

남부지방에 발생하는 보리마일드모자이크바이러스(BaMMV)의 분리 및 동정

소인영^{1*} · 이귀재¹ · 전길형¹ · 柏崎 哲² · 土崎常男³

¹전북대학교 농과대학 농생물학과, ²日本農業研究センター, ³東京大學農學部

Isolation and Identification of Barley Mild Mosaic Virus Occurring in Southern Korea

In Young So^{1*}, Kui Jae Lee¹, Gil Hyong Chon¹,
Satoshi Kashiwazaki² and Tsuneo Tsuchizaki³

¹Dept. of Agricultural Biology, Chonbuk Nat'l Univ. Chonju 561-756, Korea

²National Agriculture Research Center, Tsukuba, Ibaraki 350, Japan

³Faculty of Agriculture, Tokyo Univ., Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan

ABSTRACT: Barley mild mosaic virus (BaMMV-Kor) was isolated from the southern part of Korea, and by mechanical inoculation onto barley cultivars, purification and production of antibody. BaMMV-Kor purified from infected plants were filamentous particle, with 13 nm in diameter and 250~300 nm and 500~650 nm in length. Antibody of BaMMV-Kor was made by injecting the purified virus to the muscle of a rabbit. In gel-diffusion tests, antibody to BaMMV-Kor created spur with BaMMV-Ka1 and BaMMV-M, but did not make spur with BaMMV-Na1. BaMMV-Kor showed the symptom of mosaic and yellowing in barley plants. BaMMV-Kor infected New Golden, Ishukushirazu, Joshushiro Hadaka and Misato Golden, but did not infect Kashimamugi, Chikurin Ibaraki 1 and Mokusekko 3. In Korean barley cultivars, BaMMV-Kor infected most of the covered barley cultivars, but did not infect Saeolbori. It also infected naked barley cultivars except Chalbori and Hinssalbori. And all the beer barley cultivars were infected by BaMMV-Kor. BaMMV-Kor had two RNAs, RNA 1 (7.5 Kb) and RNA 2 (3.5 Kb), and coat protein (33 KDa).

Key words: BaMMV, BaMMV strain, RNA, coat protein.

보리마일드모자이크바이러스(Barley mild mosaic virus, BaMMV)는 1984년 독일의 Huth 등(10, 11)에 의하여 처음 보고되었다. 현재 BaMMV의 발생지역은 독일 등지의 유럽(2, 3, 11)과 일본(16) 및 한국(26, 27)에 분포하는 것으로 보고되었다. BaMMV는 barley yellow mosaic virus(BaYMV)와 더불어 맥류에 발생하는 바이러스병 가운데 가장 피해가 심하여 문제시되는 병이다. 병징은 초기에 엽육조직에 가늘고 짧은 선모양의 모자이크 증상이 나타나고 건전주에 비하여 생장지연, 출수불량, 수확량 감소 등의 현상이 일어난다(21). BaMMV는 맥류의 뿌리에 기생하는 변형균인 *Polymyxa graminis* Ledingham에 의해 토양전염을 하므로(1, 5), 연작 및 기계화작업의 증가에 따라 토양전염성 보리바이러스병들의 발생도 많아지는 추세에 있다. BaMMV는 당초 BaYMV의 1계통(BaYMV-M)으로 취급되었지만(10, 11), BaYMV와 혈청학적 유연관계가 없고 기주식물에

대한 반응 등(1) 여러 가지 성질의 차이점이 인정되어 최근 potyviridae의 bymovirus속으로 분류되고 있다(3, 4). 이들 바이러스의 이화학적 성질 및 BaYMV 등과의 유연관계를 분명히 하기 위하여 이화학적 성질 및 유전자 구조의 비교 연구가 활발히 이루어지고 있다(7, 8, 16-18, 20, 28).

현재까지 보고되어 있는 BaMMV계통은 독일의 BaMMV-M(11), 영국의 BaMMV-UK(1), 일본의 BaMMV-Na1, -Ka1(16) 및 한국의 BaMMV-Kor(20, 26, 27) 등이다. 기타 BaMMV의 일반적인 성질은 토양전염성 bymovirus의 성질과 비슷하나 BaYMV와는 다르게 기주범위가 호밀까지 감염된다는 보고가 있다(22). 우리나라는 So 등(25, 27)에 의하면 전남북, 경남북등 우리나라 남부지역 맥류재배포장에 BaMMV 및 BaYMV가 발생한다고 보고한 바는 있으나 BaMMV에 대한 정확한 분리 및 동정이 보고된 바 없다. 따라서 우리나라에서도 BaMMV의 이화학적 성질에 대한 연구의 필요성이 요구되었다.

본 실험은 남부지방 보리 재배지역에서 문제시되고 있

*Corresponding author.

는 토양전염성 BaMMV를 정확히 분리 및 동정하고 기주 범위 조사, 항혈청반응, 바이러스의 외피단백질과 RNA 핵산의 특성을 조사하고자 실시하였다.

재료 및 방법

공시 바이러스 및 항혈청. 실험에 이용된 보리마일드 모자이크바이러스(BaMMV-Kor)는 전라북도 익산시 호남 농업시험장 포장에서 바이러스에 감염된 백동(barley cv. Baegdong)을 채취하여 BaMMV, BaYMV 및 Soil borne wheat mosaic virus(SBWMV) 항혈청을 이용하여 ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)검정을 실시하였으며, 그 결과 BaMMV에 단독감염주로 확인된 식물을 기주 식물(barley cv. Ishukushirazu)에 즙액접종하여 증식하였다. 기타 일본 계통 BaMMV-Ka1, -Na1과 독일 계통 -M과 혈청반응에 사용한 BaMMV, BaYMV 및 SBWMV 항혈청은 日本農林水産省農業研究센타로부터 분양 받아 공시하였다.

공시 보리품종 및 즙액접종에 의한 기주반응. BaMMV 분리주는 보리(*Hordeum vulgare* cv. Ishukushirazu)에 즙액접종하여 계대 증식하였다. 즙액접종은 병징이 뚜렷한 감염엽 2~3엽을 채취하여 약 5배량(w/v)의 0.1 M 인산완충액(pH 7.0, 1 mM KCN함유) 및 금강사(600 mesh)를 첨가하고 멸균된 유발에서 마쇄하여 1~2엽기의 보리 유묘 잎에 접종시켰다. 접종 30분 후 증류수로 접종 잎을 수세하고 자연광 성장상(13~15°C)에서 생육시켰다.

기주반응은 계통판별 보리품종인 일본산 New Golden의 13개 품종과 소 등(27)이 공시하지 않은 한국산 겉보리인 강보리와 5품종, 쌀보리인 무안보리의 3품종, 맥주보리인 두산 22의 4품종을 접종실험에 사용하였다(Table 1, 2). 즙액접종후 3~5주 사이에 병징을 육안으로 조사하였으며, 병징이 뚜렷하지 않은 것은 ELISA로 검정하여 감염율을 주당으로 계산하였다.

한국 보리품종은 호남농업시험장 맥류연구실로부터, 일본산 품종은 일본농림수산성농업연구센타 바이러스 연구실로부터 분양받아 사용하였다.

바이러스의 정제. BaMMV-Kor는 Usugi 등(29)과 Kas-hiwazaki(16)의 방법을 수정하여 정제하였다. 정제재료는 즙액접종으로 Ishukushirazu에 증식시킨 잎을 실험재료로 공시하였다. 정제는 감염엽에 3배량(W/V)의 0.1M 구연산완충액(0.1 M sodium citrate buffer, pH 6.8)을 넣고 4°C 냉장실에서 유발을 이용 마쇄 후 거즈로 여과하였다. 여과액에 1/5양의 사염화탄소 및 1/5양의 에칠에테르를 넣고 교반기로 10분간 교반하고 1,500 g로 10분간 원심하여 상등액을 얻었다. 다시 10,000 g로 15분간, 137,500 g로 60분간 원심하여 얻어진 침전물을 구연산완충액에 재현탁하고 10,000 g로 10분간 원심(이 과정을 4회 반복)하였다. 최후

로 얻어진 부분정제물을 CsCl(농도 1.28 g/cm³) 밀도기울기원심법 (120,000 g)으로 16시간 원심하였다. 바이러스 밴드를 소형주사기로 채취하고 0.1 M 구연산완충액에 재현탁한 후 150,000 g로 60분간 원심하여 최종적으로 침전된 바이러스를 0.1 M 구연산완충액에 현탁하여 실험에 이용하였다.

항혈청 제조 및 항혈청 반응 실험. 순화한 BaMMV-Kor(1 mg/1 ml)을 freund's complete adjuvant와 1:1로 혼합하여 토끼에 3주 간격으로 3회 근육에 각 1 ml(1 mg/1 ml)를 주사하고 채혈 1주일 전에 1 ml를 1회 耳靜脈에 추가 주사한 후 역가를 측정하고 전량 채혈하였다. 항혈청분리는 4°C 냉장고에 2시간 정치 후 혈병과 분리된 혈청을 1,000 g으로 5분간 원심 후 상등액을 얻었다.

한천겔이중화산법은 1% bacto-agar gel(0.5% lithium 3,5-diido-salicylate, 1 mM Na-EDTA, 0.02% Na₂S₂O₃함유)을 이용하였다. 순화한 바이러스(OD₂₆₀=1.5) 시료를 항원으로 이용하였고, 항체는 제조한 BaMMV-Kor 항혈청을 이용하였다.

효소항체결합법(ELISA)은 Clark & Adams(6)의 방법에 준하여 실시하였고, IgG의 정제는 항혈청으로부터 γ -globulin을 유안염색법으로 침전시킨 다음 DEAE cellulose JAMES를 활성화시킨(pH 7.0) 컬럼을 이용하여 정제하였다. Conjugate 제조는 정제한 IgG에 alkaline phosphatase (Sigma제, type VII-S)를 결합시켜 만들었다. ELISA반응은 microplate well에 IgG(400X)를 37°C에서 2시간 흡착시킨 다음 항원인 바이러스를 4°C에서 24시간 정치시켜 conjugate(800~1600배 희석)를 37°C에서 4시간 반응시킨 후 phosphatase substrate(SIGMA제)를 처리하고 실온에서 30분~1시간 반응시켰다. 결과는 육안 및 ELISA-reader로 조사하였다. 재료는 이병조직 0.1 g에 0.1 M 인산완충액(PBS-T, 0.05% Tween 20함유) 4 ml(W/V)를 넣고 유발에서 마쇄한 조즙액을 항원으로 사용하였다. 반응액의 판정은 흡광도 405 nm에서 microplate reader를 이용하여 측정하였다.

바이러스의 핵산 추출. 즙액접종에 의해 증식시킨 감염엽으로부터 순화된 바이러스(1 mg/ml)를 130,000 g으로 원심 침전시켜 0.5% SDS 및 proteinase K(1 mg/ml)를 첨가하고 37°C에서 20분 반응시킨 후, 페놀(TE포화 pH 7.0), 클로르포름 처리 각각 2회, 에테르처리 1회 및 에탄올 침전을 실시했다. 침전물을 다시 70% 에탄올로 세척하고 5분간 진공 건조시켜 증류수(RNase free) 50 μ l에 용해시켜 -20°C에 보존하면서 시료로 사용하였다. 추출된 RNA는 증류수에 50배 희석하여 자외선흡광도 측정기로 측정하여 사용하였다.

외피단백질 및 핵산의 전기영동. 바이러스 외피단백질은 순화된 바이러스 재료 10 μ l에 4 μ l의 용해용 완충액(0.25 M tris-HCl, pH 6.8, 8% SDS, 8% 2-mercaptoethanol, 40% glycerin, 0.04% bromo-phenol blue)을 혼합하여 100°C에서 3분간 열처리 후 Laemmli(19)의 방법에 준하여 5~

12.5% polyacrylamide gel을 이용하여 18 mA에서 6시간 SDS-PAGE 전기영동을 하였다. 분자량 표준단백질은 Amersham제 rainbow marker를 이용하여 외피단백질의 분자량을 측정하였다. 전기영동 후 겔을 멸균증류수에서 30분간 2회 수세하고 Coomassie brilliant blue R250(CBB) 염색액으로 1시간 염색하여 제조된 탈색액으로 12시간 진탕 탈색시켜 관찰하였다.

바이러스의 핵산 전기영동은 정제한 바이러스 시료 10 μ l(OD₂₆₀=1.5)에 SDS(10%) 1 μ l를 혼합하여 핵산을 유리시켜 전기영동 재료로 공시하였다. 전기영동은 1.5% 아가로스 겔 및 TBE완충액(89 mM Tris, 89 mM boric acid, 2 mM EDTA, 0.1% SDS)을 이용 20 mA로 10분, 70 mA로 1시간 영동하였다. Size marker는 RNA ladder(GIBCO BRL사)을 이용하였다. 전기영동 후 겔을 멸균증류수에 20분씩 2회 수세 후 ethidium bromide(1 mg/ml)에 염색 및 polaroid 사진을 촬영하였다.

결 과

즙액접종에 의한 기주반응. 분리된 BaMMV-Kor의 병원성을 조사하기 위하여 공시품종에 즙액접종하여 병징발현을 관찰한 결과 Table 1과 같다. 판별품종에서 2조맥은 모두 감수성으로 나타났으나, 6조맥의 Chikurin Ibaraki 1,

Table 1. Susceptibility of barley and wheat cultivars to BaMMV-Kor

Cultivar	Numbers of infected plants/ inoculated plants			Ratio of infection Total (%)
	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	
Two-rowed barley				
Haruna Nijo	14/18(+)	5/15(+) ^{a)}	12/16(+)	31/45(68.8)
Ishukushirazu(<i>ym3</i>) [*]	7/27(+)	7/15(+)	10/13(+)	24/55(43.6)
Misato Golden(<i>Ym</i>)	5/19(+)	5/14(+)	4/14(+)	14/47(28.5)
Amagi Nijo	3/14(+)	2/13(+)	3/16(+)	8/43(18.6)
Akagi Nijo	0/18(-)	2/15(+)	3/7(+)	5/40(12.5)
New Golden	0/15(-)	3/15(+)	1/12(+)	4/42(9.5)
Six-rowed barley				
Haganemugi	9/29(+)	2/13(+)	4/15(+)	15/57(26.3)
Joshushiro Hadaka	2/20(-)	2/10(+)	1/14(+)	5/44(11.3)
Tosan Kawa 25	0/19(-)	1/13(+)	1/16(+)	2/48(4.1)
Tosan Kawa 73	0/18(-)	0/16(-)	2/14(+)	2/48(4.1)
Tosan Kawa 81	2/16(+)	1/15(+)	1/16(+)	4/47(8.5)
Chikurin Ibaraki 1	0/31(-)	0/15(-)	0/14(-)	0/60(0)
Kashimamugi	0/18(-)	0/15(-)	0/15(-)	0/48(0)
Mokusekko 3(<i>Ym</i>)	0/30(-)	0/15(-)	0/14(-)	0/59(0)
Baegdongbori	16/16(+)	9/13(+)	14/14(+)	39/43(90.6)
Naehanssalbori	14/16(+)	7/15(+)	12/14(+)	33/45(73.3)
Neulssalbori	13/16(+)	7/16(+)	11/14(+)	31/46(67.3)
Wheat				
Norin 61	0/15(-)	0/16(-)	0/31(0)	0/62(0)

^{*}Letters in parenthesis indicate resistance genes.

^{a)}Reactions of ELISA test, + : positive, - : negative.

Table 2. Infection rate and their symptom of Korean barley cultivars inoculated by BaMMV-Kor

Barley cultivar	Infection rate	Symptoms
Covered barley		
Kangbori	20/98 ^{a)}	N,M ^{b)}
Olbori	28/53	N,Y,M
Oweolbori	8/50	M,Y
Tapgolbori	6/36	Y,M
Saeolbori	0/68	-
Naked barley		
Baegdong	16/42	Y,M,N
Muanbori	11/43	Y,M
Youngsanbori	16/62	Y,M
Chalbori	0/48	-
Hinssalbori	0/67	-
Beer barley		
Doosan 22	8/40	M,Y
Doosan 8	7/76	Y,M
Hyangmaek	19/67	M,Y
Jinkwangbori	14/74	M,Y

^{a)}Number of plants with infected/Number of inoculated plants.

^{b)}N : necrosis, M : mild mosaic, Y : yellowish.

Kashimamugi, Mokusekko 3 등은 저항성으로 나타났다. 밀 품종인 Norin 61은 감염되지 않았다. 감염율은 2조맥에서는 Haruna Nijo가 68.8%로 가장 높았으며, 6조맥에서는 비교 품종으로 넣은 한국품종인 백동의 감염율이 90.6%로 가장 높게 나타났다.

우리나라 품종의 반응에서는 병징은 대부분 연한 모자이크, 황화현상 및 괴사현상이 함께 나타났다. 감염율은 전반적으로 낮았다. 결보리에서는 올보리, 강보리, 탐골보리, 오월보리 순으로 감염이 잘 되었고, 새올보리는 감염되지 않았다. 쌀보리는 백동, 영산보리, 무안보리 순으로 감염율이 높았고, 찰보리, 흰쌀보리는 저항성으로 나타났다. 맥주맥은 모든 품종이 감수성으로 나타났고, 두산22호,

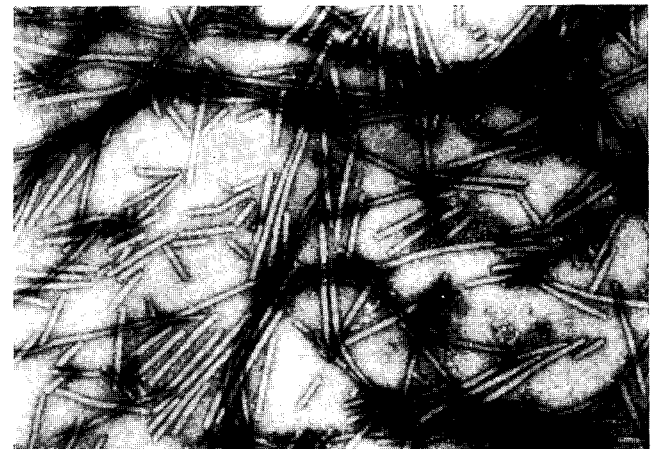


Fig. 1. Electron micrograph of purified BaMMV-Kor particles. The sample was stained with 2% uranyl acetate.

진광보리, 향맥, 두산8호 순으로 감염이 잘 되었다.

정제 바이러스의 특성. BaMMV-Kor 분리주를 보리품종 Ishukushirazu에 증식시킨 후 정제하여 크기를 전자현미경으로 관찰한 결과 폭 13 nm, 길이 120~1,750 nm 범위에 분포하였으나 주로 250~300 nm 및 500~600 nm 범위의 2입자성 사상형 바이러스가 관찰되었다(Fig. 1, 2). CsCl 농도기울기원심법으로 16시간 원심한 결과 CsCl의 밀도(1.33 g/cm³)와 일치하는 부분에 단일로 형성된 virus zone이 관찰되었으며, 바이러스의 농도를 계산한 결과 감염엽 300 g에서 약 2 mg/ml의 정제된 BaMMV-Kor를 얻었다. 정제된 바이러스를 분광광도계를 이용 240~320 nm 파장의 자외선 흡수 패턴을 측정된 결과 전형적인 정제바이러스 흡광도인 260 nm에서 최고치를 보였으며, 246 nm에서 최저치를 보여 주었다.

항혈청 역가 및 혈청반응. 한국에서 분리하여 제작한 항혈청 BaMMV-Kor 및 일본에서 분양받은 BaMMV-Na

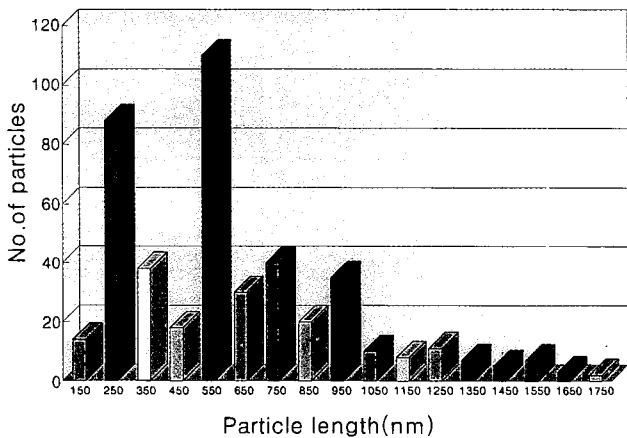


Fig. 2. Distribution range of BaMMV-Kor particles.

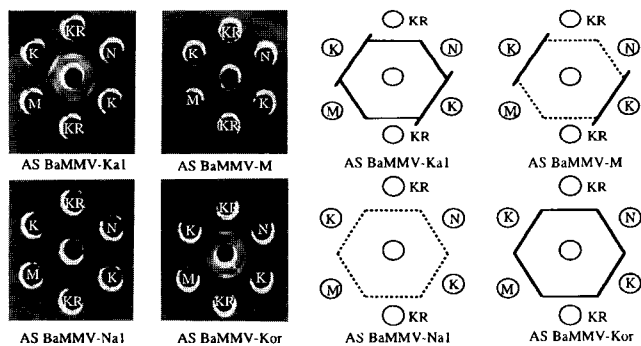


Fig. 3. Serological relationships among BaMMV strains in a double immunodiffusion test. KR : BaMMV-Kor, N : BaMMV-Nal, K : BaMMV-Kal, M : BaMMV-M, AS : antiserum. Each central well contains antisera of BaMMV-Kal, M, Nal and Kor and the peripheral wells contain sap from barley plant infected with the BaMMV strains -Kor, -Nal, -Kal and -M, respectively. — : Excellent, — : mediate, ... : weak reaction.

1, -Ka1, -M 등의 항혈청과 항원 BaMMV-Kor, -Na1, -Ka1 및 -M(OD₂₆₀=1.5)을 공시하여 한천이중확산법으로 반응시켰다. 항혈청 BaMMV-Kor에서는 항원 -Kor, -Na1, -Ka1 및 -M 등과 모두 반응이 뚜렷하였으나 반응분지는 형성되지 않았다. 그러나 항혈청 BaMMV-Ka1에서는 -Kor과 -Ka1, -Ka1과 -M계통 및 -Na1과 -Ka1계통 사이에서 반응분지가 형성되었다. 또한 항혈청 BaMMV-M에서도 항원인 Ka1에서 반응분지가 형성되었다. 그러나 항혈청 BaMMV-Na1 및 -M에서는 -M과 -Ka1계통은 반응분지가 형성되지 않았다(Fig. 3).

바이러스 핵산 및 외피단백질의 전기영동. 정제된 BaMMV-Kor, -Na1, -Ka1, -M 등의 4계통으로부터 추출된

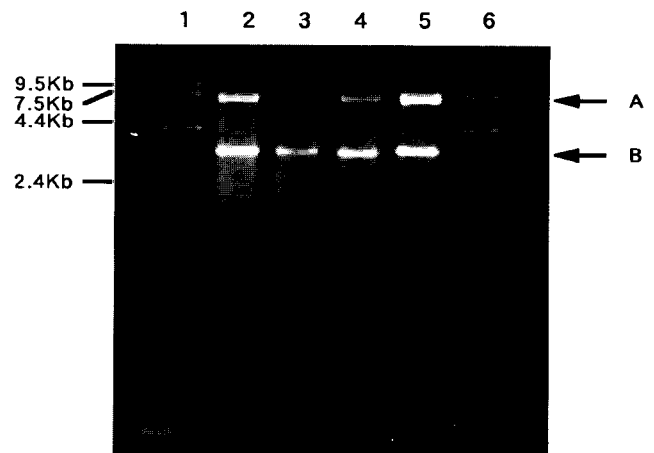


Fig. 4. Electrophoresis of RNAs of four BaMMV strains on 1.2% agarose gel. Lane 2, BaMMV-Kal; lane 3, BaMMV-M; lane 4, BaMMV-Nal; lane 5, BaMMV-Kor; lane 1 and 6, RNA ladder marker (Gibco BRL). Arrows indicate RNA1(A) and RNA 2(B).

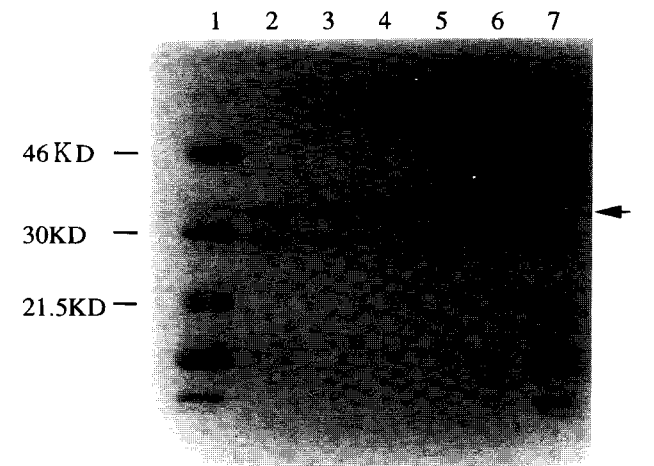


Fig. 5. SDS-PAGE of coat proteins of four BaMMV strains. Lane 2 and 6, BaMMV-Kal; lane 3, BaMMV-M; lane 4, BaMMV-Nal; lane 5, BaMMV-Kor; lane 1 and 7, contain the rainbow marker protein (Amersham Co.). Arrow indicates the position of BaMMV coat protein.

RNA를 멸균증류수(RNase free)에 50배 희석하여 분광광도계로 자외선 흡광도(230~320 nm)를 측정할바 260 nm에서 최고치를 나타냈다. 이 RNA를 전기영동한 결과 모든 계통에서 공히 2개의 band(RNA 1, RNA 2)가 확인되었다(Fig. 4). 이들 바이러스 3계통의 RNA 전기영동상은 큰차이는 없었으며, RNA 1의 크기는 약 7.5 Kb였고, RNA 2는 약 3.5 Kb였다.

BaMMV-Kor, -Na1, -Ka1, -M 4계통의 정제 재료로부터 분리한 외피단백질을 전기영동하였다. 모두 1개의 주 band와 수 개의 작은 band가 확인되었다(Fig. 5). 외피단백질 전기영동상은 계통간 큰 차이는 없었고, 분자량은 약 33 KDa였다.

고 찰

우리나라 남부 맥류 재배지에 발생하고 있는 보리바이러스병 감염주로부터 토양전염성 바이러스인 barley mild mosaic virus(BaMMV-Kor)를 ELISA 방법으로 확인후 판별기주에 의해 분리되었다. 분리된 BaMMV-Kor의 바이러스형태를 전자현미경으로 관찰한 결과 폭 13 nm, 길이 120~1,750 nm 범위를 갖는 사상형바이러스였으며, 주로 250~300 nm 및 500~600 nm의 크기를 나타내는 2입자성이었다. 이러한 결과는 토양전염성 바이러스인 BaYMV(1, 13, 29), BaMMV(1, 11), WSSMV(24), WYMV(12), RNMV(14), OMV(9)의 입자크기인 폭 13 nm, 길이 100~1,850 nm 범위의 사상형바이러스와 유사하였다. 즙액접종에 의한 기주의 반응은 New Golden 및 Joshushiro Hadaka와 BaYMV 저항성인자를 갖은 Misato Golden(Ym) 및 Ishukushirazu(y3)는 감수성으로 나타났다. 그러나 Chikurin Ibaraki 1, Kashimamugi 및 Mokusekko 3(Ym) 품종은 저항성으로 나타났다. 이와 같은 BaMMV-Kor에 의한 품종반응은 Nomura(21) 등이 보고한 BaMMV-Na1과 병원성이 유사한 것으로 생각된다. 기타 한국품종에서도 쌀보리 품종과 겉보리 품종의 대부분이 감수성으로 나타났으나, 겉보리 품종 중에서 새울보리, 쌀보리 품종중 찰보리, 흰찰보리등이 BaMMV-Kor 계통에 의한 즙액접종 결과 병징이 나타나지 않음을 알 수 있었다.

바이러스를 CsCl 밀도기울기원심분리법으로 정제한 결과 Usugi와 Saito(29), Kashiwazaki(16) 및 Nomura(21)가 보고한 bymovirus에서 볼 수 있는 입자의 크기 및 흡광곡선도를 나타냈다. 정제한 바이러스를 토끼에 근육주사한 후 반응역가 680배일 때 채혈하여 한천겔확산법으로 BaMMV의 계통간 유연관계를 조사하여 본 바 항혈청 BaMMV-Kor에 -Na1, -Ka1 및 -M은 반응대가 뚜렷하였으나 반응분지는 형성되지 않았다. 그러나 BaMMV-Ka1 및 -M 항혈청에서는 반응분지가 형성되었고, -Na1항혈청에서는 반응분지가 형성되지 않았으므로 BaMMV-Na1와 유연관계가 깊은

것으로 생각된다.

BaMMV-Kor의 이화학적 성질을 알아보기 위하여 외피단백질 및 핵산을 전기영동하여 본 결과 일본의 BaMMV-Na1, -Ka1, 및 독일의 -M 등 4계통간의 영동상이 같았다. 외피단백질의 분자량은 柏崎(16)의 보고와 같은 33 KDa였고, 1개의 주 밴드와 2~3개의 작은 마이너밴드가 관찰되었으나 계통간에 큰 차이는 없었다. 정제한 바이러스로부터 핵산을 추출하여 RNA를 전기영동하여 본 결과 4계통 모두 2개의 밴드(RNA 1, RNA 2)가 나타났다. RNA 1은 계통간 차이가 인정되지 않았으며, 크기는 약 7.5 Kb였다. RNA 2는 약 3.5 Kb로 이는 Dessens(7), Foulds(8), Kashiwazaki (16), Schlichter(23) 등의 보고로 미루어 보아 계통간 미미한 차이는 인정되며, Jacobi 등(15)과 Timpe 등(28)에 따르면 이와 같은 차이는 BaMMV를 즙액접종으로 계대배양하면 핵산이 deletion되어 RNA 2의 P2 단백질의 길이가 짧아진다는 보고와 관계가 있는 것으로 생각된다.

이상의 결과에서 한국에서 분리된 BaMMV-Kor은 -Na1, -Ka1 및 -M 계통과 여러 가지 이화학적 성질 및 생물학적 성질이 같은 바이러스임이 밝혀졌으며, 특히 공시한 계통 중에서 BaMMV-Na1과는 검정식물에서의 병원성 및 혈청학적 성질이 가장 유사함을 알 수 있었다.

요 약

남부지방에 발생하고 있는 보리마일드모자이크바이러스에 대한 기초 연구로서 바이러스를 순수분리하고 즙액접종에 의한 기주반응, 항혈청반응 및 바이러스의 이화학적 성질을 조사하였다. 보리바이러스 병징으로부터 barley mild mosaic virus(BaMMV-Kor)를 분리하여 전자현미경으로 관찰한 결과 폭 13 nm, 길이 250~300 nm와 500~650 nm의 2입자성 사상형바이러스가 관찰되었다. 정제한 바이러스를 토끼에 근육주사 하여 BaMMV-Kor 항혈청을 만들었다. 한천겔확산법에 의한 혈청반응은 분리주 BaMMV-Kor은 BaMMV-Na1과는 뚜렷한 반응대를 형성하였고, BaMMV-Ka1, BaMMV-M에서는 반응분지가 형성되었다. 분리된 BaMMV-Kor에 의한 즙액접종 결과는 New Golden, Ishukushirazu, Joshushiro Hadaka 및 Misato Golden(Ym)에 감염되었고, Chikurin Ibaraki 1, Kashimamugi 및 Mokusekko 3(Ym)에는 감염되지 않았다. 우리나라 맥류품종에 대한 기주반응은 대체적으로 감수성반응을 보였으나 겉보리에서는 새울보리가 저항성반응으로 나타났다. 찰보리에서는 찰보리, 흰찰보리가 저항성으로 나타났고, 나머지 품종에서는 감수성반응을 보였다. 맥주맥에서는 모두가 감수성으로 나타났다. BaMMV-Kor의 RNA 크기는 7.5 Kb의 RNA 1과 3.5 Kb의 RNA 2로 분리되었으며, 외피 단백질의 분자량은 33 KDa였다.

감사의 말씀

이 논문은 농림수산 특정개발사업 과제인 "분자생물학, 세포생물학적 기법을 응용한 맥주보리 바이러스 진단 및 저항성 유전자 추적 기술 개발(하용운, 이호진)의 2년차(1997, 11~1998, 10)" 결과의 일부로서 연구비를 지원하여 주신 농림수산부 농림수산 기술관리센터에 감사하며 항혈청과 보리종자를 분양하여 준 日本農林水産省農業研究센터에 감사를 드립니다. 또한 우리나라 보리종자를 분양하여 주고 모든 실험에 협조하여 준 호남농업시험장 관계자 여러분께 감사를 드립니다.

참고문헌

- Adams, M. J., Swaby, A. G. and Jones, P. 1988. Occurrence of two strains of barley yellow mosaic virus in England. *Pl. Path.* 36: 610-612.
- Adams, M. J. 1991. Transmission of plant viruses by fungi. *Ann. Appl. Biol.* 118: 479-492.
- Andersen, J. F., Davies, J. W. and Coutts, H. A. 1993. Further evidence for the inclusion of barley mild mosaic virus(BaMMV) in the bymovirus group. *J. Phytopath.* 139: 48-56.
- Barnett, O. W. 1991. Potyviridae, a proposed family of plant viruses. *Arch. Virol.* 118: 139-141.
- Chen, J., Swaby, A. G., Adams, M. J. and Ruan, Y. 1991. Barley mild mosaic virus inside its fungal vector, *Polyomyxa graminis*. *Ann. Appl. Biol.* 118: 615-621.
- Clark, M. F. and Adams, A.N. 1977. Characteristic of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34: 475-483.
- Dessens, J. T. and Mayer, M. 1995. Characterization of fungally and mechanically transmitted isolates of barley mild mosaic virus: two strains in competition. *Virology* 212: 383-391.
- Foulds, I. J., Lea, V. J., Sidebottom, C., James, C. M., Boulton, R. E., Brears, T., Slabas, A. R., Jack, P. L. and Stratford, R. 1993. Cloning and sequence analysis of the coat protein gene of barley mild mosaic virus. *Virus Res.* 27: 79-89.
- Herbert, T.T. and Panizo, C. H. 1975. Oat mosaic virus. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses. No. 145.
- Huth, W., Leseman, D. E. and Paul, H. L. 1984. Barley yellow mosaic virus: purification, electron microscopy, serology and other properties of two types of the virus. *Phytopath. Z.* 111: 37-54.
- Huth, W. and Adams, M. J. 1990. Barley yellow mosaic virus (BaYMV) and BaYMV-M: two different viruses. *Intervirology* 31: 38-42.
- Inouye, T. 1969. Filamentous particles as the causal agent of yellow mosaic disease of wheat. *Nogaku Kenkyu Jpn.* 53: 61-68.
- Inouye, T. and Saito, Y. 1975. Barley yellow mosaic virus. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses. No. 143.
- Inouye, T. and Saito, Y. 1977. Rice necrosis mosaic virus. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses. No. 172.
- Jacobi, V., Peerenboom, E., Schenk, P.M., Antoniw, J.F., Steinbiss, H. -H. and Adams, M. J. 1995. Cloning and sequence analysis of RNA-2 of a mechanically transmitted UK isolate of barley mild mosaic bymovirus. *Virus Res.* 37: 99-111.
- 柏崎哲.1991.オオムギ縞萎縮病ウイルスの遺傳子構造および系統に関する研究.東京大學 大學院 博士學位論文. pp. 1-198.
- Kashiwazaki, S., Nomura, K., Kuroda, H., Ito, K. and Hibino, H. 1992. Sequence analysis of the 3'-terminal halves of RNA1 of two strains of barley mild mosaic virus. *J. Gen. Virol.* 73: 2173-2181.
- Kashiwazaki, S. 1996. The complete nucleotide sequence and genome organization of barley mild mosaic virus(Na1 strain). *Arch. Virol.* 141: 2077-2089.
- Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
- Lee, K. J., Kashiwazaki, S., Hibi, T. and So, I. Y. 1996. Properties and capsid protein gene sequence of a Korean isolates of barley mild mosaic virus. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 62: 397-401.
- Nomura, K. 1996. Biological and serological properties of strains of barley mild mosaic virus. *J. Phytopath.* 144: 103-107.
- Ordon F., Huth, W. and Friedt, W. 1992. Mechanical transmission of barley mild mosaic virus(BaMMV) to rye (*Secale cereale* L.). *J. Phytopath.* 135: 84-87.
- Schlichter, U., Shon, A., Peerenboom, E., Schell, J. and Steinbiss, H.-H. 1993. Molecular analysis of the capsid protein gene of a German isolate of barley mild mosaic virus. *Plant Cell Rep.* 12: 237-240.
- Slykhuis, J. T. and Polak, Z. 1969. Purification of wheat spindle streak mosaic virus as a cause of mosaic of wheat in Ontario. *Can. Plant Dis. Surv.* 49: 108-111.
- So, I. Y., Cheong, S. S., Lee, K. J. and Oh, Y. H. 1991. Vector of barley yellow mosaic virus and consideration on its control II. *Res. Rept. RDA* 34: 75-83.
- So, I. Y., S. Kashiwazaki and T. Tsuchizaki. 1993. Barley mild mosaic virus occurring in south Korea. Abstracts of 9th Intern. Congress of Virol. p.350.
- So, I. Y., Lee, K. J., Chon, K. H. and Seo, J. H. 1997. Distribution and Screening for barley cultivars resistance to barley yellow mosaic virus and barley mild mosaic virus in southern Korea. *Korean J. Plant Pathol.* 13: 118-124.
- Timpe, U. and Kühne, T. 1995. In vitro transcripts of a full-length cDNA of a naturally deleted RNA 2 of barley mild mosaic virus(BaMMV) replicate in BaMMV infected plants. *J. Gen. Virol.* 76: 2619-2623.
- Usugi, T. and Saito, Y. 1976. Purification and serological properties of barley yellow mosaic virus and wheat yellow mosaic virus. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 42: 12-20.