

예찰·방제 요령

2018. 03. 12.

“호두나무 갈색썩음병”

예찰 및 방제 요령



산 림 청

목 차

I. 호두나무 갈색썩음병 개요 1

II. 부위별 피해 증상 4

III. 예찰 및 시료채취 기준 6

IV. 방제 요령 8

V. 방제지에 대한 지원 11

VI. 행정 사항 12

붙임 1. 진단기관 현황 13

2. 진단요령 14

3. 진단비용 산출 근거 17

※ 참고자료(조사 결과) 19

“호두나무 갈색썩음병” 예찰 및 방제 요령

◆ 「식물방역법」에 따른 관리병해인 호두나무 갈색썩음병이 국내에서 최초로 발견되어 예찰(진단) 및 방제를 위한 기준으로 활용코자 함

I 호두나무 갈색썩음병 개요

□ “호두나무 갈색썩음병” 발생 상황

- (개념) 세균성 병해로 호두나무, 가래나무의 잎, 가지, 줄기, 열매 등에 발생

* 병원균 : *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*

- (병명) 호두나무 갈색썩음병(Walnut blight)

※ 병명은 가칭으로 향후 변경될 수 있음

- (병징) 잎과 열매에 갈색의 반점이 생기며, 가지는 검은색의 궤양 발생

- (전염 경로) 빗방울, 화분, 곤충

- (발생) '14년부터 중국산 호두묘목 격리지에서만 발생되다가 '16. 6월 “안동” 재배농가가 통관 후 식재한 묘목에서 첫 발생

- '14년부터 검역과정에서 검출된 수량은 557천본이며 '16년에 급증

* 검출건수(검역본부) : ('14) 2건, 14천본 → ('15) 12, 51 → ('16) 50, 492

- 조치사항 : 별도 통보 시까지 호두나무 이동제한

* “안동” 식재묘목 500주는 '14. 11월 중국에서 수입, '15. 10월 합격·식재



【 호두나무 잎, 열매에 발생한 병징 】

※ (검역구분) 식물방역법에 따른 “관리병해충('96년 지정)”

* 관리병해충 : 국내에 유입될 경우 소독·폐기 등의 조치를 하지 아니하면 식물에 해를 끼치는 정도가 크다고 인정하여 검역본부장이 고시한 병해충

□ 기주식물(방제 대상목) : 호두나무, 가래나무, 흑호두나무, 백호두나무

□ 생 태

- 본 세균은 눈(bud), 가지 및 잔가지의 껍질부위에서 월동
- 바람에 몰아치는 빗방울, 화분 및 곤충에 의하여 건전한 감수성 나무로 전파
- 전개되는 잎과 신초의 기공, 피목, 상처를 통하여 침입하며 때로는 꽃에 감염하여 개화기 끝날 무렵에 열매로 침입하기도 함
- 새로 돌아나는 잎과 신초조직을 통하여 감염이 확산되어 감염부위에 줄무늬가 생기고 나중에는 가지 전체가 흑색으로 변하며 오그라듐
- 감염이 계속되면 가지와 잔가지가 고사하나 굵은 가지가 감염되면 병진전이 늦음

□ 분포지역

- 국외(39개국)

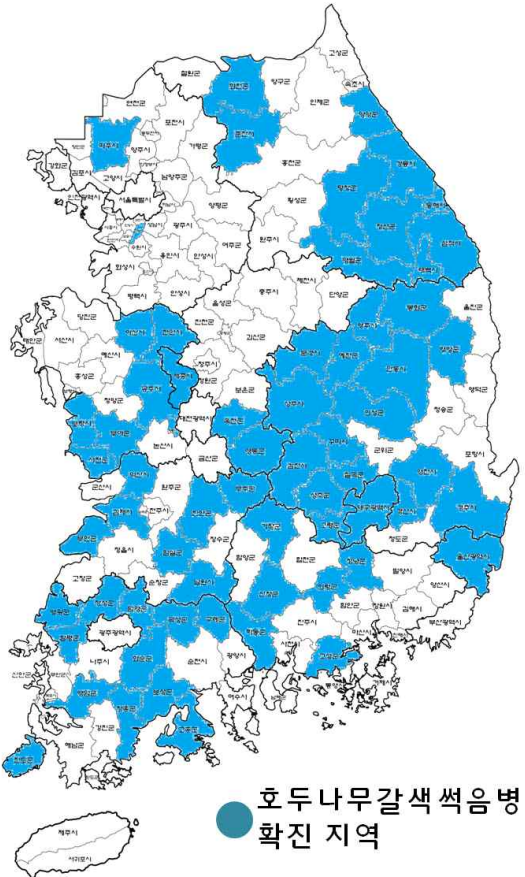


- * 레바논, 이라크, 이란, 중국(하북, 하남, 강소, 호서, 산둥), 그리스, 네덜란드, 덴마크, 루마니아, 불가리아, 독일, 스위스, 스페인, 영국, 오스트리아, 세르비아와 몬테네그로, 이탈리아, 포르투갈, 폴란드, 프랑스, 러시아연방, 우크라이나, 그루지야, 몰도바, 아제르바이잔, 슬로베니아, 남아프리카공화국, 짐바브웨, 멕시코, 미국, 캐나다(브리티시컬롬비아), 아르헨티나, 우루과이, 칠레, 뉴질랜드, 호주, 인도(히마찰프라데시, 우타르프라데시), 우즈베키스탄, 버뮤다, 구소련

- 전국 재배중인 163만본(3,069ha) 중 6,712본을 표본 조사한 결과,
 - 11개 시·도 66개 시·군·구에 감염목이 분포하는 것으로 확인
 - * 조사지 중 미감염지는 36개 시·군·구로 사전예방 방제가 필요한 실정
 - 조사 표본 중 499본이 확진되어 확진율은 7%에 해당
 - * 확진율 적용시 113,800본이 감염된 것으로 추정되나 총 감염본수를 확정키는 곤란
 - 원산지별로는 국내산 7%, 중국산 8%, 원산지 미상 등 기타 36%
 - 1~5년생이 50%로 제일 높으나 수령과 관계없이 감염된 것으로 판단
 - * 1~2년생 11%, 3~5년생 39%, 6~10년생 30%, 11~20년생 11%, 20초과 5% 등

【 확진 지역 현황 】

시·도	개소	시·군·구
11개		66개
대구	2	달성, 수성
울산	1	울주
세종	1	세종
경기	2	파주, 의왕
강원	10	강릉, 삼척, 영월, 화천, 양양, 평창, 춘천, 정선, 태백, 동해
충북	2	옥천, 영동
충남	7	계룡, 부여, 아산, 서천, 공주, 보령, 천안
전북	7	김제, 진안, 무주, 임실, 남원, 익산, 부안
전남	12	함평, 화순, 영광, 장성, 진도, 담양, 영암, 고흥, 보성, 구례, 장흥, 곡성
경북	16	안동, 영주, 영양, 김천, 칠곡, 상주, 의성, 문경, 경주, 예천, 봉화, 고령, 경산, 성주, 영천, 구미
경남	6	고성, 창녕, 거창, 산청, 의령, 하동



● 호두나무갈색썩음병
확진 지역

※ 국내 호두나무 재배 현황

- 면적 3,069ha(1,627천본), 생산량 1,155천kg, 생산액 190억원, 재배자 3,422명
- 주요 재배지(천kg) : 경북(581) > 충북(245) > 충남(149) > 전북(119) > 경남(40)
- 연간 호두 소비량은 1만2,000ton, 생산량 1,120ton(자급율 10%)
- * 면적·본수는 실조사치, 생산량·생산액은 '15년 임산물 생산조사 결과임

II 부위별 피해 증상

※ 유의사항

호두나무 갈색썩음병의 병징은 탄저병과 매우 유사하여 병징만으로는 구분이 쉽지 않으므로 검경을 통해 확진해야 하며, 탄저병은 병원균이 진균(곰팡이)으로 방제법도 세균에 의한 갈색썩음병과는 다른 약제를 살포하여야 함.

□ 잎/가지

- 수침상 점무늬, 흑갈색 반점, 잎맥을 따라 흑갈색 병징 발달
- 봄과 초여름에 걸쳐서 잎, 신초에 갈색내지 흑색의 병반 형성
- 잎의 반점이 합쳐져서 기형이 되고 죽은 조직이 떨어져 나가서 감염 잎은 누더기 모양이 됨
- 가지 끝이 흑갈색으로 말라 죽거나 흑갈색 궤양 발생
- 감염이 잔가지까지 확장되어 가지의 고사를 초래하고 궤양의 형태로 큰 가지까지 진전됨



【 잎의 다양한 피해 증상 】



【 잎의 피해 】



【 잎의 피해 】



【 가지의 피해 】

□ 열매

- 수침상 점무늬, 흑갈색 반점 발생
- 조기 감염된 열매는 성숙기까지 달려 있지 못하고 낙과
- * 생육후기에 감염되면 환경 등의 영향에 따라 병징의 정도가 상이함



【 열매의 다양한 피해 증상 】



【 열매의 피해 】

□ 줄기

- 황색의 세균점액 누출, 세로로 갈라지는 껍질 발생



【 줄기의 피해 】

III | 예찰 및 시료채취 기준

1 | 예찰(발생조사) 요령

※ “예찰”이란 산림병해충이 발생할 우려가 있거나 발생한 지역에 대하여 발생 여부, 발생정도, 피해 상황 등을 조사하거나 진단하는 것을 말함

□ 조사자 : 호두나무 재배자 또는 묘목 생산·판매자

□ 조사기간 : 5~9월

□ 대상지역 : 호두나무 재배지, 묘목 생산 및 판매지

□ 조사 방법

- 호두나무 재배지 및 생산·수입·유통지 등에 식재되어 있는 묘목 및 성목에 대하여 예찰조사 실행
- 호두나무의 병징을 보고 의심이 가는 나무의 피해부위에 대한 시료를 채취하여 진단기관에 진단 의뢰

※ 호두나무갈색썩음병 진단 기관(붙임1 참조)

- 각 시·도 산림환경연구소(공립나무병원), 수목진단센터
- 국립산림과학원, 소나무재선충병 모니터링센터

* 진단기관은 붙임2 “호두나무 갈색썩음병 진단요령”에 따라 진단

- 감염지 또는 감염 의심지를 출입할 경우에는 방진복, 방진덧신, 비닐장갑을 착용

* 방진복 착용이 어려운 경우에는 방진덧신, 비닐장갑은 필히 착용

- 착용한 장비 및 도구는 조사지를 이동하기 전 반듯이 소독을 실시
 - 손, 신발, 전정가위 등을 알코올(70%)이나 차아염소산나트륨(10%) 또는 락스 원액에 1분 이상 담가 충분히 소독 후 사용

- 가급적 방진복 등은 1회용을 사용하여 병균이 이동되지 않도록 조치

* 1회용 장비(방진복, 비닐장갑 등)는 수거 후 멸균처리 또는 소각(재사용 금지)

2

시료채취 요령

- ① (라벨표시 및 관리) 시료를 채취한 의심주는 라벨 표시를 하고 훼손 및 이동이 되지 않도록 관리

* (라벨 표시 방법) 노란색 천으로 일련번호를 다음과 같이 기재

안동 - A - 1 - 1
시군 또는 면 등 채취지역 위치기호 채취순서 일련번호

- 주) ① 위치기호는 면 또는 동·리 별로 구역을 설정하고 구역별 기호를 부여
② 채취순서는 위치 기호별로 이동하여 채취한 순서를 기재
③ 일련번호는 동일 개소에서 채취한 경우 일련번호 부여

- ② (소독) 시료 채취시 마다 손, 신발, 전정가위 등을 70% 알코올로 충분히 소독
- ③ (시료채취) 잎, 가지, 열매는 전정가위를 이용해 채취하고, 줄기의 껍질은 커터칼, 전정가위 등을 이용해 채취
- ④ 시료가 마르거나 고사가 진행된 경우 세균분리가 어려우므로 병징이 새로 시작된 신선한 부위를 채취하고, 채취한 시료는 비닐주머니(비닐팩)에 각 각 보관하고, 직사광선, 고온 등에 노출되지 않도록 즉시 냉장보관
- ⑤ 채취한 시료는 시료명칭, 시료 일련번호, 채취장소 등을 비닐주머니에 기록하여 3일 이내에 지역 산림환경연구소 등 진단기관에 진단요청
- * 시료의 일련번호는 의심주에 표시한 라벨과 같은 형식으로 표기

※ 시료 표시

◆ 시료 명칭 : 호두나무 갈색썩음병(일련번호 : 안동-A-1-1)

◆ 채취 현황

○ 채취장소 :

○ 채취일자 :

◆ 시료 현황

○ 소유자(관리자) :

○ 품종/원산지/수령 :

○ 재배/시료채취 본수 :

※ 소유자(관리자) 연락처 :

- ◆ (방제의 기본 원칙) 호두나무 갈색썩음병은 「식물방역법」에 따른 “관리병해충(’96년 지정)”으로 완전방제를 위해서는 일정 구역(배 화상병의 경우 반경 100m 이내)의 감염목과 기주식물을 완전히 제거 후 소각·매몰하거나 부득이한 경우 감염목만이라도 제거 후 소각·매몰하여야 함
- ◆ (방제요령 적용) 농가의 방제여건 등을 감안하여 완전방제가 어려울 경우 다음 사항에 유의하여 적용할 것

※ 세균병 방제의 일반적인 사항

- 세균병은 치료가 어려운 병해로 예방 위주의 약제 살포가 중요
- 세균은 생장 조건이 알맞을 경우 매우 빠르게 증식하며, 특히 수분이 많은 조건에서 증식이 빠르는데 이는 농약살포 등 다른 방제법을 실시하기 어렵거나 효과가 떨어지는 조건과 일치함
- 개발 등록된 살세균제의 종류는 매우 제한적
- 효과적인 세균병 방제를 위해서는 저항성 품종 재배, 화학적 방제, 생물적 방제 등을 종합적으로 고려하여 적용하여야 함
- 병 발생지역 및 발생 인근지역에 대한 약제방제 실시로 병 확산을 방지하는 것을 목적으로 함

□ 방제 대상 지역

- 집중방제 지역 : 전년도 병 발생 시·군·구 및 연접 시·군·구
- 방제관심 지역 : 집중방제 지역을 제외한 미 발생 시·군·구

□ 방제 방법 : 약제 살포

※ 약제별 사용 기준

처리 약제	희석 배수	눈트리 전	눈트리 시작한 후	비고
보르도혼합액 입상수화제	500	○		
코퍼옥시클로라이드 ·가스가마이신 수화제	1,000	○		
코퍼하이드록사이드 수화제	500	○		
스트렙토마이신 수화제	1,000		○	
가스가마이신 입상수화제	1,000		○	

* 1가지 약제를 연용하면 병원균의 저항성이 증가하여 약효가 떨어질 수 있으므로 해당 약제를 교대로 사용하는 것이 좋음

□ 살포 시기별 사용약제

※ 방제 약제는 외국의 방제 사례를 인용한 것으로 국내에는 호두나무갈색썩음병 방제를 위해 등록된 약제는 없음

※ 국립산림과학원에서 '17년 농약직권시험을 통해 약제 선발 예정

【 눈(定芽)트리 전(3월~4월) 】

○ 7~10일 간격으로 1~3회 약제 살포

- 전년에 병이 발생되었던 시·군·구 : 2~3회 방제

- 전년에 병이 발생되었던 연접 시·군·구 : 1~2회 방제

○ 사용약제

- 보르도혼합액 입상수화제 500배액, 코퍼옥시클로라이드·가스가마이신 수화제 1,000배액, 코퍼하이드록사이드 수화제 500배액

* 구리(Cu)가 함유되어 있는 약제는 나무 생육기에 처리시 약해 우려가 있으므로 눈트리 전까지는 구리가 함유되어 있는 약제를 선택하여 살포

【 눈(定芽)트기 시작한 후(4월~8월) 】

- 7~10일 간격으로 3~5회 약제 살포
 - 전년에 병이 발생되었던 시·군·구 : 4~5회 방제
 - 전년에 병이 발생되었던 인접 시·군·구 : 3~4회 방제
- 사용약제
 - 구리가 함유되어 있지 않은 스트렙토마이신 수화제 1,000배액과 가스가마이신 입상수화제 1,000배액을 교대로 살포

□ 약제방제 유의사항 및 지도요령

- 감염지 또는 감염 의심지를 출입한 경우에는 가급적 감염되지 않은 청정지역 출입을 자제하되 출입이 불가피한 경우 경작자(소유자 또는 관리자)의 허가를 득하고 소독 후 출입
- 병 발생과원에서 사용한 전정도구는 ‘알코올(70%)이나 차아염소산나트륨(10%) 또는 락스 원액에 1분 이상 담가 충분히 소독 후 사용
- 전정 작업시 작업인부가 소지해 온 외부도구는 사용치 않도록 하고, 가급적 과원별 전용 도구를 사용
- 꽃이 일찍 피는 품종이 늦게 피는 품종보다 감수성이 높으며, 기주식물을 밀식하면 병 확산이 더 빠르므로, 적정 재식밀도가 되도록 식재 및 관리
- 습도가 높게 유지 되는 기간이 길수록 병 발생 확률이 높아지므로 비가 자주 오는 기간에 적절한 약제처리가 이루어질 수 있도록 유의

V**방제지에 대한 지원****□ 진단 비용 지원**

- 호두나무 재배자 또는 묘목 생산·판매자가 의심이 가는 나무의 피해부위에 대한 시료를 채취하여 진단을 의뢰할 경우 진단기관에서 무상으로 진단
 - 진단에 필요한 비용은 산림청에서 진단기관에 지원

※ 진단기관에 대한 예산 지원기준

- 시료 1점당 34,500원을 기준으로 시·도 산림환경연구소는 국비 50%(지방비 50%), 국립산림과학원·수목진단센터는 국비 100% 지원
- 시·도 산림환경연구소는 예산 소요액을 산림청에 요청
- 수목진단센터는 수목진단센터 운영 위탁비 범위 내에서 실행

□ 대체 조성 및 수종갱신 비용 지원

- 집중방제 지역에서 병해로 인해 일정구역의 호두나무를 전량 (피해목과 비병징목 모두) 폐기하고 다른 수종으로 변경하는 경우에는 경제림조성사업비에서 지원하여 피해를 복구토록 조치
 - “특용자원조림”을 통해 유실수종(감, 호두, 대추, 밤) 또는 특용수종(울나무, 헛개나무 등)을 식재하여 단기소득 창출 가능
 - * 특용자원조림은 경제림조성사업 면적의 10% 범위 내에서 추진하는 사업
 - 해당 시·군·구에 국고보조조림 지원 신청, 시·군·구는 경제림조성사업 면적 및 예산 등을 감안하여 지원

【 경제림조성사업 지원 조건 】

- '18년 단가 : 5,325천원/ha, 보조율(%) : 국고 60, 지방비 30, 자부담 10
- ※ ① 경제림조성사업 : 목재생산조림, 바이오순환림조성, 특용자원조림, 유희토지조림
- ② 종묘사업실시요령 제14조 규정에 따라 묘목생산대행자가 생산한 묘목 이외의 묘목(특용수 등)을 구입하여 사용할 경우 「종자산업법」 제38조에 따라 품종의 생산 수입 판매 신고를 득한 사업자에게 구입한 묘목에 한해 지원

□ 단기소득임산물 산림소득 지원

- 방제대상 지역에서 병해가 발생한 농가에 대하여 경영기반 구축 및 소득증대를 위해 다양한 지원 사업 추진
 - 「임업 및 산촌진흥 촉진에 관한 법률 시행규칙」 제7조제1항의 규정에 따라 임산물 소득원의 지원 대상품목을 재배하고 있는 생산자 또는 생산자단체에 지원 가능
 - * 지원대상 임산물 : 밤·감 등 수실류, 표고·송이 등 버섯류, 더덕·고사리 등 산나물류, 산양삼·당귀 등 약초류, 오미자·구기자 등 약용류, 수액·나뭇잎 등 수목부산물류, 야생화 조경수 등 관상산림식물류 등
 - 지원 자격에 해당하는 경우 신청하면 심의를 거쳐 지원
 - * 비 공모(소액) 사업은 전년도 1월 20일까지 해당 시·군·구 산림부서에 신청
 - * 공모사업은 전년 8월에서 9월경에 공모하는 “산림소득사업 공모계획 (산림청 홈페이지 행정·정책-공모정보)”을 참고

【 산림소득분야 지원 조건 】

- (산림작물생산단지) 산나물 등 단기소득 임산물 생산에 필요한 기반시설 등 지원
 - * 보조율 : 40%(국비), 20%(지방비), 40%(자부담), 지원한도 : 1~10억원(총사업비)
- (산림복합경영단지) 목재생산 및 단기소득 임산물의 복합적 경영을 위한 기반시설 등 지원
 - * 보조율 : 40%(국비), 40%(지방비), 20%(자부담), 지원한도 : 1~5억원(총사업비)
- (소액사업) 임산물 생산·유통기반, 선별·가공·브랜드화 등 시설 지원
 - * 보조율 : 20%(국비), 20%(지방비), 20%(융자), 40%(자부담), 지원한도 : 0.5~1억원(총사업비)

□ 방제기술 교육

- 교육시기 : 3월
 - * '18년은 전 발생 시·군에 대하여 교육을 실시하되 '19년부터는 자율 추진
- 교육주체 : 시·도지사(산림환경연구소), 시장·군수
 - * 시·도에서는 시·군 담당자에 대한 방제기술 교육을 실시하고 필요시 시·도 산림환경연구소 등에서 일괄 교육으로 추진(필요시 국립산림과학원 지원)
- 교육대상 : 호두나무 재배농가 및 묘목생산·유통 업체
- 교육내용 : 진단요령, 방제 필요성, 약제 살포 방법 등

VI | 행정 사항

□ 진단 예산 지원요청(시·도 ⇒ 산림청)

- 요청기한 : '18. 3. 28일까지
- 요청기준
 - 시료 1점당 34,500원을 기준으로 시·도 산림환경연구소는 국비 50%(지방비 50%) 요청 * 진단비용 산출근거 참조
 - '18.12.31일까지 예상되는 진단소요비용을 산출하여 국비 요청

□ 발생상황 공유 및 정보공개

- 진단기관에서는 진단결과 신규로 발생한 경우 해당 시·도(시·군)와 연접 시·도(시·군)에 즉시 통보하고 홈페이지 등에 게시
 - 발생 시·군에서는 연접 시·군과 재배농가 등이 적기에 대처할 수 있도록 발생상황을 즉시 통보하고 홈페이지에 게시
 - * 발생 시·군에서는 현재까지 발생한 내역과 신규 발생상황을 홈페이지에 게시
- 공유(정보공개) 및 진단결과 통보 서식

확진 번호	시료 번호	발생지 (군·면·리·지번)	품종	원산지	수령	재배본수	확진본수

* 소유자 등 개인정보는 비공개하되 부득이한 경우 「개인정보 보호법」에 따라 처리

□ 발생상황 보고(시·도 ⇒ 산림청)

- 보고기한
 - 6월말 : 매년 6월말까지 발생상황을 7월 10일까지 보고
 - 12월말 : 매년 12월말까지 발생상황을 다음연도 1월 10일까지 보고
- 보고 서식

시·도	시·군	재배지 현황					확진 현황		비고
		면·리·지번	재배자	원산지	재배 면적	재배 본수	시료채취 본 수	확진 본 수	
경북									
	안동								

붙임 1

진단기관 현황

기 관 명	주 소	전 화 번 호/팩 스
국립산림과학원	서울시 동대문구 회기로57 국립산림과학원 산림병해충연구과	02)961-2677 (FAX)02-961-2670
경기도 산림환경연구소	경기도 오산시 청학로211 경기도 산림환경연구소 오산사무실	031)8008-6648 (FAX)031-374-2492
강원도 산림과학연구원	강원도 춘천시 화목원길24 강원도 산림과학연구원	033)248-6741 (FAX)02-248-6709
충청북도 산림환경연구원	충청북도 청주시 상당구 미원면 수목원길51 충북 산림환경연구소	043)220-6152 (FAX)043-220-6149
충청남도 산림환경연구소	세종특별자치시 금남면 산림박물관길110 충남 산림환경연구소	041)635-7361 (FAX)041-635-7359
전라북도 산림환경연구소	전라북도 진안군 덕현로45-54 전북 산림환경연구소	063)290-5442 (FAX)063-290-5512
전라남도 산림자원연구소	전라남도 나주시 산포면 다도로7 전남 산림자원연구소	061)336-6300 (FAX)061-336-6305
경상북도 산림환경연구원	경상북도 경주시 통일로367 경북 산림환경연구원	054)778-3850 (FAX)054-748-8681
경상남도 산림환경연구원	경상남도 진주시 이반성면 수목원로386 경남 산림환경연구원	055)254-3873 (FAX)055-254-3829
서울대학교 수목진단센터	서울특별시 관악구 관악로1 서울대학교 농업생명과학대학	02)880-4697 (FAX)02-880-4698
충남대학교 수목진단센터	대전광역시 유성구 대학로99 충남대학교 농업생명과학대학	042)821-7836 (FAX)042-861-7550
강원대학교 수목진단센터	강원도 춘천시 강원대학길1 강원대학교 산림환경과학대학	033)250-7225 (FAX)033-256-7226
충북대학교 수목진단센터	충청북도 청주시 흥덕구 성봉로410 첨단바이오연구센터 S20동 207호	043)261-2534 (FAX)043-271-4414
전북대학교 수목진단센터	전라북도 전주시 덕진구 백제대로567 전북대학교 농업생명과학대학	063)219-5238
순천대학교 수목진단센터	전라남도 순천시 중앙로255 순천대학교 생명산업과학대학 수목진단센터 (B4생명대2324호)	061)750-3865 (FAX)061-750-3208
경북대학교 수목진단센터	경상북도 상주시 경상대로2559 경북대학교 산림환경자원학과	054)530-1240 (FAX)054-530-1248
경상대학교 수목진단센터	경상남도 진주시 진주대로501 경상대학교 농업생명과학대학 425동 245호 산림보호학 연구실 수목진단센터	055)772-1838 (FAX)055-772-1839

□ **진단요령**

- ① 시료를 채취하여 표면소독 등을 거쳐 NA배지에 도말 배양(48시간)
- ② NA 배지에서 노란색 콜로니를 순수 분리(3콜로니 이상/1샘플)
- ③ 분리된 세균을 유전자 분석 기관에 의뢰(16S rDNA)
- ④ Xaj로 동정된 세균과 유전자 분석 결과를 토대로 확진
- ⑤ 진단소요 기간(9일)
 병원균 분리(2일) → 병원균 순수분리(2일) → PCR(1일) → 염기서열 분석(3일) → 결과판독(1일)

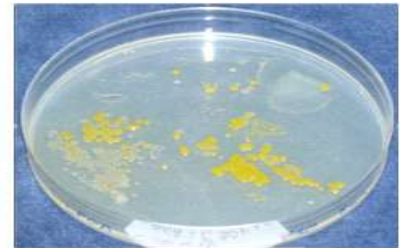
□ **진단 방법 (수목진단센터 협조)**

➤ **일반배지**

- NA(Nutrient Agar)

➤ **선택배지**

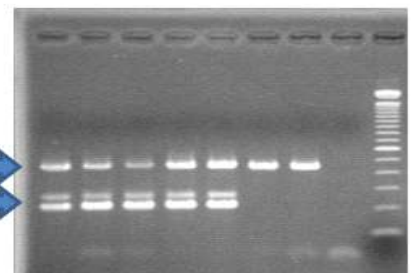
- YPGA(Yeast Peptone Glucose Agar)
- Cephalexin 30mg/L, Cycloheximid 100mg/L



➤ **PCR**

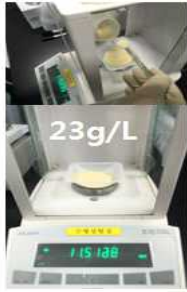
선발 프라이머		예상크기(bp)
Xaj-F	TACCTGCCCGAACAGTTCCT	481
Xaj-R	CGGAGTAGAACGTGCTCTTG	
Xaj-ne-F	GAAGAAGCAGGCTCTGATCG	181
Xaj-ne-R	GCAGCAGGGAATGGTAGTCA	

95°C 5min
 95°C 30sec, 60°C 30sec, 72°C 30sec (35 cycles)
 72°C 10min



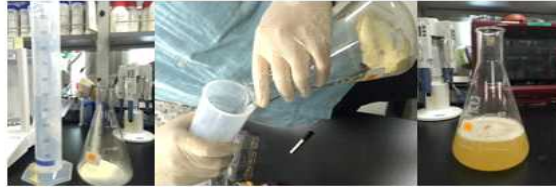
➤ **노란색 콜로니를 단일 분리하여 유전자 분석기관에 의뢰**

□ 세균배지(NA, nutrient agar) 제조방법



배지파우더 무게측정

플라스크 벽면에 묻어있는 파우더를 쓸어 내리듯이 넣음



삼각플라스크에 파우더 넣기

삼각 플라스크에 1차 증류수 넣기

121°C, 15분 세팅



호일로 감싸기

멸균 작업



1000ml 삼각플라스크에는 최대 500ml까지 만드는 것이 좋음



호일 뒷면에 배지 이름을 적어두는 것이 좋음



손으로 플라스크를 만져 보았을 때 따뜻할 때 까지 식힘

균이 많은 상태에서 이동을 하면 페트리디쉬 벽면에 묻을 가능성이 높음



멸균 후 배지를 충분히 식힌 다음 클린벤치에서 작업

빈 페트리디쉬에 적당량을 부어줌

균은배지들은 한쪽에 잘 쌓아둠



페트리디쉬의 4/5정도 부어주는 것이 적당함. 분주 후에는 골고루 퍼지도록 큰 원을 그리듯이 흔들어 줌

□ 세균 분리방법

병징 부위를 블레이드로 잘라줌



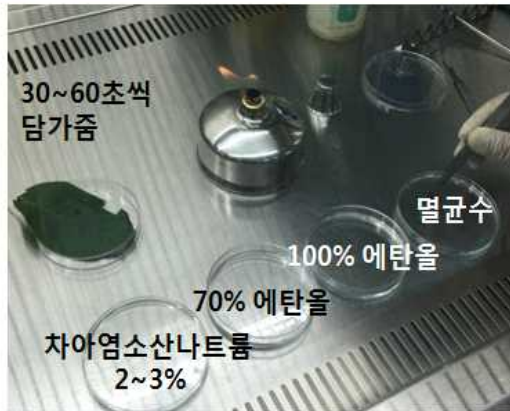
멸균수 1ml을 첨가한뒤 포셉 끝부분으로 파쇄



샘플채취

표면살균

파쇄



세균이 단일 콜로니를 형성 하도록 10배씩 희석함



희석액을 배지에 100ul 씩 분주하여 삼각로더를 이용하여 배지에 골로루 퍼줌
배양기 (25~30°C) 에 48시간 배양하여 콜로니 유무를 확인

희석

도말

순수분리



도말한 배지에서 콜로니 확인 후 콜로니 하나를 루프를 이용하여 새 NA배지에 3차 streak를 함
배양기 (25~30°C)에 48시간 배양하여 단일 형태의 콜로니를 형성 하는지 확인 후 순수분리된 세균을 얻음

붙임 3

진단비용 산출 근거

◆ 진단비용 : 34,500원/점당

○ 진단비용 산출내역

구분	구분	단가(원)	비고
① 병원균 분리·배양	소모성 재료비	10,000	진단 소모성 재료
	폐기물 처리비	3,500	폐기물 처리
	인건비	10,000	5점/1일/1인, 노임 48,240원 적용
② 유전자 진단	유전자 분석 의뢰비	11,000	
합계(①+②)		34,500	

※ 소모성 재료비 세부 산출내역(1점 기준)

품목	수량	단가(원)	금액(원)	비고
계			10,042	
NA 배지	13.8g	221	3,050	
페트리디쉬	24개	115	2,760	
마이크로 튜브	5개	18	90	
접종 루프	18개	14	252	
셀 스프레더	15개	82	1,230	
피펫 팁	16개	70	1,120	
라텍스 장갑	2개	90	180	
칼날	1개	559	559	
칼 손잡이	0.01개	15,070	151	
알코올	50ml	10	500	
필터페이퍼	3개	50	150	

참고자료

□ 조사지 현황(전수조사)

구분	단위	원산지			
		계	국내산	중국산	기타
계	m ²	30,693,823	29,202,542	1,391,983	99,298
	본	1,627,404	1,509,485	113,974	3,945
재배지	m ²	27,256,392	25,870,157	1,286,937	99,298
	본	682,622	636,403	42,274	3,945
묘목 생산지	m ²	3,418,351	3,313,785	104,566	0
	본	938,302	867,082	71,220	0
묘목 판매지	m ²	19,080	18,600	480	0
	본	6,480	6,000	480	0

※ 기타 : 이태리산, 원산지 미상

□ 시료채취 및 확진현황

구분	단위	조사							
		계		국내산		중국산		기타	
		채취	확진	채취	확진	채취	확진	채취	확진
계		6,712	499	6,346	455	313	25	53	19
재배지	본	4,975	408	4,629	365	293	24	53	19
묘목 생산지	본	1,736	91	1,716	90	20	1	0	0
묘목 판매지	본	1	0	1	0	0	0	0	0

□ 확진지역 현황

시·도별	채취 본수	확진 본수	확진 시·군	확진 시·군 세부내역
계	6,712	499	66	
대구	24	7	2	수성구, 달성군
울산	6	4	1	울주군
세종	14	1	1	세종시
경기	220	3	2	파주시, 의왕시
강원	322	63	10	춘천시, 강릉시, 동해시, 태백시, 삼척시, 영월군, 정선군, 화천군, 양양군, 평창군
충북	487	3	2	옥천군, 영동군
충남	1,005	25	7	천안시, 공주시, 보령시, 아산시, 계룡시, 부여군, 서천군
전북	604	87	7	익산시, 남원시, 김제시, 진안군, 무주군, 임실군, 부안군
전남	266	56	12	담양군, 곡성군, 구례군, 고흥군, 보성군, 화순군, 장흥군, 영암군, 함평군, 영광군, 장성군, 진도군
경북	3,705	234	16	경주시, 경산시, 김천시, 문경시, 안동시, 구미시, 영주시, 영천시, 상주시, 봉화군, 의성군, 영양군, 고령군, 성주군, 칠곡군, 예천군
경남	59	16	6	의령군, 창녕군, 고성군, 하동군, 산청군, 거창군

□ 확진목 수령 분포현황

구분	수령별(분)						
	계	1~2	3~5	6~10	11~20	20초과	미상
계	499	53	197	147	56	26	20
국내산	455	50	181	142	53	25	4
중국산	25	2	16	4	2		1
기 타	19	1		1	1	1	15