

어젠다코드	1 - 3 - 8		구 분	세부완결	
기술분야코드	V1	기술유형코드	P01	작목구분코드	FC-05-0501
과제종류	공동연구		세부사업	국책공동연구	
연구과제 및 세부과제			수행기간	과제책임자 및 세부책임자	
국가관리 바이러스 전국 모니터링 및 예방 대책 수립			'09~'13	국립농업과학원	최홍수
강원, 충청지역의 국가관리 바이러스 발생 조사			'09~'13	환경농업연구과	권순배
책임용어	감자갈썩병, 토마토황화잎말림바이러스, 사탕무황화바이러스, 순무황화모자이크바이러스, 봉선화괴저반점바이러스				

ABSTRACT

Recently, new national management viruses have continued to occur and cause damage to many crops. The representative viruses are *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd) in 2008, *Beet western yellows virus* (BWYV) in 2011, *Turnip yellow mosaic virus* (TYMV) in 2012, and *Tomato chlorosis virus* (ToCV) and *Plantago asiatica mosaic virus* (PIAMV) in 2013. In this study, for monitoring of new national management viruses on Gangwon and Chungcheong districts from 2009 to 2013. we investigated the viral symptoms and biological properties in various major crops and also developed the diagnosis methods for the viruses. Incidence of PSTVd was surveyed on many potato fields of Gangwon and Chungcheong districts from 2009 to 2013. but PSTVd has not occurred all potatoes fields that was thoroughly investigated. Disease incidence of TYLCV was surveyed on tomato fields on Gangwon province during four years. the virus had been only occurred at the 7 fields of Chuncheon city in 2012 and the diseases ratio was 0.48%. Since then, the disease has not occurred at all. BWYV, transmitted by aphids in a persistent manner, was firstly detected in paprika with symptoms of vein chlorosis and vein banding on the leaves in Jinju, Gyeongnam in 2011. but the virus was not detected at the all paprika farms of Gangwon province in 2012. TYMV inducing yellowing, mosaic, necrosis and malformation in Chinese cabbage is transmitted by flea beetles and seeds. TYMV was detected in Chinese cabbage on Gangnung, Wonjo and Youngweoul districts in Gangwon province in 2012. But Further occurrence was not detected in 2013 on the areas infected with TYMV in the previous year.

1. 연구목표

국가에서 피해발생을 우려하여 관리하는 바이러스는 자두더듬이바이러스(*Plum pox virus*, PPV) 등 95종이며, 바이로이드는 감자갈썩바이로이드병(*Potato spindle tuber viroid*, PSTVd) 등이 있다. 최근 국가관리 바이러스의 신규 발생으로 농작물 피해가 지속적으로 발생하고

있으며, 2001년 멜론괴저반점바이러스(*Melon necrotic spot virus*, MNSV), 2004년 토마토덤불 위축바이러스(*Tomato bushy stunt virus*, TBSV), 2007년 호박모자이크바이러스(*squash mosaic virus*, SqMV), 2008년 토마토황화잎말림바이러스(*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV) 담배잎말림바이러스(*Tomato leaf curl virus*, TLCV), 감자 갈쪽병(PSTVd)등이 대표적인 국가관리급 병해이다. 감자갈쪽바이로이드(*Potato spindle tuber viroid*, PSTVd)는 Pospiviroidae과, Pospiviroid 속이며 고리 모양의 핵산(RNA)을 가지고 있는 바이로이드다(Syller, 1996, Smith 1997). 감자를 짜를 때 도구에 의하여 접촉전염이 잘되며, 꽃가루에 의하여도 감염이 된다. 또한 복숭아 흑진딧물, 감자수염진딧물에 의하여도 전염이 가능하다. 세계적으로 39개국에서 발생이 되었으며, 주요 감염 작물은 감자와 토마토이다. 2008년 국내의 민간회사의 감자품종에서 발생되어 전량 폐기된 바 있다(김 등, 2009). 토마토황화잎말림바이러스(*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV)는 Geminiviridae과, Begomo virus속이며 바이러스 입자는 직경이 25nm의 쌍구형이다. 담배가루이에 의하여 전염되는 바이러스이며, 세계적으로 58개국의 토마토 등 가지과 작물에 발생하여 문제가 되고 있는 바이러스이다. 2008년 5월 경상남도 통영지역 시설재배 토마토에서 국내에서 처음으로 발생이 확인되었다. 병징은 토마토 잎 가장자리가 황화되고 위쪽으로 오그라들고 작아지며, 식물체 전체가 위축되고 총생되어 생육 초기에 감염되면 수확을 거의 할 수 없어 경제적 피해가 매우 크다(Ji 등 2008). 사탕무황화바이러스(*Beet western yellows virus*, BWYV)는 Luteoviridae과, Polerovirus속이며 진딧물에 의하여 영속전염되는 바이러스로, 미국에서 처음 보고되었고(Duffus, 1960), 사탕무, 고추, 시금치, 완두, 유채 등 34종이상의 식물에 감염하는 것으로 알려져 있다. 이스라엘에서는 생육초기에 황화증상을 보인 사탕무와 상추에서도 BWYV 감염을 확인하였다(Marco, 1984). 국내에서는 2011년에 잎에 전형적인 엽맥퇴색과 엽맥녹대 증상을 보이는 파프리카에서 처음 확인되었다.

봉선화괴저반점바이러스(*Impatiens necrotic spot virus*, INSV)는 Bunyaviridae과, Tospovirus속으로, 꽃노랑총채벌레(*Frankliniella occidentalis*)에 의해 전염된다. 토마토반점위조바이러스(*Tomato spotted wilt virus*, TSWV)의 serogroup III 이었으나, 1993년에 새로운 종으로 분류되었다. 감염기주가 648종 이상이며, 주로 화훼 작물에 피해를 주는 것으로 알려져 있으나, 고추와 토마토 등의 작물에서도 피해가 보고되었다. 2009년 국내 식물방역법상 관리대상 바이러스로, 삼척, 태백, 홍천, 정선지역에서 국내 처음으로 150농가(20ha)에 발생하였으며, 국가에서 엄격히 관리하는 병해충의 하나이다. 순무황화모자이크바이러스(*Turnip yellow mosaic virus*, TYMV)는 Tymoviridae과 Tymovirus에 속해있으며, 벼룩잎벌레에 의한 총매전염, 즙액전염, 종자전염이 가능하다(Matthews 1970; Brunt et al. 1996). 바이러스 입자는 28~30 nm 크기의 구형이며, 십자화과를 주로 감염한다. 감염된 배추는 황화, 모자이크, 괴사, 기형 등의 증상을 일으킨다. 종자 전염과 벼룩잎벌레에 의해 유럽, 호주 및 일본에서 피해가 심각하다(Kirino 등, 2008). 국내에서는 2012년에 홍성 및 진천지역의 배추에서 처음 진단되었고, 종자전염이 확인하였다.

본 과제를 통하여 강원도내의 식물검역법상 금지병 「감자갈쪽바이로이드, PSTVd」 및 국내 유입 신종 바이러스 「토마토황화잎말림병, TYLCV」 등의 재배현장 모니터링체계를 구축하여, 강원지역에서의 국가관리(해외유입 신종) 바이러스, 바이로이드의 신속한 예찰을 통한 농업인 피해의 사전예방 조치와 함께 국내검역 강화로 국내농업기반을 보호함에 본 과제의 목적이 있다.

2. 재료 및 방법

2009년부터 2013년까지 5년간 강원지역의 국가 관리급 바이로이드, 바이러스병 발생 조사 연구를 수행하였다. 각 연도별 수행내용의 요점은 2009년도에는 감자갈썩병(PSTVd) 진단기술 및 사후 조치 표준화기술을 정립하기 위하여, 시료 채취 표준 매뉴얼 개발과 식물체로부터의 고효율 RNA 추출방법, PSTVd 진단법 개발 및 지역별 발생모니터링 연구를 수행하였다. 2010~2011년에는 토마토 등 5작목의 국내 유입·확산 가능성이 우려가 되는 바이러스 및 바이로이드에 대한 정밀 조사를 유전자진단법으로 수행하였다. 2012~2013년에는 배추 등 7작목, 5종의 병원체에 대한 정밀진단을 실시하였다. 연차별 세부적인 연구내용을 표1에 나타냈다.

표 1. 강원, 충청지역 국가 관리급 바이로이드, 바이러스 발생 조사의 연구내용

수행년도	연구 내용
1차년도 (2009)	1) PSTVd 진단기술 및 사후조치 표준화 <ul style="list-style-type: none"> ○ 감자 시료 채취 표준 매뉴얼 작성 : 시료 채취 시기 및 시료 채취구 ○ 식물체 RNA 추출법 및 PSTVd 진단법 확립 : 최적 진단 조건 2) PSTVd 발생 지역별 모니터링 <ul style="list-style-type: none"> ○ 대상작물 : 감자(품종별) ○ 조사내용 : 발병율, 발생면적 등
2~3차년도 (2010~2011)	1) 국내 유입 가능성이 높은 바이러스 정밀 조사 <ul style="list-style-type: none"> ○ 대상작물(5종) 및 대상병원체(3종) <ul style="list-style-type: none"> - 감자 : <i>Potato spindle tuber viroid</i>(PSTVd) - 토마토 : <i>Tomato yellow leaf curl virus</i>(TYLCV) - 고추류 : <i>Tomato spotted wilt virus</i>(TSWV) ○ 조사방법 <ul style="list-style-type: none"> - 감자(PSTVd) 및 고추류(TSWV) : RT-PCR - 토마토(TYLCV) : PCR
4~5차년도 (2012~2013)	1) 국내 유입 가능성이 높은 바이러스 정밀 조사 <ul style="list-style-type: none"> ○ 대상작물(7종) 및 대상병원체(5종) <ul style="list-style-type: none"> - 감자 : <i>Potato spindle tuber viroid</i>(PSTVd) - 토마토 : <i>Tomato yellow leaf curl virus</i>(TYLCV) - 배추, 무 : <i>Turnip yellows mosaic virus</i>(TYMV) - 고추류 : <i>Impatiens necrotic spot virus</i>(INSV), <i>Beet western yellow virus</i>(BWYV) ○ 조사방법 <ul style="list-style-type: none"> - 감자(PSTVd), 고추류(INSV, BWYV), 배추(TYMV) : RT-PCR - 토마토(TYLCV) : PCR ○ 조사내용 : 발병율, 발생면적 등

(시험 1) 농가재배 감자포장에서의 갈죽병 진단

가. 감자갈죽병 발생 조사

감자 시료는 과종 후 70일 전후로 채취하였고, 감자 재배포장에서 약골 중심으로 지상부 이형을 보이는 식물체 상엽을 채취하였다. 포장 990m² 당 3지점, 지점 당 5주 또는 10주, 주당 1매의 잎을 수집하였다. 포장 채취 시 수집일자, 장소, 면적, 품종 등을 기록하여 PCR진단 이후 발병정도를 파악할 수 있도록 하였다. 수집된 잎은 -70℃에서 보관하면서 진단에 이용하였다.

나. 감자갈죽병 진단법

RT-PCR 진단은 농촌진흥청, 검역검사본부 공동 개발 및 기술이전한 진단키트를 사용하였다 (PLUTOS OX0316-1096RP). 감염 식물체에서 핵산추출을 위해 인트론 키트(Easy spin kit)를 사용하였으며, 핵산 추출 및 RT-PCT 진단조건은 다음과 같다. 시료 50~100 mg에 1 ml Lysis buffer를 넣고 마쇄한 후, 1.5 ml 튜브에 넣는다. 크로로포름 200 μ l 첨가 후 1분 정도 강하게 섞어 준다. 13,000rpm, 4℃에서 10분간 원심분리한다. 상층액 400 μ l를 새 1.5ml 튜브에 옮긴다. 결합 완충액(Binding buffer) 400 μ l를 넣고, 약하게 피펫으로 섞어준 후 실온에서 1분간 둔다. 컬럼(Easy spin column)에 혼합액 800 μ l를 넣은 후, 13000rpm, 4℃에서 1분간 원심분리 한다. 컬럼 하층의 액을 버리고 컬럼의 상층에 700 μ l의 세척 완충액(Washing buffer) A를 넣은 후, 13,000rpm, 4℃에서 1분간 원심분리 한다.

표 2. PSTVd RT-PCR 반응액 조제 및 반응 조건

RT-PCR 반응액 조제			
PLUTOS PSTVd premix			
Total RNA			1.0 μ l
Distilled water			19.0 μ l
RT-PCR 반응 조건			
42℃	60분		RT 반응
94℃	15분		
95℃	45초		
55℃	1분	40회 (반복)	Primer의 Annealing 온도(55℃)
72℃	1분		
72℃	5분		신장반응(Extension)

컬럼 하층의 액을 버리고 컬럼의 상층에 700 μ l의 세척 완충액(Washing buffer) B를 넣은 후, 13,000rpm, 4℃에서 1분간 원심분리 한다. 컬럼 하층의 액을 버리고, 동일한 컬럼을 다시

13,000rpm, 4°C에서 1~2분간 원심분리 한다. 컬럼을 새로운 1.5ml 튜브에 조립한 후 50 μ l Elution buffer 또는 DNAase free water를 membrane에 첨가하고, 상온에서 1분간 둔다. 마지막으로 13,000rpm, 4°C에서 1분간 원심분리 한 후 하층의 액체를 이용한다. RT-PCR 반응액 조제 및 반응 조건은 표 2와 같다. RT-PCR 반응 확인하기 위해 1% Agarose gel, 전기영동, 자외선 조사기(UV transilluminator)를 이용하여 PCR 밴드(169bp)를 확인한다.

(시험 2) 새로운 바이러스 발생 조사 및 진단법 개발

가. 토마토황화잎말림바이러스(TYLCV) PCR 검정

TYLCV를 PCR 진단을 하기 위하여 특이적 프라이머를 제작하였으며 프라이머 정보는 TYLC806F-GCCGCGCCTTTTCTTTTTA 및 TYLC806R-GGTTGCGGTACTGGGCTCATTATC로 예상사이즈는 806 base pairs(bp)이다. PCR 반응액 조제 및 반응 조건은 표 3과 같다.

표 3. TYLCV PCR 반응액 조제 및 반응 조건

PCR 반응액 조제			
Viral DNA			1.0 μ l
Forward primer(TYLCV-1f, 10pmol)			0.5 μ l
Reverse primer(TYLCV-1-2r, 10mol)			0.5 μ l
2.5mM dNTP			1.0 μ l
10x Taq polymerase buffer			5.0 μ l
25mM MgCl ₂			2.5 μ l
Taq polymerase(5u/ μ l)			0.2 μ l
Distilled water			14.3 μ l
PCR 반응 조건			
95°C	3분		DNA 변성(Denaturation)
94°C	20초	35회 반복	Primer의 Annealing 온도(55°C)
55°C	30초		
72°C	1분		
72°C	10분		신장반응(Extension)

나. 사탕무황화바이러스(BWYV) 발생 조사 및 진단법

BWYV는 강원도내의 파프리카 재배단지에서 조사하였다. 발병을 조사는 포장당 3지점을 정하고 지점당 100주를 육안조사 및 시료를 채취하여 RT-PCR검정 하였다. BWYV를 RT-PCR 진단하기 위한 프라이머 정보는 다음과 같다. BWYV-95F(5'-CGAATCTTGAACACAGCA GAG-3'), BWYV-784R(5'-TGTTGGATCTTGAAGGATAGG-3'), 예상사이즈는 690 base pairs(bp)이다. RT-PCR 반응액 조제 및 반응 조건은 표 4와 같다.

표 4. BWYV RT-PCR 반응액 조제 및 반응 조건

RT-PCR 반응액 조제			
2x RT-PCR premix(Gent Bio SR-8000)			10.0 μ l
Total RNA			1.0 μ l
Forward primer(BWYV-95F, 10pmol)			1.0 μ l
Reverse primer(BWYV-784R, 10pmol)			1.0 μ l
Distilled water			7.0 μ l
RT-PCR 반응 조건			
42 $^{\circ}$ C	60분		RT 반응
95 $^{\circ}$ C	5분		
95 $^{\circ}$ C	30초	35회 (반복)	Primer의 Annealing 온도(55 $^{\circ}$ C)
55 $^{\circ}$ C	30초		
72 $^{\circ}$ C	1분		
72 $^{\circ}$ C	10분		

다. 순무황화모자이크바이러스(TYMV) 발생 조사 및 진단법

2012년 황화 및 기형 증상을 보인 배추에서 우리나라에 미 발생 바이러스인 TYMV로 분류동정 되었다. 이는 일본 수입산 배추 종자로부터 종자전염된 것으로 배추 재배농가 포장에 대해 TYMV 발생을 조사하였다. TYMV에 대한 신속하고 정확한 바이러스 진단을 위해서 다양한 방법으로 융합된 진단기술을 개발하였다. TYMV를 RT-PCR 진단을 하기 위하여 특이적 프라이머 디자인 하였다. RT-PCR 반응액 조제 및 반응 조건은 표 5와 같다. RT-PCR 반응 확인하기 위해 1% Agarose gel, 전기영동, 자외선 조사기(UV transilluminator)를 이용하여 PCR 밴드(304 bp)를 확인한다.

표 5. TYMV RT-PCR 반응액 조제 및 반응 조건

RT-PCR 반응액 조제			
2x RT-PCR premix (Gent Bio SR-8000)			10.0 μ l
Total RNA			1.0 μ l
Forward primer (TYMV-N10 , 10pmol)			1.0 μ l
Reverse primer (TYMV-C20, 10pmol)			1.0 μ l
Distilled water			7.0 μ l
RT-PCR 반응 조건			
42 $^{\circ}$ C	30분		RT 반응
95 $^{\circ}$ C	5분		
95 $^{\circ}$ C	30초	35회 (반복)	Primer의 Annealing 온도 (55 $^{\circ}$ C)
55 $^{\circ}$ C	30초		
72 $^{\circ}$ C	1분		
72 $^{\circ}$ C	10분		

라. 봉선화괴저반점바이러스(INSV)

INSV RT-PCR 진단용 프라이머 정보로 INSV-1F(5'-ATCAATAGTAGCATTAAACAT-3'), INSV-1R(5'-GACTCAATCTGATTCCTTAGA-3'), 예상사이즈는 800 base pairs(bp)이다.

3. 결과 및 고찰

(시험 1) 농가재배 감자 포장에서의 갈죽병 진단

감자갈죽병(PSTVd)는 '갈죽바이러스'에 감염된 감자와의 접촉, 혹은 감염된 감자를 만진 손이나 감자를 깎은 칼과의 접촉 등을 통해 전염되는 병이다. 감자갈죽병은 식물방역법상 가지과식물의 수입을 제한하는 「주요 금지병」이다. 감염될 경우 감자의 생김새가 길쭉해지면서 껍질과 살이 부드러워져 상품성을 잃게 되며, 수확량도 25~40%나 감소된다. 우리나라에서는 1977년에 감자갈죽병이 발생하여 박멸된 이후 30여 년간 발생사례가 보고되지 않았지만, 2008년 한 민간업체가 육종, 보급한 보라벨리, 골든벨리 품종이 감자갈죽병에 감염된 사실을 확인하고 긴급방제를 실시하였으며, 2008년 이전에 이 품종의 감자를 재배한 포장에 대해서는 2009년부터 2013년까지 5년 동안 감자 및 가지과 작물(가지, 고추, 토마토 등)의 재배를 금지하였다. 이 후 강원도농업기술원에서 2009년부터 2010년까지는 강원, 충청지역의 감자포장을 대상으로, 이어서 2011년~2013년에는 강원도 전역의 감자포장을 대상으로 조사하였다. 그 조사포장 및 유전자진단에 의한 조사결과를 연차별로 표6, 7, 8, 9, 10과 그림 1에 나타냈다. 결과에서 보는 바와 같이 조사포장에서 PSTVd의 이병율은 0%이었다. 따라서 지난 5년 동안 강원, 충남 및 충북지역의 감자 재배포장에서 PSTVd의 재발병 및 새로운 발병의 확산은 전혀 없는 것으로 평가되었다.

표 6. 2009년 강원, 충청지역의 감자재배지에서 PSTVd 발생조사

지역		품종	채취 지점수	시료 채취수	이병율(%)
충북	제천	수미	3	15	0
	단양	수미	6	30	0
충남	당진	수미	3	15	0
		수미	6	30	0
강원	양양	보라벨리	2	10	0
		보라벨리	3	15	0
		수미	3	15	0
		대서	3	15	0

지역	품종	채취 지점수	시료 채취수	이병율(%)	
강원	삼척	수미	6	30	0
		두백	6	30	0
		대서	3	15	0
	동해	수미	3	15	0
		두백	3	15	0
		대서	3	15	0
	강릉	수미	12	60	0
		대서	8	40	0
		두백	1	5	0
	고성	수미	2	10	0
		대서	9	45	0
		보라벨리	1	5	0
	속초	두백	6	30	0
		대서	8	40	0
	평창	두백	8	40	0
		수미	8	40	0
	횡성	두백	3	15	0
	정선	수미	3	15	0
합 계		122	610	0	

표 7. 2010년 강원 및 충청지역의 감자 재배지에서 PSTVd 발생조사

지역	품종	포장수	면적(×3.3m ²)	시료(점)	이병주(점)	이병율(%)	
강원	강릉시	수미	3	8,200	90	0	0
		대서	3	5,200	90	0	0
		두백	1	990	30	0	0
	인제군	수미	3	30,000	90	0	0

지역	품종	포장수	면적(×3.3m ²)	시료(점)	이병주(점)	이병율(%)	
강원	양양군	수미	4	1,600	80	0	0
		두백	2	490	20	0	0
		대서	2	660	20	0	0
	정선군	수미	1	990	30	0	0
		두백	1	9,900	30	0	0
		대서	1	990	30	0	0
평창군	수미	1	6,600	30	0	0	
충북	충주시	수미	3	1,650	70	0	0
		두백	3	1,500	70	0	0
		품종미상	4	1,220	120	0	0
	증평군	자영	2	430	70	0	0
		홍영	1	200	30	0	0
		자서	1	100	30	0	0
		자심	1	70	30	0	0
		품종미상	1	660	30	0	0
	괴산군	수미	2	5,600	60	0	0
	계	8시군	40	77,050,	1,050	0	



그림 1. PSTVd 특이 프라이머를 이용한 강원 및 충청지역(8개소) 감자의 PSTVd 진단 결과 및 시료 채취장면 L; 두백(강원 A농가), R; 자심(충북 D농가)

[M; 100bp marker, P; PSTVd 표준주(양성대조), 15-1; 강원A농가, 15-3; 강원B농가, 16-1; 강원C농가, 17-1; 강원C농가, 18-1; 충청D농가, 19-1; 충청E농가, 19-2; 충청F농가, 19-3; 충청G농가, 고시P; 고농연 보존주(양성대조)]

표 8. 2011년 강원지역의 감자 재배지에서 PSTVd 발생조사

지역	품종	포장수	면적 (×3.3m ²)	병징	시료(점)	이병율(%)
춘천	수미	5	10,800	무병징	150	0
평창	수미, 대서, 두백	5	10,500	무병징	150	0
횡성	수미, 두백	5	7,800	무병징	150	0
삼척	수미	4	2,200	무병징	120	0
동해	수미, 하령	3	5,200	무병징	90	0
강릉	수미, 두백	5	12,100	무병징	150	0
고성	수미, 대서	3	900	무병징	90	0
인제	수미	3	2,800	무병징	90	0
양구	수미	4	2,500	무병징	120	0
원주	두백	2	2,300	무병징	60	0
속초	수미	3	1,900	무병징	90	0
양양	수미	3	4,000	무병징	90	0
영월	수미	3	1,700	무병징	90	0
정선	수미	3	4,200	무병징	100	0
계		51	68,900		1,540	0

표 9. 2012년 강원지역의 감자 재배지에서 PSTVd 발생조사

지역	품종	포장수	면적 (×3.3m ²)	시료 채취수	이병율(%)
춘천	수미	15	7,200	15	0
평창	수미	24	14,000	24	0
횡성	대서, 수미	9	2,200	9	0
삼척	수미	9	2,300	9	0
동해	수미	15	2,700	15	0
강릉	수미, 대서	27	20,800	27	0
고성	수미	12	3,100	12	0
인제	수미, 두백	9	1,900	9	0
양구	수미	9	900	9	0
원주	수미	9	1,800	9	0
속초	수미	9	1,200	9	0
양양	수미, 하령, 두백	24	4,500	24	0
영월	수미, 대서	15	1,800	15	0
정선	수미	21	28,000	21	0
철원	수미, 대서	9	1,000	9	0
홍천	수미, 대서, 두백	18	2,400	18	0
화천	수미	15	4,100	15	0
계		249	99,900	249	0.0

표 10. 2013년 강원지역의 감자 재배지에서 PSTVd 발생조사

지역	품종	포장수	면적 (×3.3m ²)	시료 채취수	이병율(%)
춘천	수미	15	80,000	15	0
평창	수미	24	20,000	24	0
횡성	대서, 수미	9	2,500	9	0
삼척	수미	9	2,500	9	0
동해	수미	15	3,000	15	0
강릉	수미, 대서	27	10,000	27	0
고성	수미	12	3,500	12	0
인제	수미, 두백	9	1,900	9	0
양구	수미	9	900	9	0
원주	수미	9	1,800	9	0
속초	수미	9	1,200	9	0
양양	수미, 하령, 두백	24	4,500	24	0
영월	수미, 대서	15	1,800	15	0
정선	수미	21	30,000	21	0
철원	수미, 대서	9	2,000	9	0
홍천	수미, 대서, 두백	19	5,400	19	0
화천	수미	20	6,000	20	0
계		255	177,000	255	0.0

(시험 2) 새로운 바이러스 발생 조사 및 진단법 개발

가. 토마토황화잎말림병 발생 조사

토마토황화잎말림병은 국경 검역에서 엄격히 관리하고 있는 바이러스로서 토마토, 고추 등 가지과 작물에 주로 피해를 준다. 또한, 감염된 토마토는 황화 및 잎말림증상을 나타내며 (그림 2), 줄기에서는 마디가 잘 크지 않는 위축 증상, 그리고 꽃은 개화가 불량해 진다. 토마토황화잎말림병은 담배가루이가 주요 전염원이다. 매개충인 담배가루이는 전국에 분포하는 해충으로 일단 바이러스를 획득하면 일생동안 바이러스를 전염할 수 있으며, 알을 통하여 다음 세대로 바이러스가 바로 전염되지는 않는다. 중간기주식물은 독말풀, 배초향, 주홍서나물, 왕고들빼기, 쑥, 털쇠무릎 등 온실 주변에 많이 자라는 잡초류이다.

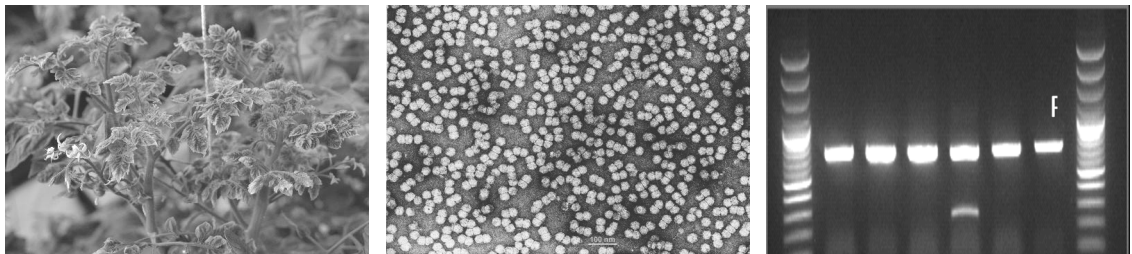


그림 2. TYLCV 병징, 바이러스입자 및 특이 프라이머를 이용한 진단.
M; 100bp marker, P; TYLCV 표준주(양성대조), 1 ~ 5; 춘천 농가감염주

표 11. 강원지역의 토마토 재배지에서 TYLCV 이병을 조사

조사년도	조사지역	품종	발생포장/ 조사포장(개소)	조사면적(m ²)	이병율(%)
2010	강릉	도태랑	0/2	3,300	0.0
	평창	메디슨	0/3	3,960	0.0
	계		0/5	7,260	-
2011	강릉	도태랑	0/1	200	0.0
	춘천	메디슨	7/9	9,000	0.48
	인제		0/5	3,000	0.0
	계		7/15	12,200	-
2012	춘천	메디슨	0/5	9,000	0.0
	계		0/5	9,000	-
2013	춘천	메디슨	0/9	18,000	0.0
	홍천	메디슨	0/3	3,000	0.0
	철원	메디슨	0/3	3,000	0.0
	계		0/15	24,000	-

강원지역의 토마토황화잎말림병 발생조사는 춘천, 강릉, 평창 및 철원의 토마토 재배지에서 조사되었다. 2011년 8월에 춘천의 7개 포장에서 0.48%발병이 확인되었으나, 이 경우는 충남 지역의 육묘장에서 구입한 오염된 모종의 식재에 의한 원인으로 판명되어, 감염주에 대한 신속한 제거 및 지속적인 예찰, 공동방제 활동을 실시하여 박멸하였다. 이 후 2012 및 2013년에도 춘천지역의 토마토 포장에 대한 조사 결과는 모두 음성이었다(그림 2, 표 11).

나. 토마토반점위조바이러스(TSWV) 및 봉선화괴저반점바이러스(INSV) 발생 조사

TSWV 및 INSV는 주요 농작물인 토마토, 피망, 담배 등에 운문, 황화 또는 괴저증상을 일으키는 바이러스이다(그림 3). 기주범위가 매우 넓고, 분류학적으로는 Bunyaviridae과, Tospovirus속에 속한다. 바이러스입자는 지름이 70~90nm의 피막이 있는 구형으로, 즙액전염 및 총채벌레 등에 의한 전염을 한다. 강원지역의 토마토반점위조바이러스 발생조사는 춘천 등 14개 시군의 고추, 파프리카 및 피망 재배포장을 중심으로 2010년 및 2011년에 조사되었다. 2010년 강릉 관내의 5개소 이상의 고추포장에서 TSWV 이병율이 35.3%로 높게 조사되었다. 이처럼 높은 이병율의 원인은 모종의 자가육묘시 모종의 감염에 의한 것으로 판명되어 육묘농가에 대한 교육을 실시하였다. 2011년도의 조사에서는 이병율이 0.1~1.5% 수준으로 비교적 낮은 경향을 나타냈다(표 12). 또한 강원지역의 봉선화괴저반점바이러스(INSV) 발생은 삼척 하장면의 고추 재배포장 일부에서 2010년도에서 발생한 적이 있기 때문에 2011~2012에 걸쳐 조사를 실시하였다. 그 결과 2010년도 삼척의 1개 포장에서 발생한 이래 2011 및 2012년에는 발생되지 않았다(표 13). INSV의 확산을 억제할 수 있었던 원인 중의 하나로 2010년에 실시한 바이러스 예찰결과를 토대로 삼척 관내 발생농가 및 평창 소재 D육묘공급업체에 대한 신속한 이병주 제거 조치를 취한 결과로 분석되었다.

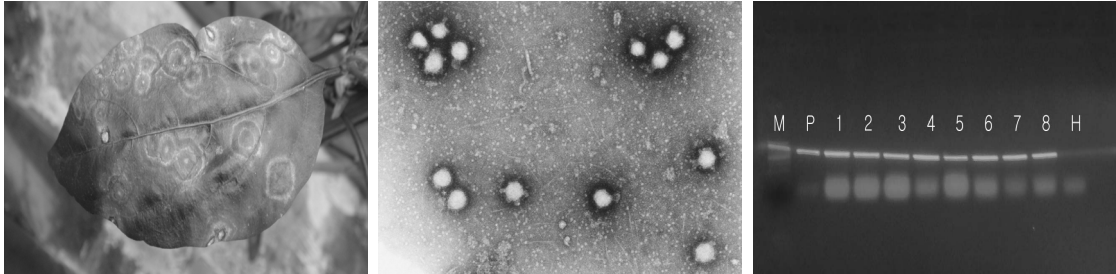


그림 3. TSWV의 파프리카에서의 병징, 입자사진 및 특이 프라이머를 이용한 강원지역(6시군) 고추 및 파프리카 재배농가의 운문반점증상주에서의 TSWV 양성반응 결과

[M; 100bp marker, P; TSWV 표준주(양성대조), 1; 고추(강릉A농가), 2 고추(강릉B농가), 3; 고추(강릉C농가), 4; 고추(평창D농가), 5; 파프리카(강릉E농가), 6; 파프리카(강릉F농가), 7; 파프리카(강릉G농가), 8; 파프리카(평창H농가), H; 건전고추(음성 대조)]

표 12. 강원지역 토마토반점위조바이러스(TSWV) 발생조사

연도	조사지역	작목	조사포장수	조사면적(m ²)	이병율(%) ¹⁾	발생포장수
2010	강릉	고추	5	9,900	35.3	4
	"	파프리카	2	6,600	5.0	2
	평창	고추	2	1,980	7.3	2
	"	파프리카	2	2,640	2.5	2
	인제	고추	3	9,900	0	0
	고성	고추	2	1,980	0	0
	"	피망	5	1,980	0	0
	삼척	고추	2	4,950	0	0
	홍천	고추	2	1,980	0	0
	계		25	41,910	50.1	10
2011	춘천	고추	8	7,200	0.3	2
	평창	파프리카	5	4,500	0.3	2
	횡성	파프리카	5	4,500	0.2	2
	삼척	고추	4	3,600	0	0
	동해	고추	3	3,000	0.3	1
	강릉	고추	10	3,000	1.5	3
	고성	피망	3	3,000	0.2	1
	인제	고추	5	4,500	0.1	2
	양구	고추	2	1,800	0.1	1
	원주	고추	5	1,500	0.2	1
	속초	고추	3	3,000	0.1	1
	양양	고추	4	3,600	0.1	1
	영월	고추	10	10,000	0.1	2
	정선	고추	3	1,000	0.1	1
		계		70	54,200	3.6

¹⁾이병율(%) : 포장당 2지점 ⇒ 지점당 100주 육안조사 및 채취시료 RT-PCR, ELISA검정

표 13. 2010년부터 2012년까지 3년간 강원지역 노지고추 재배지에서 INSV 발생조사

지역	2010		2011		2012	
	면적(ha)	이병율 ¹⁾ (%)	면적(ha)	이병율(%)	면적(ha)	이병율(%)
원주	2.67	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
삼척	0.33	1	0.0	0.0	0.0	0.0
홍천	0.17	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
계	3.17	1	0	0	0	0

¹⁾ 이병율(%) : 포장당 2지점 ⇒ 지점당 100주 육안조사 및 채취시료 RT-PCR검정
 - '12년 동지역 고추포장 확인결과 바이러스 증상주는 CMV, BBWV2, PepMoV만 감염

다. 사탕무황화바이러스 발생 조사

사탕무황화바이러스(Beet western yellows virus, BWYV)는 국내 공적방제 대상 바이러스로 진딧물 등에 의해 영속전염을 한다. 복숭아혹진딧물(*Myzus persicae*)이 가장 대표적인 매개충이다. BWYV에 감염된 잎이 황색으로 변색하는 것은 잎에서 광합성 기관이 파괴되기 때문이다(그림 4). 초기에 바이러스가 감염 될 경우 BWYV에 의한 수량감소는 30%로 큰 영향을 준다. 2012년 경남 진주에서 발생이 보고되었고, 같은 해에 강원지역 8개 시군의 파프리카 재배시설 35.2ha에서 BWYV를 조사한 결과, 바이러스는 검출되지 않았다(표 14). 2013년 강원지역 파프리카 재배시설조사에서도 발생이 확인되지 않았다(데이터 미제시).

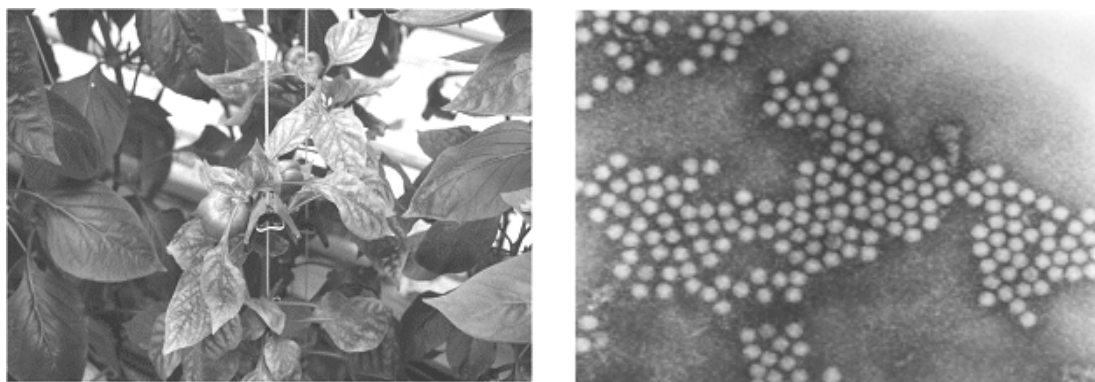


그림 4. 사탕무우 황화 바이러스 (Beet western yellow virus, BWYV)의 병징 및 입자형태

하지만 매개충인 진딧물류의 발생 시기에 정식하였을 경우 발병이 우려되고, 보독 진딧물의 확산 가능성은 항상 존재하기 때문에 방제를 위한 지속적인 예찰이 필요하다. 또한 가지 과작물이 재배되는 지역 중심으로 매개충의 방제, 포장 주변의 잡초 방제, 중간기주 제거 등 전염원의 차단이 이 병의 확산을 막기 위해 반드시 필요한 요소이다

표 14. 2012년 강원지역 파프리카·피망 재배지에서 BWYV 발생 조사

지역	작물명	조사면적(ha)	발병주율(%) ¹⁾	판매처(농가수)
강릉	파프리카	4.9	0	수출(4), 내수 (2)
홍천	파프리카	1.2	0	내수 (10)
횡성	파프리카	2.3	0	수출 (5)
평창	파프리카	1.3	0	수출 (5)
철원	파프리카	10.6	0	수출 (12)
양구	파프리카	4.5	0	수출 (6)
인제	파프리카	8.1	0	수출 (7)
고성	피망	2.3	0	내수 (3)
계		35.2ha	0	54농가

¹⁾발병주율(%) : 포장당 3지점 ⇒ 지점당 100주 육안조사 및 채취시료 RT-PCR검정

라. 순무황화모자이크바이러스 발생 조사

순무황화모자이크바이러스(Turnip yellow mosaic virus, TYMV)에 감염된 배추는 황화, 모자이크, 괴사, 기형 등의 증상을 일으킨다(그림 5).

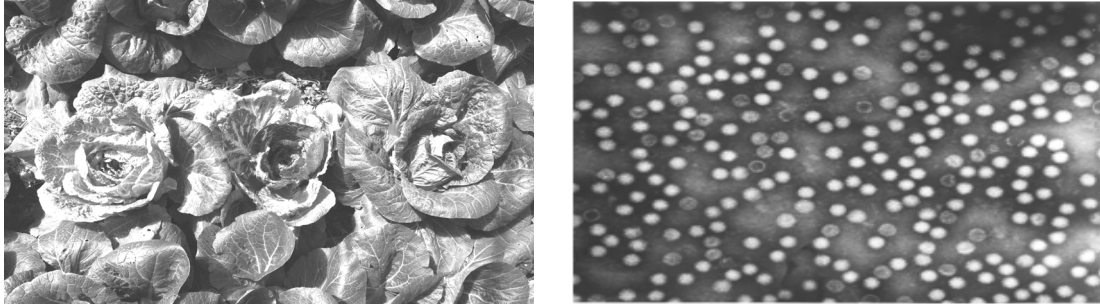


그림 5. 순무황화모자이크바이러스(Turnip yellows mosaic virus, TYMV) 병징 및 형태

매개충은 벼룩잎벌레, 검정배줄벼룩잎벌레 등이며 성충과 약충의 흡즙에 의한 전염을 하나, 비영속적이며 산란과정에서 차세대로의 전염은 되지 않는다. 벼룩잎벌레는 십자화과 식물에 거의 전국적으로 분포하고 있으므로 보독충이 항상 만연할 수 있다. 강원지역에서는 2012년 원주, 강릉 및 영월 등 3시군의 배추(품종 춘양)를 재배한 6농가(4.1ha)에서 약 0.23%의 이병율을 나타냈다. 이 바이러스병은 일본의 종자회사로부터 감염종자가 유통되어 우리나라에 유입된 것으로 확인되었다(표 15).

표 15. 2012년 강원지역 배추 재배지에서 TYMV 발생 조사

지역	작물명(품종)	조사면적(ha) ¹⁾	발병주수	발병주율	농가수
원주	배추(춘양)	1.2	100	0.23	2
강릉	배추(춘양)	1.3	100	0.22	2
영월	배추(춘양)	1.6	200	0.25	2
계		4.1	400	0.23	6농가

¹⁾ 시군별 식재본수(3.3m²) : 원주 11, 강릉 12, 영월 15주

4. 적 요

(시험 1) 농가재배 감자포장에서 갈썩병 진단

가. 2009년부터 2013년까지 5년간 강원, 충청지역의 감자 재배포장을 대상으로 갈썩병을 조사한 결과, 조사포장에서 PSTVd의 이병율은 0% 였다. 따라서 지난 5년 동안 강원, 충남 및 충북지역의 감자 재배포장에서 PSTVd의 재발병 및 새로운 발병의 확산은 전혀 없는 것으로 평가되었다.

(시험 2) 새로운 바이러스 발생 조사 및 진단법 개발

가. 토마토황화잎말림병(TYLCV) 발생을 춘천, 강릉, 평창 및 철원의 토마토 재배지에서 조사하였다. 2011년 8월에 춘천의 7개 포장에서 0.48% 발병이 확인되었으나, 이 경우는 충남 지역의 육묘장에서 구입한 오염된 모종의 식재에 의한 원인으로 판명되어, 감염 주에 대한 신속한 제거 및 지속적인 예찰, 공동방제 활동을 실시하여 박멸하였다. 이후 2012 및 2013년에도 춘천지역의 토마토 포장에 대한 조사 결과는 모두 음성이었다.

나. 봉선화괴저반점바이러스(INSV) 발생은 삼척 하장면의 고추 재배포장 일부에서 2010년도에 발생한 적이 있었다. 2011~2012년에 걸쳐서 조사를 실시한 결과 발생되지 않았다. INSV의 확산을 억제할 수 있었던 원인 중의 하나로 2010년에 실시한 바이러스 예찰 결과를 토대로 삼척 관내 발생농가 및 평창 소재 D육묘공급업체에 대한 신속한 이병 주 제거 조치 결과로 분석되었다.

다. 사탕무황화바이러스(BWYV)는 2012년 8개 시군의 파프리카 재배포장 35.2ha를 조사한 결과, 검출되지 않았고, 2013년 추가 조사에서도 이 바이러스의 발생은 없었다.

라. 순무황화모자이크바이러스(TYMV) 발생조사에서 2012년도 원주, 강릉 및 영월 등 3시군에서 배추(품종 춘양)를 재배한 6농가(4.1ha)에서 약 0.23%의 이병율을 나타냈다. 이 바이러스병은 일본의 종자회사로부터 감염종자가 유통되어 국내에 유입된 것으로 확인되어, 대상 농가포장에 대한 공적방제를 실시하여 전량 폐기처분 하였다.

5. 인용문헌

- 김정수, 이수현, 최홍수, 김미경, 곽해련, 조점덕, 최국선, 김진영. 2009. 2008년 우리나라 주요 작물 바이러스병 발생 상황. 식물병연구 15:1~7.
- Behjatnia SAA, Dry IB, Krake LR, Conde BD, Connelly MI, Randles JW, Rezaian MA. 1996. New potato spindle tuber viroid and tomato leaf curl geminivirus strains from a wild Solanum sp.. Phytopathology 86:880~886.
- Brunt, A. A., Crabtree, K., Dallwitz, M. J., Gibbs, A. J., Watson, L. and Zucher, E. J. 1996. Plant viruses online: Descriptions and lists from the VIDE database Version: 20th August 1996. URL <http://biology.anu.edu.au/Groups/MES/vide/>.
- Duffus, J.E. 1960. Radish yellows, a disease of Radish, Sugar Beet, and other crops. Phytopathology 50:389~394.

Ji, J., Oh, T. K., Lee, H. J., Kim, S. H., Rajangam, U., Kim, S. C., Kim, Y. S. and Choi, C. W. 2008. Molecular characterization of tomato infecting tobacco leaf curl gemini virus isolated from Jeju island. Res. Plant Dis. 24:238 (Abstract).

Kirino, N., Inoue, K., Tanina, K., Yamazaki, Y., Satoshi, T., and Ohki, S. T. 2008. Turnip yellow mosaic virus isolated from Chinese cabbage in Japan. J Gen Plant Pathol 74:331-334.

Marco, S. 1984. Beet western yellows virus in Israel. Plant Dis. 68:162-163.

Matthews, REF. 1970. Turnip yellow mosaic virus. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses No. 2. Commonw Mycol Inst/Assoc Appl Biol, Kew, UK.

Matthews, REF. 1980. Turnip yellow mosaic virus. CMI/AAB Descr Plant Viruses No. 230 Commonw Mycol Inst/Assoc Appl Biol, Kew, UK.

Smith IM, McNamara DG, Scott PR, Holderness M (eds). 1997. Potato spindle tuber viroid. pp. 1305-1310 in Quarantine Pests for Europe. Second editio n. CAB International, Wallingford, UK.

Syller J, Marczewski W. 1996. Transmission of potato spindle tuber viroid (PSTVd) by aphids. pp. 306-307 in Abstracts of Conference Papers, Posters and Demonstrations, 13th Triennial Conference of the European Association for Potato Research. Veldhoven, The Netherlands 14-19 July, 1996.

6. 연구결과 활용

연도(연차)	활용구분	성과물명
2012(4년)	워크숍	강원도 원예작물 바이러스 발생 진단키트 개발 보급 (1차)
2012(4년)	워크숍	강원도 원예작물 바이러스 발생 진단키트 개발 보급 (2차)
2013(5년)	학술발표 (국내)	Occurrence of Plantgo asiatica mosaic virus on lily in Korea
2013(5년)	학술발표 (국제)	The introduction of the new control method of plant viruses infection for organic farming

7. 연구원 편성

구분	소속	직급	성명	수행업무	참여년도		
					'11	'12	'13
과제책임자	국립농업과학원	농업연구관	최홍수	과제 총괄	○	○	○
세부책임자	환경농업연구과	"	권순배	세부과제총괄	○	○	○
공동연구자	"	농업연구사	문윤기	연구지원	○	○	○
"	"	"	이재홍	"	○	○	○
"	"	"	정태성	"	○	○	○
"	"	기간제연구원	강성모	연구보조	-	-	○
"	"	"	조영호	"	-	-	○