

망실을 이용한 벼 바이러스병 저항성 대량 검정체계

곽도연[†] · 여운상 · 이종희 · 오병근 · 신문식 · 구연총

작물과학원 영남농업연구소

Mass Screening Method for Rice Virus Resistance Using Screen House

Do-Yeon Kwak, Un-Sang Yeo, Jong-Hee Lee, Byeong-Geun Oh, Mun-Sik Shin, and Yeon-Chung Ku

Yeongnam Agricultural Research Institute NICS., Milyang 627-803, Korea

ABSTRACT To breed virus resistant rice variety, developing an efficient screening method is the most important. Two screening methods such as field screening and tray screening method have been used, but the efficiency of the field screening method is too low because of environment factors and the that of the tray screening method is good but screening capability is limited with only 200~300 lines per year. To overcome those problems, mass screening method using screen house was developed. Barely as host plant of vector insect was grown in screen house in winter season. Then viruliferous insects are spread in the first spring of the initiation year and sustain them annually. Screening of virus resistance was tested two times in a year, the first screening was from April to June and the second from July to September. The virus infected rate of each susceptible varieties was increased to 92% for RSV and 100% for RDV from the second year. Also, this method can evaluate as many as 1,500~2,000 pedigree lines in one time compared with the tray screening method. The result indicates that the mass screening method using screen house, which combines the advantages of the field and tray screening methods, is proven to be more efficient and reliable.

Keywords : rice stripe virus (RSV), rice dwarf virus (RDV), screening method, disease, resistance, small brown planthopper, green leafhopper

우리나라에서 발생되는 벼 바이러스병은 줄무늬잎마름병(Rice stripe virus : RSV), 오갈병(Rice dwarf virus : RDV) 및 검은줄오갈병(Rice black-streaked dwarf virus : RBSDV)

3종류로 알려져 있으며, 줄무늬잎마름병과 검은줄오갈병은 애멸구(*Laodelphax striatellus*), 오갈병은 끝동매미충(*Nephrotettix cincticeps*)에 의해 전염된다(Kuribayashi & Shinkai, 1952; Nasu, 1963). 이러한 바이러스병은 식량증산이 국가적 과제였던 1960년대 후반에서 1970년대까지 우리나라 벼 생산에 가장 큰 문제점으로 대두되었으나, 이후 겨울철 맥류재배의 감소와 저항성 품종의 보급으로 발병은 급격히 감소하였다. 벼 병해충의 발생은 기상환경의 변화와 밀접히 연관되어 있으며(Hyun, 1982), 최근 이러한 기후생태변화 등의 요인으로 벼 바이러스병의 발생이 다시 증가하고 있다. 특히 줄무늬잎마름병은 이제까지 거의 발병이 되지 않았던 중부지방 까지 발생함으로서 점차 확대되고 있는 추세이다.

바이러스병을 포함한 작물의 병해충 방제에 가장 경제적이고 이상적인 방법은 저항성 품종을 이용하는 것이며, 특히 벼 바이러스병은 화학적인 방제효과가 극히 미미하므로 최선의 방제방법은 저항성 품종을 육종하는 것이다. 저항성 품종을 육성하기 위해서는 확실하고 간편하게 검정 할 수 있는 저항성검정 방법이 필요하다. 유전자원을 탐색하고 배후대의 잡종 집단에서 저항성 개체를 효과적으로 선발하기 위해서는 효율적인 검정방법을 확립하는 것이 무엇보다 우선이라 할 수 있다. 현재 이러한 저항성 검정법은 주로 감염에 의존하는 포장검정법(Jin, 1986; Sakurai & Sonoki, 1962)과 인위적으로 바이러스 보도록을 만들어 검정집단에 접종시켜 감염을 유도하는 유묘검정법(Sakurai & Sonoki, 1963; Washio et al., 1967; 石井 등, 1998) 등이 있다. 포장검정 방법은 일년에 한번 밖에 검정할 수 없으며 더욱이 차연감염에 의존하게 되므로 회피현상에 의해 이병정도가 실제보다 낮아지기도 하고 년차간 발병정도의 차이도 클 뿐만 아니라 검정에 소요되는 노력과 포장면적을 많이 필요로 하

[†]Corresponding author: (Phone) +82-55-350-1175
(E-mail) kwakdy@rda.go.kr <Received September 7, 2006>

는 단점이 있다. 특히 최근 자연포장을 이용한 저항성검정은 여러 가지 요인으로 인해 그 효율성이 상당히 낮아 효과적인 검정법이 되지 못하고 있으며, 또한 유묘검정법은 보독충의 생산과 유지에 상당한 어려움이 있으며 단시일 내에 많은 계통을 검정하기도 쉽지 않다. 본 연구는 이러한 검정상의 문제점을 개선하여 보다 효율적으로 대량의 육종재료들을 검정하기 위해 망실을 이용한 대량검정법을 개발하였다.

재료 및 방법

바이러스 검정망실 및 검정재료

대량검정을 위해 $66.0\text{ m} \times 15.0\text{ m}(990\text{ m}^2)$ 의 불소필름을 이용한 격리 하우스를 신축하였다. 이 하우스를 다시 2개의 격리된 섹터로 나누어 각각 줄무늬잎마름병과 오갈병 저항성 검정에 이용하였다(Fig. 1).

검정재료로는 줄무늬잎마름병 및 오갈병 각각에 저항성인 품종(낙동벼, 광명벼)과 감수성인 품종(추청벼)을 이용하였으며, 유묘검정과의 비교를 위하여 85 품종 및 우량계통을 검정에 이용하였다.

저항성검정

망실을 이용한 저항성 검정은 2000년 12월에서 2003년 10월까지 수행하였으며, 먼저 격리된 망실내에 겨울동안 기주식물인 보리를 재배한 후 일부 보리를 제거하여 바이러스 이병품종을 재배하였다. 2001년 4월 실내에서 줄무늬잎마름병 및 오갈병 각각의 보독충을 만든 후 망실내에 방사하였고, 이후 이들 매개충을 계대유지 시켰다. 저항성검정은 년간 2회에 걸쳐 실시하였으며, 1차검정은 4월초에서 6월 말까지 하였고 2차검정은 7월초에서 9월말까지 검정하였다. 재배방법은 검정종자 약 1.5 g씩 건답조파로 파종하고 검정



Fig. 1. Screen house for mass screening of virus resistance for RSV and RDV.

계통 사이에는 감수성 품종을 재배함으로써 보독충율과 매개충 밀도를 높이고자 하였다(Fig. 2).

보독충율은 매달 ELISA(Enzyme Linked Immunosorbent Assay)(Takahashi *et al.*, 1987)법으로 조사하였으며, 매개충 밀도는 각각의 검정포에서 포충망으로 30회 sweeping하여 조사하였다. 바이러스 이병율은 각각의 바이러스병에 대한 감수성 품종의 이병정도로 나타내었다.

유묘검정은 검정용 플라스틱상자($20 \times 40 \times 10\text{ cm}$)에 20립의 최아종자를 열로 파종하고 검정계통 2열마다 각각의 바이러스병에 저항성과 감수성인 품종을 대비로 파종하였다. 파종 15일 후 3~4엽기에 개체당 5~10마리의 바이러스 보독충을 접종하였다. 저항성 판정은 접종 20~30일 후 감수성 대비품종이 병징을 나타낸 후 조사하였으며 판정기준은 농업과학기술 연구조사 분석기준에 준하였다(농촌진흥청, 2003).

결과 및 고찰

줄무늬잎마름병과 오갈병은 검은줄오갈병과는 달리 바이러스가 난을 통하여 후대세대까지 높은 비율로 전염된다(Yamata & Yamamoto, 1955; Ling, 1975; Hibino, 1996). 본 대량검정법은 이러한 바이러스의 경란전염 특성을 이용하여 한번의 바이러스 보독매개충의 방사 후 지속적으로 이들 매개충을 높은 보독율로 유지시키면서 검정하는 방법으로 매개충 및 바이러스 보독율의 유지가 가장 중요한 요인이라고 말할 수 있다. Table 1은 시기별로 검정 망실내에 각각 바이러스 매

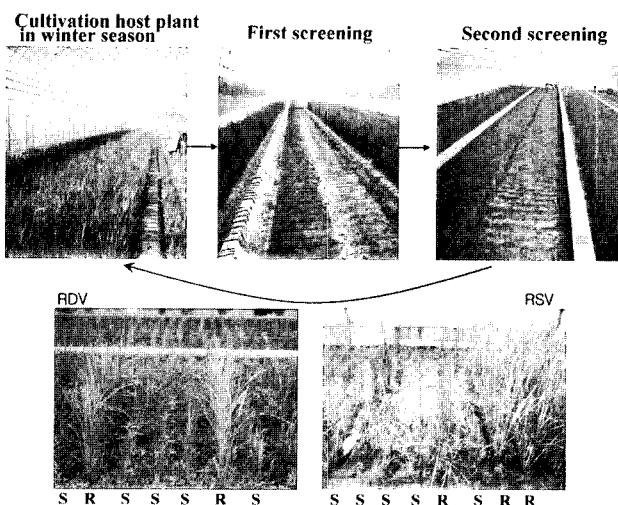


Fig. 2. Screening scheme of rice virus resistance using screen house. R : Resistance, S : Susceptible.

개충의 바이러스 보독율을 나타낸 것으로, 2001년 4월 최초 방사시 보독총율이 줄무늬잎마름병은 13%, 오갈병은 12%로 다소 낮았으나, 6월에는 25%와 23%로 증가하였고 5개월 후인 9월에는 각각 45%와 51%의 높은 보독총율을 나타냈다. 2002년 및 2003년 4월의 월동보독총율을 보면 줄무늬잎마름병은 각각 20%, 36%, 오갈병은 39%, 21%로 월동 후에도 높은 보독율을 유지하였으며, 이후 8월까지 보독총율이 증가하는 추세를 보였다. 이러한 보독총율의 증가는 망실내 이병주의 증가로 바이러스 감염의 기회가 증대되고 또한 충체내에서의 바이러스 증식이 온도가 증가됨에 따라 보다 빨라지는 것으로 여겨진다(Fusao & Keizi, 1970, 1971; Chung, 1974).

망실내에서의 매개충의 밀도변이를 보면 최초 방사 후 6월에는 애멸구 443마리와 끝동매미충 679마리에서 8월에는 662마리와 966마리로 증가하였다. 다음해 2002년 4월의 월동 매개충은 각각 253마리와 471마리였으며, 8월에는 724

마리와 1,162마리로 증가하였다. 2003년도 비슷한 경향으로 각각 343마리에서 802마리, 545마리에서 1,274마리로 증가하여 망실내에서의 매개충이 지속적으로 유지되는 것으로 나타났다(Table 2).

검정시기에 따른 바이러스 이병율은 2001년 1차검정에서 출무늬잎마름병은 70%, 오갈병은 77%의 이병율을 보였고, 2차 검정에서는 증가한 82%와 92%의 이병율을 보였다. 2002~2003년의 검정에서 오갈병은 100%의 이병율을 보였으며, 출무늬잎마름병은 91%~100%의 높은 이병율을 보였다(Table 3).

이처럼 줄무늬잎마름병의 이병율이 오갈병 보다 다소 낮은 이유는 매개충의 특성으로 보여진다. 즉, 오갈병의 매개충인 끝동매미충이 애멸구 보다는 활동력과 이동력이 좋아 바이러스병을 매개하는데 훨씬 효과적인 것으로 생각된다.

Fig. 3은 망실을 이용한 대량검정법과 실내유묘검정법과의 상관분석결과로 줄무늬잎마름병과 오갈병 검정 모두에

Table 1. Monthly variation of viruliferous vector rate in screen house, 2001~2003.

Vector insect	Rate of viruliferous insect (%)														
	2001					2002					2003				
	Apr. 15	Jun. 15	Jul. 15	Aug. 15	Sep. 15	Apr. 20	May 20	Jun. 20	Jul. 20	Aug. 20	Apr. 20	May 20	Jun. 20	Jul. 20	Aug. 20
SBPH [†]	13*	25	42	43	45	20**	23	30	31	44	36**	37	45	42	43
GLH [‡]	12*	23	38	45	51	39**	25	30	33	40	21**	23	25	31	40

* : spread insect in the beginning ** : overwinter insect

[†]SBPH : Small brown planthopper [‡]GLH : Green leafhopper

Table 2. Monthly populations of vector insect in screen house 2001~2003.

* : Insect number per 30 sweeps with an insect net ** : overwinter insects

Table 3. Efficiency of rice virus infection in screen house for mass screening 2001~2003.

Rice virus	Infection percentage of rice virus (%)					
	2001		2002		2003	
	1st (4.10~6.30)	2nd (7.10~9.30)	1st (4.10~6.30)	2nd (7.10~9.30)	1st (4.10~6.30)	2nd (7.10~9.30)
RSV	70	82	91	92	100	100
RDV	77	92	100	100	100	100

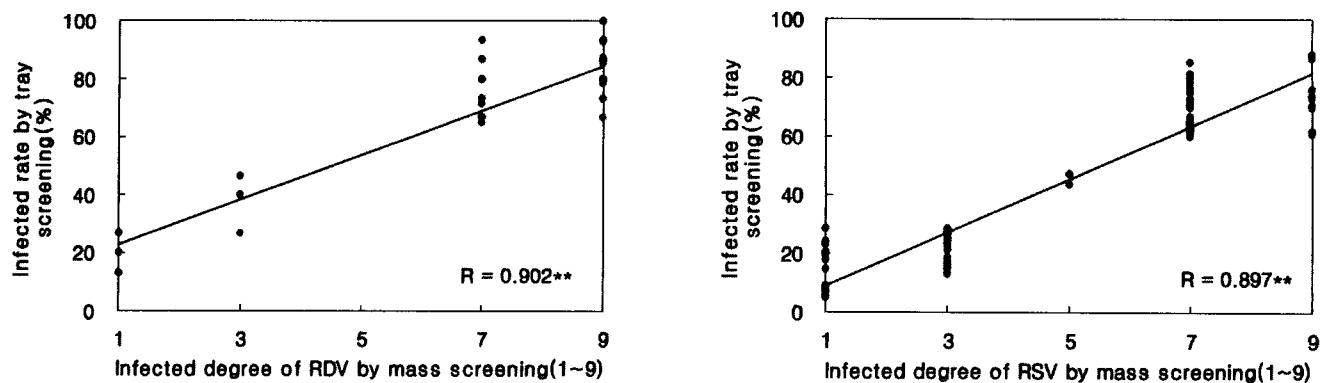


Fig. 3. Correlation between the tray screening and the mass screening method of RSV and RDV.

Table 4. Comparison of screening efficiency of three virus screening methods.

Classification	Field screening method	Tray screening method	Mass screening method
Area required (m^2)	5,000	-	900
Screening capability (lines/year)	2,000~3,000	200~300	1,500~2,000
Screening efficiency (%)	~30	90~100	90~100
Rice virus diseases	RSV, RDV, RBSDV	RSV, RDV, RBSDV	RSV, RDV

서 유묘검정과 고도의 유의한 상관을 나타내어 본 검정법이 유묘검정법과 동일한 검정효과를 거둘 수 있으리라 추측된다.

이와 같은 결과에서 격리 검정망실을 이용하였을 때에는 연간 줄무늬잎마름병 및 오갈병에 대해 각각 1,500여 계통 이상의 많은 재료들을 유묘검정과 비슷한 검정효율로 검정할 수 있어 포장검정법과 유묘검정법의 단점을 보완한 효과적인 검정법이라 여겨진다(Table 4).

적  요

벼 바이러스병에 대한 최선의 방제책은 저항성 품종의 육성이라 할 수 있다. 저항성 품종의 육성을 위해서는 정밀하고 대량으로 검정 할 수 있는 검정법의 확립이 무엇보다 중요하므로 이를 위해 격리 검정망실을 건립 보독충을 방사한 후 이를 계대유지 하여 검정에 이용하였다. 망실내에 바이러스 보독충을 변이에서 연중 높은 보독충율을 유지하였으며, 매개충의 밀도도 검정에 충분하게 유지되었다. 망실을 이용한 바이러스병 저항성검정의 효율성은 줄무늬잎마름병은 92~100%, 오갈병은 100%의 검정효율을 보였으며, 이러한 대량검정법은 실내유묘검정과 고도의 정의 상관을 나타내어 포장검정의 대량검정과 실내유묘검정의 정밀도 등 장점을 결합한 유용한 방법으로 확인되었다.

인용문헌

- 농촌진흥청. 2003. 농업과학기술 연구조사 분석기준. pp. 280.
- 石井清子, 中川宣興, 宮川久義. 1998. 中國農業試驗場における 繕葉枯抵抗性検定法と 育成系統の 抵抗性検定. 中國農研資料 30 : 1-38.
- Chung, B. J. 1974. Studies on the occurrence, host range, transmission, and control of rice stripe disease in Korea. Korean J. Plant Protection 13(4) : 181-204.
- Fusao, N and K. Keizi. 1970. Rate of feeding acquisition of rice dwarf virus (RDV) by the green rice leafhopper, *Nephrotettix cincticeps* Uhler. Proc. Assoc. Plant Protection Sikkoku 5 : 1-9.
- Fusao, N. and K. Keizi. 1971. Inter-generational changes in relative abundance of insects infected with rice dwarf virus in populations of *Nephrotettix cincticeps* Uhler. Appl. Ent. Zool. 6(2) : 75-83.
- Hibino, H. 1996. Biology and epidemiology of rice viruses. Ann. Rev. Phytopathol. 34 : 249-274.
- Hyun, J. S. 1982. Meteorological condition and pest management. Korean J. Crop Sci. 27(4) : 361-370.
- Jin, Y. D. 1986. Studies on the screening methods of rice virus disease for breeding. Gyeongsang Natl. Univ. Ph. D. Thesis pp. 93.
- Kurabayashi, K and A. Shinkai. 1952. On the new disease of rice black-streaked dwarf. Ann. Phytopathol. Soc. Japan 16 : 41.
- Ling, K. C. 1975. Rice virus diseases. IRRI. pp. 142.

- Nasu, S. 1963. Studies on some leafhoppers and planthoppers which transmit virus disease of rice plant in Japan. Bull. Kyushu Agric. Exp. Stn. 8 : 153-349.
- Sakurai, Y. and Y. Sonku. 1962. Studies on the stripe virus disease, field test method on the varietal resistance. Report of the experimental result in plant path. Lab. Chugoku Agric. Exp. Stn : 33-43.
- Sakurai, Y., A. Ezuka, and H. Okamoto. 1963. The seedling test method of varietal resistance of rice plants to stripe virus disease (Part I). Bull. Chugoku Agric. Exp. Stn A9 : 113-124.
- Takahashi, Y., T. Omura, K. Shohara, and T. Tsuchizaki. 1987. Rapid and simplified ELISA for routin field inspection of rice stripe virus. Ann. Phytopathol. Soc. Japan 53 : 254-257.
- Washio, O., A. Ezuka, Y. Sakurai, and K. Toriyama. 1965. Studies on the breeding of rice varieties resistant to stripe disease. I. Varietal difference in resistance to stripe disease. Japan J. Breeding 17(2) : 19-26.
- Yamada, W. and H. Yamamoto. 1955. Studies on the stripe disease of rice plant. I. On the virus transmission by insect, *Delphacodes stictellus* Fallen. Special Bull. Okayama Pref. Agric. Stn. 52: 93-112.