

血清學的方法에 의한 보리와 밀種자의 보리·줄무늬 모자이크 바이러스 感染相調査

羅 瑢 俊* · 朴 良 教*

Scrological detection of barley stripe mosaic virus infection
in the seeds of barley and wheat cultivars grown in Korea.

La, Yong-Joon* and Park, Yang-Kyo*

ABSTRACT

An attempt was made to find out whether barley stripe mosaic virus (BSMV) occurs in barley and wheat cultivars in Korea. Modified Hamilton's technique for serological detection of barley stripe mosaic virus was used to assay for BSMV in mature seed embryos. Of the 51 barley and wheat seed lots assayed, BSMV was detected in 34 of them. BSMV was detected in covered, naked, and malting barley as well as in wheat. The level of BSMV infection in the infected cultivars varied from 2~35%. This is the first reported occurrence of barley stripe mosaic virus in Korea.

緒 論

보리 줄무늬 모자이크病(Barley stripe mosaic disease)은 주로 보리와 밀에發生하는 種子傳染性 바이러스病으로서 世界의 麥作地帶에 널리 分布하며,^{11,19)} 이들 作物에 相當한 減收(19~41%)를 가져오는 것으로 알려져있다.^{4,5,6)}

이 病은 美國에서 오랜동안 false stripe란 病名으로 불리우면서 一種의 生理的인 病으로 생각되어왔으나, 1951年 McKinney¹⁴⁾에 의해 種子傳染性바이러스病으로 밝혀졌다. 이 病은 圃場에서 種子傳染, 花粉傳染, 接觸傳染을 하며 虫媒傳染과 土壤傳染은 하지않는 것으로 되어있다. 따라서 보리 줄무늬 모자이크病을 效果의 以防除하기 위해서는 이 病의 第一次의인 傳染源이 되는 바이러스感染種자를 除去하여 健全種자를 播種하고 採種圃에서 罹病株除去를 철저히 實施하는 것이 必要하다.

感染種子에서 보리줄무늬 모자이크 바이러스(Barley

stripe mosaic virus; BSMV)를 除去하기위해 種자의 熱處理²⁰⁾와 放射線處理¹⁷⁾ 등이 試圖되었으나, 感染種자의 胚에 損傷을 입히지 않고 種子內的 바이러스만을 選擇의 以 不活性化하는데 成功하지못하고 있다. 이와같이 아직까지는 感染種자의 BSMV를 除去하는 方法이 없기때문에 現在 보리 줄무늬 모자이크病의 防除은 바이러스 檢定을 通한 無病健全種자의 生産이 그 主軸이 되고있다.

種자의 BSMV 檢定法으로는 溫室에서 幼苗의 病徵을 調査하는 幼苗檢定法^{10,15)}과 檢定植物을 利用한 生物學的檢定法이 報告된바 있으나, 이들 方法은 檢定에 넓은 場所와 많은 時間을 必要로 할뿐아니라 環境條件의 變化에 따른 病徵發現의 不規則性, BSMV의 潛伏性系統에 感染된 幼苗의 檢定不能 等 때문에 大量의 種자를 迅速, 正確하게 檢定하는데는 不適當하다. 이와같은 短點을 克服하기 위해 最近에 몇가지 血清學的方法에 의한 種자와 幼苗의 BSMV檢定法이 開發된바 있으며^{8,9,12,16,17,18)}, 歐美 여러 나라에서는 血清學의方

* 서울大學校 農科大學 農生物學科(Dept. of Agricultural Biology, College of Agriculture, Seoul National University, Suweon, Korea)

法을 種子의 大規模 保毒檢定에 活用함으로써 無毒種子의 生産에 큰 成果를 올리고 있다.

그러나 우리나라의 경우 아직 BSMV의 發生與否에 關한 調査가 되어있지않아, 우선 이에 對한 調査가 時急히 要請되고 있다. 따라서 本實驗은 血清學的方法으로 우리나라의 보리와 밀品種에 BSMV가 發生하고 있는지의 與否를 調査해서 앞으로 無毒健全種子의 生産에 必要한 基礎資料를 얻은 目的으로 實施했다.

本實驗에 必要한 抗BSMV血清과 試藥을 分讓해주신 美國 Montana州立大學校의 Carroll教授와 캐나다 Vancouver 農業研究所의 Hamilton博士, Polystyrene페트리접시를 分讓해주신 서울大學校 農科大學 鄭厚燮教授, 그리고 供試麥類品種을 分讓해주신 農村振興廳 麥類研究所와 作物試驗場 木浦支場의 關係官諸位, 크라운麥株式會社의 安琦濬部長에게 感謝를 드립니다.

材料 및 方法

1. 供試麥類品種

農村振興廳 麥類研究所에서 分讓받은 겉보리 11品種 쌀보리 5品種, 밀 9品種, 作物試驗場 木浦支場에서 分讓받은 麥酒麥 17品種, 그리고 서울과 水原의 市場에서 수집한 品種未詳의 겉보리 4種, 밀 1種 등 都合 51個 蒐集種을 供試하여 BSMV를 檢定하였다.

2. 供試抗血清

本實驗에 使用한 BSMV의 抗血清은 美國 Montana州立 大學校의 Carroll教授로부터 分讓받았다. 抗血清은 稀釋하지 않고 原液을 그대로 使用하였다.

3. BSMV의 檢定

蒐集種當 48粒씩의 種子를 無作爲로 取하여 Hamilton⁹⁾이 開發하고, 나중에 Carroll이 多少 改變한 血清學的胚芽檢定法을 使用해서 BSMV를 檢定하였다.

이 胚芽檢定法은 現在 美國 Montana州立 大學校의 種子檢査研究所에서 BSMV檢定에 使用되고있는 方法인데, 다른 血清學的檢定法들에 比해 使用하기에 簡便하고, 그 反應이 迅速, 正確하여 大量의 種子를 檢定하는데 適合한 長點을 가지고 있다. 이 方法의 概要는 다음과 같다.

(가) 胚芽의 準備

供試種子를 室溫에서 물에 24時間 담근후, 핀셋으로 胚芽를 빼어낸다. 이때 바이러스가 汚染되지 않도록 胚芽를 빼어낼때마다 핀셋트를 알콜로 消毒해서 使用한다. 빼어낸 胚芽를 直徑 6mm의 filter paper disk(Whatman No.1 filter paper를 paper punch로 도려내면된다) 위에 올려놓고 유리막대기의 끝으로 짓이긴다.

(나) 血清反應用 寒天平板의 調製

100mL의 Sodium borate buffer (0.05M, pH8.0)에

Noble Agar 0.6gm을 넣고 加熱하여 完全히 溶解시킨 다음 55~60°C가 될때까지 식힌다. 여기에 Sodium lauryl sulfate 1.0gm과 Sodium azide 0.1gm을 넣고 잘 섞어서 녹인다. 이것을 直徑 90mm의 페트리접시에 두께가 1mm 정도되도록 4mL을 부은 다음 室溫에서 굳힌다. 이때 寒天平板의 두께가 1mm를 넘지않도록 주의한다.

(다) 바이러스의 檢定

上記한 方法으로 調製된 寒天이 들어 있는 페트리접시를 그림 1과 같은 모양을 한 종이본 위에 맞추어 놓은 다음 AS라고 表示된 中心圓의 位置에는 BSMV의 抗血清을 直徑 6mm의 filter paper disk(Whatman No.1, filter paper)를 올려놓고, V라고 表示된 周邊圓의 位置에는 (가)에서 준비된 짓이긴 胚芽가 놓인 filter paper disk를 올려놓는다. 이상과 같은 조작이 끝나면 페트리접시의 뚜껑을 덮은 다음 室溫에 놓아두고 24 ~ 48時間後에 AS disk와 V disk사이에 沈降帶가 形成되었는지의 與否를 調査한다. 이와같은 方法으로 페트리접시 1個當 種子 16粒을 檢定할수 있으며 本實驗에서는 蒐集種當 페트리접시 3個를 使用하여 48粒씩의 種子를 檢定하였다.

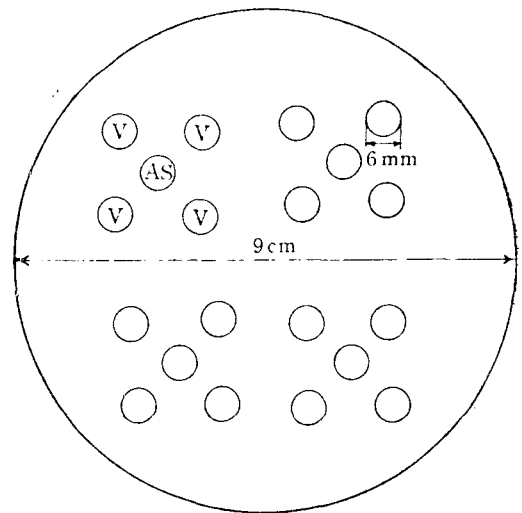


Fig. 1. Pattern for arrangement of filter paper disks in immunodiffusion analysis of mature barley and wheat embryos. V: disks containing crushed embryos to be tested for the presence of Barley Stripe Mosaic Virus. AS: disk containing an undiluted preparation of anti-BSMV serum.

結果

血清學的胚芽檢定法으로 麥類種子의 BSMV를 檢定한 結果는 表 1~4와 같다. 表 1을 보면 겉보리의 경

우 供試한 15個 蒐集種中, 9個 蒐集種에서 BSMV가 檢出되었고 이들의 種子感染率은 2.08~16.67%를 나타냈다. 쌀보리의 경우(表 2)는 4個 蒐集種中 2個種에서 6.25~8.33%, 麥酒麥(表 3)은 22個 供試種中 14個種에서 2.08~35.42%, 밀(表 4)은 10個 蒐集種中 9個種에서 2.08~18.75%의 種子感染率을 나타냈다. 全體의 으로는 51個 供試蒐集種中에서 걸보리, 쌀보리, 麥酒麥, 밀을 包含한 34個品種 또는 系統에서 BSMV가 檢出되었고, 總檢定粒數 2448個中 157粒에서 BSMV가 檢出되므로서 全體의인 種子感染率은 約 6.4%를 나타냈다. 以上과 같이 本實驗을 通해 우리나라의 많은 麥類品種에 BSMV가 發生하고 있음이 처음으로 確認되었다.

Table 1. Serological detection of barley stripe mosaic virus in embryos from mature seeds of covered barley.

Cultivar	Number seeds assayed	Number seeds infected	% infected
Suweon No. 183	48	3	6.25
Suweon No. 184	48	3	6.25
Bunong	48	1	2.08
Gangbori	48	8	16.67
Buheung	48	7	14.58
Suweon No. 18	48	0	0
Olbori	48	6	12.20
Gwandong	48	1	2.08
Gwandong 2-2	48	0	0
Milyang No. 6	48	1	2.08
Hangmi	48	0	0
Unknown No. 1.	48	1	2.08
Unknown No. 2.	48	0	0
Unknown No. 3.	48	0	0
Unknown No. 4.	48	3	6.25
Total 15	720	33	4.58

Table 2. Serological detection of barley stripe mosaic virus in embryos from mature seeds of naked barley.

Cultivar	Number seeds assayed	Number seeds infected	% infected
Baekdong	48	0	0
Gwangseong	48	0	0
Nonsangwa 1-6	48	4	8.33
Sedohadaga	48	3	6.25
Total 4	192	7	3.65

Table 3. Serological detection of barley stripe mosaic virus in embryos from mature seeds of malting barley.

Cultivar	Number seeds assayed	Number seeds infected	% infected
Hyangmaek	48	4	8.33
Sacheon No.2	48	3	6.25
Sacheon No.5	48	1	2.08
Swanharus	48	0	0
Golden Melon	48	3	6.25
Moravian	48	15	31.25
Klages	48	0	0
Dampier	48	0	0
MI-30182	48	7	14.58
Hanbo	48	3	6.25
KO-A	48	8	16.67
Asahi No.19	48	1	2.08
Harupin	48	7	14.58
Kirin Koku	48	0	0
G-65-10	48	17	35.42
Piroline	48	7	14.58
Hatagaze	48	1	2.08
Flynn No.1	48	0	0
KO 1-18	48	0	0
Nagoya	48	0	0
Research	48	0	0
Firlbecks	48	9	18.75
Total 22	1056	86	8.14

Table 4. Serological detection of barley stripe mosaic virus in embryos from mature seeds of wheat.

Cultivar	Number seeds assayed	Number seeds infected	% infected
Wongwang	48	4	8.33
Shingwang	48	9	18.75
Younggwang	48	9	18.75
Nangwang	48	3	6.25
Olmil	48	2	4.16
Jogwang	48	1	2.08
Suweon No.215	48	1	2.08
Suweon No.216	48	1	2.08
Joongguk No.81	48	1	2.08
Unknown	48	0	0
Total 10	480	31	6.46

考 察

國際種子檢査協會의 種子檢査規定(12)에 따르면 麥類의 경우, 通常의으로 種子의 BSMV感染率을 調査하는데 適當한 種子粒數는 400粒으로 되어있다. 本實驗에서 蒐集種等 檢定種子粒數를 同協會의 規定대로 400粒씩 供試하지 않고 48粒으로 制限한 것은 本實驗의 目的이 어떤 品種이나 系統의 BSMV感染率을 調査하는데 있는것이 아니고, 制限된 量의 抗血清으로 되도록 많은 品種과 系統의 種子를 檢定하여 우리나라에서의 BSMV 發生與否를 究明하려는 데 있기 때문이다. 따라서 本實驗結果 어떤 供試蒐集種에서 BSMV가 檢出되지 않았다고해서 반드시 그 蒐集種이 BSMV에 感染되어 있지 않다고는 볼수 없으며, 또 檢定結果 나타난 種子感染率이 그 蒐集種의 全體의인 種子感染率을 正確히 代表한다고도 볼수 없다. 그러나 51個 供試蒐集種中 34個 蒐集種에서 BSMV가 檢出되고 品種에 따라 2~35%에 達하는 높은 種子感染率을 나타낸것은 우리나라의 相當히 많은 麥類品種이 BSMV에 感染되어 있다는 事實을 立證하기에 充分하다고 할수 있다.

植物바이러스의 血清學的檢定時 가끔 問題가 되는것은 非特異反應인데 本實驗에서 使用한 Hamilton과 Carroll의 血清學的胚芽檢定法에서 바이러스의 正確한 檢定을 困難하게 하는 非特異反應은 일어나지 않았다.

또한 이 方法으로 병든 보리의 汁液을 檢定했을때도 鮮명한 單一沈降帶가 形成되었을뿐 非特異反應은 觀察되지 않았다. 이와같이 이 方法은 바이러스와 抗體間反應의 特異성이 매우 높고 使用하기에 簡便하여 大量의 種子와 植物을 檢定하는데 매우 有用한 方法이라고 생각된다.

村山等(16)에 依하면 보리의 品種과 系統에 따라서는 病徵이 뚜렷하지 않거나 또는 全혀 病徵을 알아볼수 없는 많은 個體에서 血清檢定에 依해 BSMV가 檢出되었다고한다. 이것은 肉眼的觀察만으로는 BSMV保毒株를 正確히 判定하기 어려우며, 이런경우 銳敏度가 높은 血清學의 方法에 依해 BSMV의 正確한 檢定이 可能하다는 것을 말해준다.

BSMV는 병에 걸린 植物의 花粉에 依해서 쉽게 傳染되므로 앞으로 育種目的에 使用될 麥類의 交配母體는 일단 血清學의 方法으로 檢定을 하여 BSMV에 感染되어 있지 않은 健全株를 使用토록 留意해야 할 것으로 본다.

本實驗을 통해 우리나라의 麥類品種에 BSMV가 發生하고 있다는 事實이 究明되었을뿐 實際로 우리나라 圃場에서의 發生狀態나 被害等에 對해서는 아직 調査

된 바가 없다. 따라서 보리줄무늬 모자이크病에 對한 適切한 防除對策을 講究하기위해선 무엇보다도 全國各地에서의 BSMV發生狀態를 正確히 調査, 把握하는 일이 急先務이며, 앞으로 BSMV의 寄主範圍調査, 品種間의 抵抗力比較, 無毒種子의 採種體系確立等에 關한 試驗이 뒤따라야 할 것이다.

摘 要

우리나라의 보리와 밀品種에 보리·줄무늬모자이크 바이러스(Barley Stripe Mosaic Virus)病이 發生하는지의 與否를 調査하기 위하여 國內에서 蒐集한 겉보리, 겉쌀보리, 麥酒麥, 밀等 都合 51個 品種 또는 系統을 供試하여 Hamilton과 Carroll의 血清學的胚芽檢定法으로 이들의 BSMV檢定을 實施하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 겉보리, 쌀보리, 麥酒麥 그리고 밀을 包含한 34個 蒐集種에서 BSMV가 檢出되므로서, 우리나라의 보리와 밀品種에 BSMV가 發生하고 있음이 처음으로 確認되었다.

2. BSMV가 檢出된 品種의 種子感染率은 最低 2%에서 最高 35%를 나타냈다. 全體의으로는 總檢定粒數 2448粒中 157粒에서 BSMV가 檢出됨으로서 感染率은 約 6.4%를 나타냈다.

3. 血清學的胚芽檢定時 非特異反應은 觀察되지 않았다.

4. 血清學的胚芽檢定法은 使用하기에 簡便하고 結果判定을 迅速, 正確하게 할수있어 大量의 種子와 幼苗를 對象으로 BSMV를 檢定하는데 매우 有用한 方法으로 생각된다.

Acknowledgement

The authors gratefully acknowledge the assistance of Drs. Carroll and Hamilton for providing procedural information and for kindly supplying anti-BSMV serum and reagents used in the serological embryo test.

Literature Cited

1. Carroll, T.W. 1969. Electron microscopic evidence for the presence of barley stripe mosaic virus in cells of barley embryos. *Virology* 37 : 649-657.
2. Carroll, T.W. 1972. Seed transmissibility of two strains of barley stripe mosaic virus. *Virology* 48 : 323-336.
3. Carroll, T.W. 1974. Barley stripe mosaic virus

- in sperm and vegetative cells of barley pollen. *Virology* 60 : 21-28.
4. Eslick, R.F. 1953. Yield reductions in Glacier barley associated with a virus infection. *Plant Dis. Repr.* 37 : 290-291.
 5. Eslick, R.F., and M.M. Afanasiev . 1955. Influence of time of infection with barley stripe mosaic on symptoms, plant yield, and seed infection of barley. *Plant Dis. Repr.* 39 : 722-724.
 6. Fitzgerald, P.J. and R.G. Timian. 1960. Effect of barley stripe mosaic on wheat. *Plant Dis. Repr.* 44 : 359-361.
 7. Halliwell, R.S., and R. Langston. 1965. Effects of gamma irradiation on symptom expression of barley stripe mosaic virus disease and on two viruses in vivo. *Phytopathology* 55 : 1039-1040.
 8. Hamilton, R.I. 1964. Serodiagnosis of barley stripe mosaic facilitated by detergent. *Phytopathology* 54 : 1290-1291.
 9. Hamilton, R.I. 1965. An embryo test for detecting seed-borne barley stripe mosaic virus in barley. *Phytopathology* 55 : 798-799.
 10. Hampton, R.E., W.H. Sill, Jr., and E.D. Hansing. 1957. Barley stripe mosaic virus in Kansas and its control by a greenhouse seed lot testing technique. *Plant Dis. Repr.* 41 : 735-740.
 11. Inouye, T. 1962. Studies on barley stripe mosaic in Japan. *Ber. Ohara Inst.* 11 (4) : 413-496.
 12. International Seed Testing Association. 1976. International rules for seed testing. *Seed Sci. & Technol.* 4 : 3-49 and 51-177.
 13. Lundsgaard, T. 1976. Routine seed health testing for barley stripe mosaic virus in barley seeds using the latex-test. *Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 83(5) : 278-283.
 14. McKinney, H.H. 1951. A seed-borne virus causing false stripe symptoms in barley. *Plant Dis. Repr.* 35 : 48.
 15. McKinney, H.H. 1954. Culture methods for detecting seedborne virus in Glacier barley seedlings. *Plant Dis. Repr.* 38 : 152-162.
 16. Murayama, D. and T. Yokoyama. 1965. A rapid diagnosis method for barley stripe mosaic disease. *Mem. Fac. Agric. Hokkaido Univ.* 5 : 151-155.
 17. Scott, H.A. 1961. Serological detection of barley stripe mosaic virus in seeds and in dehydrated leaf tissue. *Phytopathology* 51 : 200-201.
 18. Slack, S.A. and R.J. Shepherd. 1975. Serological detection of seed-borne barley stripe mosaic virus by simplified radial-diffusion technique. *Phytopathology* 65 : 948-955.
 19. Slykhuis, J.T. 1962. An international survey for virus diseases of grasses. *FAO Plant Protect. Bull.* 10 : 1-16.
 20. Timian, R.G. 1965. Heat treatments fail to inactivate barley stripe mosaic virus in seed. *Plant Dis. Repr.* 49 : 696-697.