한국전자현미경학회지 제20권 제1호 1990
Korean J. Electron Microscopy 20(1), 120~127 (1990)

보리호위축병 바이러스에 감염된 보리조직의 세포학적 관찰

소인영 · 정성수

Cytological Changes of Infected Barley Tissues with Barley Yellow Mosaic Virus

So, In Young and Seong Soo Cheong

(Received March 17, 1990)

Abstract

The zoospores of *Polymyxa graminis* known as vector of barley yellow mosaic virus(BYMV) were found from the rootlets of diseased barley plants. The X-bodies in the lower epidermis of diseased leaf tissues were reddish under fluorescence microscopy. The shape of virus particles was flexuous rod and 300-1,000 nm in length. The pinwheel structures, cylindrical inclusion bodies, ring-form inclusion bodies, and crystalline lattice-like structure were found together with virus particles in the cytoplasm of diseased leaf tissues.

Generally, intracellular organelles in the diseased barley leaf tissues infected with BYMV were either not well-developed or degenerated.

서 론

보리호위축병은 1934년 일본의 오카야마현에서 처음 발견되었으며(宮本, 1958), 주로 일본에서 발생하는 것으로 알려져 왔다. 병징은 유엽에 녹반이 형성되고 유합하여 황화 위축되며 생장지연, 출수불량, 수확감소 현상이 나타난다. 보리호위축병에 대한 기초적 연구로는 바이러스의 순화 및 입자확인(井上, 1964), 혈청학적 유연관계(宇杉과 齊藤, 1976), 매개체 확인(齊藤, 1965)등이 이루어졌다. 우리 나라에서는 Lee(1981)에 의해서 병징, 발병 소장 및 바이러스 입자가 확인되었으며 So들(1988)에 의해 바이러스의 동정 및 매개체가 보고 되었다.

식물체가 바이러스에 감염되면 여러가지 대사생리 및 형태적으로 세포학적 변화가 나타나게 된다. 맥류바이러스에 감염된 보리 식물체내의 세포학적 변화로는 세포막의 비대 엽록체구조의 미발달, X-체의 형성이 이루어지고, 세포질속에는 원통형봉입체, 격자구조, 바이러스 입자의 산재등이 보고된 바

전북대학교 농과대학 농생물학과
Dept. of Agricultural Biology, Agricultural College, Chon-Buk National University

있다(Hibino들, 1981). 맥류바이러스병은 계통이 많고 계통간에도 유사점이 많아 정확한 바이러스의 동정이 어려운 실정이다. 따라서 본 실험은 호남지역에 발병되고 있는 보리호위축병이 일본형 보리호위축병과 동일 바이러스병 여부를 검토하기 위하여 매개체의 식물체내 침입과 감염 보리조직의 세포학적 변화를 광학 및 전자현미경을 통하여 조사하였다.

재료 및 방법

1. 공시재료

이병식물은 전북 이리시 송학동 호남작물시험장 보리포장에서 호위축병 증상이 심하게 나타난 보리 백동품종(*Hordeum vulgare* L. emend Lamark cv. Baekdong)을 채취하여 각 조직부위를 4℃의 3% glutaraldehyde에 즉시 고정하였다. 이와 함께 비교 검토를 위한 건전주 조직도 채취 고정하였다.

2. 광학현미경 시료제작

가. 매개체(점균류, *Polymyxa graminis*)의 관찰

감염 식물조직에서의 매개체 *P. graminis*의 유주자낭을 관찰하기 위하여 이병주 뿌리를 수도물에 수세한 후 0.1% acid-fuchsin을 함유한 lacto-phenol로 2분간 염색하여 증류수로 수세한 후 색소를 함유하지 않은 lacto-phenal액에서 뿌리를 투명화시켜 잔뿌리를 slide glass 위에 놓고 얇게 편 다음 광학현미경하에서 검경하였다.

나. X-body 관찰

이병주엽의 하표피를 벗겨 50% ethanol에 20분간 고정한 후, 증류수로 10분씩 2회 수세하였다. 이 조직을 acrydine orange 염색액(Bartholonew, 1973)에 5분간 염색하고 증류수로 3분씩 2회 수세하였다. 수세한 조직을 0.1M $CaCl_2$용액에 5분간 정치 후 증류수로 3분 수세한 후 인산완충액(0.1M, pH 7.0)으로 봉합하여 형광현미경(Vicker M 17)으로 검경하였다.

3. 전자현미경 시료제작

이병엽육 및 건전엽육조직과 유주자낭이 관찰된 어린 잔뿌리 조직을 1~3mm^3 크기로 절편하여 3% glutaraldehyde(0.1M phosphate buffer, pH 7.2 v/v)에 3시간 전고정하고 세척수(D.W. 70ml, 0.4M, phosphate buffer 30ml, glucose 8g, 0.5% $CaCl_2$ 3 ml)로 30분씩 2회 수세하고, 2% osmium tetroxide에 3시간 후고정하였다. 고정이 끝난 조직을 세척수로 10분씩 3회 반복 수세 후 alcohol 농도 상승순으로 탈수하여 spurr resin에 포매하였다. 절편제작은 초박절편기(ultramicrotome, LKB type V)로 하였다. 광학현미경 관찰시료는 1μm 두께의 semithin 절편을 1% toluidine blue로 염색하였고, 전자현미경 관찰시료는 glass knife를 사용하여 60~70nm로 초박절편을 한 후 uranyl acetate와 lead citrate로 염색하였다. 검경은 Carl Zeiss Em 10C 전자현미경을 사용하여 실시하였다.

결 과

가. *Polymyta graminis*의 유주자낭

보리호위축병의 매개체로 알려진 *P. graminis*의 침입 여부를 확인하기 위하여 이병주 뿌리를 0.1% acid-fuchsin으로 염색한 결과 어린 잔뿌리에서 다량의 유주자낭과 휴면포자괴가 관찰되었다(Fig. 1). 그러나 이병주라 할지라도 오래된 뿌리나 굵은 뿌리에서는 이와 같은 것들이 관찰되지 않았다. 유주자낭은 단독 또는 여러개가 연쇄상으로 존재하였고, 휴면포자괴는 여러개가 연쇄상으로 존재하는 것이 관찰되었다. 유주자낭의 형태는 원형 및 타원형이며 그 크기는 3~4 × 100~200μm 범위였고, 휴면포자괴는 이보다 크게 긴 연쇄상으로 관찰되었다. 뿌리 추출액으로 부터 관찰된 유주자의 크기는 4~5μm 범위였으며 2개의 편모를 가지고 있었고, 구형 또는 배(pear) 모양으로 나타났다.

나. X-body관찰

이병엽육조직에서 X-body를 관찰한 결과 Fig. 2에서처럼 X-body는 붉은 색으로 나타났고 핵은 greenish white로 나타났다. X-body의 형태는 막계가 없는 부정형으로 나타났다(Fig. 2).

다. 이병식물의 세포학적 변화

이병엽육조직을 초박절편하여 전자현미경으로 관찰하여 본 결과 Fig. 3 및 4에서와 같이 핵이 위축되는 등 세포기관의 퇴화와 엽록체의 미발달로 인한 그라나구조의 미분화 현상이 나타났다(Fig. 3). 또한 해면조직의 세포질 속에는 바이러스 입자들이 Fig. 4 및 5에서처럼 밀집 또는 산재되어 있고, 형태는 사상형이며 크기는 300~1,000nm 범위로 다양하였다. 이병조직의 세포질 속에는 건전조직에서는 볼 수 없는 cylinderical inclusion body, pinwheel structure, ring form inclusion body등의 결정구조들이 많이 관찰되었으며(Figs. 5, 6, 8), 격자구조를 가진 물질들도 많이 관찰되었다(Fig. 7). 그러나 핵 속이나 기타 통도조직에서는 바이러스 입자 및 봉입체구조등은 관찰되지 않았다. 한편 유주자낭이 관찰된 뿌리조직을 초박절편하여 전자현미경으로 검경한 바 세포질이 거의없고 세포기관도 찾아 볼 수 없었으며 유주자들이 유출되어 산재해 있었다(Fig. 9). 유주자의 표면이나 속에서는 바이러스의 입자들을 관찰할 수 없었다.

고 찰

토양전염성인 보리호위축병은 토양속에 서식하는 *P. graminis*가 보리의 어린 뿌리에 기생하여 유주자낭을 형성하고, 유주자낭에서 유출된 유주자가 다시 새로운 식물체의 뿌리에 기생하는 과정에서 바이러스입자가 유주자의 외부에 붙어 바이러스를 매개하는 것으로 보고되어 있다(Rao와 Brakke, 1968, 1969 ; Willem과 Giumchedi, 1982 ; 阿部, 1987 ; 土埼, 1987). 맥류에 바이러스를 매개하는 곰팡이로는 *P. graminis, P. beta, Spongospora subterranea, Olpdium brassicae, O. cucurbitacearum* 등이 보고 되어 있는데(土埼, 1987), 본 실험의 이병주에서 나타나는 매개체의 형태 및 크기, 편모의 수 등이 *P. graminis*와 일치하는 것으로 생각된다.

식물체가 바이러스에 감염되면 식물체내 여러가지 이상병징을 일으키게되고, 따라서 생리 대사면이나 세포학적 변화 현상이 나타나게 된다. 이병엽육조직의 세포들을 관찰하여 본 결과는 세포막이 비대하고 세포기관의 퇴화 및 엽록체구조의 미분화 현상이 나타났다. 이러한 결과는 Hibino들(1981)과 齊藤들(1961)의 세포학적 소견과 일치하였다.

이병엽육조직의 세포질 속에는 300~1,000nm 크기 범위의 사상형 바이러스 입자가 산재되어 있거나 밀집되어 있고, 이상결정물질로서 pinwheel structure, cylindrical inclu-sion body 및 ring form inclusion body 등의 봉입체가 많이 관찰되었는데 이러한 현상은 BYMV에 이병된 보리 조직의 세포학적 소견(井上, 1964 ; Hibino들, 1981)들과 일치하나 본 실험에서 관찰된 crystalline lattice like structure(Fig. 7)는 Hibino들(1981)은 같은 potyvirus group인 wheat yellow mosaic virus의 감염조직에서 나타나는 것으로 보고하고 있어서 이에 대한 차이는 좀더 연구해 볼 과제로 생각된다.

보리호위축병 이병주가 심한 황화 위축현상이 나타나는 것은 위에서 열거한 여러가지 세포학적 변화로 인한 생리적인 대사과정의 불균형에서 야기되는 것으로 생각된다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 호남지방에 발생하는 보리호위축병도 일본에서 발생하는 보리호위축병과 같은 바이러스로 생각된다.

결 론

보리호위축병 바이러스에 감염된 보리백동품종(*Hordeum vulgare* L. emend Lamark cv. Baekdong)의 뿌리와 엽육조직을 광학

및 전자현미경으로 관찰하였다. 이병식물의 어린 뿌리에서는 유주자낭과 휴면포자괴가 많이 관찰되었다. 이병엽육조직 세포들은 건전주에 비하여 세포막의 비대현상, 엽록체 구조의 미분화 및 세포기관들의 미발달 현상이 나타났다. 세포질 속에는 바이러스 감염 세포에서만 볼 수 있는 X-body, 바이러스 입자의 존재, 봉입체 구조로서 pinwheel structure, cylindrical inclusion body, ring form inclusion body등이 다수 관찰되었다. 이 외에도 세포질 속에 crystalline lattice-like structure가 다수 관찰되었는데 BYMV에 감염된 보리 조직에서는 처음 관찰되는 것으로 좀 더 연구 해볼 과제로 생각된다.

References

阿部秀夫. 1987. テンサイそう根のウイルス媒介者 *Polymyxa graminis* Keskinの 生態と 防除に 關する研究. 北海道立農試報告. 60, 1-99.

Bartholonew, J.W. 1973. Staining procedures. Biological stain commision, pp. 240.

Hibino, H., T. Usugi and Y. Saito. 1981. Comparative electron microscopy of inclusions associated with five scil-borne filamentous viruses of cereals. Ann. Phytopath. Soc. Japan. 47, 510-519.

井上忠男. 1964. 縞萎縮病オオムギに見られる桿狀粒子について. 農學研究. 50. 117-122.

Lee, S.H. 1981. Studies on virus diseases occurring in various crops in Korea(abstract). Res. Report, Office of Rural Development(Suwon Korea). 23, 62-74.

宮木雄一. 1958. ムギ萎縮病の研究Ⅱ. オオムギ縞萎縮病ウイルスについて(その1) 日植病報. 23, 69-75.

Rao, A.S. 1968. Biology of *Polymyxa graminis* in relation to scil-borne wheat mosaic virus. Phytopathology. 58, 1516-1521.

Rao, A.S. and M.K. Brakke. 1969. Relation of soil-borne wheat mosaic and its two fungal vectors, *Ploymyxa graminis*. Phytopathology. 59, 581-587.

齊藤康夫. 1965. ムギ類ウイルスの土壤傳染. 日植病報. 31, 373-374.

齊藤康夫, 高梨和雄, 岩田吉人. 1961. 土壤傳染性 ムギモザイク病 ウイルスの純化 ならびに 電子顯微鏡觀察. 日植病報. 24, 16-18.

So, I.Y. K.J. Lee and S.S. Cheong. 1988. Identification of barley yellow mosaic virus and physio-ecological consideration on its vector. The Rural Devleopement Administration Agri. Institutional Cooperation. 31, 117-126.

土埼常男. 1987. 植物 ウイルスを媒介する土壤中の 菌類について土 と微生物. 30, 19-25

宇杉富雄, 齊藤康夫. 1976. オオムギおよぁコムギ縞萎縮ウイルスの 純化 および血清學的 關係 について. 日植病報 42, 12-20.

Willem, G.L. and L. Giunchedi. 1982. Ultrastructure of fungal plant virus vectors *Polymyxa graminis* in soil borne wheat mosaic virus-infected wheat and *P. betae* in beet necrotic yellow vein virus-infected sugar beet. Phytopathology. 72, 1152-1158.

Figure legends

Fig. 1. Zoosporangium(Z) and resting spore cluster(RSC) of *Polymyxa graminis* from the rootlets of diseased barley plant. ×500

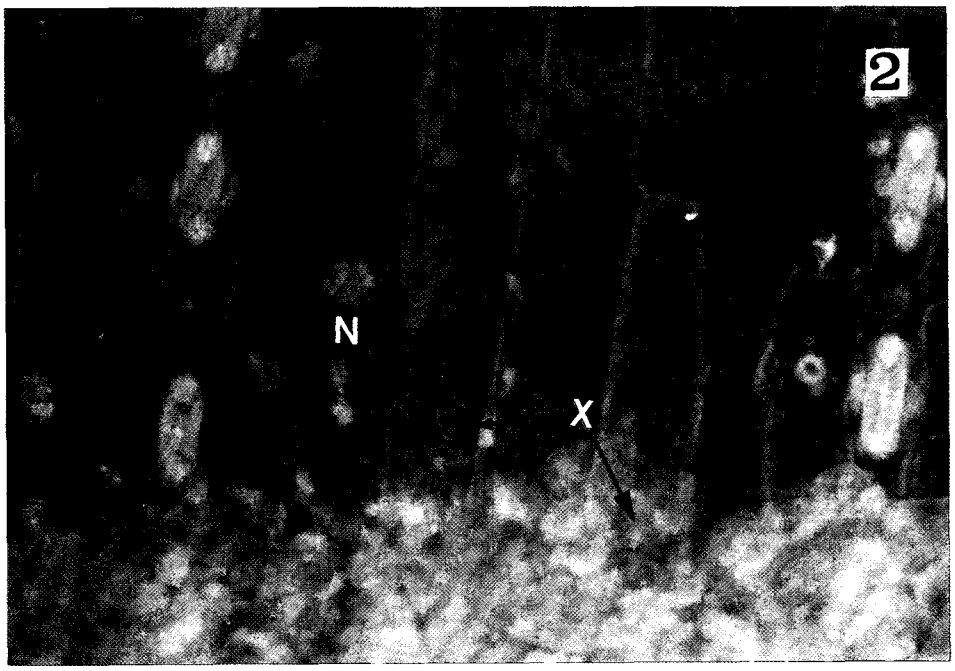
Fig. 2. The reddish X-bodies(X) and white greenish nucleus(N) in the lower epidermis of diseased barley leaf tissue. ×500

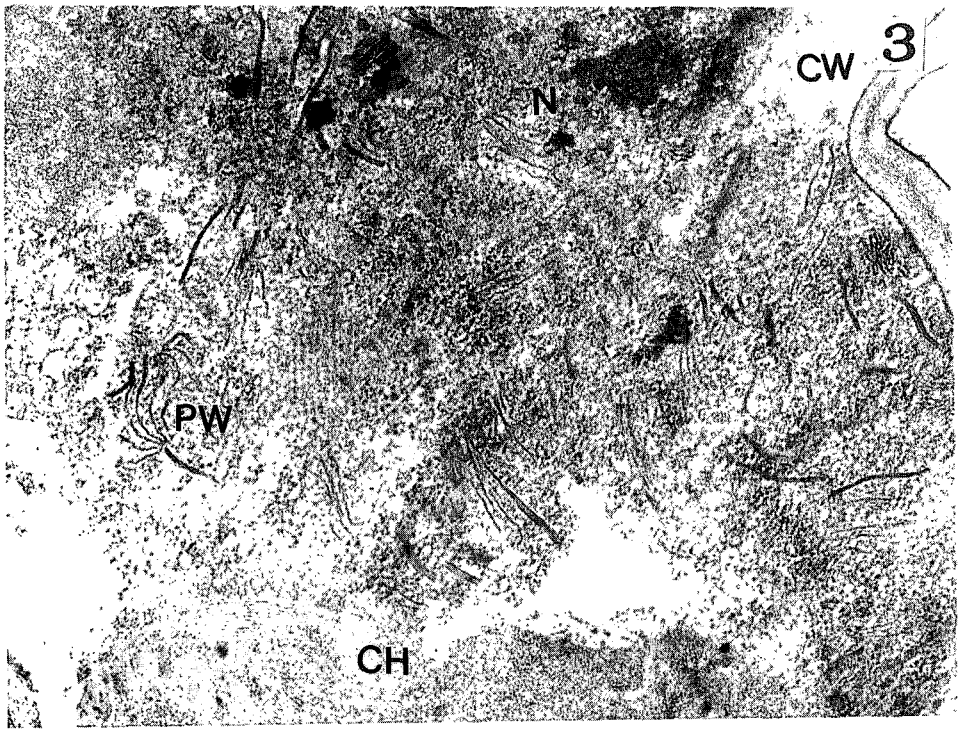
Figs. 3-4. Not well-developed or degenerated nucleus(N) and chloroplasts(CH) from diseased cells. × 30,000

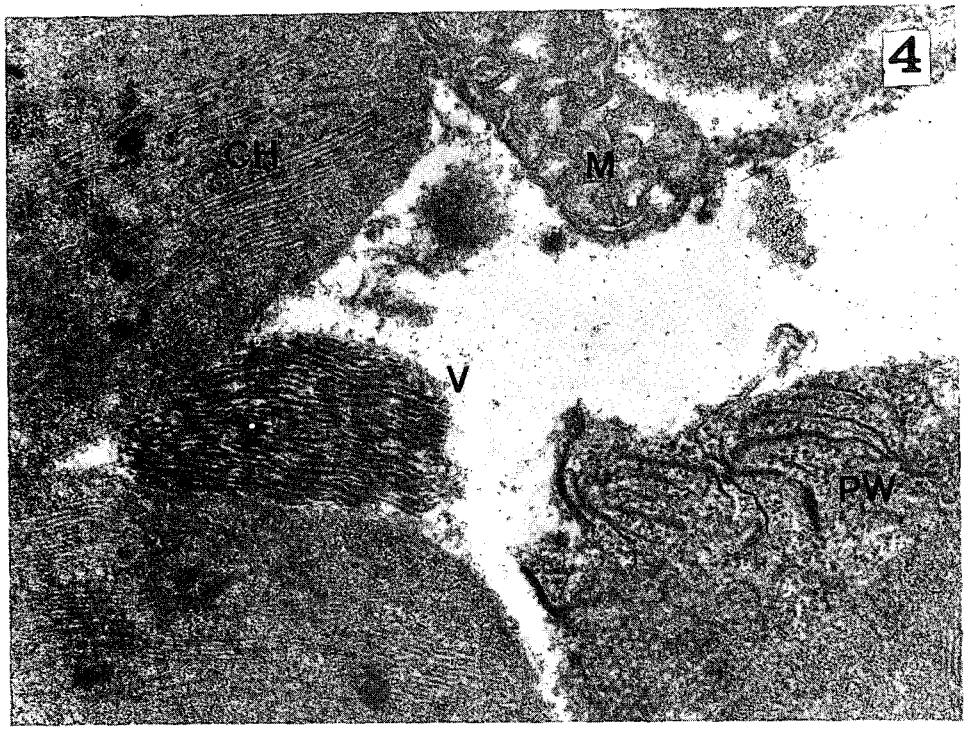
Figs. 5-8. The virus particles(VP), cylindrical inclusion(CI) and ring-form inclusion (RI) bodies, pinwheel structures(PW), and crystalline lattice-like structures(CL) from the cytoplasm of diseased cells. G, grana structure ; CW, cell wall ; 5, 7, 8, ×30,000 ; 6, ×37,500

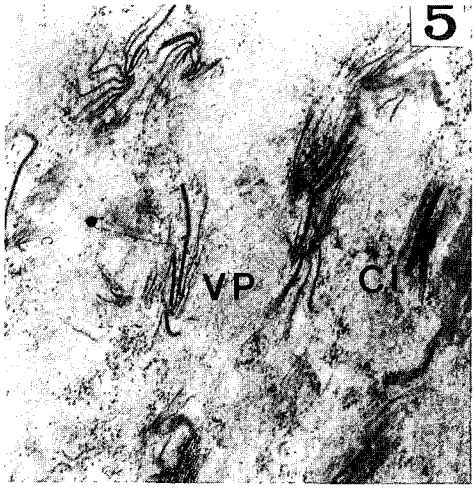
Fig. 9. Electron micrograph of the zoospores(Z) from the rootlet cell of diseased plant × 14.000

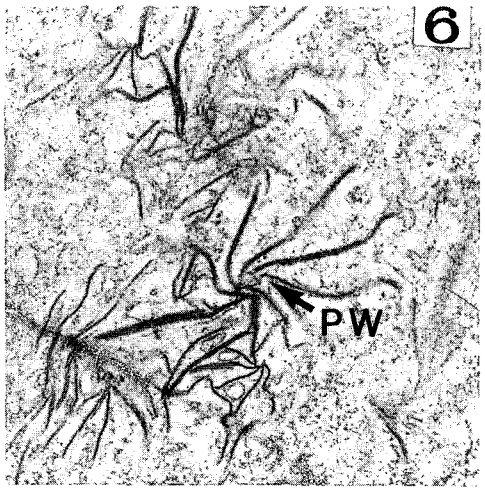
1
RSC
Z

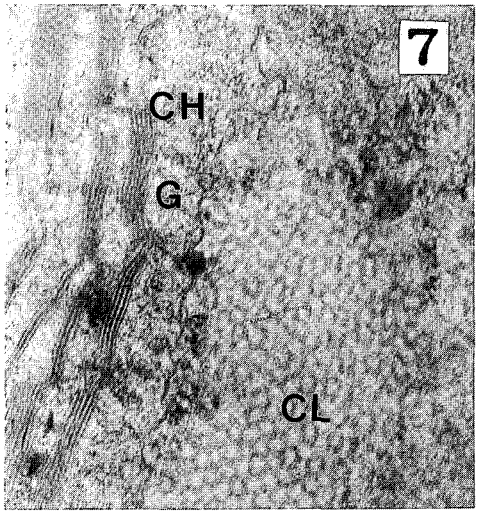

2
N
X

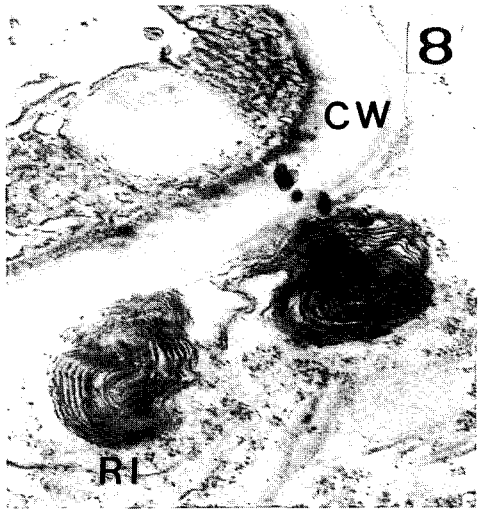

3
CW
N
PW
CH

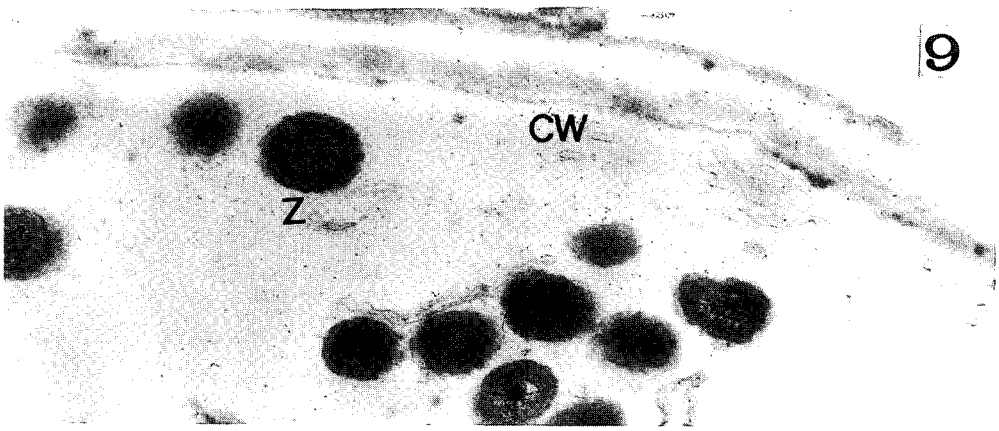

4
CH
M
V
PW


5
VP
CH


6
PW


7
CH
G
CL


8
CW
RI


9
CW
Z