

사업구분 : 경상기본연구	Code 구분 : LS0603	연구분야 : 전반기
연구과제 및 세부과제명	연구기간	연구책임자 및 참여연구원(☎)
원예작물 바이러스 진단키트 생산 및 보급	'03~'04	경기도원 환경농업연구과 김진영(229-5832)
접목선인장 바이러스 진단키트 생산 및 보급	'03~'04	경기도원 환경농업연구과 김진영(229-5832) 경기도원 환경농업연구과 홍순성(229-5831) 경기도원 선인장연구소 박홍배(229-6172) 경기도원 환경농업연구과 박경열(229-5820) 원예연구소 원예환경과 김정수(200-6234)
색인용어	선인장 바이러스, CGMMV, RIPA kit	

ABSTRACT

Cactus and cucurbit crops are main agricultural products in Gyeonggi province. Infection of Cactus virus X and CGMMV cause decline of product quality and quantity. Rapid immunofilter paper assay(RIPA) was made for the diagnosis of CGMMV in cucurbit crops. The 1,770 detection kits were made in March and RIPA kits were distributed to 11 Agricultural development and technology centers for the examination of CGMMV in cucurbit crops growing in the fields. 1,400 cactus virus RIPA kits for CVX were also made to detect the virus. These will be very helpful to make the virus-free mother plants and breeding lines in cactus production.

Key words : CVX, CGMMV, RIPA, cucurbit crops, detection kit

1. 연구목표

국내 접목선인장은 세계 시장에서 수출 점유율이 높은 주요한 화훼 자원의 하나로 농가소득에 크게 기여하고 있다. 일반적으로 바이러스병은 품질저하 및 생산성 저하로 경제적 손실을 가져오는 것으로 알려져 있고, 선인장에서는 Cactus virus X(CVX)가 가장 문제가 되는 바이러스로 보고되어 있다. 주요 병징으로는 삼각주에서 원형 황화 및 얼룩이나 반점 증상을 나타낸다. 또한 CVX가 감염된 비모란을 삼각주에 접목하였을 경우 건전한 비모란에 비해 활착율이 12.7%나 감소한다고 보고하였다(정 등, 2003)

오이녹반모자이크바이러스(CGMMV)는 1998년 중국에서 채종된 수박 대목용 박 종자로부터 유입되어 충남과 경북 지역을 중심으로 전국 463ha에 발생하여 경작지 토양을 오염 시켰으며, 농가에서의 민원 제기에 의한 사회적 문제로 대두된 적이 있다. 현행 CGMMV는 규제 병해충으로 지정되어 박과 채소의 수입 통관 시 검사를 강화하고 있으며 일단 발생된 묘는 진단키트를 이용하여 신속히 제거하여야만 바이러스병 발생을 최소화 할 수 있다.

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 소요 시간이 짧으며 비 전문가도 검정할 수 있는 기술이 필요하다. 본 시험에서 제작한 항체 여과지법은 반응 감도가 효소항체진단법과 같이 상당히 높으며, 반응 시간이 5~10분으로 짧아 신속히 진단이 가능한 항체 여과지법(Choi et al., 2001) 진단키트를 제작, 생산하여 시군 농업기술센터와 농가에 분양하여 직접 농업현장에서 이용 가능하도록 하였다.

따라서 본 시험은 박과류와 접목 선인장에 피해를 주는 바이러스 진단키트를 생산 보급하여 바이러스병을 조기 예방하는 기술을 보급함으로써 과학영농을 통한 고품질 농산물을 생산하고자 실시하였다.

2. 진단키트 제작

항체 여과지 진단키트 생산에 필요한 Cactus virus X와 CGMMV 항혈청을 원예연구소에서 분양받아 IgG 분리키트(Immunopure purification kit, Pierce社)를 사용하여 칼럼에 흡착된 Ig G는 용출과 탈염과정을 거쳐 IgG를 정제하였다. 정제된 IgG와 0.5% 백색라텍스와 1% 청색의 라텍스(Immutex, 日本 合成ごむ株式会社)을 각각 10%, Ig G 농도는 1.0mg/ml이 되게 하여 교반기에서 150~200rpm으로 2시간 실온에서 혼합하였다. 항체와 결합한 라텍스는 15,000rpm에서 15분간 원심분리 후 침전물을 세척완충액에 녹여 4℃에 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 위쪽부위에 항체결합 라텍스 10 μ l를 찍어서 흡착하였다. 완성된 진단키트는 4 $^{\circ}$ C 냉장고에 보관하면서 바이러스 진단에 활용하였다(최 등, 1998).

3. 분양실적

표 1. 오이녹반모자이크바이러스 진단키트 제작 및 분양 내역

제작시기	분양시군	분양년도		비 고
		2003	2004	
2003년 : 3.26~3.29	안 성	60	60	※ 항체여과지 사용법
2004년 : 3.16~3.19	과 주	50	50	교육 및 시연
	여 주	-	100	- 2003년 4월 8일
	이 천	-	50	- 2004년 4월 9일
	평 택	50	50	
	용 인	-	50	
	안 산	-	50	
	고 양	-	50	
	화 성		1,000	
	김 포	50	-	
	양 평	50	-	
	소 계	310매	1,460매	

오이녹반모자이크바이러스 진단키트 분양은 2003년의 경우 평택 등 5개 시군에 310매를 제작하여 4월 8일 사용법을 교육하고 보급하였다, 2004년은 안성 등 9개 시군에 1,800매를 3월 16일에서 3월 19일에 걸쳐 제작하여 이 중 1,460매를 분양하였고(표 1), 4월 9일 항체 여과지 사용법을 시연하였다.

선인장 바이러스 X 진단키트 제작 및 분양내역은 표 2에 나타난 바와 같이 선인장 연구회원과 선인장 연구소를 통하여 2003년 500매, 2004년 900매를 분양하였다. 보급한 바이러스 진단키트 사용 내역을 조사한 결과 선인장 연구소에서는 우량계통 바이러스 검정에 650매를 사용하였고, 농가에서는 모수로 사용할 선인장의 바이러스 검정용으로 320매를 사용하였다(표 3).

표 2. 선인장 바이러스 X 진단키트 제작 및 분양내역

제작시기	바이러스명	분양처	매 수
2003. 7. 26~7.30	Cactus virus X	선인장연구회원	500매
2004. 8. 1~ 8. 6	"	선인장연구소	900매

표 3. 선인장 바이러스 X 진단키트 사용내역

년도	총매수	진단키트 사용처		잔여매수
		우량계통 바이러스 검정	무병모수 검정 및 진단	
2003	500매	300매	200매	0매
2004	900매	350매	120매	430매

4. 분양 결과 요약

가. 오이녹반모자이크 바이러스 진단키트는 2003년 310매를 5개 시군에, 2004년 1,460매를 제작하여 9개 시군에 분양하였고, 선인장 바이러스 X는 2003년 500매, 2004년 900매를 제작하여 선인장연구소와 선인장 연구회에 분양하였다.

나. 바이러스 진단키트 활용내역을 조사한 결과 선인장연구소에서는 농가에 보급할 우량계통의 바이러스 검정에, 선인장 재배 농가에서는 주로 바이러스 무병모수 검정 및 진단에 사용하였다.

5. 인용문헌

- Anisworth. 1935. Ann. appl. Biol. 22 : 55.
- Choi, G. S. Kim J. H., Chung B. N., Kim H. R. and Choi Y. M. 2001. Simultaneous detection of three Tobamoviruses in Cucurbits by rapid immunofilter paper assay. Plant Pathol. J. 17(2) : 106-109.
- 최국선, 김정수, 최용문, 이순형. 1990. 선인장에서 분리한 Cactus virus X의 분류동정. 농시논문집(작물보호편) 32(1) : 7~13.
- 정봉남, 정명일, 김정수. 2003. 접목 선인장 CVX 감염이 접목 활착율 및 비모란 생육에 미치는 영향. 한국원예학회지 44(5) : 748-752.