

과제구분	경상기본 Code : LS0603	수행시기	전반기	연구기간	2002
연구과제명	원예작물 바이러스 진단키트 생산 및 보급			과제책임자	김정수
세부과제명	경기 특화작목 바이러스 분리 및 진단키트 개발 보급				
색인용어	CGMMV, 진단키트, RIPA, 박과작물				
연구원별 임무					
구분	소속	성명	전화번호	담당임무	
세부과제책임자	경기도원 환경농업연구과	김진영	031)229-5832	시험 및 조사, 분석 총괄	
공동연구자	"	홍순성	031)229-5831	병 발생 조사	
	"	박경열	031)229-5820	키트 분양 및 교육	

### ABSTRACT

Virus diseases of pumpkin was more severe in open fields than green house in a survey of the viruses in Gyeonggi area. Most of the virus symptoms observed were mosaic of leaves and malformation of fruit and the symptom was more clearly appeared at the late stage of growth. Rapid immunofilter paper assay(RIPA) was made for the diagnosis of CGMMV in cucurbit crops. The 550 detection kit was made in March and 400 in September, 2002. The developed RIPA kits were distributed to 10 Agricultural development and technology centers for the examination of CGMMV in cucurbit crops growing in the fields.

**Key words** : CGMMV, RIPA, Cucurbit crops, Detection kit

### 1. 연구목표

박과 작물에 발생하는 바이러스는 Cucumber mosaic virus(CMV), Watermelon mosaic virus(WMV-2), Zucchini yellow mosaic virus(ZYMV) 등이 알려져 있으며 (Francki 등, 1979; Lisa & Lecoq, 1984; Purcifull 등, 1984), 특히 1998년 충남과 경북 지역을 중심으로 수박에서 오이녹반

모자이크바이러스(CGMMV)가 대규모로 발생하여 노가에 크 휘체트 주어오며 1000년 이후에도 전국적으로 오이, 호박 등 다른 박과류에서도 발생이 확인되고 있다.

국내 박과류에서의 CGMMV 발생은 2001년 127.5ha가 발생하였고, 2002년에는 수박에서 62.0ha, 참외 33.4ha, 오이 16.6ha 등 전국 116.4ha가 발생하여 전년에 비해서 발생면적은 점차 감소되고 있는 경향이

다(김충희, 2002). 박과류에 발생하는 CGMMV는 Tobamovirus 그룹에 속하는 바이러스로 1935년 영국의 Anisworth(1935)가 최초로 보고하였으며, 분포지역은 한국을 비롯하여 일본, 중국, 이란, 네덜란드, 인도, 폴란드 등 전 세계적으로 분포하고 있는 바이러스이다. 바이러스의 형태는 300×18nm의 막대형으로 ssRNA의 핵산 구조를 가지고 있다. 주요 기주작물로는 수박, 박, 오이, 메론, 참외, 호박 등 주요 박과작물이며 제 1차 전염원은 오염된 종자, 발병토양, 오염자재를 통해서 전염되고 제 2차 전염원은 발병 식물을 통해 건전한 작물로 전염된다. CGMMV는 소수의 발병주로부터 급속히 확산이 가능하며 진딧물에 의해 전염되는 바이러스(WMV, CMV)와 복합감염하여 작물에 더 큰 피해를 야기한다. 따라서 CGMMV에 의한 박과류 바이러스병은 무병종자의 확보가 가장 중요하며 일단 발병된 포기는 조기에 제거하는 것이 중요하다. 중장기적으로는 박과류 채종포장의 바이러스 감염여부를 주기적으로 조사하여 무병 채종 포장을 확보하고 수출입되는 종자에 대한 엄격한 바이러스 검정이 이루어져야 한다.

최근 바이러스병 조기 예방 및 병 확산 방지를 위한 검정 기술은 전자현미경을 이용하는 방법을 비롯하여 ELISA법, 지표식물 검정, PCR을 이용한 유전자 진단법 등 여러 가지가 있으나 고가의 장비없이 농가 현장에서 바로 적용할 수 있고 진단 소요시간이 짧으며 비 전문가도 검정할 수 있

는 기술이 필요하다. 본 시험에서 제작한 항체 여과지법은 반응 감도가 효소항체진단법과 같이 상당히 높으며, 반응 시간이 5~10분으로 짧고 비 전문가도 진단이 가능한 항체 여과지법(Choi et al., 2001) 진단키트를 제작, 생산하여 시군농업기술센터와 농가에 분양하여 직접 농업현장에서 이용 가능하도록 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### <시험 1> 박과작물 바이러스병 발생조사

박과작물에 발생하는 바이러스병 발생조사를 위하여 경기도내 주요 재배작물을 조사하여 주요 병징과 바이러스병 발병정도를 조사하였으며 채집된 시료는 제작된 진단키트를 사용하여 CGMMV 발생여부를 확인하였다.

### <시험 2> 항혈청 진단키트 생산 및 보급

항체 여과지 진단키트 생산에 필요한 CGMMV 항혈청은 원예연구소에서 분양받아 IgG 분리키트(Immunopure purification kit, Pierce社)를 사용하여 칼럼에 흡착된 Ig G는 용출과 탈염과정을 거쳐 IgG를 정제하였다. 정제된 IgG와 0.5% 백색 라텍스와 1% 청색의 라텍스(Immutex, 日本 合成ごむ株式会社)을 각각 10%, Ig G 농도는 1.0mg/ml이 되게하여

교반기에서 150~200rpm으로 2시간 실온에서 혼합하였다. 항체와 결합한 라텍스는 15,000rpm에서 15분간 원심분리 후 침전물을 녹여서 4°C에 보관하면서 시험에 이용하였다. 여과지에 흰색항체결합 라텍스를 흡착하기 위하여 Whatman 여과지(GF/A)를 폭 5cm와 3cm의 양면 테이프를 붙인 후 0.5cm 간격으로 자른 다음 Parafilm을 이용하여 라텍스를 여과지 하단에서 2cm 위쪽 부위에 항체결합 라텍스 10 $\mu$ l를 찍어서 흡착하였다. 완성된 진단키트는 4°C 냉장고에 보관하면서 바이러스 진단에 활용하였다(최 등, 1998).

### 3. 시험성적

#### <시험 1> 경기지역 박과작물

##### 바이러스병 발생 조사

경기지역 바이러스병 조사결과 호박은 시설재배보다 노지재배에서 바이러스병 발병율이 높았으며 주요 병징은 모자이크와 기형과실이 관찰되었다. 참외는 앞에서 모자이크와 과실에서 얼룩무늬가 나타났으며 생육후기로 갈수록 발생이 심했다. 채집한 시료를 진단키트를 사용하여 진단한 결과 CGMMV는 검출이 되지 않아 진딧물에 의해 전염하는 다른 바이러스에 의해 감염된

표 1. 시기별 박과류 바이러스병 발생현황 및 주요병징

조사시기	조사지역	조사 작물	발병주율(%)	주요병징	재배형태
7.10	평택시 진위면	호박	1.4	모자이크	시설하우스
7.10	"	호박	2.4	"	노지
7.22	여주군 대신면	참외	2.3	"	시설하우스
7.23	여주군 금사면	참외	2.9	"	"
7.23	이천시 마장면	호박	5.9	기형호박	노지
7.26	광주시 오포면	오이	0.1	모자이크	노지
7.29	화성군 태안읍	호박	12.5	"	"
10.16	여주군 금사면	참외	19.8	얼룩무늬(과실)	시설하우스
10.16	여주군 금사면	호박	0.1	모자이크	시설하우스

↓ : 채집시료는 진단키트검정시 CGMMV 미검출

것으로 생각되었다(표 1).

### <시험 2> 항혈청 및 진단키트 생산 및 보급

항체 여과지법 진단키트는 마쇄한 식물체 식물즙액에 진단여과지를 담그고 바이러스 입자가 흰색의 라텍스에 부착후 여과지를 청색결합 라텍스에 반응시킴으로 2~3분뒤 청색띠가 나타나는 것으로 바이러스 감염여부를 확인할 수 있었다(그림 1). 그리고 흰색 라텍스 결합 후 여과지 끝의 녹색부분을 잘라줌으로써 엽록소 등 식물이 잔재물을 제거하거나 청색라텍스 결합 후

완전히 건조되었을 경우 청색띠가 더욱 뚜렷하게 나타나는 것을 관찰할 수 있었다.

CGMMV 바이러스 진단키트 제작은 1차 2002년 3월 26일에서 29일까지 550매를 제작하여 파주, 김포 등 6개 시군에 450매를 분양하고 100매를 자체활용하였다(표 3). 2차 바이러스 진단키트 제작은 9월 3일과 9월 6일에 걸쳐 400매를 제작하여 파주, 이천 등 4개시군에 300매를 분양하고 100매를 자체 활용하였다. 시군 분양된 바이러스 진단키트의 사용 내역을 조사한 결과 오이, 수박, 참외 등에서 활용하였으며 CGMMV 5건을 조기 진단하였다(표 3).

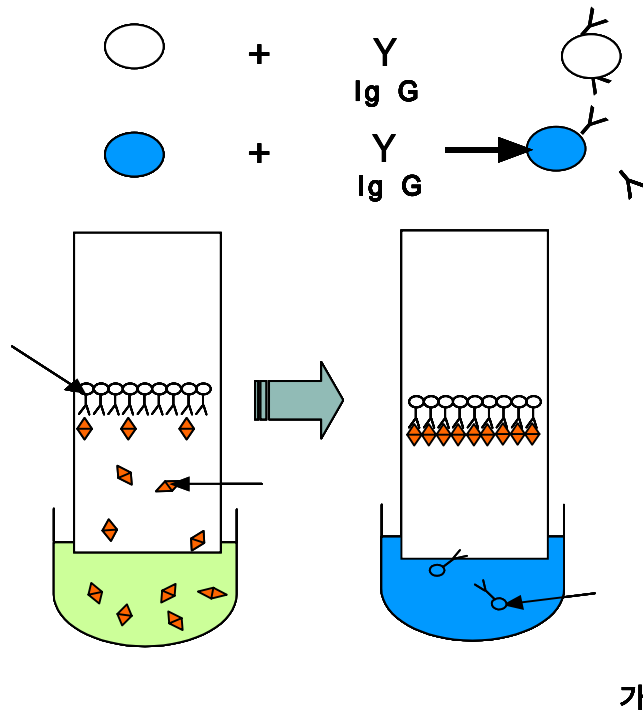


그림 1. 항체여과지법에 의한 바이러스 검출

표 2. 바이러스 진단키트 제작 및 분양(2002년)

1차 분양			2차 분양			비 고
시기(월,일)	분양시군	매 수	시기(월,일)	분양시군	매 수	
3.26~3.29	파 주	200	9.3~9.6	파 주	50	CGMMV 향체여과지
	김 포	50		이 천	50	
	이 천	50		양 평	150	
	용 인	50		평 택	50	
	양 주	50		-	-	
	안 성	50		-	-	
소 계		450			300매	

표 3. 시군 분양 바이러스 진단키트 사용내역

분양시군	진단작물	검정점수(점)	바이러스 종류	비 고
파 주	오이, 수박, 참외	179	CGMMV	조기진단 : 5건
김 포	오이	50	"	
이 천	오이, 수박	50	"	
용 인	수박, 오이	21	"	
양 주	오이, 호박	50	"	
안 성	오이	50	"	
합 계		400		

#### 4. 적 요

가. 도내 바이러스병 조사결과 시설하우스 호박보다 노지 호박에서 발생이 많았으며 참외에서는 생육 후기에 모자이크, 과실기형 등 바이러스 발생이 증가하였다.

나. 오이녹반모자이크바이러스에 대한 항

혈청 진단키트를 3월에 1차 550매 제작하여 5개 시군에 450매 분양하였고, 9월에 2차로 400매 제작하여 4개 시군 300매를 분양하였으며 그 중 400매를 시군기술센터에서 CGMMV 검정용으로 이용하였다. 바이러스 진단키트 생산 및 보급사업은 현장접목 연구과제로 계속 추진할 계획임.

## 5. 인용문헌

- Anisworth. 1935. *Ann. appl. Biol.* 22 : 55.
- Choi, G. S. Kim J. H., Chung B. N., Kim H. R., Choi Y. M. 2001. Simultaneous detection of three Tobamoviruses in Cucurbits by rapid immunofilter paper assay. *Plant Pathol. J.* 17(2) : 106-109.
- 최국선, 최용문, 원선영, 임명순. 1998. 작물보호논문집 40(2) : 116-119.
- Francki, R. I. B., Mossop, D. W., and Hatta, T. 1979. Cucumber mosaic virus. CMI/AAB Descriptions of plant viruses. No. 213.
- 김충희. 2002. 2001년 농작물 병해 발생상황. *식물병연구* 8(1) : 1-10.
- Lisa, V., and Lecoq, H. 1984. Zucchini yellow mosaic virus. CMI/AAB Descriptions of plant viruses. No. 282.
- Purcifull, D., Hiebert, E., Edwardson, J. 1984. Watermelon mosaic virus 2. CMI/AAB Descriptions of plant viruses. No. 293.