

우리나라 사과 바이로이드병

김정수, 최홍수
김현란, 조인숙

가. 우리나라 사과 바이로이드 발생 이력

우리나라에서 사과의 바이로이드병(apple dimple)의 발생은 1998년 경북 의성 사과 재배농가에서 일본에서 도입한 미끼라이프 품종이 최초 전염원이 되어 발생하였으며(그림 1), 이 품종은 일본에서 정식 수입된 것이 아니고 1998년에 농업인이 비공식으로 들여와 농가의 사과나무에 접목을 한 후 발생하기 시작한 것으로 확인되었다. 또한 다른 발생 농가의 경우에도 바이로이드에 감염된 미끼라이프 접수를 접목한 다른 사과 품종에서 2차 감염되어 발생이 확산되었다.

사과 바이로이드가 처음 발생한当年인 2001년에 이미 10지역 13 농가, 4품종에 감염이 확인되어 그해 11월 국가 긴급방제를 하였으며, 긴급방제 3년 후 2004년에 9개 지역 13개 농가로 발생 농가가 축소되었지만, 2010년 조사에서는 우리나라 전국으로 확산 발생하고 있는 것으로 추정되며, 지역별 농가별 정밀 조사는 되어 있지 않다(표 1).



그림 1. 일본에서 비공식으로 도입한 미끼라이프 품종의 사과 과실의 바이로이드(ASSVd) 감염에 의한 모자이크 증상.

2001년 발생当年에는 경북 의성을 중심으로 군위, 영주, 안동 등 8개 시군에 발생하였고, 충남 아산, 전북 정읍에 발생하는 것으로 조사되어 이미 바이로이드 감염이 1998년

이후 급속히 확산되었음을 알 수 있다. 2002년에는 12개 시군에 발생하여 4개 시군으로 확산되었으며, 충남에서는 예산, 전북에서는 무주가 추가로 확산되었다. 2003년에는 경북에서는 발생시군이 현저히 줄어 영주 등 5개 시군이었으나, 경남도에서 거창, 밀양, 충북도에서 음성 등 7개 시군이 신규로 확산되었다. 사과 바이로이드는 국가 긴급방제에 의하여 초기 확산을 억제하였으나 지속적인 방제대책이 이루어지지 않아 국가 병해충 방제는 국가뿐만 아니라 농가의 의식전환과 협조가 무엇보다 중요하다는 것을 시사하고 있다.

표 1. 우리나라 사과 바이로이드 초기 발생 상황

연도	도명	시군	발생 품종
2001	경북	의성, 군위, 영주, 상주, 안동, 문경, 포항, 영양	미끼라이프, 추광, 후지, 홍로
	충남	아산	
	전북	정읍	
2002	경북	군위, 의성, 영주, 상주, 안동, 문경, 포항, 영양, 청송, 영천, 영덕, 김천	미끼라이프, 추광, 후지, 홍로, 나리따, 히로사끼, 홍장군, 산사, 송본금, 미시마, 감홍
	충남	아산, 예산	
	충북	옥천	
	전북	정읍, 무주	
2003	경북	영주, 안동, 문경, 포항, 상주	후지, 홍로, 추광, 감홍, 히로사끼, 야다까, 나리따, 홍부사, 하향, 산사, 화랑, 하크나인,
	경남	거창, 밀양	
	충남	논산, 예산	
	충북	음성, 청주, 진천, 괴산, 충주, 옥천, 영동	
	전북	장수	
2004	경북	구미, 군위, 안동, 영주, 봉화	홍로, 감홍, 추광, 후지, 서광, 하향, 희상, 미끼라이프, 나리따, 꽃사과
	충남	예산, 논산	
	충북	영동	
	전북	무주	
	경기	이천	

사과 바이로이드 감염 품종은 일본에서 도입한 미끼라이프가 최초 전염원이 되어 발생이 확인된 2001년 당년에 우리나라 주요 사과 품종인 추광, 후지, 홍로 품종에 발생하였으며, 2차 연도에는 나리따, 히로사끼, 홍장군, 산사, 송본금, 미시마, 감홍 품종에 감염되어 대부분 주요 사과 품종에 감염되었다(표 1). 이와 같이 현재 우리나라에서 재배하고 있는 사과 품종들은 사과 바이로이드에 쉽게 감염되는 것을 알 수 있다.

2009년과 2010년 우리나라 사과 및 배 주산단지 12개 지역을 대상으로 사과 바이로

이드 감염 여부를 재조사한 경우에도 사과와 배나무 1,193주에 대하여 진단한 결과 사과는 3.1%, 배는 0.8%가 감염되었으며, 사과 이외에 배가 사과 바이로이드에 감염된 것이 처음으로 확인되었다(Kim 등 2010).

세계적으로 사과 바이로이드(ASSVd)가 발생하고 있는 국가는 한국, 일본, 중국, 인도, 파키스탄, 터키, 그리스, 프랑스, 폴란드, 네덜란드, 영국, 스웨덴, 캐나다, 미국, 아르헨티나 15개 국가이다(그림 2). 사과 바이로이드는 우리나라와 달리 유럽식물병해충관리협회(EPPPO) 등 세계적으로 이동이 금지되는 관리대상 병원체이다.



그림 2. 사과 바이러스 발생 국가 (Plantwise, 2015)

나. 증상

사과 바이로이드(ASSVd)에 감염되면 대부분의 품종에서 모자이크 증상이 나타나며, 모자이크 증상과 함께 불규칙한 원형 반점이 나타나고 이들이 합쳐져서 부정형의 황화 원형반점이 생긴다(그림 3). 2001년부터 2004년까지 전국 조사에서 촬영한 증상 사진에서 보면 우리나라 사과 ASSVd의 최초 전염원이었던 미끼라이프 과실은 심한 얼룩무늬의 모자이크, 부정형의 원형반점, 착색 불균일 그리고 간혹 과일 기형 등의 심한 증상이 나타난다. 사과 과일의 ASSVd에 의한 다양한 증상은 감염된 사과 품종인 후지, 홍로, 추광,

하영 등의 주요 재배품종에서도 증상의 심도가 약간 차이가 있으나 대부분 동일한 증상이 나타난다.



그림 3. 사과 바이로이드에 감염된 품종별 과피 얼룩무늬 증상



그림 4. 사과 바이로이드에 감염된 과일의 과피 동록 증상 (감홍품종).

사과 바이로이드 감염에 의한 일반적인 모자이크 등의 증상 이외에 다른 감염 증상이 나타나기도 하는데, 감홍 품종에서는 과피의 얼룩 증상과 함께 착색이 불균일한 증상이 매우 크게 나타나며, 사과의 과피가 매끄럽지 않고 녹이 쓴 것처럼 거칠거칠한 증상인 동녹 증상을 나타내기도 한다. 사과 홍로품종의 과피 동녹 증상은 곰팡이 감염에 의한 표피의 우들우들한 증상은 잘 나타나지 않고 괴저 증상과 유사한 동록 증상이다(그림 4).

사과 화홍 품종에서 나타난 동녹 증상 과일은 내부 갈변이 되는데 갈변 증상은 씨를 중심으로 가장자리로 방사상 무늬의 갈변이 진행되는 것을 볼 수 있다. 또한 방사상으로 갈변된 증상에 일부는 과육이 방사형 무늬와 병행으로 갈라지고 검게 변한다(그림 5). 따라서 사과 화홍 품종의 경우 ASSVd의 과실 표면과 내부의 증상은 모두 괴저 증상의 하나로 볼 수 있다.



그림 5. 사과 바이로이드에 감염된 과일의 내부 갈변 증상 (감홍품종).

다. 사과 바이로이드 특성과 전염양식

사과 바이로이드병은 *Apple scar skin viroid*(ASSVd) 병원체의 감염에 의하여 발생하는 병이며, 병원체는 바이러스와 다르게 외피단백질을 가지고 있지 않고 RNA 핵산으로만 구성된 병원체이다.

식물에 감염하는 바이로이드 병원체는 1922년 마틴(Martin)이 감자에서 괴경이 갈썩해지는 병을 일으키는 감자갈썩바이로이드(*Potato spindle tuber viroid*, PSTVd)를 최초

로 보고하였다. 사과에 감염하는 바이로이드인 ASSVd는 1935년 오츠카(Ohtsuka)가 중국에서 최초로 보고하였다.

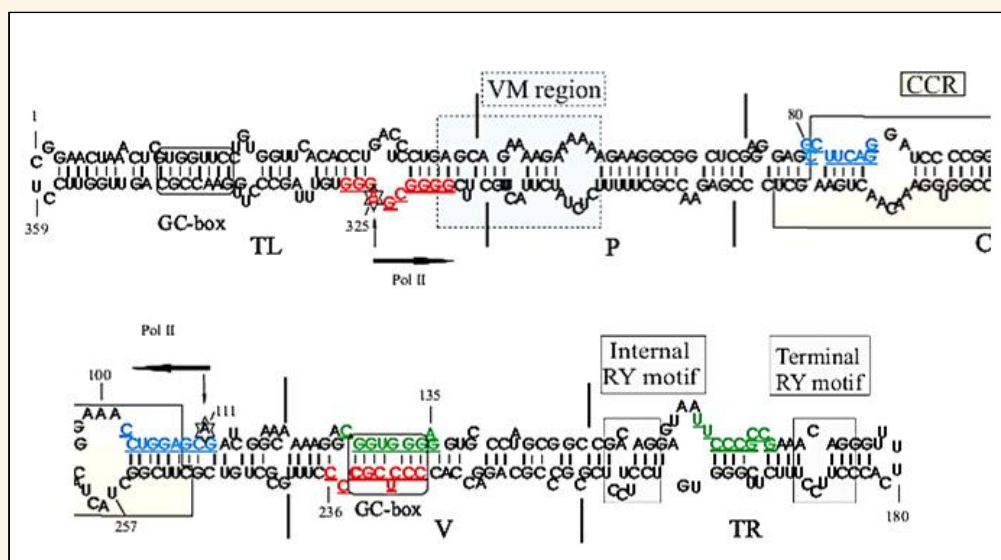


그림 6. 바이로이드의 유전자 구조(PSTVd, Gora-Sochacka, 2004).

TL, terminal left structural domain; P, pathogenicity domain; C, central domain; V, variable domain; TR, right structural domains. Hair pins of HP I (blue), HP II (red) and HP III (green). Replication start sites A111 and A325(star). CCR, VM region, and RY motifs (shade).

사과 바이로이드(ASSVd)를 비롯하여 식물에 감염하는 바이로이드 병원체에 대한 연구는 비교적 최근에 유전자의 구조가 밝혀지면서 증식기작(Gora-Sochacka 2004), 기주범위, 전염양식, 저항성과 식물체에서 제거방법 등의 연구가 되어왔다. ASSVd 전체 유전자 염기가 약 329~334개 정도이며, 단일가닥의 RNA이고 사상형이다. 바이로이드는 단백질 생성을 위한 mRNA를 암호화(coding) 하지 않으며 바이로이드 핵산의 복제를 위하여 기주 식물의 효소에 의존한다. 기주 식물의 생장과 발육에 관여하는 주요 유전자의 기능을 방해하여 증상이 나타나도록 한다. 사과 바이로이드 유전자 조성은 5개의 구조와 기능 유전자가 밝혀졌는데, 중심 영역 유전자(C), 병원성 관여 유전자 (P), 가변 영역 유전자 (V), 2개의 말단 영역 유전자(T)로 구성되어 있다(그림 6).

식물에 감염하는 바이로이드는 2개의 과(Family)로 분류되는데, 사과 바이로이드

(ASSVd)는 Pospiviroidae(Type Species *Potato spindle tuber viroid*)에 속한다. ASSVd는 중심영역 유전자에 중심보존부위(central conserved region, CCR)를 갖고 있으며, CCR은 바이로이드 병원체의 증식과 이동에 관여하고 바이로이드 병원체가 RNA이지만 기주세포의 핵 내에서 증식하고 분포한다. 그러나 다른 과인 Avsunviroidae(Type Species *Avocado sunblotch viroid*)에 속하는 바이로이드는 CCR이 없는 반면에 튀어나온 라이보자임(ribozyme) 구조를 만들어 유전자 자기 절단기능(self-cleaving property)을 통한 증식 기능을 갖고 있다. 특히 엽록체(Chloroplast) 내부에서 증식이 가능하므로 병원체가 엽록체 내부에 많이 축적된다. 바이로이드 유전자의 병원성(P) 영역은 구조에 따라서 기주 식물의 단백질과 친화성이 다르며 또한 증상 발현의 심도가 달라진다.

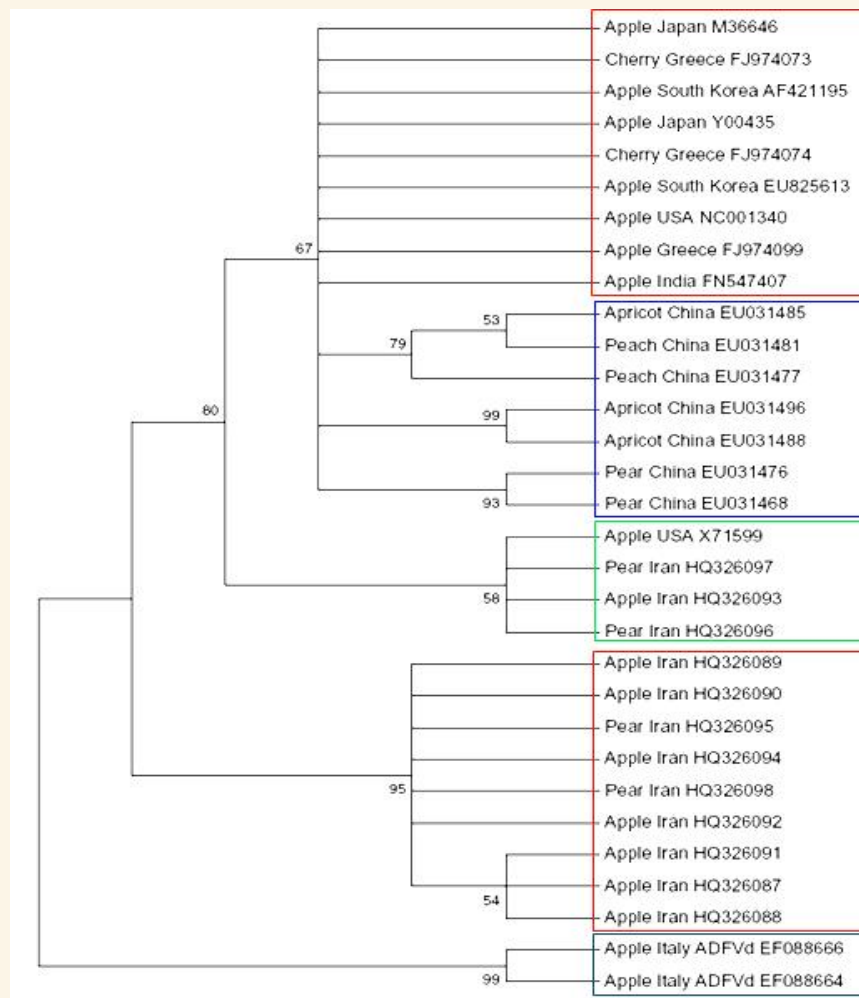


그림 7. 사과 바이로이드의 유전자 변이 (Arezou Yazarlou 등, 2012).

사과 바이로이드에 감염되는 식물은 사과(*Malus domestica*), 야생사과(*Malus sylvestris*), 앵두(*Prunus avium*), 배(*Pyrus*, *Pyrus amygdaliformis*, *Pyrus bretschneideri*, *Pyrus communis*, *Pyrus pyrifolia*, *Pyrus ussuriensis*) 등 17종이 보고되어 있다(Desvignes 등 1999).

사과 바이로이드의 유전자 변이는 발생 기주와 지역에 따라서 염기서열의 변이가 발생하는데, 그림 7에서 보면 이란에서 발생하는 사과 바이로이드가 가장 원조 바이로이드이며 (빨강색), 여기에서 변이가 발생하여 그리스, 인도, 미국, 일본, 한국으로 이동 변이주가 발생하여 왔으며, 동시에 사과에서 체리로 병원성 변이가 발생하였다. 감염 기주별 변이를 보면 사과에서 배(초록색), 특히 중국의 사과 바이로이드 변이주에서 배, 자두, 복숭아로 기주가 확대 되었다(청색). 사과 바이로이드와 매우 유사한 바이로이드인 *Apple dimple fruit viroid* (ADFVd)는 사과 바이로이드와 99%의 유전자 상동성을 갖지만 별도로 분화된 바이로이드이다(보라색).

사과 후지 품종에 감염된 ADFVd는 과피가 울퉁불퉁한 증상을 일으키고 과피의 착색이 잘 되지 않아 푸른색을 띠고 있다(그림 8). ADFVd에 의한 사과 과실의 과피 증상은 ASSVd의 감염 증상인 얼룩무늬 증상과 현저히 다르기 때문에 구분이 가능하다.



그림 8. 사과 ADFVd 바이로이드에 감염된 후지 품종의 증상 (Yazarlou 등, 2012).

사과 바이로이드(ASSVd)는 종자에 의하여 전염하는 것은 일반적으로 부정적인 견해가 많다(Koganezawa 1989, Desvignes 등 1999). 그러나 후지 품종을 대상으로 실험한 결과 종자전염이 확인되었다. 종자전염은 일차전염원으로 중요한 역할을 하며, 접목에 의하여 2차 전염을 한다. 유전자 진단에 의한 사과 종자 부위별 사과 바이로이드 감염은 종피, 배, 배유 모두 감염되었으며, 특히 종자의 배유는 100% 감염되어 있어 종자전염의 주요 원인이 된다(표 2).

감염 종자로부터 얻은 실생묘의 사과 바이로이드 감염률, 즉 종자 전염률은 90 개체를 검정한 결과 7.7%로 매우 낮았다. 실생묘의 낮은 종자 전염률은 그렇게 중요해 보이지 않지만 사과나무의 재배 특성상 접목을 하고 전정을 하며 다년간 재배를 하므로 낮은 실생 전염률이 미치는 영향을 매우 크다. 따라서 한 농가 포장에 한 개나 두 개의 감염주만 있어도 전체 과원의 모든 나무에 쉽게 전염이 될 수 있다는 것을 유념하여야 한다.

표 2. 사과 바이로이드(ASSVd)의 사과 종자 부위별 감염과 종자 전염

구분		검정 개체수 ^a	검출률(%)	비고
종자	외종피+내종피	5	80	종자 부위별 감염
	배	5	60	
	배유	2	100	
감염 종자의 실생묘		90	7.7	종자전염

^a RT-PCR 진단, 후지 품종

사과 바이로이드의 종자 감염에 관여하는 주요 기작을 알아보기 위하여 화분과 암술의 건전과 감염을 구분하여 인공 수분한 결과를 보면, 일반적으로 사과 바이로이드는 화분(꽃가루)에 의하여 전염이 되는 것으로 알려져 있으나, 감염주 암술에 건전주 화분을 수분할 때 사과 바이로이드에 감염되는 반면에 건전주 암술에 감염주 화분을 수분할 때에는 감염이 되지 않았다(표 3). 사과 바이로이드는 종자전염 기작에서 감염 식물의 배와 배유의 감염이 주요 원인이고 화분에 의한 전염은 거의 일어나지 않는다는 것을 의미 한다.

표 3. 사과 바이로이드의 화분 전염 여부

처리	조사 과실수 ^a	감염률(%)
감염주 화분 + 건전주 암술	15	0
건전부 화분 + 감염주 암술	9	100

^a RT-PCR 진단.

사과 바이로이드(ASSVD)의 전염양식에 있어서 급속확산에 중요한 전정가위에 의한 전염 가능성을 확인하였다(표 4). 사과나무의 재배에서 겨울철 나무의 휴면기간에 하는 동계전정은 필수적인 농작업이다. 사과 바이로이드 감염 가지를 인산완충액에 마쇄하여 즙액

을 만든 다음 전정가위를 담겨서 바이로이드에 오염시킨 다음 성목 5년생 후지 품종의 휴면 가지를 전정하였다. 그 결과 동계기간 중 휴면상태의 나무 가지(경지) 임에도 전정가위 접촉 후 4달 후에는 감염주가 확인되었으며 6개월 후에는 3주가 감염되어 오염된 전정가위에 의한 사과 바이로이드 전염률은 60% 이었다. 또한 봄에 추광 품종을 대상으로 하여 경지 전정을 한 결과 전정가위 접촉 후 2달이 되면 감염이 일어나기 시작하였으며 전염률은 70% 이었다. 겨울철 2월에 오염된 전정가위로 접촉할 경우 봄철 5월에 접촉한 것 보다 낮은 온도로 인하여 감염이 늦게 일어나는 것을 알 수 있으며, 두 처리 모두 감염률이 높아 동계 기간 중 낮은 온도에도 불구하고 감염은 쉽게 일어난다는 것을 알 수 있다.

표 4. 사과나무 동계 전정 시 ASSVd에 오염된 전정가위에 의한 전염

구분	처리 ^a 주수	전정가위 접촉 후 일수별 검출 주수 ^b						전염률 (%)
		30	60	90	120	180	210	
성목 ^c	5	0	0	0	1	2	3	60.0
유묘 ^d	10	0	5	6	7	-	-	70.0

^a 바이로이드 감염 가지 인산완충액 마쇄 즙액에 전정가위 침지 후 사용.

^b 누적 검출 주수, NASBA-ECL 진단.

^c 성목 5년생 홍로/M9(노지), 휴면지 전정 접촉('04년 2월)

^d 유묘 추광, Stark's Earliest 접목묘/실생(온실), 경지 전정 접촉('04년 5월)

사과 바이로이드의 오염된 전정가위에 의한 전염은 겨울철 보다 봄철에 잘 되는 것을 확인하였기 때문에 사과나무 생육이 왕성한 7월에 바이로이드에 오염된 전정가위의 상처를 통한 전염양상과 소독효과 실험을 하였다(표 5).

성목은 오염된 전정가위로 5회 절단 상처를 받은 사과나무는 앞에서는 감염이 되지 않았으나 과실은 바이로이드에 감염되었으며 전염률은 40% 이었다. 유묘의 경우 가위접종 후 앞에서 20%의 감염률을 나타냈다. 성목과 유묘의 나무 경화에 의하여 바이로이드 감염과 이동에 영향이 있었을 것으로 생각된다. 한편 줄기 절단 접촉 후 2%의 차아염소산나트륨(NaOCl)으로 소독을 할 경우 성목, 유묘 모두 바이로이드가 전염되지 않았다.

사과 바이로이드에 오염된 전정가위에 의하여 매우 쉽게 전염이 가능한 것을 확인하였으며 동시에 전정을 할 때에 2%의 차아염소산나트륨을 사용하면 사과 바이로이드의 전염을 쉽게 방지할 수 있다. 이상의 결과를 종합하면 사과 바이로이드의 전염은 일차전염이

종자에 의한 전염이며, 이차적으로 전정에 의하여 감염주로부터 매우 빠르게 확산될 수 있는 전염이 오염된 전정가위에 의한 전염임을 알 수 있다.

표 5. 사과나무 하계 전정시 ASSVd에 오염된 전정가위에 의한 전염

구분	접종 방법 ^a	처리 주수	양성반응 주수 ^b		전염률 (%)
			잎	과실	
성목 ^c	줄기 절단(5회)	5	0	2	40.0
	줄기 절단(5회) + 2% NaOCl 소독	2	0	0	0.0
유묘 ^d	줄기 절단(5회)	10	2	-	20.0
	줄기 절단(5회) + 2% NaOCl 소독	7	0	-	0.0

^a 바이로이드 감염 가지 인산완충액 마쇄 즙액에 전정가위 침지 후 사용.

^b 누적 검출 주수, NASBA-ECL 진단. 전정가위 접종 60일 후 진단.

^c 성목 5년생 홍로, 감홍/M9(노지), 휴면지 전정 접종('04년 7월 2)

^d 유묘 추광, Stark's Earliest 접목묘/실생(온실), 경지 전정 접종('04년 7월 2).

라. 진단방법

사과 바이로이드의 실용적인 진단방법은 지표식물을 접목하여 증상 발현 여부를 보고 진단하는 생물검정과 바이로이드 유전자의 특이 염기서열을 진단하는 유전자 진단으로 크게 구분할 수 있다. 생물 검정은 일반적으로 누구나 쉽게 진단할 수 있는 기술인 반면에 유전자 진단은 실험실에서 숙련된 전문가가 진단할 수 있는 기술이다.

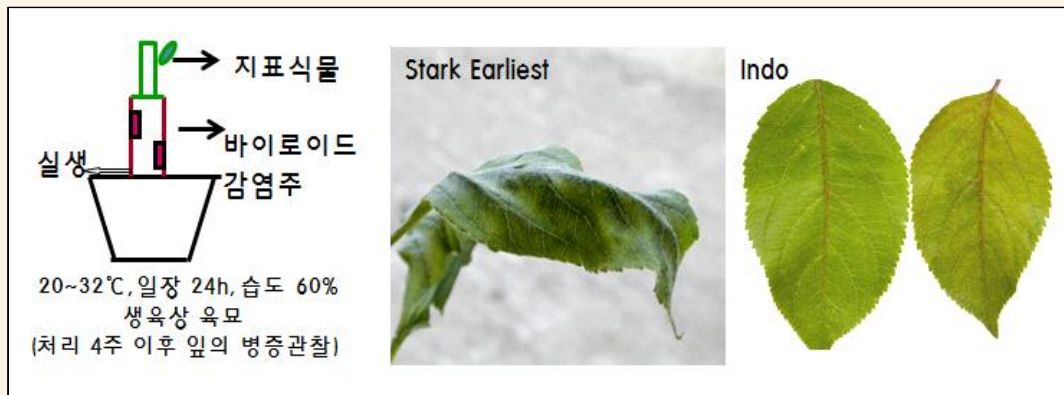


그림 9. 사과 바이로이드 생물검정을 위한 접목 방법과 지표식물의 증상

지표식물의 종류는 스타크얼리스트(Stark Earliest)와 인도(Indo) 품종을 이용하며, 접목은 바이로이드 감염주를 대목으로 하고 여기에 접수인 지표식물을 접목한다. 접목 후 약 4주 후면 증상을 관찰할 수 있다(그림 9). 지표식물의 바이로이드 감염 증상은 Stark Earliest의 경우 모자이크 증상과 함께 잎이 뒤틀리는 기형 증상이 나타나 쉽게 증상을 알 수 있다. Indo의 증상은 약한 모자이크 증상이 나타나 초보자는 쉽게 증상을 알기 어렵다.

사과 바이로이드의 유전자 진단기술은 사과 건전묘 생산을 위한 기본적인 중요한 진단기술이다. 사과 바이로이드 진단은 나무의 생육이 왕성해 지는 봄철에서 이른 여름에 진단하는 것이 일반적인 유전자 진단(RT-PCR)의 효율성으로 볼 때 과실 검정에 중요하지만, 묘목 생산을 위해서는 동계 기간 중에 검정하고 이듬해에 건전묘를 증식하는 것이 건전묘목 생산에 경제적이며 중요한 기술이다.

표 6. 사과 바이로이드(ASSVd) 유전자 진단을 위한 프라이머의 특이 염기서열

프라이머	염기수	특이 염기서열(5'~3')	산물(bp)	비고 ^a
ASSVd-A3	19	CCC GGT AAA CAC CGT GCG G	335	(1)
ASSVd-A4	20	ACC GGG AAA CAC CTA TTG TG		

^a (1) Lee 등 2010. 증폭: 42°C, 30분 → 94°C, 10분 → [95°C, 30초 → 55°C, 1분 → 72°C, 1분 30초] 35회, 72°C, 5분

사과 바이로이드 유전자 진단에 사용하는 특이 프라이머의 몇 종류는 세계적으로 많이 개발되어 있다, 여기서는 우리나라 원예특작과학원에서 사과 바이로이드 진단을 위해서 개발하여 그동안 사용하여 온 특이 프라이머를 소개 한다(표6).

바이로이드 유전자 진단기술은 많은 종류가 알려져 있지만 과수 묘목 생산을 중점으로 개발한 ASSVd-NASBA(nucleic acid sequence-based amplification) 진단기술은 진단 효율이 높다. 사과 바이로이드 진단을 위해서 프라이머는 3종류를 작성하며 염기서열과 프라이머 구성은 다음과 같다(그림 10, 표 7).

일반적인 유전자 진단기술인 ASSVd-RT-PCR과 ASSVd-NASBA-ECL 진단과의 진단효율을 비교하여 보면 RT-PCR 진단기술로는 그동안 검출이 잘 되지 않았던 나무의 수피(bark)에서 가장 검출량이 많은 것을 알 수 있다(Kim 등 2004). 따라서 RT-PCR 진단기술로 검출이 되지 않은 것은 바이로이드의 양이 적어서서 아니라 진단기술의 특성이 다르기 때문임을 알 수 있다. 진단조건은 프라이머 농도 0.4 μ M, Molecular beacon 농도 0.1 μ M, Template 핵산 5 μ l, KCl 농도 70 mM, ITP 첨가 2.0 mM 이다.

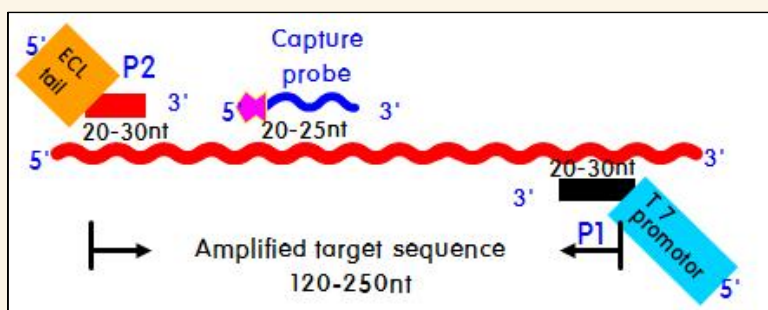


그림 10. 사과 바이로이드 유전자 진단 프라이머 구성 (NASBA-ECL).

표 7. 사과 바이로이드 유전자 진단용 특이 프라이머 염기서열 (NASBA-ECL)

프라이머	특이 염기서열(5'~3')
ASSVd-T7 (P1)	AAT TCT AAT ACG ACT CAC TAT AGG GCG GGA AAC TGG GTC TTG TCA GA
ASSVd-ECL (P2)	ATG AGT TTG GAA GAC GTG CTT CA
ASSVd-MB (Capture probe)	FAM- CAGCGT-CTT TAC CTT CTT CTC TGC AA-ACGCTG-DABSYL

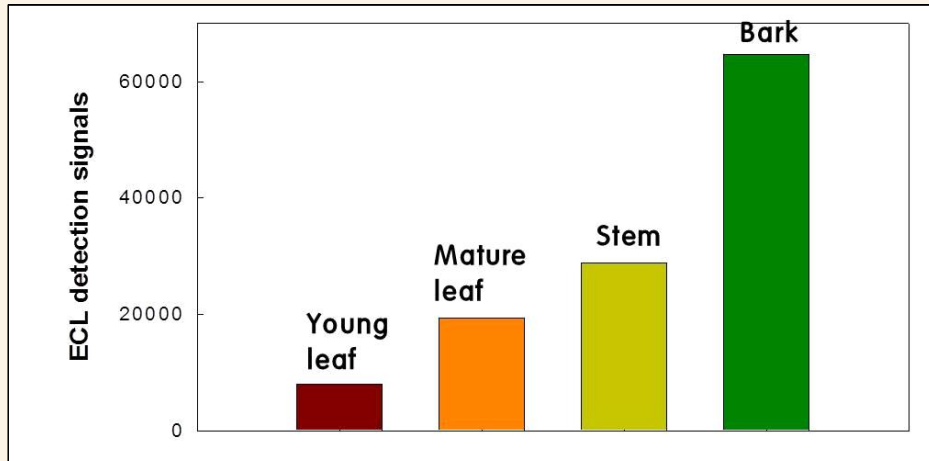


그림 11. 사과 나무 부위별 사과 바이로이드 진단 (ASSVd-NASBA-ECL).

사과나무의 사과 바이로이드 분포는 수피에 가장 많고 줄기, 성엽, 유엽 순으로 적어지는 것을 알 수 있으며(그림 11), 이 결과는 그동안 과수를 포함한 수목 바이러스의 유전자 진단에서 노엽보다 어린잎에서 검정이 잘 되며, 경지 보다는 숙지에서 진단이 잘 된다는 일반적인 견해와는 다르다는 것을 알 수 있으며, 특히 수피에서도 바이로이드 병원체의 농도가 높고 유전자 진단이 잘 된다는 새로운 사실을 밝힌 중요한 의미를 갖는다.

진단기술	희석된 핵산의 검출						
	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶
NASBA-ECL	87817 (+)	75414 (+)	25547 (+)	1217 (+)	601 (+)	1 (-)	1 (-)
RT-PCR							

그림 12. 사과나무 수피의 바이로이드 검출 비교

앞서 언급한 바와 같이 사과나무의 수피 진단기술은 동계기간 중에 잎을 검정할 수 없기 때문에 휴면 기간의 묘목을 검정할 수 있는 유일한 진단기술이며, 동계기간 중에 검정을 함으로써 묘목 생산을 위한 진단의 노동력을 분산할 수 있고, 진단한 건전 묘목을 이듬해 포장에서 증식이 용이해지므로 매우 실용적이며 유용한 진단기술이다. 수피에서 전체 핵산을 추출하고 이를 희석하면서 RT-PCR과 NASBA-ECL과 검출 한계를 비교하여 보면,

NASBA-ECL 유전자 진단기술이 100배 이상 진단 효율이 좋은 것을 알 수 있다(그림 12).

사과 바이로이드 진단 시료 준비는 4~6월에는 발아 신초, 경지 수피, 꽃 잎을 혼합 채취를 하고, 7~9월에는 신초 선단부의 유엽, 성엽, 엽병, 과실의 과피를 혼합하여 채취하며, 12월~2월 동계기간 중에는 줄기 수피를 채취하며, 한 나무당 3 부위에서 채취하면 진단의 신뢰성이 높다. 또한 사과에 발생하는 ASSVd와 매우 유사한 ADFVd(*Apple dimple fruit viroid*)는 우리나라에서 아직까지 발생하지 않지만 이 두 종의 바이로이드는 항상 함께 검정하는 것이 좋다. ADFVd의 유전자 진단을 위한 특이 염기서열 정보를 소개한다(He 등 2010). ADFV288M (5'-GTT TTA CCC TGG GAG CTC CA-3'), ADFV289P (5'-ACA ATC GGT GTT TTC CCC GG-3')이며, 증폭산물의 크기는 300bp 이다.

마. 안전 재배방법

모든 병해충에 대하여 안전한 재배방법은 건전한 종자와 식물체를 농가가 이용하는 것이다. 또한 병해충의 전염원이 유입되는 것은 방지하는 것이 중요하다. 사과 바이러스 및 바이로이드 병원체는 매개충에 의하여 전염하지 않기 때문에 살충제 살포로 병 발생을 간접적으로도 억제할 수 없으며, 더구나 농약에 의하여 바이러스와 바이로이드를 불활성화시키는 직접적인 방제도 가능하지 않다.

사과 바이로이드(ASSVd)는 우리나라에서 2001년 처음 발생하였을 때 상황을 상기해 보면, 우선 농업인이 건전한 나무를 확인하지 않고 감염된 사과나무를 불법으로 1998년에 일본에서 국내로 들여와 본인의 과원에 접목을 함으로서 사과 바이로이드에 청정지역인 우리나라에서 처음 발생 되었다는 것이다.

사과 바이로이드가 처음 발생함에 따라서 국가에서 감염주를 폐기하는 긴급방제를 3년 동안 수행하였으나, 국가 긴급방제 역시 예산과 제도적 장치의 미흡으로 지속적으로 추진하지 못하여 현재에는 우리나라 전역에 사과 바이로이드가 확산되었다. 따라서 사과 바이로이드에 대한 안전재배는 더 이상 전염이 확산되지 않도록 농업인 스스로 증상을 나타내는 사과나무는 신속히 제거하여야 하며, 감염주를 제거한 농가는 감염주 제거에 안심하지 말고 동계 전정 기간 중에 전정가위에 의하여 전염되지 않도록 기구를 소독하면서 농작업을 하여야 하는 것을 소홀히 하지 말아야 할 것이다. 대부분 농업인들에게 이와 같은 바이러스와 바이로이드병에 대한 안전재배 방법을 주문하면 그렇게 번잡하며 귀찮은 농작업을 어떻게 하느냐고 반문한다. 그러나 바이로이드 병이 발생하면 과실의 상품성이 매우 낮아져 수년 동안 노력과 경비를 들여가며 농사를 지은 것이 허사가 되는데, 농업인이 과원을 어떻게 관리하여야 하는지는 자명하다.

외국에서 사과 바이로이드(ASSVd)에 대하여 저항성 검정에 관한 많은 보고가 있으며 골든델리셔스, 스무드, 조나골드, 핑크레이드 등 저항성인 품종들로 알려져 있다(Devignes 등 1999). 그러나 외국 문헌과 주위의 과수 농가의 말만 듣고서 저항성 품종이라고 하여 외국에서 무분별하게 들여와 재배하면 실패하기 쉽다. 그 이유는 우리나라 사과에 발생하는 바이로이드 병원체는 우리나라의 사과 품종과 지역, 주변 재배식물 등에 따라서 병원체가 분화하기 때문에 외국에서 검정에 사용한 병원체와 특성이 다르므로 당연히 저항성 정도가 달라진다는 것을 인식하여야 한다.

사과 바이로이드의 전염은 사과 재배 특성으로 볼 때에 실생묘를 농가에서 이용하지 않고 묘목을 구입하여 재배하므로 건전한 묘목을 구입하여 재배할 경우에는 문제가 되지 않는다. 특히 농가에서 주의할 점은 농가 개인이 출처가 불분명한 품종을 접목하여 증식을 할 경우에는 과원 전체에 바이로이드가 확산될 수 있음을 유의하여야 한다.

건전한 사과 묘목을 구입하여 재배하기 위해서는 사과 바이러스병의 안전재배에서 설명한 바와 같이 중앙과수묘목센터에서 반드시 구입하여 재배하여야 한다. 원예특작과학원에서는 사과 바이로이드에 대하여 여러 유전자원과 품종에 대하여 바이러스와 바이로이드에 대하여 열처리, 조직배양 등을 통하여 무감염주를 선발하는데, 건전 묘목 선발은 1990년대 후반부터 과수 바이러스와 바이로이드에 대하여 꾸준히 지속적으로 수행하고 있다(Lee 등 2013).

선발한 건전 묘목은 과실 특성 등 원예적 형질 조사를 거쳐서 최종적으로 중앙과수묘목센터에 기본식물로 분양하여 농가에서 활용할 수 있도록 하고 있다. 따라서 중앙과수묘목센터에서 구입하여 재배할 경우에는 사과 바이러스 및 바이로이드에 대하여 안전한 재배를 할 수 있으며, 바이로이드병이 발생할 경우 보급한 곳에서 피해보상을 할 책임이 있기 때문에 이 제도를 적극 활용하여야 한다.

참고문헌

- Anna Gora-Sochacka. 2005. Viriods: unusual small pathogenic RNAs. *Acta Biochimica Polonica* 51: 587-604.
- Arezou Yazarlou & Behrooz Jafarpour & Nuredin Habili and John W. Randles. 2012. First detection and molecular characterization of new Apple scar skin viroid variants from apple and pear in Iran. *Australasian Plant Dis. Notes*. 7:99-102.
- Desvignes, J.C., Grasseau, N., Boy R., Cornaggia, D., Aparicio, F., Di Serio, F., and Flores, R. 1999. Biological properties of apple scar skin viroid: Isolates, host range, different sensitivity of apple cultivars, elimination, and natural transmission. *Plant Dis.* 83:768-772.
- H. Koganezawa. 1989. Apple scar skin viroid. DPV No. 389.
- Hadidi A., Giunchedi L., Shamloul A.M., and Poggi-Pollini C. 1997. Occurrence of peach latent mosaic viroid in stone fruits and its transmission with contaminated blades. *Plant Disease* **81**: 154-158.
- He, Ying-Hong , Sayaka Isono, Yoko Kawaguchi-Ito, Akito Taneda, Ken-ichi Kondo, Akihiko Iijima, Kazuaki Tanaka, Teruo Sano. 2010.Characterization of a new Apple dimple fruit viroid variant that causes yellow dimple fruit formation in ‘Fuji’ apple trees. *J Gen Plant Pathol* (2010) 76:324-330
- Kaponi, M.S., Luigi, M., Barba, M, Sano, T., Kyriakopoulou. P.E. 2010. First report and molecular analysis of Apple scar skin viroid in sweet cherry. 21st International Conference on Virus and other Graft Transmissible Diseases of Fruit Crops. *Julius-Kun-Archiv*, 427:361-365.
- Kim, D.H., H.R..Kim, S. Heo, S.H. Kim, M. Kim, I.S. Shin, J.H. Kim, K.H. Cho and J.H. Hwang. 2010. Occurrence of Apple scar skin viroid and relative quantity analysis using Real-time RT-PCR. *Res. Plant Dis.* 16(3) : 247-253.
- Kim, H.R., S.H. Lee, J.S. Kim, M.S. Yiem, J.W. Park, C.K. Kim, J.D. Chung, Y.B. Shin. 2004. Detection of Apple scar skin viroid in apple trees by the isothermal nucleic acid amplification and electrochemiluminescence. *Acta Horticulturae* 657: 361-366.
- Lee, Gunsup, Jeong Hee Kim, Hyun Ran Kim, Il Sheob Shin, Kang Hee Cho, Se Hee Kim, Juhee Shin and Dae Hyun Kim. 2013. Production system of virus-free apple plants using heat treatment and shoot tip culture. *Res. Plant Dis.* 19(4) : 288-293.
- Lee, J. H., Park, J. K., Lee, D. H., Uhm, J. Y., Ghim, S. Y. and Lee, J. Y. 2001. Occurrence of Apple scar skin viroid-Koreanstrain (ASSVd-K) in apples cultivated in Korea. *Plant Pathol. J.* 17: 300-304.
- Shamloul1, A.M., X. Yang, L. Han, and A. Hadidi1. 2004. Characterization of a new varient of Apple scar skin viroid associated with pear fruit crinkle disease. *Journal of*

Plant Pathology (2004), 86 (3), 249-256.

Yuting Wang, Ying Zhao, Jinxin Niu. 2012. Molecular Identification and Sequence Analysis of the Apple scar skin viroid isolated from four kinds of fruit trees in Xinjiang Province, China. Molecular Pathogens 3: 12-18.