

과제구분	기본연구	수행시기		전반기	
중장기 Code	B	RIMS Code			
연구과제 및 세부과제		연구분야 (Code)	수행 기간	연구실	책임자
과수재배법 개선연구		과수재배 LS0107	'06~'10	강원도농업기술원 원예연구과	김인종
2) 개량머루 무독묘 생산 체계 확립 및 우량모수보존		과수재배 LS0107	'06~'08	강원도농업기술원 원예연구과	김인종
색인용어	개량머루, 무독묘, Leaf-roll 바이러스				

## ABSTRACT

Although the total cultivation area for Gyerangmeru (improved wild grapes) has increased rapidly, total productivity and quality are decreasing due to the Leaf-roll virus. In the worst cases, the Gyerangmeru have died from fire blast, seriously damaging the farmers' livelihoods. Considering this, we have conducted research to produce and distribute young, virus-free plants to increase the profits of farmers. The results are following as.

1. The plants grew well under the disinfection with 1.5% lax for 15min.
2. The survival rate of these young plants was high at Location A(MS medium) during the first period of growth, but Location B(MS+BA) showed better results during the second period of growth.
3. According to the result of the virus inspection, the Leaf-roll virus was not found from the tissue-cultured young plants.
4. Roots grew well when the young plants were treated with Leuton and Dipping Treatment under IAA 100ppm for five seconds during the cuttage breeding.
5. As a result, we are currently growing three virus-free young plants, and these will contribute to the production and distribution of high-quality wild grapes in the future.

### 1. 연구목표

개량머루는 1972 ~ 1975년 경기도 남양주군의 김흥집씨가 야생머루인 새머루(*V. flexuosa* Thanb.)를 모본으로 하고 유럽종 포도인 콩코드를 부분으로 하여 인공교배로 육성한 품종으로 알려져 있다(강원도원, 1986.) 강원도를 비롯 경기도 파주 전라도 무주 등지에서 주로 재배되고 있으며 '07년 강원도의 재배면적은 89.2ha(강원통계연보 2007)로 농가 소득 작목으로 자리잡고 있다.

개량머루 재배시 생육이 불량한 포장에서는 6월부터 잎이 붉은색으로 물들고 뒤로 말림 증상이 나타나고 식물체 생육이 더욱 불량해질 뿐 아니라 고사되기도 한다. 특히 착색기인 8-9월에 착색이 불량한 머루알이 송이 전체에 분산되어 품질 및 수량을 떨어뜨리고 있다. 그 원인을 구명하고자 바이러스 검경을 한 결과 leaf-roll 바이러스 등에 심하게 감염된 것을 알 수 있었다.

포도에서 발생하는 바이러스는 전 세계적으로 leaf-roll 바이러스 등 44종이 보고되고 있으며(Martell; walter 1998) 이들 바이러스에 의해 수량감소, 착색불량, 당도저하 등 포도의 품질을 떨어뜨리는 것으로 알려져 있다(山川 등 1982, 貞松 1987, 張 1991). 이러한 바이러스에 감염되면 치료방법이 없기 때문에 현재까지 가장 효율적인 대책은 바이러스에 감염이 안 된 건전한 묘목을 재배하는 것이 유일한 방법으로 알려져 있다. 포도에서 바이러스 무독묘 생산 방법은 항온기내의  $37\pm 2^{\circ}\text{C}$  온도에서 6-8주동안 열처리 한 후 성장점 배양을 병행한 방법이다.(김, 1999).

따라서 본 연구도 개량머루에서 고온처리와 성장점 배양으로 바이러스 무독묘를 생산하고 생산된 무독묘를 증식, 농가에 보급함으로써 농가소득을 제고 하고자 본 시험을 수행하였다.

## 2. 재료 및 방법

바이러스 무독묘를 생산하기 위하여 육안으로 바이러스에 감염된 개체를 25cm 화분에 1주씩 심어 발근시킨 후 Growth chamber의 조건을 습도  $65\pm 5\%$ , 온도  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ , 12시간 일장으로 조절하여 4주간 열처리를 실시한 후 신초를 채취하여 락스 0.5%~2.0% 농도에서 5~15분간 침지 소독한 후 0.5~1.0mm 크기의 성장점 및 액아를 채취하여 배양하였다.

초기배양용 배지로는 MS기본배지와 MS+BA배지를 사용하였으며 분화된 개체의 생육 배지는 MS기본배지+BA를 첨가한 것을 이용하여 계대 배양하여 생육시켰다. 계대배양된 개체는 세척한 후 상토에 정식하여 실내에서 순화 시킨 후 포장에 이식하여 망사 차광망 속에서 생육시켰다.

바이러스 검경은 ELISA방법을 이용하였으며, 개량머루 삼목번식 효율을 높이기 위하여 발근제는 루톤을 절단면에 분의 처리하였고 IAA, IBA, NAA는 100ppm 용액에 5초간 침지 처리한 후 원예용상토(과채류용)에 삼목하였다. 삼수조제는 15cm 길이로 삼목면은 마디를 1/2로 절단하여 루톤 및 성장조절제를 처리 하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 가. 락스 농도 및 소독시간에 따른 생존율

배지의 오염 및 잡균의 발생 방지를 위하여 락스로 소독을 실시하였다. 락스의 처리농도로 0.5% 등 4처리를 실시하였으며 처리시간은 5분 등 3처리를 실시한 결과(표 1)과 같았다.

표 1. 락스 농도 및 소독시간에 따른 생존율

처리농도(%)	처리시간(분)	치상병수(병)	생존율(%)	
			6월 1일	11월 20일
0.5	5	5	60	20
	10	5	80	40
	15	5	20	40
1.0	5	5	100	20
	10	5	100	40
	15	5	100	80
1.5	5	7	71	71
	10	7	86	43
	15	5	100	80
2.0	5	6	100	50
	10	7	86	57
	15	7	100	43

표 1.에서와 같이 치상 9개월 후의 생존율은 락스농도 1.0%, 1.5%에서 15분 소독한 처리에서 생존율이 80%로 잡균의 발생 없이 생존함을 알 수 있었다. 따라서 오염방지를 위한 적정 락스 농도 및 처리 시간은 각각 1.5%, 15분이었다.

#### 나. 배지 종류별 생존율

배지는 MS기본배지와 MS+BA 배지를 이용하였다. 생장점 채취는 4주간 열처리 한 신초를 락스에 소독한 후 무균상에서 생장점을 채취하여 치상한 결과로 생존율은 (표 2)와 같았다.

표 2. 배지 종류별 생존율

구 분	치상병수(병)		생존율(%)			
			5월 1일		11월 20일	
	생장점	액아	생장점	액아	생장점	액아
A* 배지	9	9	89	66	11	0
B 배지	9	9	75	25	50	50

\* A배지 : MS 기본배지, B배지: MS+BA

(표 2)에서와 같이 생장점 9점, 액아 9점을 치상한 후 3개월 후인 5월 1일 생존율은 A배지에서 생장점 89%, 액아 66%의 생존율을 보였으며 B배지에는 생장점 75%, 액아 25%의 생존율을 보였다. 치상 9개월 후에는 A배지에서 생장점 11%, 액아 0%, B배지에서는 생장점 50%, 액아 50%의 생존율을 보였다. 직접 바이러스 검경은 하지 않았으나 바이러스 무독묘 가능성이 높은 생장점을 배양한 것을 계대 배양하여 식물체를 유기하였다.

#### 다. 바이러스 진단결과

최근 들어서 포도에서 여러종의 바이러스를 제거하기 위하여 열처리+생장점배양을 통한 무독묘 배양기술이 많이 이용되고 있어(Gilford 등 1961, Bass 등 1984, Savino 등 1990, Staudt 등 1944)의 방법을 개량머루 무독묘 생산체계에 이용하였다.

바이러스 검경은 ELISA법을 이용하여 GLRaV-1~6을 검경한 결과는 (표 3)과 같았다.

표 3. 조직배양묘 바이러스 검정

시 료	ELISA반응		
	GLARV-1	GLARV-3	GLARV-6
생장점 배양주	불검출	불검출	불검출
일반주	+	-	+

(표 3)에서와 같이 열처리 후 생장점 배양한 묘에서는 바이러스가 검출되지 않았으나 적변이 심했던 일반묘는 바이러스가 검출되어 40℃이상의 고온에서 dsRNA합성에 관여하는 효소의 활성이 거의 없으며 이에 따라 바이러스 외피단백질과 세포간 이동 단백질합성이 중단되어 바이러스 복제가 저해된다는(Dawson,1976, Dawson등 1987)이론에 부합되었으며 생장점 조직에는 유관속계가 없어서 바이러스 전이가 불가능하여 정단분열조직에는 바이러스가 도달하기 어렵고 생장점조직의 세포는 대사율이 높아서 바이러스 복제가 불가능하며 또한 생장점조직은 내생오옥신 함량이 높아서 바이러스 증식을 억제한다(Quak 1977)등의 학설에도 부합되었다.

(그림 1)은 생장점배양한 바이러스 무독묘를 순화시키는 과정으로 기내에서 배양된 묘를 수세하여 포트로 옮긴후 온실내에서 1년육묘후 본포에 정식하여 3주의 무독묘를 확보하였다.



무독묘 순화



무독묘 포장정식

그림 1. 무독묘 순화 및 포장정식

### 라. 개량머루 삼목번식

개량머루의 삼목번식 효율을 높이기 위하여 삼목시 절단면을 비스듬히 자르고 이부위에 생장조절제를 분의 하거나 침지한 처리한 결과는 (그림 1), (표 4)와 같았다.



무처리

루톤 분의처리

IAA침지처리

NAA침지처리

IBA침지처리

그림 2. 발근제 처리별 발근형태

표 4. 발근제 처리별 발근율

구 분	처리방법	삼목개체수(개)	발근개체수(개)	발근율(%)
NAA	100ppm 5초 침지	30	20	66.7
IAA	”	30	27	90.0
IBA	”	30	5	16.7
루톤	분의처리	30	27	90.0
무처리	-	30	24	80.0

(표 4)에서와 같이 무처리에 비해 루톤 분의 처리구와 IAA 100ppm 5초 처리에서 발근율이 높았으며 NAA, IBA처리에서는 낮은 발근율을 보여 개량머루 발근율을 높이기 위해서는 루톤 처리나 IAA처리가 적당한 것으로 판단되었다.

#### 4. 적 요

개량머루외 재배면적은 급증하고 있으나 농가에서 Leaf-roll바이러스 피해로 생산 및 품질이 떨어질 뿐 아니라 심하면 개량머루 자체가 얼어 농가에 심각한 피해를 주고 있다. 따라서 바이러스 free묘를 생산 공급하여 농가소득을 제고 하고자 수행한 결과는 다음과 같다.

1. 식물체 소독은 락스농도 1.5%에서 생육이 양호하였으며 소독시간은 15분이 적당하였다.
2. 초기생육은 기본MS배지에서 생존율이 양호하였으나 중기생육은 MS+BA처리 배지가 양호하였다
3. 조직배양묘 Leaf-roll 바이러스 검정결과 바이러스가 검출되지 않았다.
4. 머루 삼목 번식시 루톤분의 처리와 IAA 100ppm 5초 침지 처리에서 발근이 양호하였다.
5. 개량머루 Leaf-roll 바이러스 무독묘 3주 생산 번식중에 있으며 추후 바이러스 무독묘 공급으로 고품질 머루 생산 및 보급 확대에 기여할 계획이다.

#### 5. 참고문헌

- Bsaa, P. and Legin, R. 1984. Thermotherapy and in vitro multiplication fo grapevine apex its use for the elimination fo virus disease and for the estimation damages. *progr. agric. Vitic.* 101 : 270-274
- Dawson, W. O. 1976. Synthesis of TMV RNA at restrictive high temperatures. *Virology* 73 : 319-326
- Dawson, W. O. and Boyd, C. 1987. TMV protein synthesis is not translationally regulated by heat shock. *Plant Mol. Biol.* 8 : 145
- Gifford, E. M. and Hewitt, W. B. 1961. The use of heat therapy and in vitro shoot tip culture to eliminate fanleaf virus from grapevine. *Am. J. Enol. Vitucult.* 12 : 129-130

Quak, F. 1977. Meristem culture and virus-free plants. In : J. Reinert and Y.P.S. Bajaj(Eds), Applied and Fundamental Aspects of Plant Cell, Tissue and Organ Culture. Springer-Verlag, Berlin. pp598-615

Savino, V., Boscia, D., D'Onghia, A. M. and Martelli, G. P. 1990. Effect of heat therapy and meristem tip culture on the elimination of grapevine leafroll associated closterovirus type III. Proc. 10th Meeting ICVG, Volos, Greece, Spet. 3-7, pp433-436

Staudt, G. and Kassemeyer, H. H. 1994. Elimination of grapevine leafroll associated virus type I in vitis vinifera cv. Lemberger. Vitis 33 : 179-180

## 6. 연구결과 활용

연도 (연차)	활용구분	제 목
2008년도 (3년차)	기초자료	개량머루 무독묘 생산체계 및 증식방법

## 7. 연구원 편성

구 분	소 속	직 급	성 명	수행업무	참여년도
					'06~'08
책 임 자	강원도농업기술원	농업연구사	김인종	세부과제 총괄	○
공동연구자	강원도농업기술원	농업연구사	박영식	조직배양	○
공동연구자	강원도농업기술원	농업연구사	이재형	문헌수집 및 조사	○
공동연구자	강원도농업기술원	기능7급	최정용	포장관리	○
공동연구자	강원도농업기술원	농업연구관	이성열	연구자문	○