「維新」에 있어서는 바이러스濃度가 낮아 罹病性인 「사도미노리」程度였다. 한편 安尾 等<sup>7)</sup>의 結果에 依하면 罹病性인 「農林 29號」와 極抵抗性인 「觀音仙」은 同等한 바이러스濃度였으나 極抵抗性인 「Loktjan」品種은 위 2品種에 比하여 약간 낮았다고 한다.

이런 境遇의 解析은 侵入바이러스의 增殖抑制 내지는 不活性化에서 오는 抵抗性이라 할 수 있을 것인가? 要컨대, 現在의 結果만으로는 普遍的이고 一貫性 있는 解答은 얻기 어렵다고 생각된다. 보다 더 廣範圍한 試驗과 이에 따른 檢討에서 벼줄무늬잎마름病의 抵抗性 機構의 解析에 接近할 수 있는 실마리가 풀리지 않을까 생각된다. 한편 孫元 等<sup>5)</sup>은 抵抗性이 다른 品種間의 애벌레 唾液鞘形成數를 調査한 바 弱한 品種에 훨씬 많았다고 한다.

**實驗 4. 保毒虫에 對한 抗體感作赤血球 凝集反應.**

그림 1에서와 같은 順序로 抗體感作赤血球液을 만들어 前記한 方法으로 調製한 保毒虫의 抗原液과 處理한 結果(Table 4), 512倍라는 高度의 抗體價를 나타냈으나 調製 1日後에는 256倍로 떨어졌다. 그러나 保毒虫을 檢定하는 데는 아무런 支障이 없었다. 感作赤血球 調製當日 野外에서 採集한 애벌레 成虫의 벼줄무늬 잎마름병바이러스의 保毒與否를 調査한 바 Table 5와 같이 銳敏한 反應을 나타냈으며 50마리를 檢定한 結果 38%의 保毒虫率을 보였다. 勿論, 本實驗의 目的이 保毒虫率을 調査하기 위한 것이 아니기 때문에 被檢虫數는 많지 않으나 抗體感作赤血球 凝集反應에 依해서 保毒虫率을 短時間內에 손쉽게 檢定할 수 있다는 것은 明白한 것이라 믿어진다.

抗體感作赤血球 凝集反應에 依한 保毒虫率의 調査는

**Table 4.** Antibody-sensitized hemagglutination test of rice stripe virus.

Antigen	Dilution of antibody-sensitized erythrocyte.											saline
	0	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	
immediately after preparation	-	-	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	±	-
1 day after preparation	--	-	+++	+++	+++	++	++	+	+	±	-	-

抗體感作赤血球液을 調製하는데 初心者로서는 어려운 點이 多少 있겠으나 2-3回 練習하게 되면 손쉽게 할 수 있는 것이다. 다만 抗體를 保存하고 있어야 한다는 것인데 抗血清 그대로 冷凍하여 6個月이 保存可能하고 冷凍乾燥에 依한다면 數年間을 保存할 수 있으므로 큰 問題가 아니라고 생각된다. 地域에 따라 다르겠지만 緬羊血液을 求得하기 어려우므로 이를 代替할 수 있는 다른 血液을 探索코자 山羊(黑色)과 人血液(O型)을 使用해 보았으나 溶血이 甚하여 結果는 否이었다. 其他 다른 動物 即, 周圍에서 손쉽게 얻을 수 있는 血液에 依한 代替問題를 檢討할 必要가 있으리라 믿는다.

安尾 等<sup>10)</sup>에 依하면 保毒虫率의 調查方法을 比較하

**Table 5.** Antibody-sensitized hemagglutination test of small brown plant hopper collected from the paddy field.

plant hopper collected	reaction	plant hopper collected	reaction
1	-	26	-
2	-	27	++
3	-	28	±
4	+	29	+
5	+	30	-
6	+	31	-
7	-	32	±
8	++	33	±
9	-	34	-
10	-	35	-
11	-	36	-
12	+	37	+
13	-	38	-
14	+	39	-
15	++	40	+
16	+	41	+
17	-	42	±
18	-	43	-
19	+	44	++
20	±	45	-
21	±	46	±
22	+	47	±
23	-	48	+
24	-	49	+
25	-	50	-

Total 38%

여 幼苗檢定法보다는 發芽粗移植檢定法이 더욱 좋은 結果를 보였고 이보다는 血清檢定이 더 좋은 結果를 보였다고 한다. 이와같은 事實을 綜合해 보면 애멸구 保毒虫率 檢定은 抗體感作赤血球 凝集反應에 依한 것이 보다 正確한 結果를 얻을 수 있고 便利하리라 생각된다.

### 摘 要

벼줄무늬잎마름病 바이러스에 對한 血清學的인 檢討 結果를 다음과 같이 摘要한다.

1. 벼줄무늬잎마름病 바이러스는 抗原性を 갖고 있으며 抗體와 特異的인 血清反應을 나타냈다.
2. 家兎 靜脈注射에 依한 抗血清의 抗體價는 아주 낮아 16 倍에 不過하였다.
3. 벼 品種 「사도미노리」에 있어서 沈降反應混合法으로 測定한 結果 罹病葉의 病徵程度에 따라 바이러스 濃度에 差異가 認定되는데 病徵程度가 甚할수록 바이러스 濃度가 높았다.
4. 同程度의 病徵이라도 벼 品種에 따라 바이러스 濃度가 달랐는데 抵抗性品種인 「統一」에서는 높았고 罹病性인 「사도미노리」, 「팔광」, 「만경」, 「니혼바레」에서는 낮았다. 그러나 저항성 品種인 「維新」에서는 낮았다.
5. 抗體感作赤血球 凝集反應에 依한 抗體價는 아주 높아 512 倍였으며 保毒虫의 檢定試驗에서도 反應이 잘 나타나 38%라는 保毒虫率을 나타냈다.

### 引用 文 獻

1. Erwin Neter. 1956. Bacterial hemagglutination and Hemolysis. Bacteriological Review 20(2) : 166-188.
2. 村山大記, 下村 徹, 平井篤造. 1965. 血清反應, p. 526-528. 明日山秀夫等編 植物病理實驗法 日本植物防疫協會刊. 東京.
3. 齋藤康夫. 1961. 血清을 利用した 植物ウイルス의 診斷法. 植物防疫 15(12) : 531-534.
4. 齋藤康夫, 高梨和雄, 岩田吉人, 新井 浩, 松本 稔. 1961. ムギ斑葉モザイクウイルス感作赤血球凝集反應(講演要旨). 日本植物病理學會報 26(2) : 68.
5. 孫工彌壽雄, 櫻井義郎. 1973. ヒメトビウンカによるイネ縞葉枯病ウイルス의 傳搬 1. 保毒虫의 口針穿入方法とウイルス의 吐出. 日本植物病理學會報 39 : 60.
6. 孫工彌壽雄, 櫻井義郎. 1973. ヒメトビウンカによる縞葉枯病ウイルス의 傳搬 11. 保毒虫가 吐出した

ウイルスのイネ体内における轉流とその増殖部位。

日本植物病理學會報 39 : 109-119.

7. 安尾 俊, 柳田騏策, 山口富夫, 石井正義, 若山千代子. 1962. 昭和 36 年度夏作病害に関する試験成績—稲ウイルス病に関する研究. 農事試験場(謄寫印刷).
8. 安尾 俊, 柳田騏策, 山口富夫, 石井正義, 若山千代子. 1963. 昭和 37 年度夏作病害に関する試験成績—稲ウイルス病に関する研究. 農事試験場. (謄寫印刷).
9. 安尾 俊, 柳田騏策. 1963. イネ縞葉枯病, 萎縮病の血清學的研究(第 2 報)縞葉枯病ウイルスの抗體感作赤血球凝集反應について(講演要旨). 日本植物病理學會報 28(2) : 84.
10. 安尾 俊, 小野小三郎, 柳田騏策, 山口富夫, 石井正義, 淺賀宏一, 若山千代子. 1964. 昭和 38 年度夏作病害に関する試験成績—稲ウイルス病に関する研究. 農事試験場(謄寫印刷).