

## 免疫二重擴散法에 의한 콩 種子의 모자이크 바이러스(SMV) 感染相 調査

羅瑢俊\* · 朴元喆\* · 吳正行\*\*

### Immunochemical Detection of Soybean Mosaic Virus Infections in the Seeds of Soybean Cultivars in Korea

Yong-Joon La\*, Won-Chull Bak\* and Jeung-Haing Oh\*\*

#### ABSTRACT

Soybean mosaic virus (SMV) infection in seeds was investigated by an immunochemical method. Seven soybean cultivars or lines Bughae No. 1, KAS 662-7, Chungbugbaeg, Gwanggyo, Clark, Bongeu, and Gangrim were tested using hypocotyls of germinated seeds and presence of SMV was detected in six soybean cultivars but Gangrim. The level of SMV infection in the assayed cultivars varied from 2.1 to 12.5%. It seemed that seed coat mottling had no correlation with SMV infection of the seeds since virus has not always been detected from the mottled seeds. SMV has not been detected in the seeds of variety Gwanggyo which showed necrotic symptoms.

#### 緒 論

콩 모자이크病(Soybean mosaic disease)은 주로 콩(*Glycine max* (L) Merr.)에發生하는 種子傳染性 바이러스病으로서 世界各地에 널리 分布하며 콩의 收量과 品質에 相當한 損失을 가져오는 것으로 알려져 있다.<sup>6,7)</sup> 이 病은 1916年 Clinton<sup>5)</sup>에 의해 처음으로 그 病徵이 記述되었고, 1921年 Gardner와 Kendrick<sup>8)</sup>가 病原바이러스(Soybean Mosaic Virus; SMV)의 諸性質에 關係 研究報告한 바 있다. 우리 나라에서는 1967年 바이러스의 正體나 種類가 究明되지 않은 채로 콩 바이러스病에 對한 發病調査와 防除試驗을 遂行한 것이 SMV에 關한 最初의 記錄이며<sup>4)</sup>, 그후 李等<sup>9)</sup>은 콩·

모자이크 바이러스에 對한 物理的 性質, 虫媒傳染, 寄生反應 等を 研究報告한 바 있다. 本病은 우리 나라 全域에 걸쳐 發生하는데 品種에 따라 差異는 있으나 約 6~10%의 收量減少를 招來하는 것으로 알려져 있으며<sup>7)</sup>, 우리 나라 콩 獎勵品種이었던 광교, 강림 등이 SMV에 抵抗性인 것으로 알려졌으나 近來에 와서는 SMV-N 系統에 依하여 壞疽型 病이 甚하게 發生하여 큰 被害를 주고 있다<sup>2,3,8)</sup>.

콩·모자이크 바이러스病의 第一次 傳染源은 콩에서 種子傳染된 罹病株이므로 本病을 效果의 爲로 防除하기 위해서는 SMV-無感染種子의 生産普及가 가장 重要하다. 따라서 SMV-無感染種子를 生産하기 위해서는 SMV의 種子感染實態에 關한 調査가 先行되어야 하므로 本實驗에서는 血清學의 方法으로 ① 우리 나라 主

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

\*\* 韓國에너지研究所 放射線農學研究室(Radiation Agriculture Div., Korea Advanced Energy Research Institute, Seoul, Korea)

콩品種의 SMV種子感染率과 ②罹病株에서採種褐斑粒과無褐斑粒에서의 SMV感染相 및 ③壞疽徵을 나타내는 廣豆品種에서의 種子感染與否 등을 求하여 앞으로 無毒健全種子の 生産에 必要한 基礎資料를 얻고자 하였다.

本實驗에 使用한 SMV-抗血清을 分讓해 준 美國 Florida 大學校의 Purcifull 博士와 Illinois 大學校의 oodman 博士에게 感謝드린다.

## 材料 및 方法

### 1. 供試 콩 品種

韓國 에너지研究所에서 1980년에 採種한 콩 品種 中 MV 感染率이 높았던 感受性 및 中度抵抗性인 7個 品種을 使用하여 SMV 種子感染率을 調査하였고, 褐斑粒과 SMV 感染率과의 關係를 調査하기 위하여 3個 品種의 罹病株에서 採種한 褐斑粒을 檢定하였으며, 廣豆 品種에 壞疽病徵을 나타내는 SMV의 種子傳染與否를 證明하기 위하여 健全株와 罹病株에서 採種한 種子를 檢定하였다.

### 2. 供試抗血清

本實驗에 使用한 SMV 抗血清은 美國 Florida 大學校의 Purcifull 博士와 Illinois 大學校의 Goodman 博士로부터 分讓받았으며, 抗血清은 原液을 稀釋하지 않고 그대로 使用하였다.

### 3. 바이러스檢定

本實驗에서는 Lima와 Purcifull<sup>10)</sup>이 開發한 免疫二重擴散法을 使用하였는데, 이 方法의 概要는 다음과 같다.

種子를 0.5% Sodium hypochlorite에 10分間 表面殺菌하여 25~27°C 항온기에 3~5日間 넣어 發芽시킨 다음, 胚軸을 切斷하여 1.5% Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) 溶液에 넣고 (1:1, w/v) 유리막대로 짓이겨서 汁液을 얻었으며, 100ml의 0.05M Tris-HCl (pH 7.2) 에 Noble agar 0.8g, SDS 0.5g 및 NaN<sub>3</sub> 1g을 添加하고 加熱하여 完全히 溶解시켜서 만든 血清反應用培地를 Petri dish에 부어 寒天平板을 만들었다. 이 寒天平板內의 反應孔에 抗血清과 胚軸汁液을 넣고 24°C의 항온기에 넣어 24~72時間 둔 다음 沈降帶의 生成與否를 觀察하였다.

## 結 果

免疫二重擴散法으로 콩 種子의 SMV를 檢定한 結果

**Table 1.** Detection of soybean mosaic virus in soybean seeds as determined by double immunodiffusion test

Soybean cultivars	No. of seeds tested	No. of seeds infected	% infected
Bughae No. 1	48	6	12.5
KAS 662-7	48	5	10.4
Chungbugbaeg	48	4	8.3
Gwanggyo	48	1	2.1
Clark	48	1	2.1
Bongeu	48	1	2.1
Gangrim	48	0	0.0
Total	336	18	5.4

供試한 7個 品種 中 6個 品種에서 SMV가 檢出되었고 이들의 種子感染率은 2.1~12.5%로서 品種에 따라 差異를 나타냈다(表 1). 또한 總檢定粒數 336粒 中 18粒에서 SMV가 檢出됨으로서 全體供試品種의 平均種子感染率은 約 5.4%를 나타냈으며, 이러한 結果로 보아 우리 나라의 콩 品種의 種子가 SMV에 相當히 높은 比率로 感染되어 있음을 血清學的 檢定法에 依해 確認할 수 있었다.

한편 SMV-罹病株에서 採種한 褐斑粒과 無褐斑粒의 SMV 感染率을 比較調査한 結果는 表 2와 같다. SMV 感染에 依한 褐斑粒形成率이 높은 品種 1호品種의 경우 褐斑粒과 無褐斑粒에서 各各 33.3%와 29.2%를 나타냈으며, Woodworth 品種의 경우는 褐斑粒과 無褐斑粒 모두 4.2%의 同-한 感染率을 나타냈다. 그러나 Clark 品種의 경우 褐斑粒에서는 4.2%의 感染率을 보였지만 無褐斑粒에서는 SMV가 檢出되지 않았다.

**Table 2.** Detection of soybean mosaic virus in mottled and non-mottled soybean seeds as determined by double immunodiffusion test

Soybean cultivars		No. of seeds tested	No. of seeds infected	% infected
Bughae No.1	M*	48	16	33.3
	N	48	14	29.2
Clark	M	48	2	4.2
	N	48	0	0.0
Woodworth	M	48	2	4.2
	N	48	2	4.2

\* M; mottled seeds, N; non-mottled seeds

**Table 3.** Serological assay of soybean mosaic virus in seeds of soybean variety Gwanggyo obtained from plants with necrotic symptoms in field.

Sources of seed	No. of seeds tested	No. of seeds infected	% infected
Diseased plants	48	0	0
Healthy plants	48	0	0

또한 SMV에 감염된 광교品種 中 壞疽病徵을 나타내는 個體에서 採集한 種子에서는 表 3에서 보는 바와 같이 전혀 SMV가 檢出되지 않았다.

### 考 察

SMV 種子感染率 調査에서 비록 制限된 量의 抗血清으로 充分한 量의 種子를 檢定하지는 못했지만 7個 供試品種 中 6個 品種에서 SMV가 檢出되고 品種에 따라 2.1~12.5%에 달하는 種子感染率을 보인 것은 우리 나라의 콩品種이 SMV에 比較的 高率로 感染되어 있다는 것을 말해 주며, 이러한 感染種자가 圃場에서 SMV의 第一次 傳染源으로서 重要한 役割을 할 것으로 생각된다. 한편 種子의 褐斑무늬는 SMV 感染과 밀접한 關係가 있다는 報告도 있으나<sup>1)</sup>, 本實驗의 結果 褐斑粒과 無褐斑粒間에는 SMV 感染率에 있어 큰 差異가 없었으며, 이는 SMV의 感染이 褐斑粒을 形成하지만 褐斑粒이 반드시 바이러스를 種子傳染시키지는 않는다는 報告<sup>1)와</sup> 一致하였다. 壞疽病徵을 나타내는 광교品種의 罹病株에서는 전혀 褐斑粒을 形成하지 않았으며, 種子의 SMV 感染率 調査에서도 供試한 48粒에서 전혀 SMV가 檢出되지 않아 광교에서 SMV-N의 種子傳染은 되지 않은 것으로 보였다. 이와 같은 광교에서의 SMV-N의 非種子傳染性이 種子의 成熟 및 發芽過程에서 바이러스가 不活性化되기 때문인지의 與否는 앞으로 研究되어야 할 문제로 생각된다. 그리고 광교品種은 一般의 콩 SMV에 對해 抵抗性으로 모자이크病徵은 잘 나타나지 않으나 가끔 圃場에서 극심한 모자이크病徵의 植物體에서 採種한 種자가 SMV를 保藏하는 지의 문제도 앞으로 究明되어야 할 것이다.

SMV의 血清學的 檢定에 콩 種子의 胚軸汁液을 使用할 경우, 非特異反應이 일어나지 않아 正確한 바이러스檢定이 可能했으나 種子의 子葉(cotyledon) 部分을 使用할 경우에는 심한 混濁現象이 일어나 바이러스의 檢定이 困難하였다.

大量의 種子를 대상으로 바이러스檢定을 實施할 경우, 使用하기에 간편하면서도 바이러스를 正確하게 檢定할 수 있는 方法이 要求되는데, 이러한 점에서 本實驗에서 使用한 Lima와 Purcifull의 血清學的 胚軸檢定 方法은 大體의 콩 種子를 대상으로 SMV 檢定을 하는데 매우 有用한 方法이라고 생각된다.

### 摘 要

우리 나라 콩 種子의 모자이크 바이러스(Soybean mosaic virus; SMV) 感染相을 調査하기 위하여 國內에서 蒐集한 8個 品種을 供試해서 Lima와 Purcifull의 免疫二重擴散法으로 SMV 檢定을 한 結果는 다음과 같다.

1. 供試한 7個 品種 中 6個 品種에서 SMV가 檢出됨으로서, 우리 나라의 콩 品種에서 SMV의 種子傳染性이 血清學的 方法으로 確認되었다. SMV가 檢出된 品種의 種子感染率은 最低 2.1%에서 最高 12.5%를 나타냈으며, 全體의으로는 總檢定粒數 336粒 中 18粒에서 SMV가 檢出됨으로서 約 5.4%의 感染率을 보였다.

2. 罹病株에서 採集한 褐斑粒과 無褐斑粒의 SMV 感染率은 북해 1호 品種의 경우 各各 33.3%와 29.2% Clark 品種의 경우 各各 4.2%와 0.0%, Woodworth 品種의 경우는 褐斑粒과 無褐斑粒 모두 4.2%의 感染率을 나타냄으로써, 供試한 콩 品種의 褐斑粒과 無褐斑粒間에 SMV 感染率에서 뚜렷한 差異를 發見할 수 없었다.

3. SMV에 感染된 광교品種 中 壞疽病徵을 나타내는 個體에서 採種한 種子에서는 전혀 SMV가 檢出되지 않아 광교品種에서는 SMV-N가 種子傳染되지 않는 것으로 보였다.

### LITERATURE CITED

1. Bowers, Jr. G.R. and R.M. Goodman. 1979. Soybean mosaic virus: infection of soybean seed parts and seed transmission. *Phytopathology* 69 : 569-572.
2. Cho, E.K. and B.J. Chung. 1976. Studies on identification of soybean virus diseases. I. Preliminary studies on a soybean virus disease. *Korean J. Plant Prot.* 15 : 61-68.
3. Cho, E.K., B.J. Chung and S.H. Lee. 1977. Studies on identification and classification of soybean virus diseases in Korea. II. Etiology of

a necrotic disease of *Glycine max*. Plant Dis. Rep. 63 : 313-317.

조용섭, 박장식, 1979. 대두의 병. 한국식물보호 연구논고. 한국식물보호학회. 55-59.

Clinton, G.P. 1916. Report of the botanist for 1915. Conn. Agr. Exp. Stn. Ann. Rep.: 446-447.

Gardner, M.W. and J.B. Kendrick. 1921. Soybean mosaic. J. Agr. Res. 22 : 111-113.

Kwon, S.H. and J.H. Oh. 1979. Effect of soybean mosaic virus infection on soybean grain yield. Kor. Jour. Crop Sci. Suppl. : 171-177.

Kwon, S.H. and J.H. Oh. 1980. Resistance to a necrotic strain of soybean mosaic virus in

soybean. Crop Sci. 20 : 403-404.

9. 이정호, 오정행, 장병욱, 박창규, 1968. 대두모자이크 바이러스병에 관한 연구. 원자력연구논문문집 제 8 집 1호 155-166.

10. Lima, J.A.A. and D.E. Purcifull. 1980. Immunochemical and microscopical techniques for detecting blackeye cowpea mosaic and soybean mosaic viruses in hypocotyls of germinated seeds. Phytopathology 70 : 142-147.

11. Porto, M.D.M. and D.J. Hagedorn. 1975. Seed transmission of a Brazilian isolate of soybean mosaic virus. Phytopathology 65 : 713-716.