

碩士學位 論文

濟州地域의 主要 柑橘바이러스
感染狀況 및 無毒苗 培養에 關한 研究



濟州大學校 大學院
生物學科

金 大 賢

1998年 12月

濟州地域의 主要 柑橘바이러스 感染狀況 및 無毒苗 培養에 關한 研究

指導教授 吳德鐵

金大賢

이 論文을 理學 碩士學位 論文으로 提出함



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

1998年 12月

金大賢의 理學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長 _____

委 員 _____

委 員 _____

濟州大學校大學院

1998年 12月

Study on the Virus Infection State of Citrus of
Cheju-Do Area and the Culture of
Virus-Free Stocks

Dae-Hyun Kim

(Supervised by Professor Duck-Chul Oh)



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE

DEPARTMENT OF BIOLOGY
GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

1998. 12

목 차

ABSTRACT	1
I. 서론	2
II. 재료 및 방법	5
1. 감귤바이러스 감염상황	5
가. 시료채집 및 시료제조	5
나. 생물검정	5
다. Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay(ELISA)	5
2. 무독묘 생산	6
가. 경정배양	6
나. Shoot-Tip Grafting(STG)	6
III. 결과 및 고찰	7
1. 주요 감귤바이러스 감염의 증상	7
2. 주요 감귤바이러스 감염의 피해해석	12
3. 감귤바이러스 감염상황	17
4. 열처리에 의한 바이러스 농도변화	20
5. 열처리에 의한 감귤바이러스 무독화연구	25
가. 경정배양에 의한 무독묘 배양	25
나. Shoot-Tip Grafting (STG)에 의한 무독묘 배양	27
IV. 적요	31
V. 참고문헌	33

List of Figures

Fig. 1. The virus infection symptoms of Citrus Tristeza virus infected citrus.	9
Fig. 2. The virus infection symptoms of Satsuma Dwarf Virus infected citrus.	10
Fig 3. The virus infection symptoms of Citrus Tatter Leaf Virus infected citrus.	11
Fig 4. Change of virus concentration in heat treated yuzu and shiranuhi (40°C for 16hr in the daytime, 30°C for 8hr at night). Values are mean ± standard deviation with three replications.	21
Fig 5. Change of virus concentration in yuzu and shiranuhi leaved in room temperature after heat treatment (day 40°C, night 30°C) for 47days. Values are mean ± standard deviation with three replications.	22
Fig.6. Culture of virus-free stocks.	29

List of Tables

Table 1. Comparison of growth between virus-free and virus-infected Very Early Satsuma mandarin in the field of Cheju-do	14
Table 2. The quality of yuzu fruit infected with Citrus Tristeza Virus	15
Table 3. The quality of Yamakawa fruit infected with Satsuma Dwarf Virus ...	16
Table 4. Detection of citrus virus from various cultivars collected at various locations on Cheju-Do from 1995 to 1997 by ELISA Test	19
Table 5. Distribution of Citrus Tristza Virus or Satsusma Dwarf Virus at various parts of virus infected Satsuma mandarin	24
Table 6. Percentage of successful shoot tip culture <i>in vitro</i>	26
Table 7. Effects of shoot tip size on successful rate of micrografting and culture of virus free plants	30



ABSTRACT

This study was performed to investigate the virus infection state of citrus plants in the citrus orchards on Cheju-do, Korea and to develop the culture method of virus-free stocks.

From 1995 to 1997, the virus infection rate and infection symptoms of citrus plants in the citrus orchard of 32 regions around Cheju-do were investigated.

Three kinds of viruses, such as Citrus Tristeza Virus(CTV), Citrus Tatter Leaf Virus(CTLV) and Satsuma Dwarf Virus(SDV) were found as widely infected viruses. The infection rates of CTV, CTLV and SDV were totally 69.2%, 14.0% and 8.5% respectively. But according to cultivars there were significant fluctuations in the infection rates. The infection rates of CTV were highest in Early Satsuma mandarin, 80.9% and lowest in Very Early Satsuma mandarin, 51.9%. Those of CTLV were highest in Very Early Satsuma mandarin, 18.3% and lowest in Tangors, 7.3%. And also those of SDV were highest in Very Early Satsuma mandarin, 23.1% and lowest in Early Satsuma mandarin 6.3%.

The symptoms of virus infected citrus were small, abnormal shape, such as narrow boat and small spoon shapes of leaves, stem-pitting on the twig, bud-union crease, swelling of the craft part, reduction of the vigor of the plant, small sizing of fruit and poor crops etc.

The culture of virus-free stocks was successful with the heat treatment of virus infected plant and shoot-tip grafting.

I. 서론

미생물학적으로나 병리학적으로 매우 의미가 크다고 할 수 있는 감귤병해의 외국 사례를 보면 미국에서는 100여종(Whiteside et al., 1988), 일본에서는 46종이 발생하는 것으로 보고되어 있으나(是永 등, 1992), 우리나라에서는 16종의 병해가 발생하는 것으로 보고되었다(한국식물병리학회, 1995; 유 등, 1991).

최근 제주도의 감귤원에 발생하는 병해 중에 주로 검은점무늬병, 더덩이병, 궤양병, 바이러스병 등이 방제상 문제가 되고 있으며, 특히 바이러스가 감염된 경우에는 수세약화, 수량감소, 과실의 품질저하 등 많은 피해를 입고 있는 것은 물론, 약제에 의한 방제가 불가능하기 때문에 치유하기가 매우 어렵다.

과수 바이러스는 과수의 종류와 품종에 따라서 피해양상이 다른데, 주로 모주에 잠복 감염되어 있다가 묘목생산시 대목이 바뀌거나 고접 시에 대목과 접수의 불친화성으로 접목울을 떨어뜨리거나 고접병 등의 문제를 야기시킨다. 그리고 과수 바이러스는 전신감염성 병해로서 감염으로부터 발병하기까지 수년이 걸리기 때문에 잠복감염에 의해 병징이 나타나지 않은 경우가 많다. 또한 접수는 접목 등의 영양번식에서 묘목의 증식과 품종갱신을 하기 때문에 접목과 고접을 하는 중간대목이 바이러스에 감염되어 있는 한 바이러스 감염은 계속되어질 뿐 아니라 여러 가지 바이러스가 복합감염 되는 최악의 사태를 초래할 수 있다. 홍 등(1982)은 사과 고접 갱신 시에 바이러스에 의해 고접병의 피해가 산발적으로 나타난다고 보고했으며, 포도에서는 잎말이증상과 모자익증상에 대한 발병율을 조사하였고 당도도 감소한다고 보고하였다.

감귤 바이러스병은 캘리포니아의 Fawcett에 의해 psorosis가 발견된 이래 지금까지 여러 가지 바이러스병이 확인되었고, 그 병원 바이러스도 20여종이 알려지고 있다(宮川, 1976). 일본에서는 10여종으로 특히 감귤나무에는 온주위축병, 모자이크병, 접목부이상증, Stem-Pitting병, 엑스코티스병 등이 주로 피해를 주고 있다(宮川, 1976).

제주도에서는 온주위축병, 접목부이상증, Stem-Pitting병 등 3종류의 바이러스가

존재하는 것으로 보고되었고, 감귤나무의 생육과 수세를 악화시키고 과일의 당도저하, 수량저하, 기형과 등의 피해를 나타낸다고 하였다(권 등, 1985).

온주위축병은 Satsuma Dwarf Virus (SDV)의 감염으로 발생되며 Natsudaikai dwarf virus와 Navel orange infectious mottling virus, Citrus mosaic virus 등이 SDV 그룹으로서 같은 범주에 속한다고 볼 수 있다(山田, 1952). SDV는 입자가 직경 26nm ~ 28nm의 정 20면체로서 핵산으로는 single strand RNA를 가지고 있다. 감염 증상으로는 봄에 신장하는 가지의 잎에 나뭇배 모양, 손가락 모양으로 발현되고 전체적으로 위축된 모습이 되며 수세를 악화시킨다. 일본에서의 경우는 봄과 가을순은 대표적인 증상을 보이는 반면 여름순인 경우에는 대개 이 바이러스로부터 영향을 덜 받는 것으로 알려져 있다. Citrus Tristeza Virus(CTV)의 이중 복합감염이 되었을 때는 더욱 극심한 왜화를 초래하며 열매인 경우에도 수량이 적어질 뿐만 아니라 불완전한 모양과 작은 열매를 보인다.

Citrus Tatter Leaf Virus(CTLV)는 trifoliolate orange(*P. trifoliata*)와 citrange의 대목과 접수사이의 접목부 이상을 야기시키는 병으로, 바이러스 입자의 크기는 600 ~ 700nm × 15 ~ 19nm이고(宮川, 1977), 증상을 보면 접목부위가 심하게 부풀어 오르며(swelling) 대목과 접수사이에 이층의 형성이 나타난다. 또한 이 바이러스에 감염된 나무는 접합면에서 수액이 나오거나 영양분의 이동이 차단되어 점차 수세가 악화되고 결실이 불량해지며 태풍 등 강한 바람에 의해 부러지는 경우가 있다. 바이러스에 오염된 접수가 감수성인 탱자대목에 고접 되었을 때 2~3년 동안은 잘 자라지만 접목한지 5~6년 지나면 급격히 노화된다.

CTV는 입자크기가 2,000 × 10 ~ 12nm이고 머리카락 같은 모양으로서 사부조직에 위치하며 strain이나 대목과 접수와의 변이에 따라서 다양한 병을 유발시킨다(宮川 등, 1977). 온주밀감 계통은 CTV에 대해서 내병성이 있기 때문에 실제로 피해가 나지 않고 감염되어도 무병징으로 유지되는 경우가 많다. 그러나 만감류인 팔삭, 이에감, 네블오렌지, 문단류, 유자, 청견 등은 감수성이 매우 크기 때문에 이 바이러스에 매우 약하다(宮川 등, 1977). 줄기나 가지의 표피를 제거하면 목질부에 갈색무늬의 가는줄이나 줄무늬(stem pitting)가 보인다(Yamada et al. 1981). 심해지면 외관으로도 주간이 오목하게 패인 증상을 볼 수 있다. 그 영향으로 영양분 공급이 원활하지 못하게 되어 수세를 떨어뜨리고 가지의 신장을 악화시키는 것으로 보

고되어 있다(宮川 등, 1976).

바이러스병의 방제 대책은 현재로서는 실용적인 약제가 없기 때문에 인증받은 건전한 식물체로부터 묘목을 생산하며 건전한 대목을 사용하고 농약 사용 등에 의한 매개충의 방제가 유일한 방법이다. 외국에서는 무병주를 얻기 위하여 항바이러스제를 사용하여 배지에서 기내배양을 하거나 열처리에 의한 shoot-tip grafting (micrografting)을 이용한다. Iwanami 등(1993)은 CTLV에 감염된 rough lemon을 1mm의 크기로 잘라내어 5 μ M GA3, 1 μ M BA, 0.1 μ M NAA가 첨가된 MS배지에다 키운 다음 열처리 및 ribavirin 100ppm을 첨가하여 무독묘를 생산하였다. Murashige et al.(1972) 등은 처음으로 열처리한 후 생장점을 0.2mm 크기로 잘라 대목에 접을 붙이는 방법으로 무독묘를 생산해내는데 성공하였다. 그리고 SU 등(1984)은 접붙일 부분의 형태를 T모양에서 삼각형모양으로 변형시킴으로서 활착률을 20%에서 60%로 높였다.

과수에 발생하는 바이러스에 대한 연구는 바이러스의 불안정성, 숙주 내 바이러스 함량의 극소, 인공접종에 의한 발병의 어려움, 그리고 느린 성장으로 인하여 다른 초본식물의 바이러스 연구에 비하여 역사가 짧다.

외국의 경우 감귤바이러스 연구는 전자현미경 및 ELISA법에 의한 바이러스 분류 동정, 무독묘 생산 이용, 약독 바이러스의 이용 등에 대한 첨단 기술연구가 수행되고 있으나 국내에서의 연구는 아주 미미한 편으로 온주위축병에 대한 발생상황 조사가 주로 달관으로 이루어져있는 실정이다. 본 연구는 제주도내 감귤바이러스 감염상황을 조사하여 진단하고 무독묘를 생산함으로써 우량묘목 생산체계를 구축하여 감귤바이러스 감염으로 인한 피해들을 경감시키고 고품질의 과실을 생산하기 위하여 수행되었다.

II. 재료 및 방법

1. 감귤바이러스 감염상황

가. 시료채집 및 시료제조

시료는 1995년 4월부터 1997년 6월까지 품종별로 제주도내 32지역 200농가를 대상으로 4월말에서 5월초 사이 발아된 봄 순 0.5g씩 2000점을 채취하여 -80℃에 냉동 보존하여 재료로 사용하였다.

또한 시료제조는 citric acid buffer(pH 9.6) 5mL에 채집된 시료 0.5g을 넣어 마쇄한 후 원심분리(3,000rpm)하여 상징액을 취해 -80℃에 보관하여 사용하였다.

나. 생물검정

1) 목본류에 의한 접목접종

목본류에 의한 접목접종의 지표식물로서 Rusk Citrange, Mexican Lime 등을 이용하여 검정코자 하는 식물의 조직을 지표식물의 조직에 활착시킴으로써 지표식물에 발현되는 증상을 관찰하였다.

2) 초본 검정식물에 의한 즙액접종

초본검정식물에 의한 즙액접종의 지표식물로서 광저기(*vigna sinesis* (Tornor) Save), 강남콩(*Phaseolus vulgaris* L.), 명아주(*Chenopodium quinoa* Willd.) 등을 사용하였으며 감염된 감귤나무의 새순을 0.02M 인산완충액(pH 7.2)으로 조제한 즙액을 면봉에 묻혀 carborundum(600mesh)으로 지표식물의 잎에 뿌려서 즙액접종하였다.

다. Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay(ELISA)

ELISA는 이중면역 효소 항체법(double antibody sandwich method) (Clark 등, 1977)으로 실시하였는데, 사용한 순서는 먼저 coating용 antibody를 0.05M carbonate

buffer(pH 9.6)로 1,000배 희석하고 매 hole마다 200 μ L씩 분주한 후 plate에 건조 방지용 덮개를 하여 30 $^{\circ}$ C에서 4시간 항온처리 하였다. 그리고 미흡착의 항체를 0.02M PBS buffer(pH 7.4)를 넣고 5분간 방치한 후 3번 세정하였다. 검정코자 하는 시료액을 매 hole마다 200 μ L 분주한 후 30 $^{\circ}$ C에서 2시간, 혹은 4 $^{\circ}$ C에서 하룻밤을 항온 처리한 후 0.02M PBS buffer(pH 7.4)로 3번 세정하였다. 그리고 0.02M PBS buffer(pH 7.4)로 500배 농도로 희석한 conjugate용 antibody를 200 μ L씩 분주한 후 30 $^{\circ}$ C에서 2시간 정치한 후 0.02M PBS buffer(pH 7.4)로 3번 세정하였다. 그 다음 p-ditrophenyl phosphate를 1mg/mL로 되도록 10% diethanol amine substrate buffer에 용해시켜 200 μ L씩 분주하였다. 마지막으로 15분 후부터 발색되는 것을 보면서 3M NaOH를 넣어서 발색을 정지시키고 ELISA Reader로 흡광도를 측정하였다. 바이러스 유무판정은 negative 흡광도 값 보다 2배 이상 수치가 나왔을 때 바이러스에 감염되었다고 판정하였다(高橋, 1988).



2. 무독묘 생산

가. 경정배양

5mm 정도의 크기로 자른 온주밀감의 shoot-tip 단편을 1 μ M BA, 0.1 μ M NAA, 5 μ M GA3, Gelrite 0.2%을 첨가한 MS 배지(Iwanami, 1993)에서 배양하였다.

나. Shoot-Tip Grafting(STG)

STG은 바이러스에 감염된 보독묘를 열처리실에서 주간 40 $^{\circ}$ C, 야간 30 $^{\circ}$ C로 열처리하여 발아된 shoot-tip의 성장점부위를 약 0.2 ~ 0.3mm크기로 잘라내어 기내에서 육묘된 탱자대목에 접목하여 무독묘 접수를 생산하였다. 탱자 발아배지는 MS 기본배지를 사용했고 STG 배지는 MS배지 1000mL에다 sucrose 75g, inositol 0.1g, 비타민으로 thiamine hydrochloride 2mg, pyridoxine hydrochloride 10mg, nicotinic acid 10mg을 첨가하여 pH 5.7로 조정후 사용하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 주요 감귤바이러스 감염의 증상

CTV에 감염된 온주밀감에서는 별다른 증상을 보이지 않았으나, Fig. 1에서 보는 바와 같이 유자품종에 있어서는 나무줄기에 갈색무늬의 가는줄이나 줄무늬(stem-pitting) 증상을 보였고 열매에 있어서는 궤양성 호반증을 나타내었다. 이 증상은 발병초기에 초록애매미충과 같은 해충의 피해과와 비슷하여 혼동되기 쉬우나, 병반 형성이 진전될수록 cork화 되어 증상이 구분되었다. CTV인 경우에는 일반적으로 온주밀감 계통은 내병성이 있기 때문에 실제로 피해가 나지 않고 감염되어도 무병징으로 유지되는 경우가 많았다. 일본의 경우 유자뿐만 아니라 이예감, 팔삭, 네블 오렌지, 문단류는 CTV에 매우 약하고 열매에 궤양성호반증이 생성되어 문제가 된다고 보고하였고(宮川, 1977), Bar-joseph 등(1981)이 sour orange (*Citrus aurantium* L.)을 대목으로 사용한 감귤나무인 경우에 CTV가 감염되어 수백만의 나무가 죽었으나, 탕자(*P. trifoliata*)를 사용하였을 때는 피해가 줄었다고 보고한 것으로 보아 이는 대목에 따른 CTV의 저항성의 차이에 기인하는 것으로 생각된다.

온주위축병에 걸린 온주밀감의 잎 모양은 Fig. 2에서 보는 바와 같이 건전한 잎보다 작고 보트형(舟形葉)과 숟가락형으로 되었으며 가지의 신장이 현저히 억제되고 절간이 단축되어 총생하였다. 위와 같은 잎이나 가지의 증상은 기온이 높아지면 은폐되기 때문에 봄 순에서만 보이고 여름 순에서는 나타나지 않았다. 그리고 온주밀감 외의 다른 품종에서는 SDV에 감염되어도 증상이 나타나지 않았다. 증상이 가벼운 나무에서는 수확량에 별 영향이 없지만 점차 증상이 진전되면 과실이 작아지고 과피도 두꺼워질 뿐만 아니라 수량도 감소하였다. 그리고 다른 요인에 의하여 잎 모양이 온주위축병과 비슷한 증상이 나타나기 때문에 정밀한 진단이 요구된다.

宮川 등(1977)은 일본에서 5월경 신엽 신장기에 온주밀감에 SDV가 감염되면 잎이 숟가락형(spoon shape)으로 되며, 봄가지의 절간이 짧아지고 고온 시에 신장된

여름가지에는 정상엽이 된다고 보고하였고 열매는 腰高果가 된다고 하였다. 이는 본 연구내용과 증상이 일치하였으나, 腰高果는 생성되지 않았다.

초본식물에 의한 생물검정에 있어서 광저기(*vigna sinesis* (Tornor)Save), 강남콩(*Phaseolus vulgaris* L.), 명아주(*Chenopodium quinoa* Willd.)에 SDV을 즙액접종을 한 결과 광저기에는 잎 가장자리에 ring spot이 형성됨을 볼 수가 있었는데, 宮川(1977)의 CTLV에 접종한 모습과 비슷해 추후 세밀한 검토가 요구되었고 강남콩과 명아주에는 증상이 나타나지 않았다.

CTLV에 감염된 감귤나무의 큰 특징은 대목인 탕자(*P. trifoliata*)와 접수사이에 접목부이상을 보여준다(Fig.3-B). 접목부위가 심하게 부풀어 올라있고(basal scion swelling), 칼로 그 부위의 껍질을 벗겨보면 대목과 접수사이에 離層이 형성되어 있음이 관찰되었다. 이 바이러스는 탕자(*P. trifoliata*)와 citrange을 대목으로 접수를 grafting할 때 발병되며, 심한 경우에는 강한 바람에 의해 꺾어지는 경우도 있다고 보고하였다(宮川, 1977).

목본류에 의한 접목검정으로서 실생으로 2년간 키운 탕자대목에 CTLV에 걸린 감귤나무의 접수를 접목시키고 그 위에 rusk citrange을 절접시킨 결과 잎이 부정엽 증상이 나타났다(Fig.3-F). 이는 宮川(1977)이 보고한 증상과 매우 비슷하였으며 열매인 경우 감염주의 열매가 무병주의 열매보다 매우 작음을 볼 수가 있었고 수세도 매우 쇠약하였다.



Fig. 1. The virus infection symptoms of Citrus Tristeza Virus infected citrus.

A: A declined tree of yuzu.

B: Small and normal fruits from severely-pitted and healthy yuzu.

C: Stem-pitting on a 10-year-old twig of yuzu.

D: The shape of stem-pitting on the bark-removed twig of yuzu.



Fig. 2. The virus infection symptoms of Satsuma Dwarf Virus infected citrus.

A: Abnormal shapes of newly leaved leaves in spring season.

B: Boat-shape leaf.

C: Normal(left 2 leaves) and abnormal leaves(right 4 leaves) from healthy and Satsuma Dwarf Virus infected Satsuma mandarin.

D: Necrotic local lesions of the primary leaves of sap-inoculated cowpea.



Fig 3. The virus infection symptoms of Citrus Tatter Leaf Virus infected citrus.

A: A declined shape of Citrus Tatter Leaf Virus infected tree. B: Bud-union crease of Very Early Satsuma mandarin (Miyamoto) on trifoliolate orange(*P. trifoliata*) rootstock. C: Small and normal fruit from Citrus Tatter Leaf Virus infected Very Early Satsuma mandarin. D: Normal(right 2) and abnormal(left 2) leaves from healthy and Citrus Tatter Leaf Virus infected Very Early Satsuma Mandarin. E: Effect of Citrus Tatter Leaf Virus infection on the growth of Very Early Satsuma mandarin. F: Tatter leaf symptoms of Citrus Tatter Leaf Virus infected rusk citrange.

2. 주요 감귤바이러스 감염의 피해해석

宮本早生 및 岩崎早生에서의 건전주와 바이러스 감염주의 생육을 비교한 결과, Table 1과 같이 건전주는 CTLV 감염주에 비해서 엽장, 엽폭, 수고 등이 커서 생육이 양호하였으며 과실도 건전주에 비해서 크기가 큼을 알 수 있었고, CTLV 및 CTV에 복합감염이 된 경우에는 엽장, 엽폭 및 과실크기는 변화가 없었지만, 수고 및 간경에서 차이를 보여 생육이 불량하였다. 이는 이에감이나 네이블오렌지 같은 계통에 stem-pitting병과 더불어 점목부이상증이 복합적으로 나타나서 수세를 더욱 약화시킨다고 보고(古賀, 1997)한 내용과, CTLV가 감귤나무에 감염됨에 따라 생육이 저하된다는 보고(宮川, 1977)와 일치하였다.

Table 2에서 유자의 CTV 감염정도에 따른 과실 수량 및 품질을 조사한 결과 건전주가 감염주에 비해서 크기 및 무게, 과피두께, 주당수량에서 유의차를 보였다. 유자에는 줄기에 stem-pitting병을 나타내고, 열매에 궤양성 호반증을 나타내어 상품성을 크게 손상시킨다. 佐木(1974)는 건전주와 CTV에 의한 팔삭위축병에 걸린 감염주와의 과실직경을 비교한 결과 건전주는 과실직경이 8.0 ~ 8.8cm가 되는 것이 55%를 차지한 반면, 감염주는 8.0~ 8.8cm가 45%, 그리고 7.3~8.0cm가 30%를 차지해 건전주가 감염주에 비해 과실직경이 크다는 것을 보고하였다. Sasaki(1981)는 navel orange에 있어서 CTV 감염주인 경우 건전주에 비해서 수세가 약화되었다고 보고하였으며, 그 발생하는 부위를 보면 수간이나 주가지보다는 2 ~ 3년생의 잔가지에 많이 발생된다고 하였다. 高木(1997)은 CTV-SY의 severe strain 과 mild strain 생육비교에서 severe strain이 생육이 불량하였고, stem-pitting병 발생 역시 100%, 56%로서 발생율이 높았다고 보고하여 본 연구조사와 유사하였으며, 추후 품종에 따라서 다양한 피해해석이 요구된다. 그리고 Agrios (1988)은 sour orange 대목에 sweet orange를 접목한 후 나무의 줄기와 뿌리 연결부위를 조개어 요오드칼리로 염색한 결과 CTV에 감염된 감귤나무에서는 녹말이 없지만, 건전주에서는 녹말이 저장되어 있어 바이러스의 피해가 저장녹말의 고갈에 따른 뿌리의 썩음에 대한 피해라고 보고하였고, 高木(1997)는 감귤바이러스에 의해 피해가 발생한 것은 CTV에 감염된 팔삭인 경우 도관부의 stem-pitting이 생겨 통도부에 피해를 가했기 때

문이라고 보고하였다.

Table 3은 SDV에 감염된 山川 3號에 있어서의 과실 수량 및 품질을 비교한 것이다. 건전주가 감염주에 비해서 과실크기가 컸고 과중이 무거웠으며 주당수량이 많았다. 제주시시험장 보고서(1981 ~ 1982)의 감귤 온주위축병 감염주와 건전주와의 수량 및 품질비교를 보면 건전주가 감염주에 비해 주당 수량 및 평균 과중이 각각 18.6kg, 32.9g 많았고 당산비도 1.5% 정도 높은 것으로 보고하였다. 그러나 본 연구결과는 제주시시험장 보고서와는 달리 당도와 산도에서는 유의차가 없어서 추후 재조사가 요구된다.



Table 1. Comparison of growth between virus-free and virus-infected Very Early Satsuma mandarin in the field of Cheju-do

Cultivars	Infection state	Leaf length (mm)	Leaf width (mm)	Plant height (cm)	Trunk diameter (mm)	Fruit size (mm)
Miyamoto	CTLV	75.0b ¹	34.5b	79.5	25.3	11.9b
	virus-free	93.9a	41.6a	95.5	26.8	13.4a
Iwasagi	CTLV+CTV	64.7b	29.9b	48.5	11.34	8.9b
	CTLV	61.7b	28.9b	66.6	12.2	8.9b
	virus-free	73.1a	33.7a	84.3	17.4	12.4a

¹. The value followed by the same letters within a column are not significantly different ($p=0.05$) according to Duncan Multiple Range Test.

Table 2. The quality of yuzu fruit infected with Citrus Tristeza Virus

Infection degree	Fruit size (mm)	Fruit weight (g)	Peel thickness (mm)	Soluble solid (° BX)	Acidity (%)	Yield (Kg/tree)
Severe	42.3 c ¹	23.9 c	3.2 c	11.0 a	7.5 a	1.3
Mild	56.8 b	72.7 b	5.1 b	10.3 ab	6.1 b	10.3
Virus- free	66.7 a	117.7 a	6.3 a	9.6 b	5.4 c	15.1

¹The value followed by the same letters within a column are not significantly different(p=0.05) according to Duncan Multifl Range Test.

Table 3. The quality of Yamakawa fruit infected with Satsuma Dwarf Virus

Infection state	Leaf length (mm)	Plant height (cm)	Fruit size (mm)	Soluble solid(。BX)	Acidity (%)	Yield (kg/tree)
Infected	53.6b ¹	95	56.3b	10.2a	1.07a	2.6
Virus- free	90.5a	115	58.9a	10.2a	1.03a	9.2

¹The value followed by the same letters within a column are not significantly different($p=0.05$) according to Duncan Multifl Range Test.

3. 감귤바이러스 감염상황

Table 4는 1995년부터 1997년까지 제주지역의 35지역을 중심으로 품종별로 CTV, SDV, CTLV에 대하여 감염상황을 ELISA 검정으로 조사한 결과이다. CTV의 경우 전체 감귤나무 1593주를 검정한 결과 1093주가 감염되어 있어서 전체 69.2%의 감염율을 보였다. SDV는 1904주 중에서 162주가 감염되어 있어서 전체 8.5%의 감염율을, 그리고 CTLV에는 1472주 중에서 206주가 감염되어 있어서 14.0%의 감염율을 보여 다른 바이러스보다 CTV가 훨씬 많이 감염되어 있음을 알 수 있었고, 이는 제주도과 비슷한 감귤품종이 많이 식재되어 있는 일본에서도 비슷한 경향이었다(宮川, 1977).

CTV인 경우 극조생온주밀감이 51.9%의 감염율을 보였고, 조생온주밀감은 80.9%의 감염율을, 그리고 만감류의 감염율은 77.6%를 보였다. 그리고 조생온주밀감이 다른 품종에 비해서 다소 높은 감염율을 나타낸 것은 품종갱신용으로 보통온주밀감을 조생온주밀감으로 고접할 때 전정가위 등에 의한 전염원으로 많이 작용한 것으로 사료된다. 만감류 중에서 특히 柚子와 淸見에서 97.5%, 88.2%의 감염율을 보여 CTV에 감수성인 품종에서 높은 감염율을 나타내는 것을 알 수 있었다. Ahlawat 등 (1992)은 인도의 Kamataka주에서 mandarin계통에 50%의 감염율을 보였다고 보고했으며, 古賀(1997)은 농림성 과수시험장 興津지장에서 온주밀감 55계통 1,614주를 대상으로 바이러스 조사한 결과 76.5%의 감염율을 나타내어 본 연구에서의 감염율과 비슷한 결과를 나타내었다. 그리고 口之津지장인 경우에는 22계통 211본을 조사한 결과 6계통 27본에서 발병되었으나 검정한 나무가 어린 나무에서 조사했기 때문이라고 보고하였다.

SDV인 경우 극조생온주밀감이 23.1%의 감염율을 보였고 조생온주밀감은 6.3%, 그리고 만감류에는 14.8%의 감염율을 나타내어 극조생온주밀감이 다른 품종보다 감염율이 높았다. 만감류보다 감수성이 높은 조생온주밀감이 SDV 감염율이 낮은 것은 추후 검토가 요망된다. 권 등(1985)이 보고한 감염율(2.9~ 6%) 보다는 다소 높은 감염율을 보였지만, 김 등(1993)이 농진청 보고서에서 온주밀감의 품종특성으로서 생리적인 원인으로 혼동될 수 있는 수간 내부의 잎 증상을 제외하면 11.3%로서 비

슷한 감염율을 보였다. 古賀(1997)은 과수시험장 생산현장에서의 발생현황을 조사하고자 ELISA법으로 모수의 바이러스를 검정한 결과 宮本早生을 도입한 현 내의 감귤산지에 단형엽과 위축, 소엽등의 증상이 나타내었고, 모수의 바이러스 검정결과 다른 품종에 있어서 감염율이 1~ 2% 정도였지만 宮本早生인 경우에는 80%이상의 높은 감염율을 보였다고 보고하였으나, 본 연구에서는 극조생 온주밀감중에서 宮本早生, 日南 1號, 岩崎早生, 山川 3號, 大浦早生, 崎久保早生 등이 30%의 감염율을 보여 일본에서 조사된 것보다는 낮은 편이었다.

CTLV인 경우 극조생온주밀감, 조생온주밀감, 만감류 등이 각각 18.3%, 7.8%, 7.3%의 감염율을 보여 극조생온주밀감이 다른 품종에 비해 높은 감염율을 나타내었다. 이는 최근 일본으로부터 도입한 극조생 온주밀감에 많이 발생하는 추세에 따른 것으로 파악된다. 김 등(1993)에 따르면 CTLV의 대표적인 병징인 접목부위 비대 및 위축증상을 조사한 결과 25%의 감염율을 보여 조사된 바와 같이 비슷한 감염율을 보였다. CTLV에 감염된 나무는 접목부위가 굵어지며 껍질을 벗겨보면 대목과 접수 사이의 경계면 목질부가 갈색선으로 괴사를 일으키는 것을 볼 수 있다. 각각의 포장에 따라서도 상당히 발병율이 차이가 나는데 이러한 원인은 바이러스 검정을 하지 않고 동일한 장소에서 병에 오염된 묘목을 재식한 경우나 고접 등의 방법으로 중간대목에 의하여 바이러스에 오염된 경우가 많기 때문이라 사료된다.

左賀(1997)는 애히매현에서 岩崎早生 1575본에 대해서 접목부위의 표피를 벗겨서 균열생기는 것을 조사한 결과 1029본이 감염되어 65.3%의 높은 감염율을 나타내었다. 野村(1995)는 靜岡縣내의 不知火 품종의 신초를 따다가 ELISA법으로 바이러스 검정을 한 결과 SDV 에 7.5%, CTLV에 12.1% 그리고 혼합감염이 0.9%정도 감염되었음을 보고하였고, 부지화의 입수경로별 CTLV 감염율을 조사한 결과 묘상태로 입수한 것은 4.2%, 高接상태는 13.6%로서 고접상태로 입수된 게 CTLV에 높은 감염율을 보였다. 宮川(1988)은 중국에서 도입된 감귤에서 CTLV 검출 사례를 보고하였는데, 1977년부터 1986년까지 공시된 감귤 印子柑 외 6품종을 *C. exelsa*와 Citrange 로 검정한 결과 전형적인 접목부이상 증상이 나타내었다고 하였다.

Table 4. Detection of citrus virus from various cultivars collected at various locations on Cheju-Do from 1995 to 1997 by ELISA Test

Group	Cultivars	Infection rate (%)		
		CTV ^a	SDV ^b	CTLV ^c
VE ¹	Miyamoto	26/75(34.7)	22/75(29.3)	39/222(17.6)
	Nichinan	3/30(10.0)	10/30(30.0)	4/56(7.1)
	Arisawa	2/10(20.0)	0/10(0)	0/10(0)
	Iwasagi	26/55(47.2)	16/55(29.1)	40/151(26.5)
	Halla	44/50(88.0)	5/50(10.0)	36/177(20.3)
	Yamakawa	32/35(91.4)	13/25(52.0)	19/112(17.0)
	Zabara	29/45(64.4)	2/45(4.4)	5/15(33.3)
	Ohura	10/10(100)	3/10(30.0)	1/28(3.6)
	Kikubowase	3/10(30.0)	3/10(30.0)	1/10(10.0)
	Ueno	4/10(40.0)	0/10(0)	2/48(4.2)
	Dokumory	3/10(30.0)	-	3/10(30.0)
	Kitaguchi	4/10(40.0)	-	5/23(21.7)
	Sinik	1/10(10.0)	-	1/10(10.0)
		187/360(51.9)	74/320(23.1)	161/882(18.3)
E ²	Miyagawa	133/169(78.7)	12/198(6.1)	15/186(8.1)
	Ohkitsu	133/160(83.1)	11/165(6.6)	14/184(7.6)
		266/329(80.9)	23/363(6.3)	29/370(7.8)
T ³	Kiyomi	97/110(88.2)	33/110(30.0)	6/110(5.5)
	Shiranuhi	16/90(62.2)	2/90(2.2)	9/90(10.0)
	Tsunokaori	19/30(63.3)	1/30(3.3)	-
	Orange	14/20(70.0)	1/20(5.0)	1/20(5.0)
	Yuzu	39/40(97.5)	-	-
		225/290(77.6)	37/250(14.8)	16/220(7.3)
	Total	1093/1579(69.2)	162/1904(8.5)	206/1472(14.0)

¹Very Early Satsuma mandarin

²Early Satsuma mandarin

³Tangors

^a Citrus Tristeza Virus

^b Satsuma Dwarf Virus

^c Citrus Tatter Leaf Virus

4. 열처리에 의한 바이러스 농도변화

Fig. 4는 柚子 및 不知火에서 바이러스 감염주를 주간 40℃, 야간 30℃로 열처리를 하여 생육시키면서 시기별로 바이러스 농도를 ELISA로 측정된 결과이다. 열처리를 계속함에 따라서 측정값이 감염한계점보다 낮게 측정되어 열처리에 따른 바이러스 무독효과를 나타내었다. 이는 시간이 지남에 따라 그 수준을 계속 유지하였고 柚子인 경우에도 비슷한 경향이었다. 그러나 열처리 후 온도를 실온으로 유지해 바이러스 농도값을 측정된 결과 fig. 5에서 보는 바와 같이 不知火는 15일이 경과함에 따라서 바이러스 감염한계점으로 증가하였고, 柚子인 경우에는 다소 늦은 60여일이 경과함에 따라서 바이러스 감염한계점으로 측정값이 증가하는 결과를 나타내었다.

Koizumi(1984)등은 바이러스 감염주를 열처리하면 바이러스 활성을 떨어뜨려 줄기의 성장속도보다 바이러스 이동속도가 느리기 때문에 열처리한 후 shoot -tip grafting을 하면 무독묘를 생산할 수 있다고 보고하였고 Calavan(1972)은 식물조직에 감염된 바이러스들은 높은 온도에 의해 부분적으로 불활성화 된다고 보고하였는데 이는 열처리하면 세포분열 시 바이러스 복제가 억제되기 때문이라고 하였다.

본 연구에서 바이러스 감염주에 열처리함에 따라서 ELISA에 의해 바이러스 검정이 안되어 바이러스 무독화 효과를 보였지만 온도를 실온으로 두었을 때 시간이 지남에 따라서 바이러스 농도값이 다시 바이러스 감염한계점 이상으로 증가하여서 이는 열처리 시 바이러스가 탈외피 되었다가 실온으로 되었을 때 다시 바이러스의 활성을 띤 것으로 추론되며 추후 바이러스 무독묘 생산에 있어서 열처리 효과에 대한 연구가 더 진행되어야 할 것으로 판단된다.

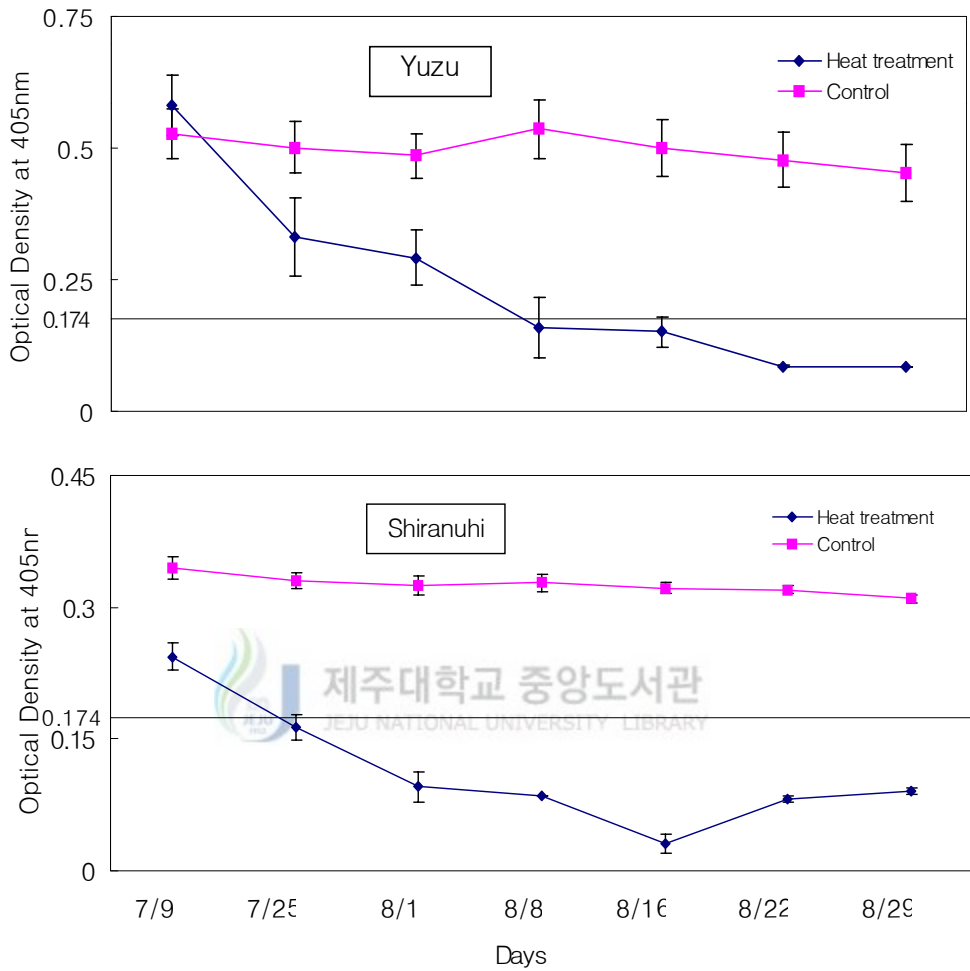


Fig 4. Change of virus concentration in heat treated Yuzu and Shiranuhi (40°C for 16hr in the daytime, 30°C for 8hr at night). Values are mean \pm standard deviation with three replications.

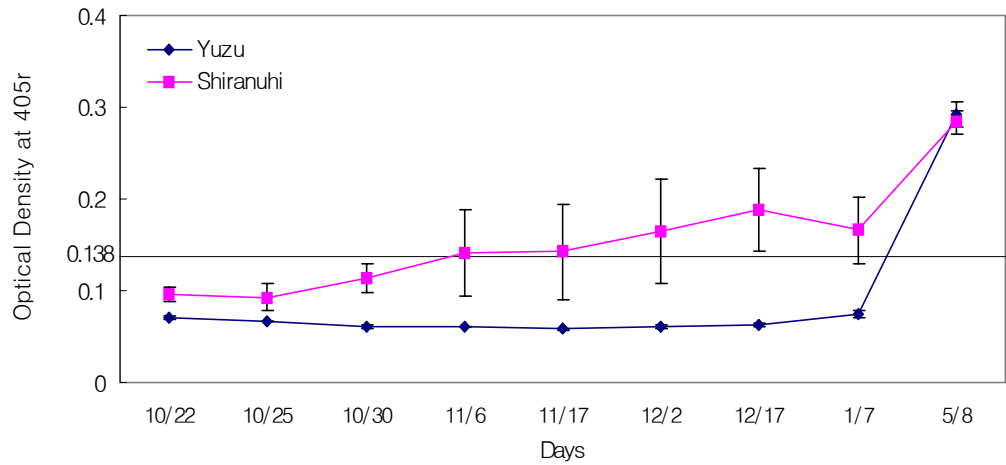


Fig 5. Change of virus concentration in Yuzu and Shiranuhi leaved in room temperature after heat treatment (day 40°C, night 30°C) for 47days. Values are mean \pm standard deviation with three replications.

Table 5는 바이러스에 감염된 감귤나무에 있어서 부위별 바이러스 분포조사를 한 결과로서 5월 중순경에 柚子에서 CTV에 대하여 부위별로 0. D A 405을 측정 한 결과, 신엽, 꽃잎, 수술, 꽃받침부위에서가 바이러스 검정이 가장 잘 되었으며, 전체적으로 전 부위에서 검정이 가능한 반면, SDV에 감염된 宮本早生인 경우에는 신엽, 꽃잎, 암술, 꽃받침부위에서 바이러스 검정이 잘 되었으나, 구엽에서는 바이러스 검정이 되지 않았다. 이는 SDV인 경우 직경이 26nm이고 입자가 구형모양으로 되어 있고 4월 말 신초 신장기에서 자란 신초에서 검정이 가능하지만 여름철과 같은 고온기인 경우는 병징이 은폐되어 지는 것으로 보아(宮川, 1977) 다른 바이러스에 비해 감귤나무 조직 내에서 불안정한 상태로 존재한다고 추론되어지고 좀 더 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

宇杉 등 (1982)은 SDV그룹에 속하는 CiMV의 온주밀감(*Citrus unshiu* Marcovich)에 있어서의 부위별 바이러스 분포조사를 한 결과 신엽, 암술, 유과에서 가장 검정이 잘 되었지만 구엽에서는 검정이 이루어지지 않았다고 보고하였다. 그리고 石井 (1982) 등은 유자품종에서 부위별로 바이러스 입자수를 조사한 결과 다른 부위보다 신초와 신엽 부위에서 각각 100배, 2배 이상의 많은 바이러스 입자 수를 관찰했다고 보고하였다. 이러한 내용은 본 연구결과와 일치하였으며 신초부위는 검정하지 못해 추후 검정이 요구된다.

Table 5. Distribution of Citrus Tristza Virus or Satsusma Dwarf Virus at various parts of virus infected Satsuma mandarin

Infected virus	Cultivar	Plant parts	O.D. 405
CTV ¹	Yuzu	spring leaves	0.85
		old leaves	0.69
		petals	0.74
		stamens	0.84
		gynoecium	0.79
		young fruit with calyx	0.89
SDV ²	Miyamoto	spring leaves	0.12
		old leaves	0.08
		petals	0.15
		stamens	0.13
		gynoecium	0.16
		young fruit with calyx	0.15

¹Citrus Tristza Virus

²Satsusma Dwarf Virus

5. 열처리에 의한 감글바이러스 무독화연구

가. 경정배양에 의한 무독묘 배양

바이러스에 감염된 감글나무를 주간 40℃, 야간 30℃로 1개월 이상을 열처리한 후 새로 자란 shoot tip을 5mm정도로 잘라서 경정배양 시켰다. 배지는 0.1μM NAA, 1μM BA, 50μM GA₃을 첨가시킨 MS배지에 0.2% gelrite을 첨가시켰다(Iwanami, 1993). 치상한 후 1달 후에 생존율을 조사한 결과 유자품종의 생존율이 74.6%로서 다른 품종에 비해 높았으며 宮本早生과 岩奇早生 등 극조생온주밀감의 경우에는 생존율이 낮았다(Table 6).

그러나 식물체를 증식시키는 과정에서 온주밀감의 특성상 자라지 못하고 갈변하여 고사하는 경우가 많았고, double phase culture로 MS배지에 0.1μM NAA, 1μM BA, 5μM GA₃을 첨가시키고 rivabirin 10 ~ 100 ppm을 넣어서 배양한 결과 Fig. 6에서 보는 것처럼 로켓모양으로 생장이 가능하였으나, 생육이 불량하였다.

그러나, Omura 등 (1993)은 MS배지에 0.1μM NAA, 1μM BA, 5μM GA₃을 첨가시켜 1mm의 크기로 잘라서 double phase culture을 한 결과 rivabirin 100ppm에서 무독개체를 얻어 추후 좀 더 많은 연구가 이루어져야 할 것으로 판단된다.

Table 6. Percentage of successful shoot tip culture *in vitro*¹

Treatment ²	Cultivars	Virus ³	Shoot size (mm)	Survival rate (%)
Yes	Satsuma mandarin	SDV	5	14/29 (48.3)
"	Satsuma mandarin	CTLV	"	30/73 (41.1)
"	Yuzu	CTV	"	100/134 (74.6)
"	Shiranuhi	CTV	"	12/22 (54.5)
"	Miyamoto	CTLV	"	2/14 (14.2)
"	Iwasagi	CTLV	"	2/15 (13.3)
No	Satsuma mandarin	SDV	"	120/237 (50.6)
"	Yuzu	CTV	"	26/35 (74.3)
"	Shiranuhi	CTV	"	6/12 (50)

¹Culture medium : MS, 0.1 μ M NAA, 1 μ M BA, 50 μ M GA₃

²Yes : 40 $^{\circ}$ C in the daytime
30 $^{\circ}$ C at night

No : No treatment

³SDV : Satsuma Dwarf Virus

CTV : Citrus Tristeza Virus

CTLV : Citrus Tatter Leaf Virus

나. Shoot-Tip Grafting (STG)에 의한 무독묘 배양

Table 7은 경정접목시에 접수의 크기별 활착율 및 바이러스 종류별로 무독화율을 나타낸 결과로서 접수의 크기를 0.3mm 이하로 자르고 열처리한 후 대목에 micrografting을 하였을 때 활착율은 14.7%, 0.3 ~ 0.5mm로 잘랐을 때는 활착율이 25.3%, 그리고 0.5 ~ 0.7mm로 잘랐을 때는 39.1%의 활착율을 보여서 접수의 크기를 작게 자를수록 활착율은 떨어져서 堀江 등(1996)이 보고한 내용과 일치하였다. 그리고 품종별로는 극조생온주밀감 보다 유자가 활착율이 높게 나타났는데 이는 유자가 극조생온주밀감 보다 수세가 강하고 품종 특성상 접수에 의한 활착율이 높기 때문이라 사료된다.

접수크기에 따른 무독화율을 조사해본 결과 접수의 크기를 0.3mm 이하로 대목에 micrografting한 곳에서는 100%의 무독화가 가능하였지만, 0.3 ~ 0.5mm인 경우는 CTV의 무독화율이 75 ~ 100%을, 그리고 0.5 ~ 0.7mm인 경우는 66.7 ~ 100%의 무독화율을 나타내 CTV인 경우 접수의 크기가 클수록 바이러스 무독화율이 떨어지는 경향을 보였다. 그러나 SDV인 경우 접수의 크기가 0.5mm까지 100%의 무독화가 가능하였고 CTLV인 경우는 0.7mm까지 무독화가 가능해 바이러스별로 접수크기에 따른 무독화 조건을 구명할 수 있었다. 그리고 60일 이상 열처리한 경우에 不知火 및 수세가 약한 일부품종에서 잎이 갈변 및 낙엽을 나타내어 추후 품종별 열처리조건에 관한 연구가 좀 더 진행되어야 할 것으로 생각된다.

바이러스 종류별 무독화율은 위에서 본 바와 같이 SDV나 CTLV에 비해 CTV가 낮았으며 이와 같은 결과는 堀江 등(1996)이 보고한 연구내용과도 유사하였다.

외국에서 수행하는 바이러스 무독화는 열처리와 경정접목을 병행하여 수행하고 있는데 堀江 등(1996)은 온주위축병(SDV), 감귤 모자이크병(CiMV), 감귤 트리스테자 바이러스(CTV)에 감염된 온주밀감을 이용해서 열처리(주간 36 ~ 26°C, 일장 16시간) 및 경정접목을 병용하여 바이러스 무독화의 조건을 밝혔다고 보고하였고 Calavan et al.(1972)는 CTLV에 감염된 감귤 바이러스를 고온처리 조건하(주간 40°C, 야간30°C)에서 생육시켜 신장하는 새순을 증식시켜서 무독개체를 얻었다고 보고하였다. 宮川(1980)은 CTLV에 감염된 병감, 금감, 수황문단(水品)과 野田온주를

주간 40℃, 야간 30℃로 열처리 후 120일간 이상을 생육시켜서 신장된 새순으로 무독개체를 얻어 이를 생육시킨 결과 무처리구 보다 생육이 양호함을 관찰하였고, 1982년에는 감귤바이러스 무독화는 경정접목법만으로는 무독화가 가능하지 않았다고 보고하였다. Koizumi(1984)는 고온처리와 경정접목법을 동시에 병행함으로써 온주밀감으로부터 CTLV를 제거하였다. Chalavi 등(1992)는 경정접목법을 이용하여 Thomson navel로부터 concave gum 병원체를 제거하였으며, 高原 등 (1986)은 주간 40℃, 야간 30℃로 열처리한 후 0.8 ~ 1.0mm크기로 접수를 잘라서 대목에 semi - micrograting을 이용하여 바이러스 무독묘를 생산하였으나 본 연구에 비해 무독화율은 낮았다.





Fig. 6. Culture of virus-free stocks.

A : Shoot-tip culture of Satsuma mandarin.

B : Double phase culture of Satsuma mandarin shoots with 100ppm Ribavirin

C : Leaves of sprout from yuzu shoot-tip micrografted in triangle-hole of trifoliate orange(*P. trifoliata*) rootstock seedling, 3 weeks after grafting.

D : Shoot-tip grafted stem-scion(Yuzu /trifoliate orange, 6 weeks after micrografting) with flush, side-grafted on rough lemon rootstock by banding with stretched parafilm.

Table 7. Effects of shoot tip size on successful rate of micrografting and culture of virus free plants

Shoot size	virus ¹	Cultivar	Percentage of successful grafting	Percentage of virus free plant
less than 0.3mm	CTV	Yuzu	16.7	100
"	SDV	Satsuma mandarin	13.6	100
0.3~0.5mm	CTV	Satsuma mandarin	31.7	85.7
"	CTLV	Satsuma mandarin	27.3	100
"	CTV	Yuzu	43.8	75
"	CTV	Shiranuhi	25.0	0
"	SDV	Miyamoto	20.0	100
"	CTLV	Iwasagi	23.1	100
"	CTV	Nichinan	20.0	100
"	SDV	Ueno	28.5	100
"	CTV	Yamakawa	30.7	100
0.5~0.7mm	CTV	Yuzu	42.8	66.7
"	CTV	Shiranuhi	36.8	85.7
"	SDV	Ohkitsu	40.0	83.3
"	CTLV	Miyamoto	44.4	100

¹SDV : Satsuma Dwarf Virus

CTV : Citrus Tristeza Virus

CTLV : Citrus Tatter Leaf Virus

IV. 적요

1995년부터 1997년까지 도내 32지역을 대상으로 Satsuma Dwarf Virus, Citrus Tristeza Virus, Citrus Tatter Leaf Virus에 감염된 감귤나무의 감염상황 및 피해 증상을 조사한 결과, CTV의 경우 온주밀감에는 저항성을 나타내어 실제로 피해가 나타나지 않았으나, 柚子에는 줄기나 가지의 표피에 갈색무늬의 가는 줄이나 줄무늬를 보여 수세를 떨어뜨리고 신장을 악화시켰다. 그리고 전체 감귤나무 1593주를 검정한 결과 1093주가 감염되어 전체 69.2%의 감염율을 보였고, 품종별로는 만감류가 77.6%로서 극조생온주밀감이나 조생온주밀감 보다도 높았고, 특히 柚子와 淸見에서 97.5%, 88.2%의 높은 감염율을 보였다.

SDV에 감염되면 봄의 새잎이 나뭇배 모양, 손가락모양으로 되고 전체적으로 위축된 모습을 나타내었는데 전체 감귤나무 1904주를 ELISA법으로 검정한 결과 162주가 감염되어 있어서 8.5%의 감염율을 보였다. 그리고 품종별로는 극조생온주밀감이 23.1%의 감염율을 보여 조생온주밀감이나 만감류보다 높은 감염율을 나타내었고, 만감류인 경우는 14.8%의 감염율을 보여 조생온주밀감의 6.3%보다 감염율이 높은 편이었다.

CTLV에 감염된 감귤나무는 대목과 접수사이에 이층(離層)이 형성되어 접합면에서 수액이 나오거나 영양분의 이동이 차단되어 점차 수세가 악화되고 결실이 불량해지며 태풍 등 강한 바람에 의해 부러지는 경우가 있다. 총 1220주의 감귤나무를 조사한 결과 113주가 감염되어 있어서 9.3%의 감염율을 보였고 품종별 CTLV감염은 전체 1472주를 검정한 결과 206주가 감염되었고 극조생온주밀감이 18.3%의 감염율을 나타내어 다른 품종에 비해 높은 감염율을 나타내었고, 특히 漢擎早生, 岩崎早生, 德森早生등이 20%이상의 높은 감염율을 나타내었다.

무독묘 생산을 위하여 열처리를 이용한 경정배양은 온주밀감의 특성상 조직배양 중에 갈변되어 고사함으로써 무독묘를 생산하지 못했으나, 열처리와 경정접목을 병용한 방법으로, 바이러스에 감염된 감귤나무를 주간 40℃, 야간 30℃로 열처리한 후 0.2~ 0.3mm로 잘라내어 기내에서 치상한 탱자대목에 접목한 결과 무독묘 생산에 성공하였다. 경정접목에 의한 바이러스 무독화는 보다 적게 경정부분을 도려낼

수록 높게되나 접목 후 활착율은 저하되었다. 바이러스 종류별로 무독화율을 조사한 결과 CTV가 SDV나 CTLV에 비해 낮음을 볼 수 있었다.



V. 참고문헌

권혁모, 고관달. 1985. 감귤 바이러스에 관한 연구. 제주도 농촌진흥원 시험연구 보고서. pp. 320 ~ 327.

農村振興廳 果樹研究所. 1993. 과수 바이러스 조기 정밀진단 기술개발 및 방제대책 연구. 제1차연도 완결보고서. pp. 1 ~ 20.

農村振興廳 園藝研究所. 1996. 1996년도 試驗研究報告書(과수, 저장이용편). p. 1259.

農村振興廳 園藝研究所. 1997. 원예작물 재배현황. p. 21

農村振興廳 全南大學校 農科大學. 1995. 園藝作物 바이러스病 精密診斷. pp. 13 ~ 54.

農村振興廳 濟州道 農村振興院. 1996. 柑橘바이러스病 및 主要病害의 生態 및 防除. pp. 9 ~ 38

유하영, 이영희, 조원대, 김완규, 명인식, 진경식. 1993. 과수병해원색도감. 농촌진흥청 농업기술연구소. p. 286

한국식물병리학회. 1995. 한국식물병명목록. p. 356

한해룡, 권오균. 1994. 감귤원예신서. 선진문화사. pp. 553 ~ 559.

石井卓男, 宇杉富雄. 1982. Serological Specific Electron Microscopyによる Citrus Tristeza Virus의 檢出. 日本短報 48:231 ~ 233.

今田準. 1977. 温州委縮病及び類以病害の種類と研究の現想. 植物防疫 31(10):399 ~ 402.

井上忠男. 1980. 植物ウリルス病の抗血清診断の普及のために. 植物防疫 34(3):101 ~ 101.

宇杉富雄, 土崎當男. 1982. ELISA법(Enzyme-linked immunosorbent assay)によるカンキツ モザイクウイルスの検出. 日植病報 48 :330~ 332.

江裕一郎, 鶴丈和, 章野成夫. 1996. 組織培養カラタチの發根法とカンキツ臺木への利用. 福岡農總試研報 15:94~97

下村徹. 1980. ウリルスにおける局部病斑形成おめぐる諸問題. 植物防疫 34(9):397~403.

高橋義行. 1988. 植物ウイルス病の血清學的 診斷法(2), ELISA法- その特徴と實驗上の主義点. 植物防疫 42(2):88~92.

高木信雄. 1997. 生産現場のウイルス防除の取り組み. 果實日本. pp.37~ 39

高原利雄, 奥代直巳, 久原重松. 1986. 簡易莖頂接ぎ木法によるカンキツウイルスの接木化. Bull. fruit tree Res. Stn. 8:13 -24

田中寛康ほか:1969. 温州萎縮病の病徴發現に關ほす環境條件の影響1. 舟型葉の發現と溫度との關係. 園試報告 B9:163~173.

是永龍二, 小泉銘冊, 宇山欠欽司, 古橋嘉一. 1992. 果樹の 病害蟲. 日本植物防疫協會. p.176

久原重松. 1980. 酵素綜合抗体法(ELISA)による植物ウイルス病の診斷. 植物防疫 34(3):129~135.

久原重松. 1981. 果樹の高接ぎ更新に伴うウイルスの保毒率の増加. 植物防疫 35(11):483~ 488.

平井篤造, 四方英四郎, 高橋壯, 都丸敬一. 1988. 新編 植物ウイルス學. 養賢堂. pp. 258 ~ 279.

古賀敬一. 1997. 長崎縣におけるウイルス 病 対策. 果實日本. pp. 32~33.

宮川經邦. 1976. 果樹のウイルス病-研究と対策. 農山漁村文化協會. pp. 42 ~ 106, 121 ~180.

宮川經邦. 1977. カンキツに おける接木部異常症の症状ウイルスとその分布状況. 植物防疫 31(10):395 ~ 398.

宮川經邦, 佐 木篤. 1977. 柑橘のウイルス 病診断. 農山漁村文化協會. pp.8 ~ 82.

宮川經邦. 1982. カンキツドリステザウリルスの系統おたぐる諸問題. 植物防疫 36(9):426 ~ 429.



宮川經邦. 1983. 高温處理によってタタリプウイルスお無毒化したカンキツ苗木の生育. pp.95 ~ 96.

宮川經邦. 1988. -カンキツタターリーフウイルス研究の現況と課題. 植物防疫 42(3):32 ~39.

山口沼. 1982. 果樹ウイルス病의 基礎知識. 農山漁村文化協會. pp.31 ~ 44, 56 ~ 78, 110 ~ 149.

山田峻一, 尺村健三. 1952. 温州ミカの萎縮病に関する研究. 東海近畿農業試験場研究報告園藝部 1: 61 ~ 71

Agrios, G.N. 1988. Plant pathology. Academic Press. London. pp.587 ~622.

Ahalwat, Y. S., N. K. Chakraborty, A. Varman, and S. P. Raychaudhuri. 1992. Diagnosis of disease caused by virus and fastidious prokaryotes in citrus in India. Proc. Int. Soc. Citriculture pp.749~751

Bar-Joseph, M., S.M. Garnsey, D. Gonsalves, Mira Mosavite, D.E. Purcifull, M.F. Clark, and G. Loevnstein. 1979. the use of enzyme - linked immuno sorbent assay for detection citrus tristeza virus. Phytophology 69:190-194.

Calavan, E.C. et al. 1972. Thermotherapy of citrus for inactivation of certain viruses. Plant Dis. Repr. 56(11): 976~980.

Chalavi, V., M. Raeini Sarhars, and H. Rahimian. 1992. Elimination of Concave Gum Pathogen from Thomson navel trees orange through shoot tip grafting. Proc. Int. Soc. Citriculture. p. 814.

Davis, J. W., ed. 1985. Molecular plant virology. Vol. 2 CRC Press, Boca Raton. Florida pp.42~ 53.

Ieki, H. 1987. The use of cross-protection with mild strains of citrus tristeza virus (CTV) to control stem pitting disease of citrus in Japan. Bull. Fruit Tree Res. Stn. pp.8~14.

Iwanami, T., T. Hidaka, M. Omura. 1993. Shoot-tip culture of citrus (III. Elimination of citrus totter leaf virus from cultured shoots). Bull, Fruit Tree Res. Stn. 24: 61~71.

Miyakawa, T., A. Yamaguchi. 1981. Citrus Disease in Japan Plant Protection Association. pp.47~50.

Murrashshige, T., W. P. Bitters, E. M. Naver, C. N. Roistacher, and P. B. Holliday. 1972. A technique of shoot apex grafting and its utilization towards recovering virus-free Citrus clones. HortScience 7: 118-119.

Navarro, L., C.N. Roistochoer, and T. Murashige. 1995. Improvement of shoot tip grafting in vitro for virus free citrus. HortScience 100: 471-479

Omura, M., T. Hidaka. 1993. Shoot tip culture. bull. fruit tree Res. stn. 24 : 61-71.

Salibe, A.A., and A.Tubelis. 1992. Biological Indexing of Virus and Viroids in Citrus in Brazil. Proc. Int. Citriculture. Vol.2

Sasaki, A. 1981. The effect of stim-pittion on yield of washington navel orange. Proc. Int. Soc. Citriculture. pp.439-441

Semmancik, J.S., and L.G. Weathers. 1965. Partial purification of a mechanically transmissible virus associated with tatter leaf of citrus. Phytopatholgy. Vol155. pp.1354~ 1357.

Su, Hong-Ji and Jan- Yang Chu. 1984. Modified Technique of Citrus Shoot-tip Grafting and Rapid Propagation Method to Obtain Citrus Bud Woods Free of Citrus Viruses and Libukin Organism. Proc. Int. Soc. Citriculture. Voll. pp.332~338

Yamada, S., H. Ieki, T. Kuramoto, T. Shichiho, I. Ueno, T. Yoshida and M. Hirai. 1981. Survey of stem-pitting and tristeza virus indexing of citrus varieties at Okitsu. Bull. Fruit Tree Res. Stn. Japan. B8:147~173

Whiteside, J. O., S. M. Gransey, and L. W. Timmer, 1988. Compendium of Citrus Disease. APS. press, St. Paul, Minnesota, USA. p.80

감사의 글

본 논문이 완성되기까지 부족한 저에게 세심한 관심과 끝없는 사랑으로 지도를 아끼지 않으신 오덕철 지도교수님께 진심으로 감사를 드립니다.

그리고 바쁘신 와중에도 일일이 논문을 심사하고 교정해주신 허인옥 교수님과 고석찬 교수님께도 깊은 감사를 보냅니다.

그리고 평소에 저에게 조금이라도 많은 것을 가르쳐 주시기 위해 힘써주신 오문유 교수님, 이용필 교수님, 김문홍 교수님, 김원택 교수님, 이화자 교수님, 김세재 교수님께도 감사드립니다.

항상 따뜻하게 감싸주시고 걱정 어린 눈으로 용기를 북돋아주신 문덕영 소장님, 처음으로 바이러스를 연구하게끔 이끌어주신 권혁모 연구관님, 임한철 연구관님, 김광식 연구관님, 김용호 박사님, 현재욱 박사님과 더불어 항상 저에게 관심과 사랑으로 도와주신 감골연구소 직원께도 진심으로 고마움을 전합니다.

그리고 이 논문이 완성될 때까지 도움을 준 혜경씨와 경선씨, 그리고 계선씨에게도 심심한 고마움을 전합니다.

끝으로 힘들 때마다 걱정해주시고 안쓰러워 하신 던 부모님과 용기를 주던 내 형제분과 항상 제 바로 곁에서 사랑으로 일관해준 내자에게 이 작은 선물을 보냅니다.