

발간등록번호

11-1543000-001864-01

IBT 기술을 활용한 과수 주요병해 조기 진단 최적화 기술개발 최종보고서

2017. 09. 11.

주관연구기관 / 경북대학교 산학협력단
협동연구기관 / 한국과수병해충예찰연구센터
(주) 오즈텍

농림축산식품부

제 출 문

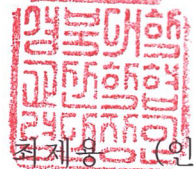
농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “IBT 기술을 활용한 과수 주요병해 조기 진단 최적화 기술개발”
(개발기간 : 2014.07.29 ~ 2017.07.28)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2017. 09. 11.

주관연구기관명 : 경북대학교 산학협력단

(단장)



1협동연구기관명 : 한국과수병해충예찰연구센터

(이사장)

장 일 (인)

2협동연구기관명 : (주) 오즈텍

(대표이사) 유해귀

(인)

홍봉구 (인)



주관연구책임자 : 정 희 영

1협동연구책임자 : 장 일

2협동참여기관책임자 : 홍 봉 구

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의
합니다.

보고서 요약서

과제고유번호	314031-4	해당단계 연구기간	3차년도	단계구분	(3)/(3)
연구사업명	단위사업	농식품기술개발사업			
	사업명	첨단생산기술개발사업			
연구과제명	대과제명	(해당 없음)			
	세부과제명	IBT 기술을 활용한 과수 주요병해 조기 진단 최적화 기술개발			
연구책임자	정희영	해당단계 참여 연구원 수	총: 30 명 내부: 30 명 외부: - 명	해당단계 연구개발비	정부: 300,000 천원 민간: 100,000 천원 계: 400,000 천원
		총연구기간 참여 연구원 수	총: 35 명 내부: 35 명 외부: 명	총연구개발비	정부: 900,000 천원 민간: 300,000 천원 계: 1,200,000 천원
연구기관명 및 소속부서명	경북대학교 농업생명과학대학			참여기업명 한국과수병해충예찰연구센터 (주) 오즈텍	
위탁연구	해당 없음.			연구책임자: 정희영	
요약				보고서 면수	
<ul style="list-style-type: none"> ○ 휴대용 SD-OCT를 이용한 사과 갈색무늬병, 배 검은별무늬병 및 감 둥근무늬낙엽병의 조기 진단법 및 LAMP법을 이용한 분자생물학적 진단법을 확립하였음. 개발된 진단방법은 육안 상 건전한 상태에서 잠복기에 있는 병원균을 진단할 수 있음. ○ 본 연구에서는 OCT 기기의 현장 적용성을 가장 중요한 개발 목표로 하여 광학 구조의 최소화, 외골격형 구조를 도입, 외부 케이스 등을 적용하여 이동에 적합하고 충격에 모든 광학계와 구조가 동시에 영향 받아 영상 분석에 문제가 없도록 설계함. 또한 광학계의 단순화, 고성능 프로세서의 소형화를 통해 복잡한 OCT 연산을 단순화시키고 광학 구조부와 데이터 처리부를 효과적으로 소형화 및 융합하여 back-pack에 탑재시키는데 성공하여 이동성을 극대화할 수 있는 기술을 확보하였음. ○ 축적된 데이터를 기반으로 하여, 자동화 검정 알고리즘을 개발하고 이를 개발된 휴대용 SD-OCT에 탑재하여, 검정을 수행하는 시료에 대한 감염여부를 즉시 판별할 수 있도록 하였음. 				373 page	

연구의 목적 및 내용	<p>1. 연구목적</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 및 배 검은별무늬병 조기 진단 기술 개발 및 현장 적용형 진단 시스템 구축 ○ 과수 조기진단 시스템이 구비된 휴대용 진단기 개발 ○ 사과 갈색무늬병과 배 검은별무늬병의 조기진단 장치의 활용 및 보급 매뉴얼 작성 <p>2. 연구내용</p> <p>가. 1차년도 주요 연구내용</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ OCT 시제품을 이용한 OCT를 이용한 사과 갈색무늬병, 배 검은별무늬병 및 감 둥근무늬낙엽병 조기 진단법 개발 및 적용 ○ 배검은별무늬병균 및 감둥근무늬낙엽병균의 유전체 분석을 통한 분자마커 탐색 ○ 국내 과수 재배지역에서 발생하는 주요 병해 조사 및 이병시료 확보 ○ 실시간 검출형 광단층 촬영 시스템 시제품 개발 <p>나. 2차년도 주요 연구내용</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 및 배 검은별무늬병 진단기술 확립 및 확대 적용 ○ 사과, 배 발생 주요병해 발생조사 및 과수병해 진단기술 농가 적용 ○ Full range k-domain 선형화 기법 개발 <p>다. 3차년도 주요 연구내용</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 휴대용 SD-OCT를 이용한 사과 갈색무늬병, 배 검은별무늬병 및 감 둥근무늬낙엽병 진단법 적용 ○ 감둥근무늬낙엽병균의 분자생물학적 진단법 확립 ○ 휴대용 SD-OCT를 이용한 사과 갈색무늬병, 배 검은별무늬병 및 감 둥근무늬낙엽병 진단 방법에 대한 매뉴얼 작성 ○ 휴대용 SD-OCT를 이용한 진단체계 농가 적용 및 홍보 ○ 과수병해 맞춤형 SD-OCT 기기의 소형화 및 3차원 광 단층 영상 실시간 출력 및 진단 최적화
연구개발성과	<p>1. 정량적 성과</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 당초 특허 출원, 특허 등록, 사업화 등 29건을 목표로 하였으나, 연구종료까지 특허출원 2건, 특허등록 2건, 기술이전 1건, 기술료 1건, 제품화 1건, 논문(SCI) 출판 10편, 논문(비SCI) 출판 3편, 학술발표 13건, 교육지도 2건, 인력양성 4건, 정책활용 1건, 홍보전시 5건을 수행하여 당초 설정한 목표를 상회하였음.

	<p>2. 정성적 성과</p> <p>가. 사과 갈색무늬병, 배 검은별무늬병 및 감 둥근무늬낙엽병의 LAMP 진단법 확립</p> <p>나. 현장에서 즉시 대상 병해의 진단이 가능하도록 경량화, 소형화 및 자동화 진단알고리즘이 탑재된 휴대용 SD-OCT의 개발</p> <p>다. 과수 병해 진단 및 비파괴 분석법에 대한 원천 기술 확보</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 공간섭단층촬영장치(OCT)를 이용한 과수병해를 진단법과 자동화 진단 알고리즘은 그 원천기술을 모두 본 연구팀에서 확보하고 있고, 또한 위와 같은 기술의 적용은 농업분야에서는 최초로 적용된 것이므로, 차후 해외 시장 개척이나 기술 이전 등의 추가적인 수익 창출이 가능할 것으로 사료됨. 				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ IBT 및 ICT 기반형 과수병해 조기진단 시스템 개발 및 원천기술 확보 ○ 우리나라 과수 유관기관(민·관 연구소, 농업기술원/센터, 과수작목반)에 기술 및 진단기 보급 ○ 유럽, 북미, 일본 등의 농산업 선진국에 기술이전 및 진단장치 수출 ○ 감귤류, 감, 양앵두, 포도 등 주요 과수병해에 기술적용, 신규 알고리즘 개발에 응용 ○ 선진형 조기진단 기술력으로 인한 국제적 인지도 향상 ○ 조기진단을 방제적기 선정, 살균제 살포 경감을 통한 농가 생산비 절감 ○ 사과/배 수출 경쟁력 확보를 통한 재배농가 소득 창출 				
<p>중심어 (5개 이내)</p>	<p>사과</p>	<p>배</p>	<p>갈색무늬병</p>	<p>검은별무늬병</p>	<p>진단장치</p>

< SUMMARY >

	코드번호	D-02
Purpose& Contents	<p>1. Research Goal</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ The development of OCT based early diagnosis technique implemented wearable diagnostic modality to detect apple blotch disease and pear scab disease. ○ Development of a wearable inspection device for the early inspection of leaf diseases. ○ The utilization of early inspection modality for apple blotch and pear scab disease and drafting the user manual. <p>2. Research content</p> <p>가. Major research contents of 1st year</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ The development and application of prototype OCT for the early diagnosis of apple blotch, pear scab, and persimmon circular leaf spot disease ○ Identification of molecular markers by genomic analysis for pear scab disease and persimmon circular leaf spot disease. ○ Investigation of major plant diseases occur in domestic plantations and collection of the infected specimens. ○ The development of real-time prototype optical coherence tomography system. <p>나. Major research contents of 2nd year</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ The application of the developed OCT system for the diagnosis of apple blotch disease and pear scab disease. ○ Investigation of major diseases caused in apples and pears, and application of the developed diagnosis technology in plantations ○ The development of full range k-domain linearization technique <p>다. Major research contents of 3rd year</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ The utilization of wearable SD-OCT system for the diagnosis of apple blotch, pear scab, and persimmon circular leaf spot disease ○ The establishment of molecular diagnosis of persimmon circular leaf spot disease ○ Drafting the user manual of wearable OCT system regarding the diagnosis procedure of apple blotch, pear scab, and persimmon circular leaf spot diseases ○ Application and promoting the diagnostic system among professional farmers ○ The miniaturization of fruit disease inspecting SD-OCT system, real-time three dimensional image acquisition, and diagnostic optimization. 	

Results	<p>1. Quantitative achievement</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ The initial expected goal was to obtain original patents, patent registrations, and 29 commercialization cases. However, by obtaining two patent applications, two patent registrations, single technology transfer, single product, 8 SCI publications, 5 non-SCI publications, 13 conference presentations, 2 education programs, 4 human resource training, 1 application policy, and 5 public relation applications, the initially expected target was exceeded. <p>2. Qualitative achievement</p> <p>가. Establishing the LAMP diagnosis technique for the detection of apple blotch, pear scab, and persimmon circular leaf spot diseases</p> <p>나. The development of miniaturized real-time field inspection capable disease inspection algorithm implemented wearable OCT system</p> <p>다. Diagnosis of the fruit diseases and technology acquisition of non-destructive analysis methods.</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ The main techniques including wearable OCT device, and the automated disease inspection algorithm was developed by this research group and has not been reported elsewhere. Therefore, the potential applicability of the developed system can be highlighted not only in local plantations but also in plantations located in overseas countries. 				
Expected Contribution	<ul style="list-style-type: none"> ○ IBT and ICT based plant disease early inspection system development and securing the technology ○ Technology exchange and diagnosing trees at local research institutes (○ Provide technology and the diagnostic device to advanced agricultural countries, such as Japan, europe, and north america. ○ Application of the developed system for various fruit specimens, such as citrus, persimmon, cherry and developing the corresponding algorithm. ○ The international recognition due to advanced diagnostic technology ○ Diagnosing the specimens as a monitoring process, and reducing the production cost by spraying the pesticides ○ The income can be increased by exporting apple, pear, and persimmon 				
Keywords	Apple	Pear	Blotch disease	Pear scab disease	Diagnosis technology

CONTENTS

Chapter1. Research general	1
Section1. Research necessary	1
Section2. Research scope	4
Chapter2. Development status of technologies at local and abroad	5
Section1. Analysis of patents in nationwide and foreign countries.....	5
Section2. Research field of plant pathological detection equipment in nationwide and foreign countries.....	7
Chapter3. Research contents and result	9
Section1. Promotion strategy	9
Section2. Research contents and result	14
Section3. Research achievement	358
Chapter4. Goal achievement and contribution to related fields	360
Section1. Goal achievement.....	360
Section2. Contribution of related field	365
Chapter5. Application plan of Research result	366
Chapter6. Foreign technology information obtained during research progress	367
Chapter7. Security level of research performance	368
Chapter8. Present equipments of research facilities	368
Chapter9. The result of safety perform at laboratory on during research progress	369
Chapter10. The typical point of research result on research progress	370
Chapter11. The other detail.....	371
Chapter12. Reference	371

목 차

제1장. 연구개발과제의 개요	1
제1절. 연구개발의 필요성	1
제2절. 연구개발의 범위	4
제2장. 국내외 기술개발 현황	5
제1절. 국·내외 특허 분석	5
제2절. 국·내외 식물병원성 병해 진단기 시장현황	7
제3장. 연구수행 내용 및 결과	9
제1절. 연구추진 전략	9
제2절. 연구개발 내용 및 결과	14
제3절. 연구개발의 성과	359
제4장. 목표달성도 및 관련분야 기여도	361
제1절. 목표 달성도	361
제2절. 관련분야 기여도	366
제5장. 연구결과의 활용계획	367
제6장. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보	368
제7장. 연구개발결과의 보안등급	369
제8장. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황	369
제9장. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적	369
제10장. 연구개발과제의 대표적 연구실적	370
제11장. 기타사항	371
제12장. 참고문헌	371

제 1 장 연구개발과제의 개요

코드번호	D-03
------	------

제 1 절 연구개발의 필요성

1. 연구배경

- 사과와 배는 감귤과 함께 우리나라 과수산업에서 가장 중요한 위치에 있음.
- 국내 사과나무 재배면적은 2013년도 기준으로 약 30,000 ha이며, 재배품종은 ‘후지’계통이 약 70% 이상을 차지하고, ‘홍로’, ‘양광’, ‘쓰가루’, ‘감홍’, ‘홍옥’ 등 다양한 품종이 재배되고 있음.
- 국내 배나무 재배면적은 약 13,000 ha이며, 주요 품종으로는 ‘신고’, ‘원황’, ‘황금’이지만, ‘신고’ 품종이 대부분을 차지하고 있음.

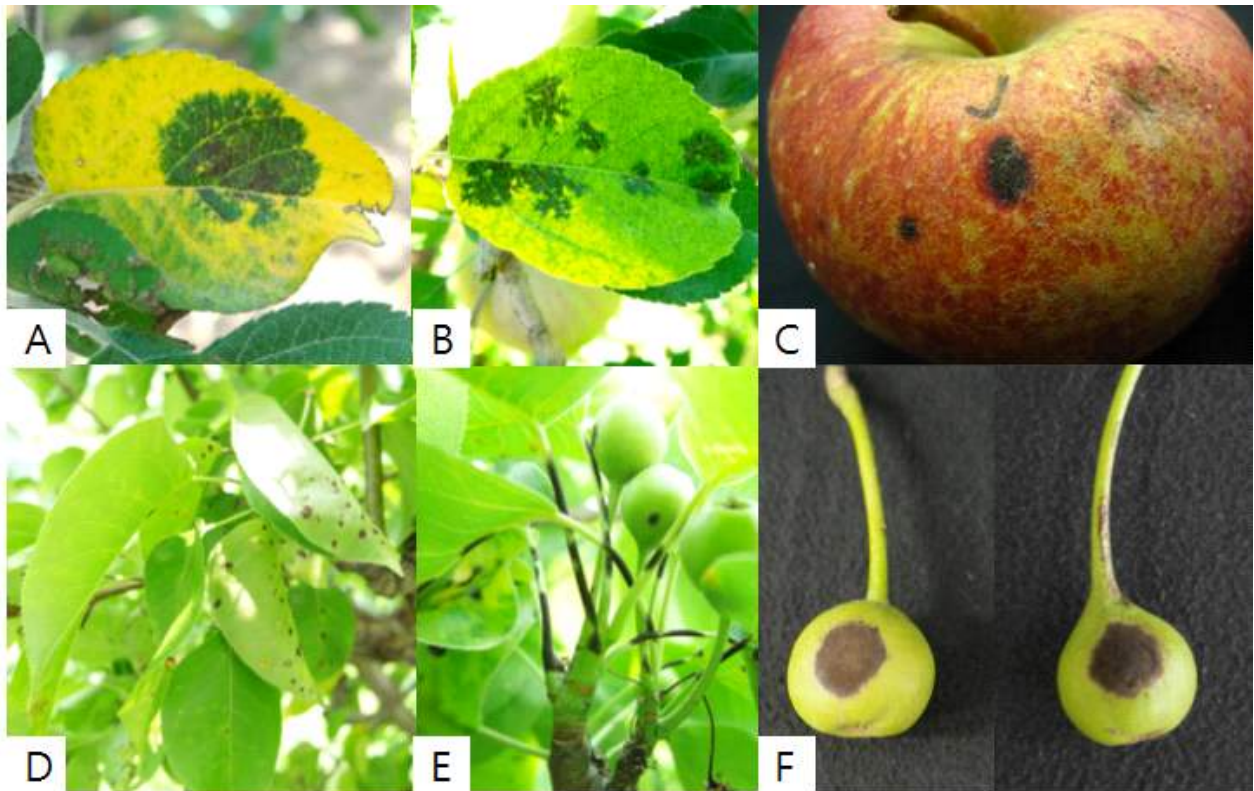


그림 1. 사과 갈색무늬병 및 배 검은별무늬병 감염 시료의 모습. A-B: 사과 갈색무늬병 이병잎, C: 사과 갈색무늬병 이병과실, D-E: 배 검은별무늬병 이병잎, F: 배 검은별무늬병 이병과실

- 사과나무의 주요 병해는 탄저병, 겹무늬썩음병, 갈색무늬병, 점무늬낙엽병이며, 대부분의 사과용 살균제 개발도 이들 병해에 초점을 맞추고 있음. 또한, 배나무의 경우에는 검은별무늬병, 붉은별무늬병, 검은무늬병 등이 농가에 경제적 피해를 끼치는 주요 관리 대상 질병임.
- 하지만, 상기 질병의 발생생태를 고려하면, 대부분의 병해(사과 점무늬낙엽병, 배 검은무늬병 등)는 병원균 감염이후 3-7일 이내에 병반을 형성하기 때문에 조기진단을 수행할 필요성이 없음.
- 사과 탄저병과 겹무늬썩음병과 같이 주로 과실에 발생하는 병은 감염 시기를 예측하기 어렵고, 감염 후 수일 내에 발병하거나 수확 후 저장 중에도 발병하기 때문에 조기진단이 무의

미함. 특히, 겹무늬썩음병은 수피에 병반이 형성된 경우도 상당수 있기 때문에, 육안진단으로 감염여부를 파악할 수 있음. 반면, 사과 갈색무늬병은 최근 3-4년간 농가에 심각한 피해를 초래하였고, 감염 후 약 2-6주간의 잠복기를 가지는 특성이 있어 감염여부 및 감염시기 파악이 방제시기 결정에 매우 중요함. 또한, 최근 4-5년간 갈색무늬병 유사증상의 출몰로 인해 살균제 오남용이 매우 심각하므로 정확한 질병 진단의 필요성이 매우 높음.

○ 배 붉은별무늬병의 경우는 EBI제에 살포로 인해, 실제 농가에서 드물게 발병함.

○ 현재 배나무에는 EBI제 살균제가 다량 등록되어 있어 붉은별무늬병 발생은 매우 희박하지만, 상대적으로 EBI제 저항성 검은별무늬병균이 전국적으로 만연하고 있음.

○ 따라서, 현재의 우리나라 과원에서는 사과 갈색무늬병과 배 검은별무늬병의 조기진단 기술이 가장 시급함.

○ 현재까지 사과 갈색무늬병과 배 검은별무늬병에 대한 ICT(IBT)기반 조기진단사례는 전 세계적으로 없음(본 연구팀 결과 제외). 대부분 육안진단이며, 유전자진단은 대부분 발병초기의 육안진단 및 생물학적 진단이 불가능할 경우에 검사하는 것이 대부분임.

○ 과수 질병의 조기진단은 살균제나 미생물제제와 같은 약제방제의 시기결정에 매우 중요함. 특히, 과수의 살균제 살포시기는 병원균의 최초 감염시기를 기준으로 설정하고, 최초 감염시기는 포자비산시기를 기준으로 설정하고 있는 것이 일반적이지만, 최근의 기후변화로 인해 포자 비산시기와 최초 감염시기가 일치하지 않는 경우가 매우 많이 발생하고 있음.

○ 따라서, 사과와 배의 작황에 막대한 영향을 미치는 병원균의 최초 감염시기 및 최초 발병시기를 확인할 수 있는 조기진단법 확립이 절실히 필요함.

2. 사과 및 배나무 질병의 진단사례와 연구의 필요성

○ 현재 사과/배 과원의 주요 질병의 진단방법은 전 세계적으로 육안검사법 이외에는 ELISA법, PCR법 등 유전자검사법이 주류를 이루고 있음. 하지만, 이 방법들은 검사 소요시간, 고가의 장비와 시약, 분석 전문인력 등을 필요로 하므로 현장 적용에는 제약이 있음. 또한, 진단을 위한 소요시간으로 인해 실시간 검사가 불가능함.

○ ICT(IBT)기반 조기진단사례는 전 세계적으로 없음. 단지, 고해상도 촬영 장치를 통한 발병 잎과 과실의 작물의 외관상 정보를 분석하여 질병 진단(VISION기술)이 가능하지만, 원거리에서의 육안진단에 불과하며 발병 전 조기진단과는 상이함.

○ 본 연구팀(경북대)은 등온증폭(Loop-mediated isothermal amplification, LAMP)법을 이용한 사과 갈색무늬병의 진단법을 개발한 바 있음.

○ LAMP법에 의한 사과갈색무늬병균 진단은 사과 잎을 전 처리한 후, LAMP 반응액과 혼합하고 60°C에서 45분간 반응하면 감염여부가 가능한 방법임(특허출원: 제 10-2014-0020712호).

○ LAMP법은 사용방법이 매우 간단하여 재배농가가 직접 진단할 수 있고, 60분 이내에 진단이 가능한 장점이 있지만 고가의 시약비용이 소요되며 농가가 키트를 직접 제작하는 것은 불가능한 단점이 있음.

○ 따라서, 재배 현장에서 바로 감염여부를 실시간으로 확인이 가능한 저가의 새로운 기술이 필요함.

3. 광학단층촬영장치를 이용한 식물병 진단사례 및 연구의 필요성

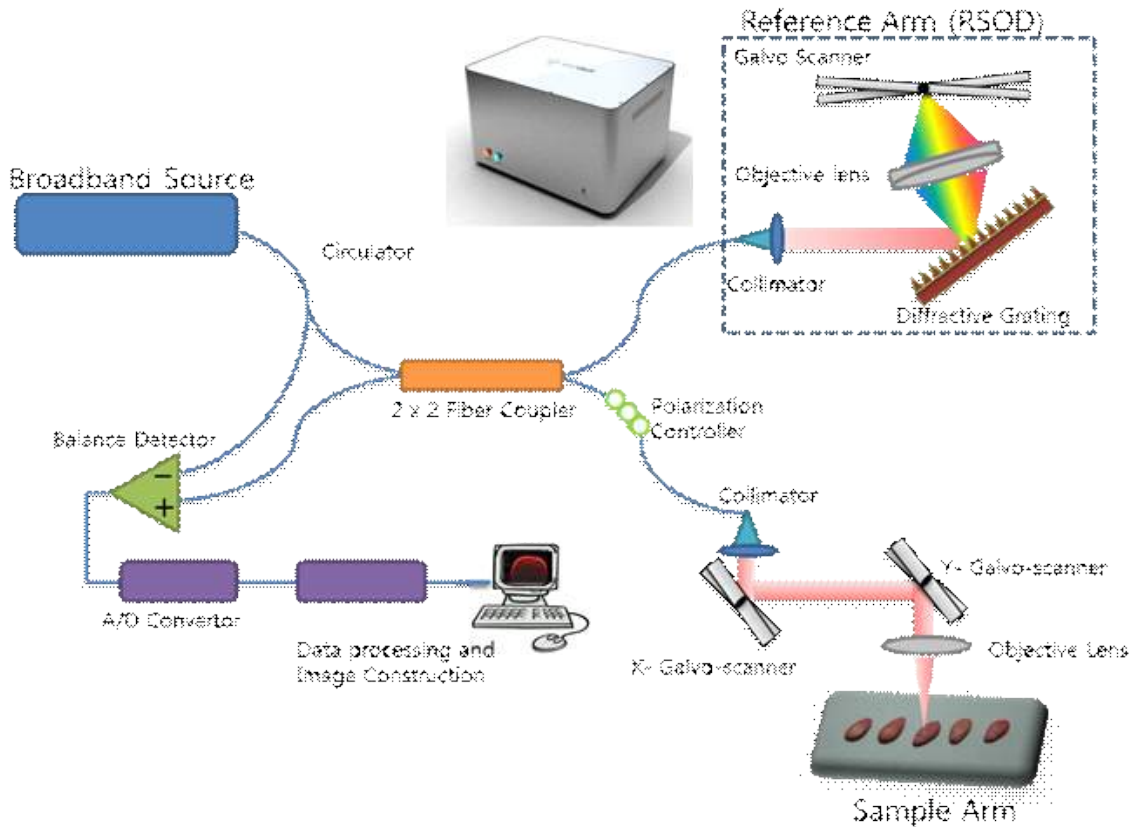


그림 2. TD-OCT 시스템의 구성도

- Optical coherence tomography (OCT)는 광학이미징의 장점과 IT 기술을 접목한 광단층 영상 기술의 차세대기술이며, 이미 인체 질병의 조기동정에 실용화됨.
- 현재 OCT는 안과, 이비인후과, 피부과, 소화기병학, 정형외과, 심장학, 기관지학 및 신경외과 등 다양한 의료 분야에서 활발히 연구가 진행되고 있음.
- OCT는 비침습/비접촉/비파괴적인 방법을 통해서 실시간으로 시료 내부의 구조를 관찰할 수 있고, CT나 X-Ray 기기와 달리 인체 유해성이 없음. MRI, CT, 초음파 등의 다른 의료영상기기에 비해 영상처리 속도가 월등히 빠름.
- 기존의 다른 단층촬영기기에 비해 적은 비용으로 제작 가능하며, 광섬유를 이용하여 작은 부피로 구현이 가능하여 이동성에서 큰 장점이 있음.
- 현재, OCT는 의료분야 이외에 LCD 비파괴 검사, 보석 감정, 지문인식 등 다양한 산업 분야에 응용되고 있음. 하지만, 식물을 대상으로 한 연구는 매우 미흡함.

4. 광학단층촬영장치를 이용한 사과 갈색무늬병 조기 진단 사례

- 본 연구팀(경북대)은 Time-domain OCT(TD-OCT)를 이용한 사과 갈색무늬병의 조기진단법(Lee et al., 2012, 국내 특허 제10-0982619호, 10-1011575호, 10-1033440호)과 참외/오이 종자의 CGMMV 감염 조기진단법(Lee et al., 2011; Lee et al., 2012)을 개발함.

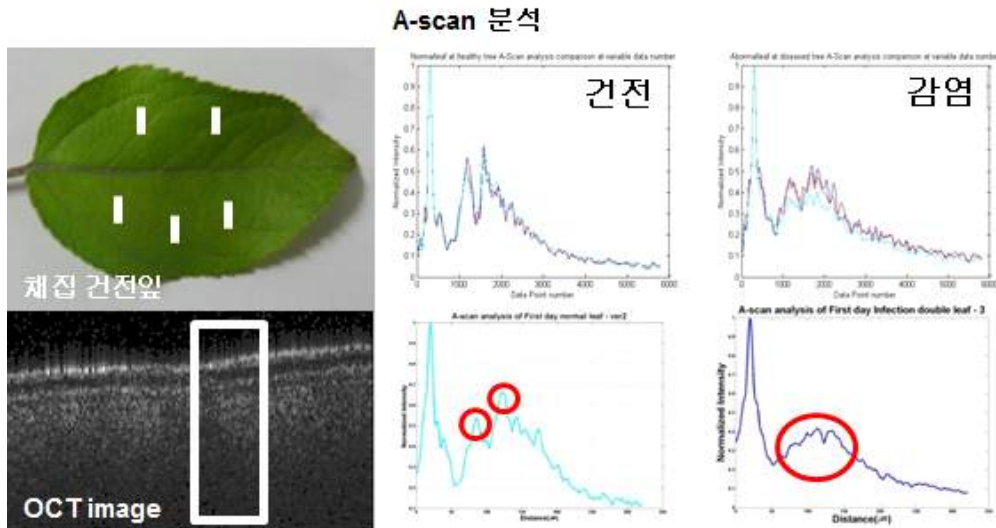


그림 5. OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 감염유무 확인 모식도

○ 사과 갈색무늬병에 감염 잎과 건전 잎을 대상으로 TD-OCT 촬영 후, 획득된 데이터를 이용하여 신호강도분석(A-scan 분석)을 진행한 결과, 감염 잎과 건전 잎은 A-scan 상에서 서로 구별되는 신호강도를 나타내었음. 또한 갈색무늬병에 감염된 나무의 건전 잎과 건전한 나무의 건전 잎을 이용하여 OCT 관찰 후 A-scan을 진행한 결과, 역시 서로 구별되는 신호강도를 확인함. OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 진단이 가능함.

5. 본 연구의 필요성

- 국내 농업선진화를 위해 BT기술과 IT 기술을 융합한 광학단층촬영기기를 이용하여 만든 실시간 비파괴/비침습적 검사법 도입이 절대적으로 필요함.
- 선행연구결과 채집한 시료를 기내에서 검사하려면 시간이 소요되어 시료의 신선도가 떨어지는 큰 단점이 도출되었음. 따라서 현장에서 직접 검사할 수 있도록 현장 진단용 광단층영상장치의 개발이 최우선 과제임.
- 이에 휴대용 광단층영상장치를 이용하여 사과 갈색무늬병과 배 검은별무늬병에 대한 현장 진단 시스템 개발하고 조기 진단 최적화 기술 개발 및 최적화된 농약의 살포시기 결정 및 경감을 통해 농가소득 향상에 기여하고 농산물의 안정적인 생산에 기여하고자 함.

제 2 절 연구개발의 범위

- IBT기술(광학단층촬영장치)을 이용한 사과 갈색무늬병 및 배 검은별무늬병의 조기진단 기술 개발 및 현장 적용형 진단 시스템 구축
- 과수 조기진단 시스템이 구비된 휴대용 진단기 완성 및 상품화
- 사과 갈색무늬병과 배 검은별무늬병의 조기진단 장치의 활용 및 보급 매뉴얼 작성
- 사과 갈색무늬병 및 배 검은별무늬병에 감염된 다양한 시료로부터, 비파괴/비침습 방식의 광간섭단층 촬영기를 이용한 DB축적, 데이터 분석, 생물학적 검정 실시
- 현장진단 실증시험 및 사과/배 품종에 따른 진단시스템 알고리즘 개발
- 휴대용 과수병해 진단기를 이용한 농가 실증시험과 현장적용 및 활용 매뉴얼 개발

제 2 장 국내외 기술개발 현황

코드번호 D-04

제 1 절 국·내외 특허 분석

표 1. 식물병해 진단관련 특허등록 현황

특허명	내용	보유국가 (등록번호)	구분 (등록연도)
Detection of fungal pathogens using the polymerase chain reaction	PCR법을 이용한 <i>Colletotrichum acutatum</i> 검출법	미국 (06645720)	미국 (2003)
DNA marker for detecting pathogen causing anthrax in sweet persimmon	PCR법을 이용한 단감탄저병의 진단법	대한민국 (1004870920000)	국내 (2005)
*Non invasive method and apparatus for early diagnosis of fruit tree diseases	OCT를 이용한 사과 갈색무늬병의 진단	대한민국 (1009826190000)	국내 (2010)
*Non invasive methods and apparatus for detection of cucumber seeds contaminated with virus	OCT를 이용한 바이러스 감염 오이종자 선별법	대한민국 (1010334400000)	국내 (2011)
*Non invasive method and apparatus for selecting superior seed	OCT를 이용한 우량 참외종자의 선별법	대한민국 (1010115750000)	국내 (2011)
Specific amplification primer for detecting <i>Marssonina coronaria</i> and detection method	PCR법을 이용한 사과 갈색무늬병의 진단법	중국 (CN101892308)	중국 (2012)
Primer for detecting orchid <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> molecules and quick detection method	PCR법을 이용한 <i>C. gloeosporioides</i> 검출법	중국 (CN102534017)	중국 (2013)
*Non destructive method and apparatus for detection of gourd seeds contaminated with virus using optical scattering amplitude per depth	OCT를 이용한 바이러스 감염 참박 종자 선별법	대한민국 (1012684110000)	국내 (2013)
**Method and device for early non-invasive diagnosis of fruit tree disease	OCT를 이용한 사과 갈색무늬병의 진단	대한민국 (08885872)	미국 (2014)

Portable scanning probe with monitor and optical coherence tomography using the same	모니터 일체형 포터블 스캐닝 프로브를 탑재한 OCT 장치	대한민국 (1013556710000)	국내 (2014)
*Primer set for loop-mediated isothermal amplification reaction for detecting of <i>Marssonina coronariae</i> , and uses thereof	LAMP법을 이용한 사과 갈색무늬병의 진단	대한민국 (1016240260000)	국내 (2016)
Method for detecting fungal pathogens	PCR법을 이용한 사과 갈색무늬병의 진단	인도 (02536850)	유럽 (2016)
Apple tree leaf diagnosing method and apple tree leaf diagnosing apparatus using the method	Hyperspectral camera를 이용한 사과 갈색무늬병의 진단	대한민국 (1016519210000)	국내 (2016)
*Non-invasive method and apparatus for screening high-quality seeds	OCT를 이용한 고품질 종자 선별법	대한민국 (09513217)	미국 (2016)
Development of detection method for virus-infected (cucumber green mottle mosaic virus) watermelon seed using near-infrared reflectance spectrum and detection apparatus	근적외선 반사스펙트럼을 이용한 바이러스 감염 수박종자의 선별법	대한민국 (1016834040000)	국내 (2016)
*Primer set for detecting of <i>Mycosphaerella nawae</i> and uses thereof	PCR법을 이용한 감동근무늬낙엽병의 진단	대한민국 (1017673710000)	국내 (2017)
**Portable OCT	휴대용 광단층검사 장치	대한민국 (1017658240000)	국내 (2017)

※ 특허정보원 database (www.kipris.or.kr), 국내, 국외(미국, 유럽, 일본)

Keyword: (*Marssonina*)*detect, (*Venturia*)*detect (*Mycosphaerella nawae*)*detect, (((Optical coherence tomography)*plant)*disease)*diagnosis), Portable OCT

*본 연구팀의 선행연구 결과, ** 본 연구기간동안 등록된 특허

○ 이전까지 주요 식물병원체의 검출은 분자생물학적 방법인 PCR, LAMP 진단법에 치중되어 있었음. 곰팡이 병원체 관련 기존 특허의 대부분은 대상 곰팡이의 단일 유전자에서 유래한 염기서열만을 이용하였으나 본 연구과제에서는 과수에 발생하는 식물병원성 곰팡이의 감염에 의해 발생하는 식물체 조직의 변화를 관찰하고 이를 진단할 수 있는 방법에 대해 중점적으로 연구하였음.

○ 최근 CT (Computerized tomography) 혹은 Hyperspectral camera를 이용하여 식물병을 진단하려는 연구가 수행되고 있으나, 본 연구팀에서는 지난 2010년부터 OCT를 이용하여 식물병을 진단 할 수 있는 가능성을 제시하였으며, 그 원천기술을 모두 확보하고 있음. 또한 연

구 과제를 수행하면서 얻은 결과를 종합하여 식물병을 진단할 수 있는 알고리즘을 장착한 OCT를 개발하고, 휴대용 광단층 검사 장치에 대한 특허 등록을 완료하였음.

- 이는 세계 최초로 개발된 휴대용 OCT이며 현장에서 즉시 식물병을 진단할 수 있음. 또한 원천기술을 모두 본 연구팀에서 확보하고 있으므로, 의료 및 재료산업분야에 사용이 국한되어 있는 OCT분야를 확대 적용할 수 있는 괄목할 만한 성과로 판단됨.

제 2 절 국·내외 식물병원성 병해 진단기 시장현황

1. 국내 시장현황

○ 최근, 기후 온난화로 인한 이상 질병의 발생이 전국적으로 문제시 되고 있으며, 이로 인해 재배농가별로 식물병 진단 문의가 전국의 대학교와 국·공립 연구소, 농업기술원, 농업기술센터로 집중되고 있으며, 그 수요 역시 매년 증가하고 있는 추세임.

○ 국내의 경우 의학, 축산분야에서의 진단 시장은 시장규모가 성장하고 있으나, 그에 반해 식물병원성 곰팡이 및 세균 진단시장은 개발 초입단계임. 식물병원체 진단 기술개발업무는 농촌진흥청, 대학, 일반기업을 중심으로 진행되고 있으나, 아직 database화되어있지 않아 정확한 시장상황을 파악하기가 어려운 실정임.

○ 국내 (주)기산바이오텍(www.kisanbio.com) 및 (주)코메드(www.kormed.com)에서는 다양한 식물병원체를 진단하기 위해 식물병 진단키트(식물병원성 바이러스&바이로이드 검출 키트 742종, 세균&파이토플라즈마 132종, 곰팡이 27종)가 구매 가능하나, 대부분 ELISA 혹은 PCR법을 이용한 진단 kit이므로, 재배농가에서 직접 사용하기엔 어려움이 있음.

○ 국내 사과 재배농가에서 가장 문제시 되는 탄저병, 겹무늬썩음병, 갈색무늬병과 배 재배농가에서 문제시 되는 검은별무늬병에 관한 진단기술은 대부분 PCR법에 의존하고 있으며, 이 또한 연구가 미미한 실정임. 특히 이들 병원체를 진단할 수 있도록 개발된 kit는 전 세계적으로 전무한 실정이며, 휴대용 진단장치를 이용한 식물병원성 병원체 진단 kit는 상용화 된 바 없음.

2. 국외 시장현황

○ 전 세계적으로 체외 진단기기 (In Vitro Diagnostic) 분야는 2014년 기준 약 522억 달러 정도로 추산하고 있으며, 2009년부터 계속적으로 성장하고 있음. 하지만, 이는 대부분 사람에 관련된 질병관련 진단시장이며, 식물병 진단기기 관련 진단시장의 규모는 이에 비해 매우 미미할 것으로 예상됨.

○ 하지만, 식물병 진단기기의 시장은 그 수요가 계속적으로 증가함에 따라 시장이 성장할 것으로 판단됨.

○ 현재 해외에서 식물병 진단 및 병원균 검출 기술을 개발하고 관련 상품을 제조·판매하는 회사는 아래와 같음 (출처: <http://www.pk.uni-bonn.de/ppigb/company2.htm>)

- ADGEN Diagnostic Systems, Scotland, UK
- Agdia Inc., Elkhart, Indiana, USA.
- Agri Analysis Associates, Davis, USA
- Bioreba AG, Reinach, Switzerland.

- Diagnostix Ltd, headquartered in Toronto, Canada & office in USA
- Eden Bioscience Corporation, Poulsbo, WA, USA
- Forsite Diagnostics Ltd (Pocket Diagnostics), Sand Hutton, York, UK
- LOEWE Phytodiagnostica, Sauerlach, Germany
- NEOGEN Corporation, Lexington and Lansing, USA
- Solanagen, Inc., Charleston, Maine, USA
- 이들 회사의 제품 대부분은 면역/혈청학적 원리에 바탕을 둔 병원체 검출용으로서 대상 병원체도 바이러스나 세균이 대부분임. 곰팡이의 경우 *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Botrytis* 와 같이 전 세계적으로 발생하는 다범성 병원체에 국한되어 있으며 검역현장에서 응용할 수 있는 PCR 또는 DNA array 검출 키트의 상업적 개발은 아직 전무한 실정임.
- 영국의 Pocket[®] Diagnostic에서는 과수에 발생하는 *Plum pox virus* (PPV), *Erwinia amylovora*, *Phytophthora* sp.등을 현장에서 진단할 수 있도록 Lateral flow assay device를 제작하여 시판하고 있음. 하지만 본 진단기술은 감자, 딸기, 채소류, 복숭아 등 일부 작물에 한정 되어 있고, 진단기술의 적용이 가능한 식물병원체도 국한되어 있음.
- 최근 일본의 Nippon Gene에서는 *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), PPV 및 *Candidatus Phytoplasma* spp. 등을 검출하기 위해, LAMP(Loop mediated isothermal amplification)법을 이용한 진단 kit를 상업화하여 판매중이나, 과수에 발생하는 식물병원성 곰팡이 및 세균의 진단 kit는 전무한 상태임.
- 따라서 전 세계적으로 사과나무와 배나무에 발생하는 식물병원성 곰팡이를 진단할 수 있는 방법은 거의 전무한 실정이며, 현장에서 병해의 유무를 진단할 수 있는 진단장치 및 진단 방법에 대한 연구도 미미한 실정임.

제 3 장 연구수행 내용 및 결과

코드번호 D-05

제 1 절 연구추진 전략

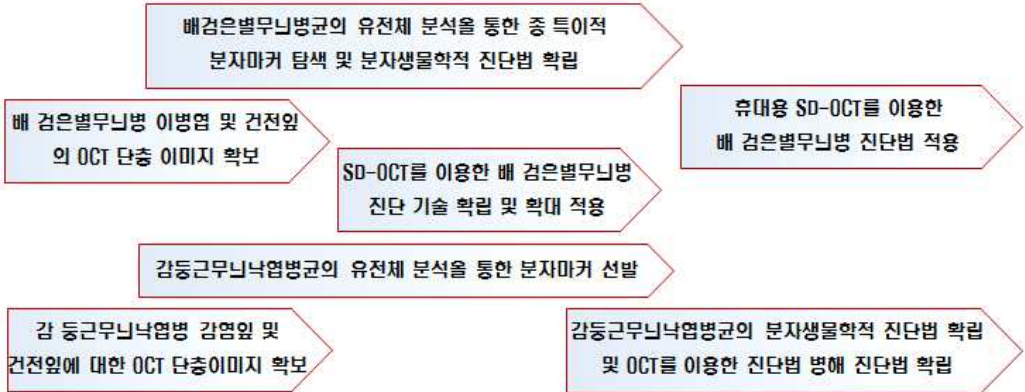
연구개발 로드맵: IBT 기술을 활용한 과수 주요병해 조기 진단 최적화 기술 개발

추진목표 휴대용 OCT를 이용한 사과 및 배의 주요 병해 조기 진단

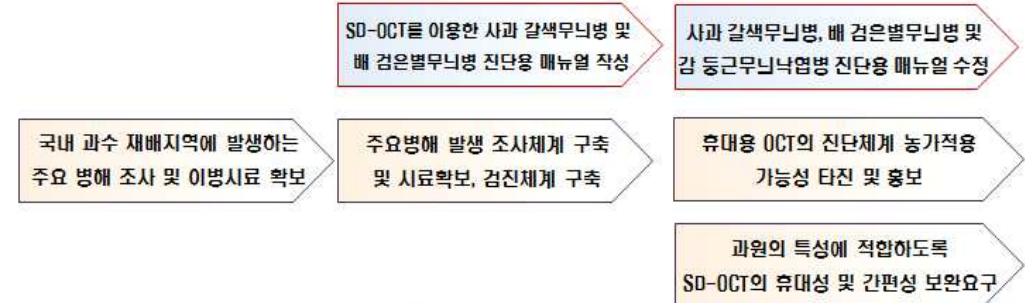
추진연도 1차년도 (2014-2015) 2차년도 (2015-2016) 3차년도 (2016-2017)

추진단계 TD-OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 조기 진단법 적용 SD-OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 진단 기술 확대 적용 휴대용 SD-OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 진단법 적용

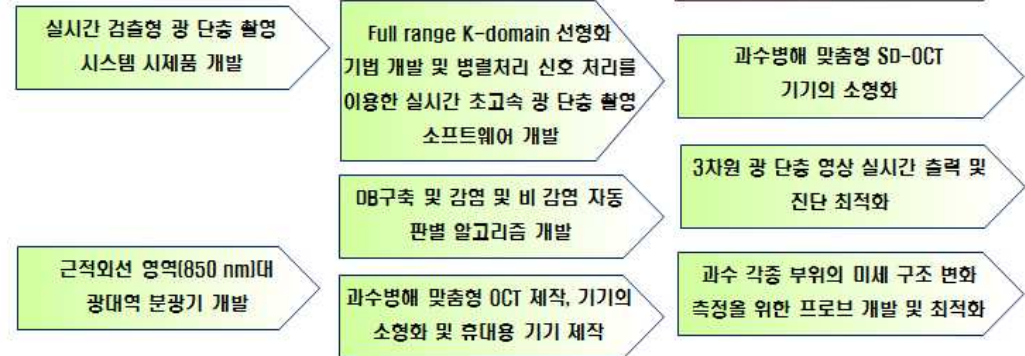
1 세부과제



1 협동과제



2 협동과제



1. 1세부과제: OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 및 배 검은별무늬병 조기 진단법 개발

가. 1차년도: OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 조기 진단법 적용 및 확대

- 사과 갈색무늬병 이병엽 및 건전 잎을 채집하여 건전 잎의 건전부위, 감염 잎의 이병부위, 감염 잎의 건전부위, 감염가지의 건전 잎을 OCT로 촬영하여 단층 이미지를 확보함.

- 확보된 OCT 이미지에서는 A-scan 분석법을 이용하여 대상 이미지의 신호강도를 분석하여 차이점을 규명함.

나. 1차년도: 배 검은별무늬병 감염 잎 및 건전 잎에 대한 OCT 단층 이미지 확보 및 배 검은별무늬병균 유전체 분석을 통한 분자마커 탐색

- 채집된 배 검은별무늬병 감염 잎, 건전 잎을 이용하여 OCT로 관찰하고 건전 잎의 건전부위, 감염 잎의 이병부위 및 감염 잎의 건전부위를 OCT로 관찰하여 단층이미지를 확보함.
- 확보된 이미지는 A-scan 분석법을 통해 대상 시료의 신호강도를 분석하여, 시료별로 어떠한 차이가 나타나는지 분석함.
- 배 검은별무늬병 감염 시료를 정확하게 진단하기 위해 배검은별무늬병균의 유전체 분석을 수행하고 이를 토대로, 특이 분자마커를 탐색함.

다. 1차년도: 감 등근무늬낙엽병 감염 잎 및 건전 잎에 대한 OCT 단층 이미지 확보 및 감 등근무늬낙엽병균의 유전체 분석을 통한 분자마커 탐색

- 채집된 감 등근무늬낙엽병 감염 잎 및 건전 잎을 이용하여 OCT로 관찰하고 건전 잎의 건전부위, 감염 잎의 이병부위 및 감염 잎의 건전부위를 OCT로 관찰하여 단층이미지를 확보함.
- 확보된 이미지는 A-scan 분석법을 통해 대상 시료의 신호강도를 분석하여, 시료별로 어떠한 차이가 나타나는지 분석하고, 구조적인 차이를 분석하기 위하여, cross-section image analysis를 수행하여 차이를 분석함.
- 감 등근무늬낙엽병 감염 시료를 정확하게 진단하기 위해 배검은별무늬병균의 유전체 분석을 수행하고 이를 토대로, 특이 분자마커를 탐색함.

라. 2차년도: OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 및 배 검은별무늬병 진단기술 확립 및 확대 적용

- 사과 및 배의 여러 품종을 대상으로 재현성 실험을 실시하고, 개발된 분자생물학적 진단법과 감염일치여부를 비교함.

마. 2차년도: 배검은별무늬병균 진단용 분자마커 선별 및 분자생물학적 진단법 확립

- 배검은별무늬병균의 draft genome 시퀀스에서 중 특이적인 영역을 확보하고, 확보된 시퀀스를 이용하여 LAMP primer를 설계함.

바. 2차년도: OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 및 배 검은별무늬병 진단용 매뉴얼 작성

- 확보된 데이터 및 시기를 파악하여 사과 갈색무늬병과 배 검은별무늬병을 진단하기 위해 적합한 시기, 촬영 부위를 패턴 등을 정리하고 매뉴얼로 작성함.

사. 3차년도: 휴대용 SD-OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 및 배 검은별무늬병 진단법 적용

- OCT 데이터의 객관성을 확보할 수 있도록, 사과의 경우 후지 및 홍로 품종을 대상으로 재현성 실험을 수행하고, 배의 경우 신고 및 원황 품종에 대해서 재현성 실험을 수행함.

아. 3차년도: OCT를 이용한 감 등근무늬낙엽병균 진단기술 확립

- 확립된 감등근무늬낙엽병 진단법을 이용하여 재현성 실험을 실시하고, 선별된 분자마커를 이용하여 LAMP법을 확립함. 이를 이용하여 OCT 진단법과 LAMP법의 일치여부를 비교함.

자. 3차년도: OCT를 이용한 사과 갈색무늬병, 배 검은별무늬병 및 감 등근무늬낙엽병 진단 방법에 대한 매뉴얼 작성 및 수정

- 각 병해에 대한 진단 매뉴얼을 소형화된 휴대용 SD-OCT 장비에 적합하도록 수정함.

**2. 1협동과제: 국내 사과 및 배 재배 지역에 발생하는 주요병해 조사 및 과수병해 진단기술
농가 적용**

가. 1차년도: 국내 사과 및 배 재배 지역에 발생하는 주요병해 조사 및 이병시료 확보

- 사과와 배에 발생하는 식물병원성 곰팡이에 의해 발생하는 주요병해 조사 및 시료 확보
- 대상품종: 사과-후지, 홍로, 감홍 등, 배- 신고, 원황, 장십량 등
- 조사항목: 사과 및 배에 발생하는 주요병해 발생분포, 발생 시기, 재배환경 조사
- 조사지역 : 사과: 2개도 8개 지역(의성, 상주, 문경, 영천, 김천, 예천, 청송, 거창 등), 배: 2개도 3개 지역(울산, 상주, 거창)

나. 2차년도: 주요병해 발생 조사체계 구축 및 시료 확보, 검진체계 구축

- 사과 및 배에 발생하는 주요병해 발생생태 조사 및 시료 확보에 대한 체계 구축

다. 3차년도: 휴대용 OCT의 진단체계 농가적용 가능성 타진 및 홍보

- 사과와 배의 과수병해 진단기술 농가적용
- 대상품종: 사과 : 후지, 홍로, 감홍 등, 배 : 신고, 원황, 장십량 등
- 조사항목: 사과 및 배에 발생하는 주요병해 발생분포, 발생 시기, 재배환경 등 조사
- 조사지역: 사과 : 2개도 8개 지역(의성, 상주, 문경, 영천, 김천, 예천, 청송, 거창 등), 배 : 2개도 3개 지역(울산, 상주, 거창)

라. 3차년도: 과원의 특성에 적합하도록 SD-OCT의 휴대성 및 간편성 보완

- 사과와 배의 과수병해 진단기술을 농가에 적용하고 현장으로 사항을 수집하여 과수병해 현장진단용 휴대용 OCT의 휴대성 및 간편성을 보완함.

3. 2협동과제: 초고속 광단층촬영 소프트웨어를 적용한 현장 진단용 OCT 개발

가. 1차년도: 실시간 검출형 광단층 촬영 시스템 시제품 개발 및 근적외선 영역 광대역 분광기 개발

- 영상 진단의 안전성과 고해상도의 장점을 갖는 초고속 스펙트럼영역 광 단층촬영 시스템 개발
- 과원의 제한된 공간을 고려해 이동성 광 단층촬영 시스템 구현을 위한 광학설계
- 중심 파장이 1250nm이고 대역폭이 50nm 이상인 superluminescence diode 광원과 싱글모드 광섬유로 이루어진 간섭계를 구성
- 다양한 부위 진단을 위한 다중 기준단 설계 및 개발
- 축 방향 해상도는 5 um, 횡 방향 해상도는 10 um로 입력 광원, 광학계, 컴퓨터 및 주변 장치들을 이동 가능한 소형기기로 구현
- 근적외선 영역 (1300 nm) 초고속 광대역 라인 카메라와 투과형 회절격자를 사용하여 고효율 분광계시스템 설계
- 분광 시스템의 크기를 줄이고 축 방향 해상도 및 신호대 잡음비를 개선하기 위한 빔 콜리메이션을 위한 렌즈 설계 및 라인 스캔 카메라의 초점 렌즈 개발

나. 2차년도: Full range k-domain 선형화 기법 개발 및 병렬처리 신호처리를 이용한 실시간 초고속 광 단층촬영 소프트웨어 개발

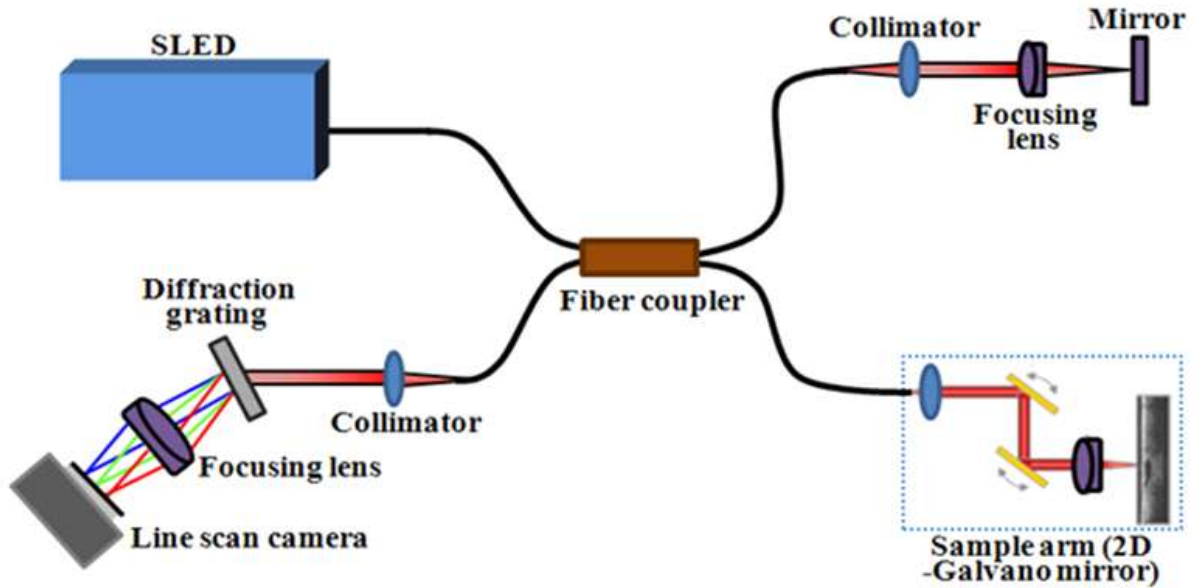


그림 1. 초고속 스펙트럼영역 광 단층촬영 시스템 개념도

- 깊이 방향으로의 이미지 왜곡과 이미지 속도를 향상시키기 위한 스펙트럼 보정기법 개발
- 콜리메이터, 회절격자, 슬릿을 사용하여 파장 스캐닝 필터를 구현
- 파장 스캐닝 필터를 사용하여 입력 광원에 대한 파장별 픽셀 정보를 획득을 위한 자동화 시스템 구현
- 회절격자 특성에 의한 비선형적인 특성을 선형적으로 픽셀 위치에 따른 파장 정보를 배열하는 방식으로 전 영역에 대한 스펙트럼 보정을 하여 이미지 왜곡과 깊이 방향으로의 이미지를 향상

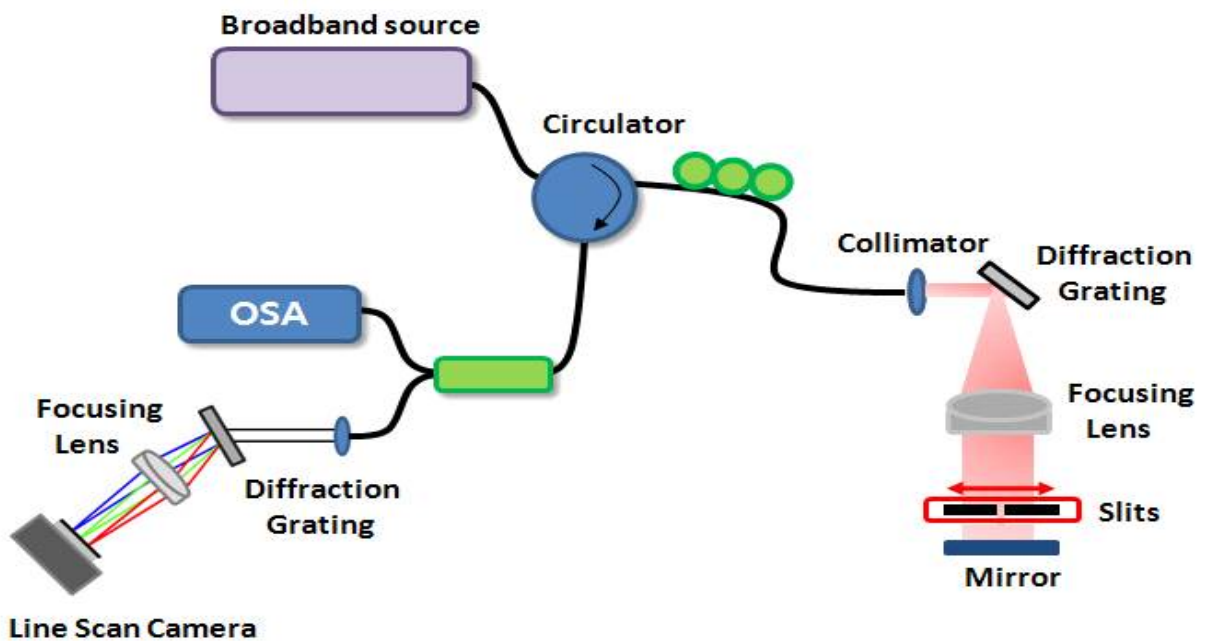


그림 2. Full range k-domain 선형화 시스템 개념도

- 파장 스캔 필터를 통해 획득된 비선형적인 파장 정보 대 픽셀 정보를 선형화하기 위한 소프트웨어 개발
- 병렬처리 Signal Processing 기술과 Multi-thread Processing 기술의 융합 및 최적화 알고리즘 개발
- 병렬처리 기반의 초고속 영상 신호처리 소프트웨어 개발 및 실시간 영상 디스플레이 속도 120 frame/sec 이상 구현
- 단층영상 실시간 화면 출력 최적화 알고리즘 개발 및 코딩

다. 3차년도: 3차원 광단층 영상 실시간 출력 및 진단 최적화 및 과수 각종 부위의 미세 구조 변화 측정을 위한 프로브 최적화

- 광 단층영상 구현 알고리즘 개발
- 실시간 3차원 디스플레이 속도 3 frame/sec 이상 구현
- 과원 환경에서 사용하기 편리하고 이동성이 좋은 소형의 프로브 개발
- 소형 렌즈와 CCD color 비디오 카메라를 결합하여 촬영 부위의 비디오 이미지 뿐만 아니라 광단층 이미지를 동시에 제공하는 일체형 프로브 개발
- 렌즈 표면에서의 반사를 제거 하고 선명한 비디오 이미지 획득을 위한 소형 광학 확대렌즈 설계 및 개발
- 비디오 이미지와 광단층 이미지를 동시에 제공하기 위한 광학적 경로 설계 및 구현 방법에 대한 개발
- 촬영 부위의 비디오 이미지를 위한 조명 방식에 대한 연구 개발 및 다양한 과수 부위 적용을 위한 프로브 끝단 최적화

제 2 절 연구개발 내용 및 결과

1. 1세부과제: OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 및 배 검은별무늬병 조기 진단법 개발

가. 1차년도: OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 조기 진단법 적용 및 확대

(1) TD-OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 조기 진단법 실시

- 본 연구팀에서 보유하고 있는 TD-OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 조기 진단 기술을 육안상 사과 갈색무늬병의 병징이 관찰되지 않는 5월 중순부터 경상북도, 경상남도 소재 농가에 적용하여 감염여부를 진단함.

(가) 지역별 시료의 채집

- 시료의 채집은 전년도에 사과 갈색무늬병의 발생정도가 심했던 나무 혹은 그 인근에 위치한 나무에서 채집함.
- 채집 장소는 국내 주요 사과 재배지역인 전라남도 곡성, 경상남도 거창, 경상북도 영천, 문경, 청도, 군위 소재 과수원에서 2015년 5월 10일부터 23일까지 육안상 건전한 사과 잎을 채집함.
- 지정된 한 나무에서 채집된 시료 중, 3개의 잎을 선정하여 무작위로 다섯 부분을 OCT로 촬영함.

(나) A-scan 분석을 이용한 사과 갈색무늬병의 발병유무 진단

- OCT 촬영 후 A-scan 분석을 진행하여 대상 시료의 사과 갈색무늬병 감염여부를 진단함.
- A-scan 분석 결과는 이전 연구결과에 따라 OCT로 촬영된 사과 잎의 신호 강도에서 3개의 뚜렷한 피크가 관찰되면 건전으로 판단하였고, 2번째 피크와 3번째 피크가 무너져 1개의 피크로 보일 경우 감염된 것으로 판단함 (그림 1).

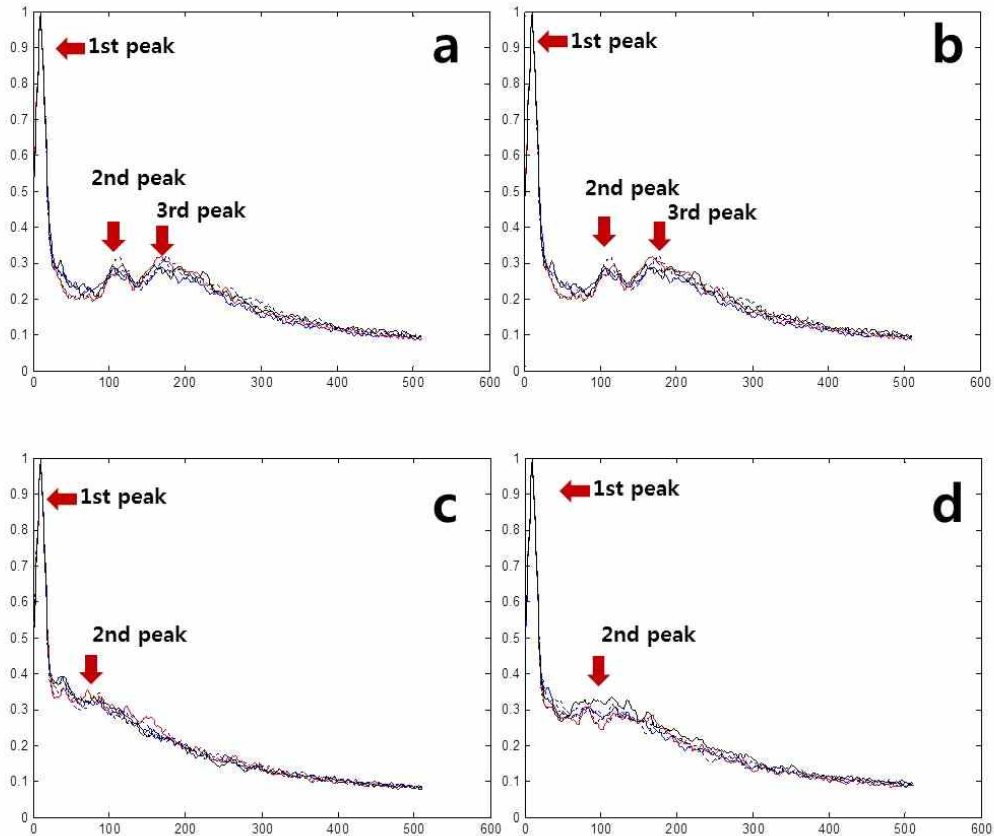


그림 3. A-scan 분석법을 통한 사과 갈색무늬병의 진단, a, b: 건전, c, d: 갈색무늬병 감염 사과 잎

① 전라남도 곡성 채집 시료의 A-scan 결과

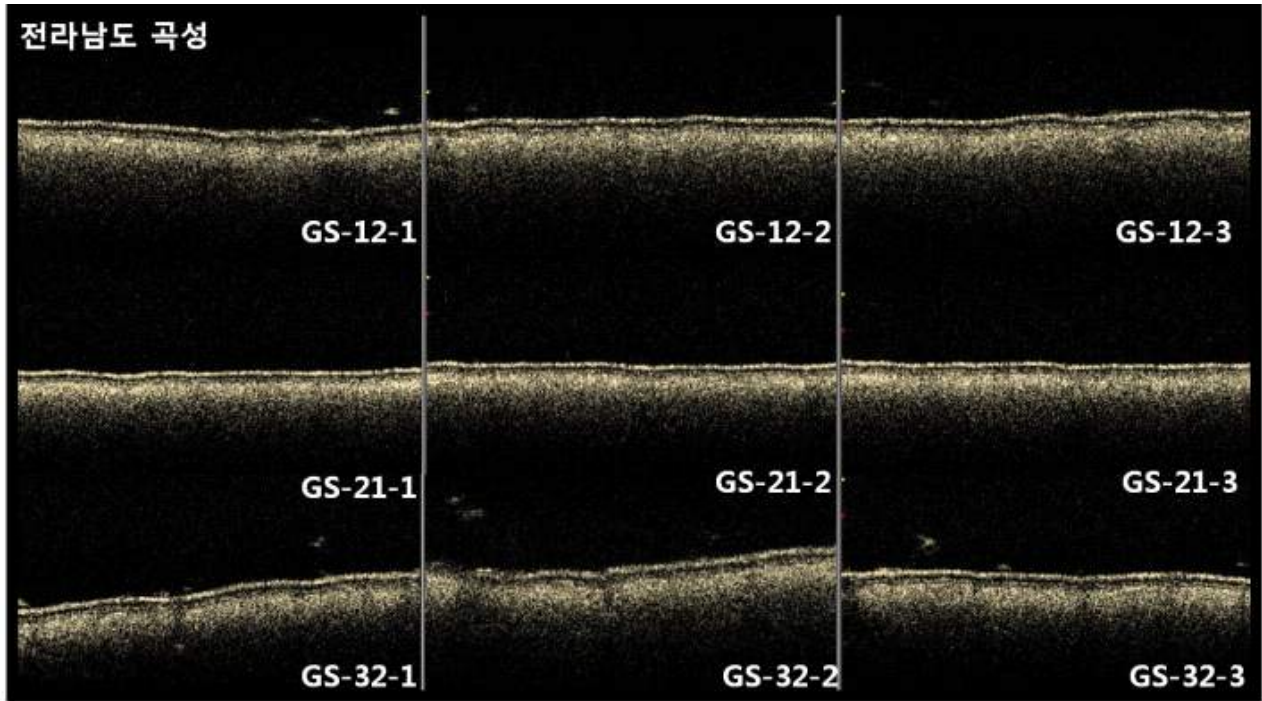


그림 4. TD-OCT로 관찰한 전라남도 곡성 채집 건전 사과 잎 결과(150510). GS: 전남 곡성 채집 시료

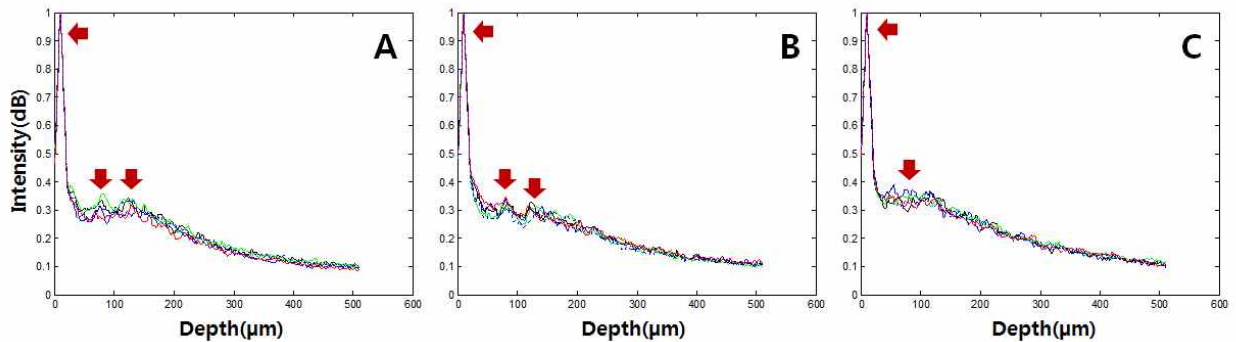


그림 5. 획득된 TD-OCT image를 이용한 A-scan 결과. A: 건전패턴, 전남 곡성 시료 1번, (GS-12), B: 건전패턴, 전남 곡성 시료 2번(GS-21), C: 전남 곡성 시료 3번(GS-32).

○ 전라남도 곡성소재 5농가에서 채집한 잎을 대상으로 감염여부를 진단한 결과, 5농가 모두 두에서 감염된 패턴이 확인됨.

표 2. 전라남도 곡성에서 채집한 사과 잎에 대한 OCT 진단 결과

도	시/군	채집 시료	OCT 진단 결과	채집일시	
전라남도	곡성	GS-1	1	감염	150511
			2	건전	
			3	건전	
			4	감염	
			5	감염	
	GS-2	1	건전	150511	

	2	감염	
	3	감염	
	4	감염	
	5	감염	
GS-3	1	건전	150511
	2	감염	
	3	감염	
	4	건전	
	5	건전	
GS-4	1	감염	150511
	2	감염	
	3	감염	
	4	건전	
	5	건전	
GS-5	1	감염	150511
	2	감염	
	3	건전	
	4	건전	
	5	감염	

② 경상남도 거창 채집 시료의 A-scan 결과

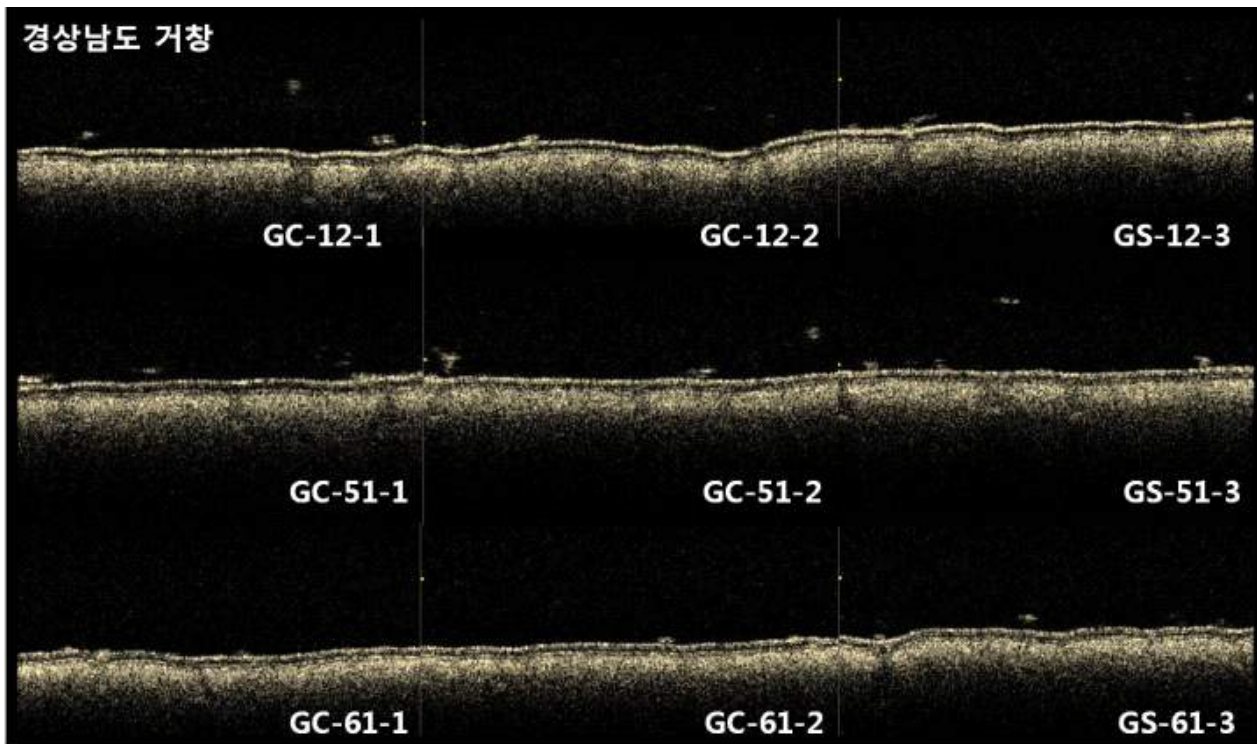


그림 6. TD-OCT로 관찰한 경상남도 거창 채집 건전 사과 잎 결과(150510). GC: 경남 거창 채집 시료
 ○ 경상남도 거창 소재 7농가에서 채집한 잎을 대상으로 감염여부를 진단한 결과, 7번 농가를 제외한 모든 농가에서 감염 패턴이 확인됨.

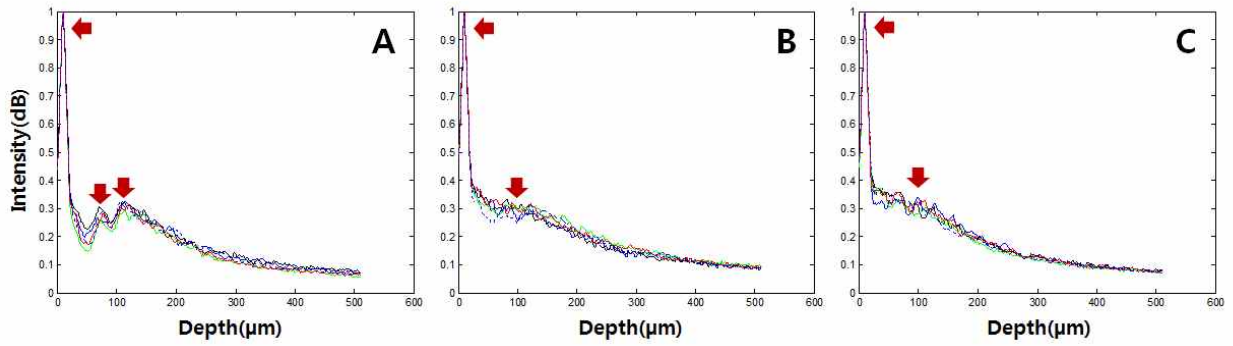


그림 7. 획득된 TD-OCT image를 이용한 A-scan 결과. A: 건전패턴, 경남 거창 시료 1번, (GC-12), B: 감염패턴, 경남 거창 시료 2번(GC-51), C: 경남 거창 시료 3번(GC-61)

표 3. 경상남도 거창에서 채집한 사과 잎에 대한 OCT 진단 결과

도	시/군	채집 시료	OCT 진단 결과	채집일시	
경상남도	거창	1	건전	150513	
		2	감염		
		GC-1	3		건전
		4	건전		
		5	건전		
		1	건전	150513	
		2	감염		
		GC-2	3		건전
		4	건전		
		5	건전		
		1	건전	150513	
		2	감염		
		GC-3	3		건전
		4	감염		
		5	건전		
		1	건전	150513	
		2	감염		
		GC-4	3		건전
		4	감염		
		5	건전		
GC-5	1	감염	150513		

	2	건전	
	3	건전	
	4	감염	
	5	감염	
GC-6	1	건전	150513
	2	건전	
	3	감염	
	4	감염	
	5	건전	
GC-7	1	건전	150513
	2	건전	
	3	건전	
	4	건전	
	5	건전	

③ 경상북도 청도 채집 시료의 A-scan 결과

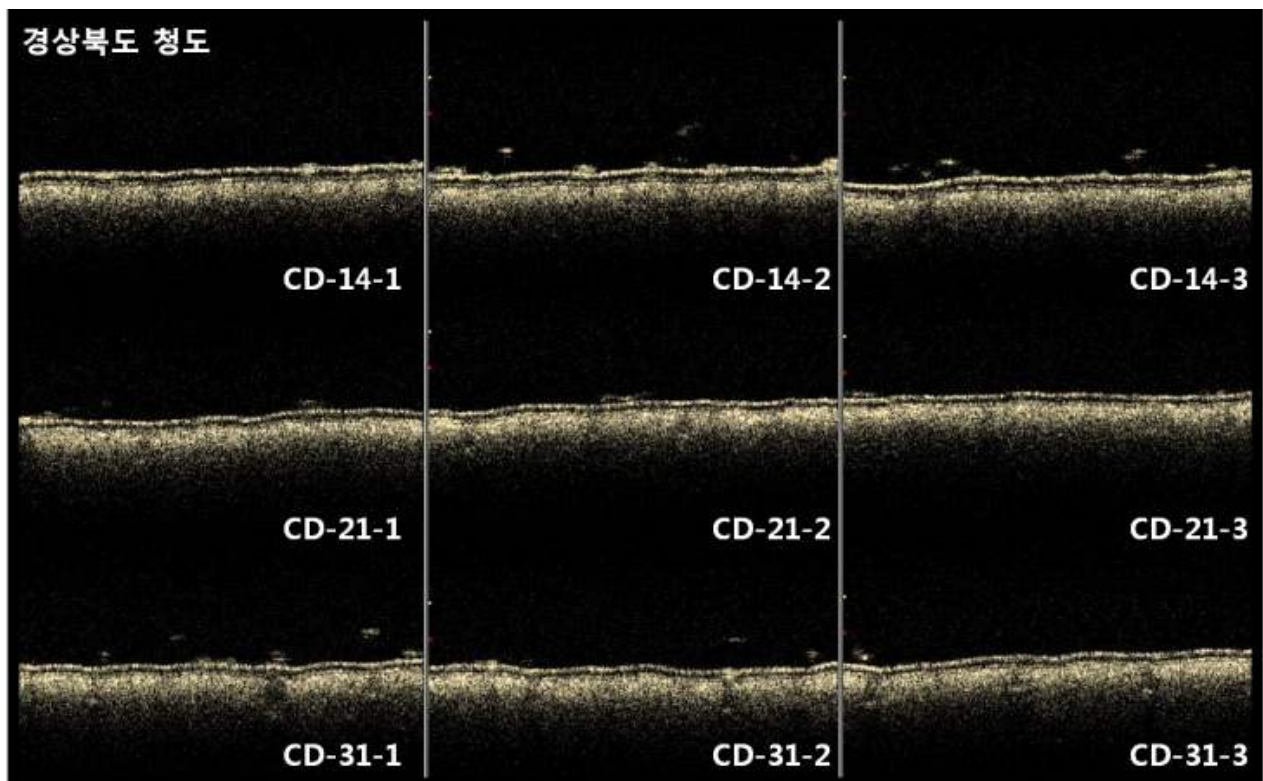


그림 8. TD-OCT로 관찰한 경상북도 청도 채집 건전 사과 잎 결과(150515). CD: 경북 청도 채집 시료
 ○ 경상북도 청도 소재 5농가에서 채집한 잎을 대상으로 감염여부를 진단한 결과, 모든 농가에서 감염 패턴이 확인됨.

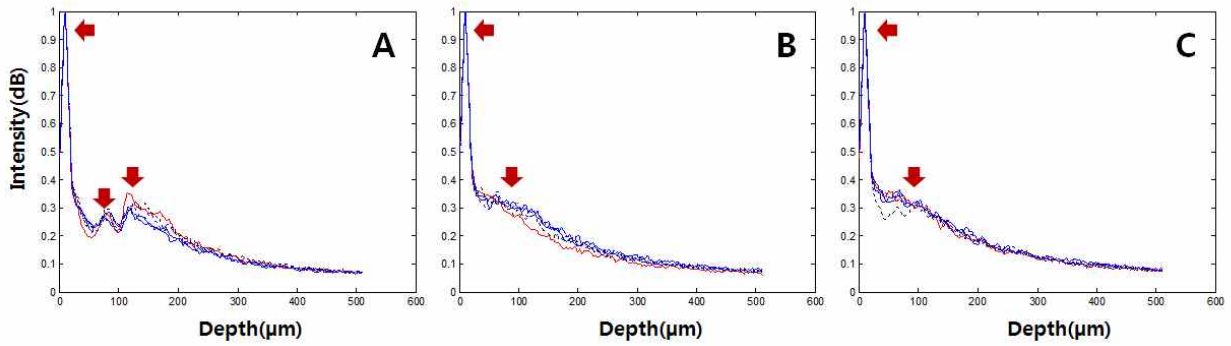


그림 9. 획득된 TD-OCT image를 이용한 A-scan 결과. A: 건전패턴, 경북 청도 시료 1번, (CD-14), B: 감염패턴, 경북 청도 시료 2번(CD-11), C: 감염 패턴, 경남 거창 시료 3번 (CD-31).

표 4. 경상북도 청도에서 채집한 사과 잎에 대한 OCT 진단 결과

도	시/군	채집 시료	OCT 진단 결과	채집일시	
경상북도	청도	1	감염	150515	
		2	건전		
		CD-1	3		감염
		4	감염		
		5	건전		
		CD-2	1	감염	150515
			2	감염	
			3	감염	
			4	건전	
			5	건전	
		CD-3	1	감염	150515
			2	감염	
			3	감염	
			4	건전	
			5	감염	
		CD-4	1	건전	150515
			2	감염	
			3	감염	
			4	감염	
			5	건전	
CD-5	1	감염	150515		
	2	감염			
	3	감염			
	4	감염			
	5	건전			

④ 경상북도 영천, 문경, 군위 채집 시료의 A-scan 결과

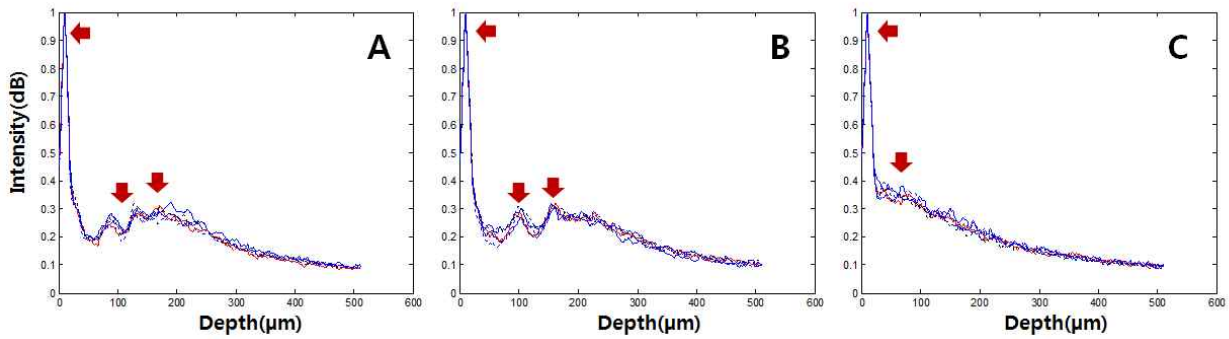


그림 10. 획득된 TD-OCT image를 이용한 A-scan 결과. A: 건전패턴, 경북 영천 시료 1번, (YC-14), B: 건전, 경북 문경 시료 2번(MG-12), C: 감염 패턴, 경북 군위 시료 1번 (GW-11).

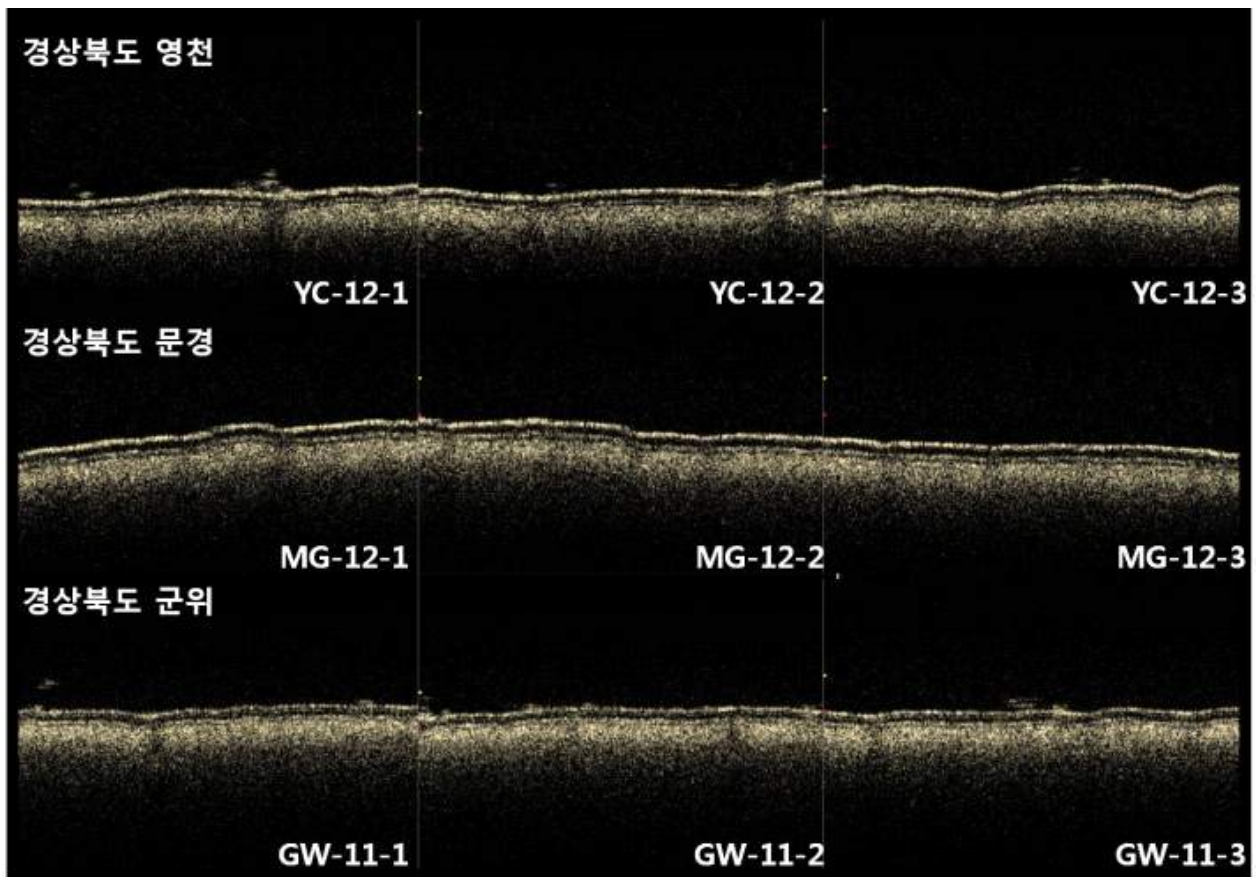


그림 11. TD-OCT로 관찰한 경상북도 영천, 문경, 군위 채집 건전 사과 잎 결과(150515). YC: 경북 영천, MG: 경북 문경, GW: 경북 군위 채집 시료

표 5. 경상북도 영천, 문경, 군위에서 채집한 사과 잎에 대한 사과 갈색무늬병 진단 결과

도	시/군	채집 시료	A-scan 결과	채집일시
경상북도	영천	YC-1	1 건전	150515
		YC-2	2 건전	
		YC-3	3 건전	

		4	건전	
		5	건전	
		1	건전	
		2	건전	
문경	MG-1	3	감염	150515
		4	건전	
		5	건전	
		1	감염	
		2	감염	
	GW-1	3	감염	150515
		4	감염	
		5	감염	
군위		1	건전	
		2	건전	
	GW-2	3	건전	150515
		4	건전	
		5	건전	

(2) TD-OCT를 이용한 사과 갈색무늬병의 발병유무 진단

- 2015년 5월 10일부터 5월 15일까지 진행된 지역별진단 결과, 각 지역별로 5월 중순부터 이미 사과 갈색무늬병이 감염된 것을 확인할 수 있었으며, 위 결과는 2013년 본 연구팀이 실시한 갈색무늬병의 진단 결과와 일치하였음.

나. 1차년도: 휴대용 SD-OCT시제품을 이용한 사과 갈색무늬병 조기 진단법 적용

- 2015년도에 개발된 Hand-held 형 type의 Spectral domain-optical coherence tomography (SD-OCT)를 이용하여 경상북도 안동, 의성, 영천소재 농가에서 채집한 사과 잎을 대상으로 갈색무늬병의 감염여부를 조사함.
- 또한 개발된 SD-OCT로 관찰한 건전 사과 잎은 등온증폭(Loop-mediated isothermal amplification, LAMP)법으로 감염유무를 재 검정함.
- 2015년 5월 18일부터 20일까지 경상북도 사과의 주요 재배 단지인 안동, 의성, 영천지역의 26농가에서 125개의 건전 사과 잎을 채집하여 개발된 Hand-held형 타입의 SD-OCT로 사과 잎을 촬영함.
- 사과 잎은 육안상 병반이 없고, 해충의 피해가 없는 건전한 잎을 채집하였으며, 채집 후 12시간 내에 촬영하여 잎이 신선한 상태에서 내부형태를 관찰하였음.

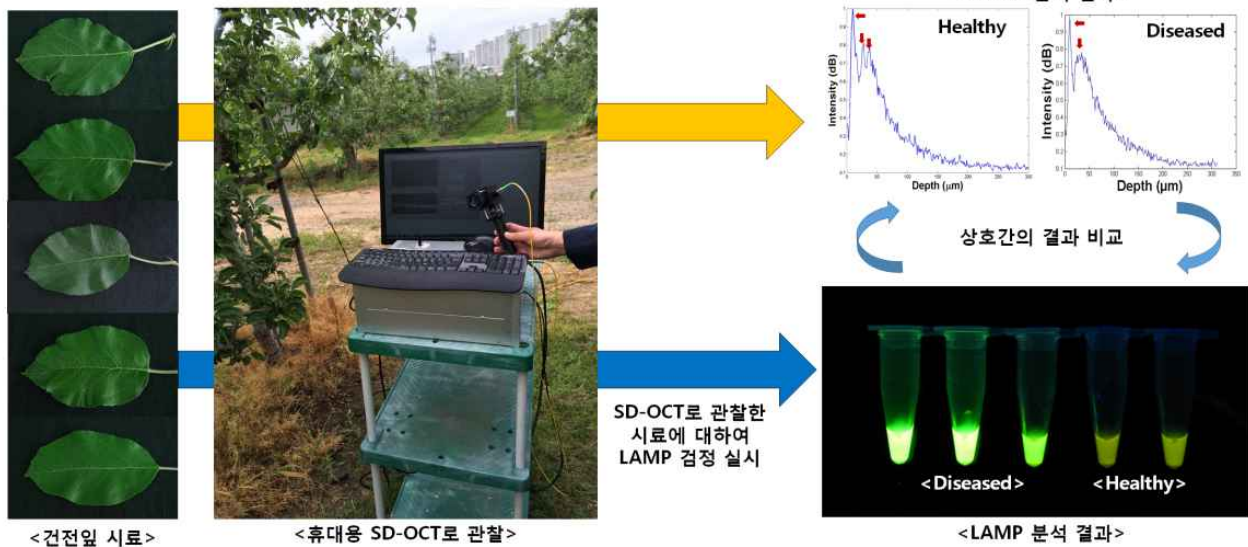


그림 12. 휴대용 SD-OCT를 이용한 적용 실험 및 LAMP 진단법을 이용한 사과 갈색무늬병의 진단 모식도

- SD-OCT의 관찰은 한 잎당 무작위로 5곳을 촬영 하였으며, A-scan 분석은 획득된 OCT image에서 60개의 신호를 이용하여 분석을 진행함.
- 감염여부 진단은 TD-OCT를 이용한 분석과 동일하게, A-scan 상에서 3개의 peak가 관찰되면 건전, 2개 혹은 2개 이하의 낮은 peak가 관찰되면 감염으로 분석함.

(1) SD-OCT를 이용한 각 지역별 건전 사과 잎의 갈색무늬병의 진단결과

① 경상북도 안동 채집 시료의 A-scan 분석 결과 및 갈색무늬병 진단 결과

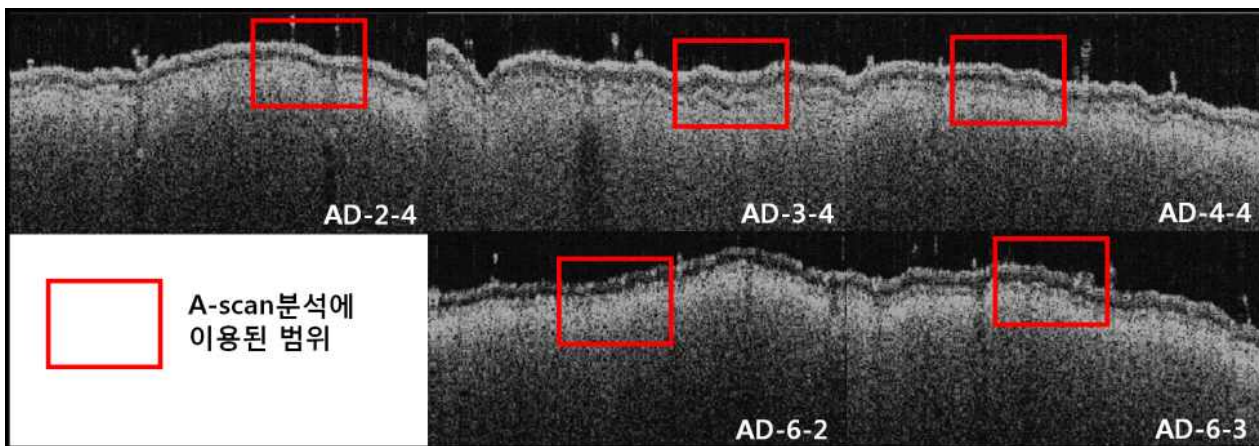


그림 13. SD-OCT로 관찰한 경상북도 안동 채집 건전 사과 잎 결과(150518). AD: 경북 안동 채집 시료

- 5월 18일 경상북도 안동소재 사과농가 5곳에서 무작위로 채집한 25개의 건전 사과 잎들을 대상으로 SD-OCT로 관찰하고 A-scan 분석을 진행함.

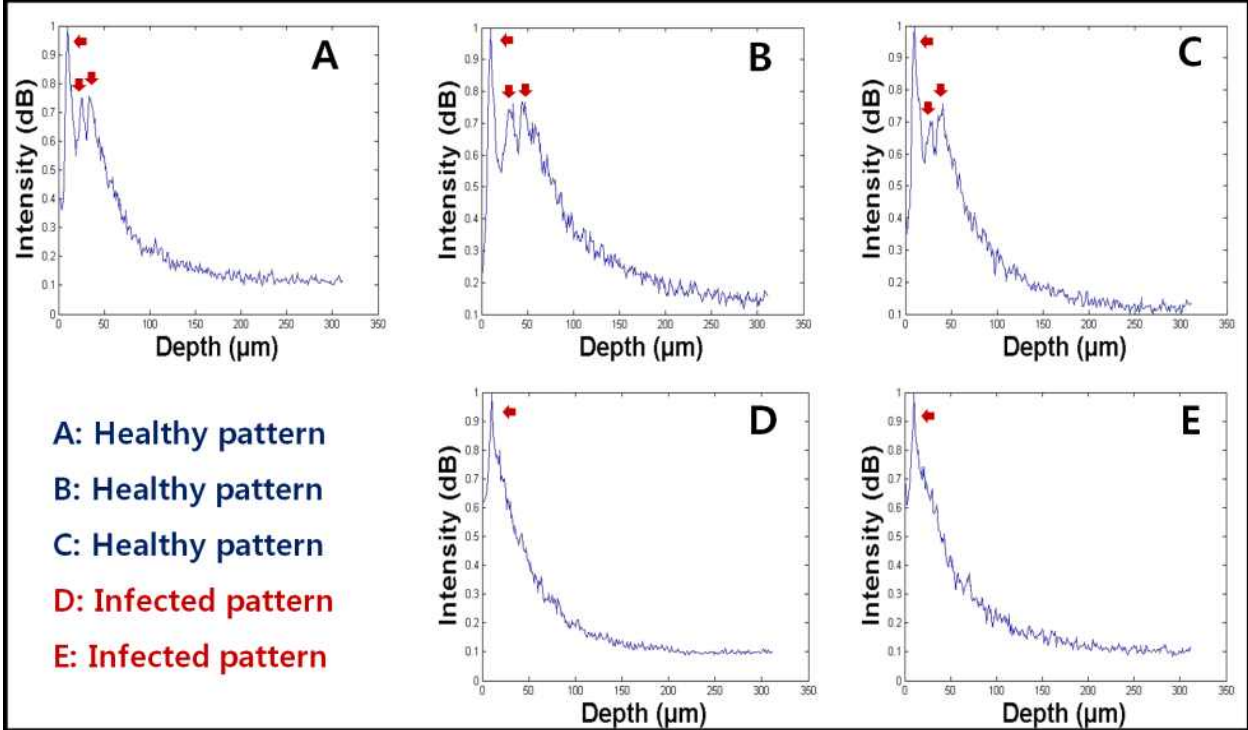


그림 14. 경상북도 안동 채집 시료에서 획득된 SD-OCT image를 이용한 A-scan 결과. A, B, C: 건전 패턴, D, E: 감염 패턴

표 6. 경상북도 안동에서 채집한 사과 잎에 대한 사과 갈색무늬병 진단 결과

도	시/군	채집 시료	A-scan 결과	채집일시	
경상북도	안동	1	건전	150518	
		2	건전		
		AD-1	3		건전
		4	건전		
		5	감염		
		AD-2	1		감염
		2	건전		
		3	건전		
		4	건전		
		5	건전		
		AD-3	1		감염
		2	건전		
		3	건전		
		4	건전		
		5	감염		
		AD-4	1	감염	

	2	감염
	3	건전
	4	건전
	5	건전
	1	감염
	2	감염
AD-5	3	감염
	4	건전
	5	감염

○ 채집된 25개의 사과 잎을 SD-OCT 촬영 후 A-scan 분석법으로 진행하여 감염여부를 확인한 결과, 25개의 시료 중 10개의 시료에서 감염 패턴이 확인됨(그림 12D, E).

② 경상북도 의성 채집 시료의 A-scan 분석 결과 및 갈색무늬병 진단 결과

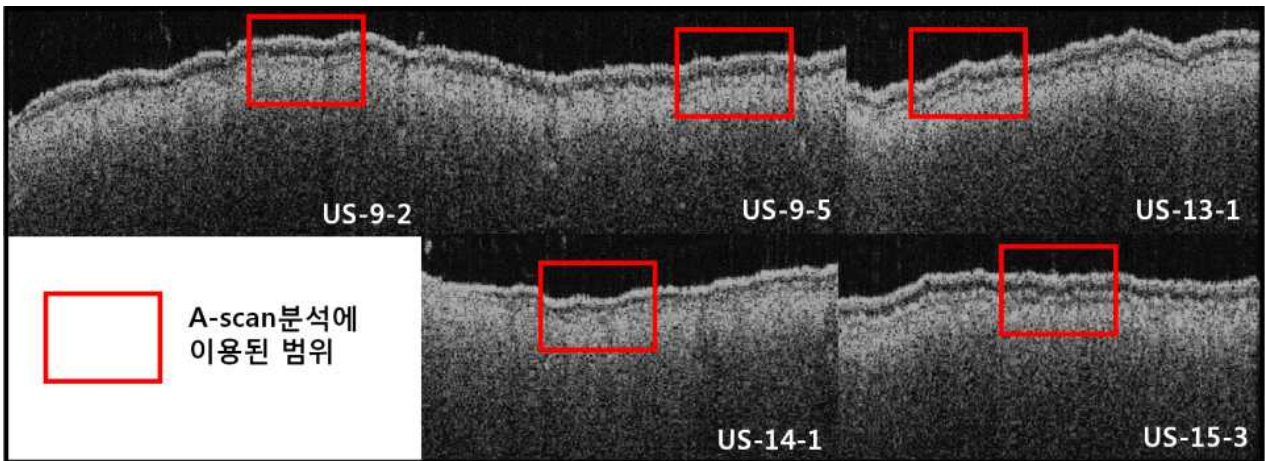


그림 15. SD-OCT로 관찰한 경상북도 의성 채집 건전 사과 잎 결과(150520). US: 경북 의성 채집 시료

○ 5월 20일 경상북도 의성소재 사과농가 10곳에서 무작위로 채집한 50개의 건전 사과 잎을 대상으로 SD-OCT로 관찰하고 A-scan 분석을 진행함.

표 7. 경상북도 의성에서 채집한 사과 잎에 대한 사과 갈색무늬병 진단 결과

도	시/군	채집 시료	A-scan 결과	채집일시	
			1	건전	
			2	감염	
경상북도	의성	US-7	3	감염	150518
			4	건전	

	5	건전
	1	감염
US-8	2	건전
	3	감염
	4	감염
	5	건전
	1	건전
US-9	2	건전
	3	건전
	4	건전
	5	감염
	1	건전
US-12	2	건전
	3	감염
	4	건전
	5	건전
	1	건전
US-13	2	건전
	3	건전
	4	건전
	5	건전
	1	감염
US-14	2	건전
	3	감염
	4	감염
	5	건전
	1	감염
US-15	2	감염
	3	건전
	4	건전
	5	건전
US-16	1	감염

	2	건전
	3	건전
	4	건전
	5	건전
US-17	1	감염
	2	감염
	3	건전
	4	건전
	5	건전
US-18	1	건전
	2	감염
	3	건전
	4	감염
	5	건전

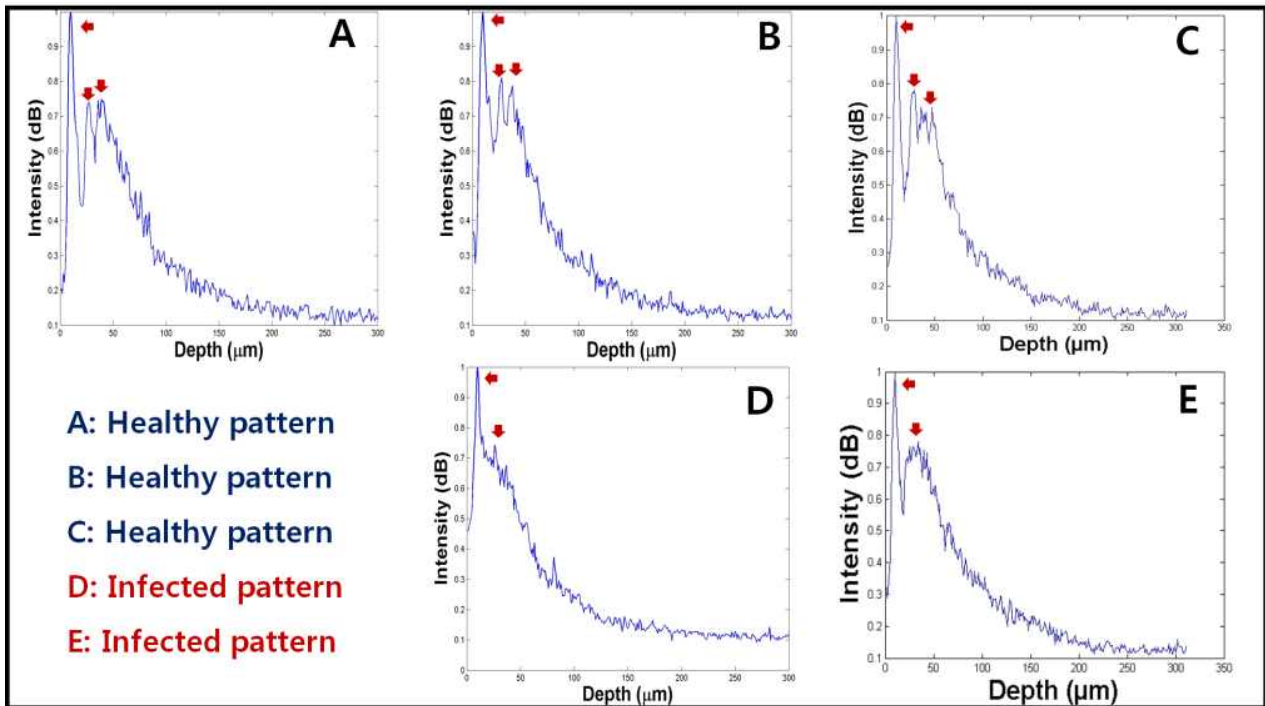


그림 16. 경상북도 의성 채집 시료에서 획득된 SD-OCT image를 이용한 A-scan 결과. A, B, C: 건전 패턴, D, E: 감염 패턴

- 채집된 50개의 사과 잎을 SD-OCT 촬영 후 A-scan 분석법으로 진행하여 감염여부를 확인한 결과, 50개의 시료 중 17개의 시료에서 감염 패턴이 확인됨(그림 14D, E).

③ 경상북도 영천 채집 시료의 A-scan 분석 결과 및 갈색무늬병 진단 결과

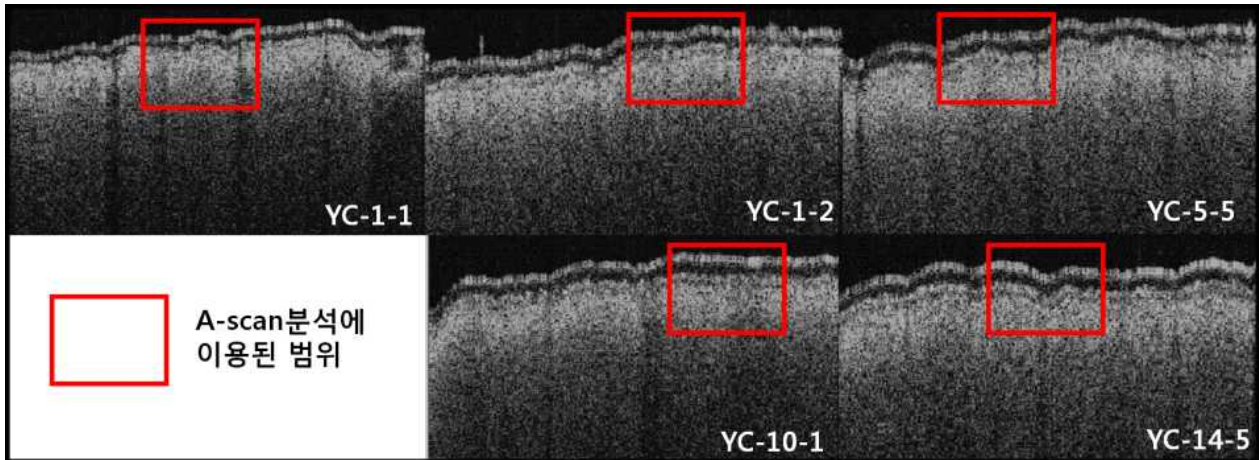


그림 17. SD-OCT로 관찰한 경상북도 영천 채집 건전 사과 잎 결과(150522). YC: 경북 영천 채집 시료

- 5월 22일 경상북도 영천소재 사과농가 10곳에서 무작위로 채집한 50개의 건전 사과 잎들을 대상으로 SD-OCT로 관찰하고 A-scan 분석을 진행함.

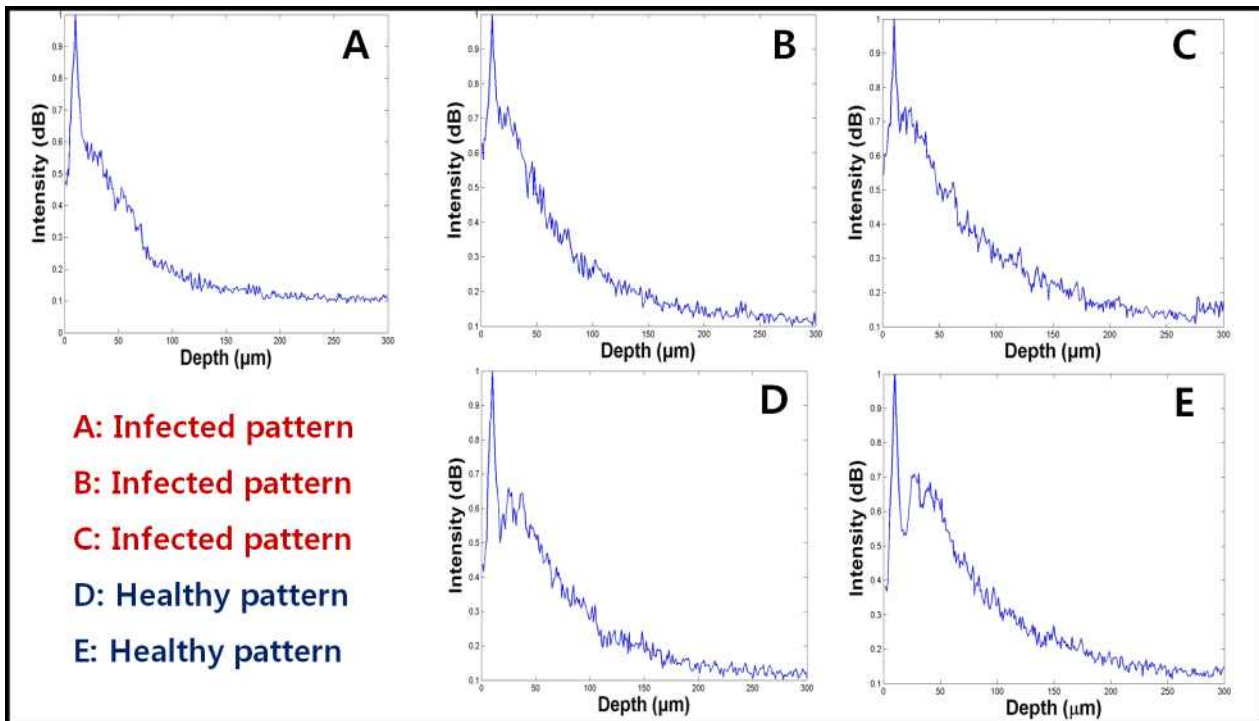


그림 18. 경상북도 영천 채집 시료에서 획득된 SD-OCT image를 이용한 A-scan 결과. A, B, C: 감염 패턴, D, E: 건전 패턴

표 8. 경상북도 영천에서 채집한 사과 잎에 대한 사과 갈색무늬병 진단 결과

도	시/군	채집 시료	A-scan 결과	채집일시
경상북도	영천	YC-1	1 감염	150522
		YC-1	2 감염	

	3	건전
	4	감염
	5	감염
YC-5	1	감염
	2	건전
	3	감염
	4	감염
	5	감염
YC-7	1	감염
	2	감염
	3	감염
	4	감염
	5	건전
YC-9	1	감염
	2	감염
	3	감염
	4	감염
	5	감염
YC-10	1	건전
	2	감염
	3	감염
	4	감염
	5	건전
YC-11	1	감염
	2	감염
	3	감염
	4	건전
	5	건전
YC-14	1	감염
	2	건전
	3	감염
	4	건전
	5	건전
YC-15	1	감염
	2	감염
	3	감염

	4	감염
	5	감염
YC-16	1	감염
	2	감염
	3	감염
	4	감염
	5	감염
YC-17	1	건진
	2	감염
	3	감염
	4	감염
	5	감염

- 채집된 50개의 사과 잎을 SD-OCT 촬영 후 A-scan 분석법으로 진행하여 감염여부를 확인한 결과, 50개의 시료 중 39개의 시료에서 감염 패턴이 확인됨(그림 14D, E).
- A-scan 결과, 경상북도 안동, 의성, 영천에서 채집한 125개 시료 중 66개의 시료가 감염된 패턴으로 확인됨.

(2) LAMP법을 이용한 사과 갈색무늬병의 진단

- SD-OCT 관찰이 끝난 시료를 대상으로 본 연구팀이 보유하고 있는 갈색무늬병 진단용 LAMP법으로 관찰된 사과 잎에서의 감염유무를 분자생물학적으로 진단함.

(가) 진단방법

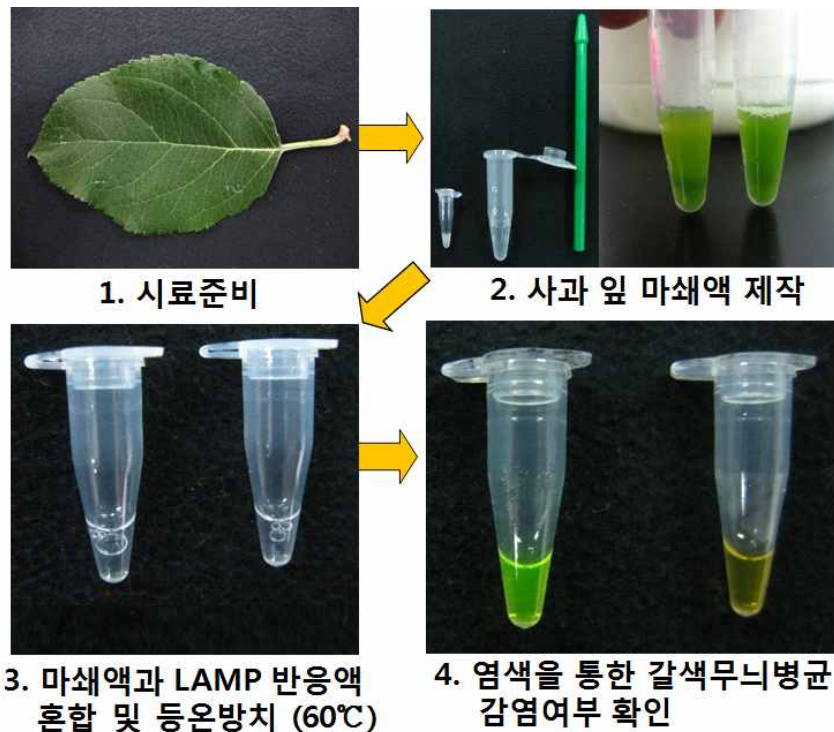


그림 19. LAMP 진단법을 이용한 사과 갈색무늬병의 진단방법

- OCT 관찰이 끝난 시료는 LAMP용 마쇄액(0.2M NaCl, 0.2M Tris-HCl (pH 8.0))에 시료의 일부를 침지시켜 마쇄함.
- 마쇄액 1 μl 를 취하여 LAMP반응액(2 μl 의 10 pM FIP/BIP primer set, 0.5 μl 의 F3/B3 primer set, 2.5 μl 의 10 \times ThermoPol Reaction Buffer [20 mM Tris-HCl, 10 mM KCl, 10 mM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 2mM MgSO_4 , 0.1% TritonX-100, NewEngland Biolabs,USA], 0.5 μl 의 10 mM dNTP, 16 μl DDW)에 첨가한 후 60 $^\circ\text{C}$ 로 5분간 반응시킨 후 1 μl *Bst* DNA polymerase large fragment (8 unit/ μl , New England Biolabs, USA) 첨가하여 45분간 반응함.
- 반응이 종료된 후 1 μl SYBR green solution I (1,000 \times stock)로 염색하여 UV illuminator에서 형광색으로 발색되면 감염, 발색되지 않으면 건전으로 판단함.

① 경상북도 안동 채집 시료의 LAMP 분석 결과 및 갈색무늬병 감염 여부 진단 결과

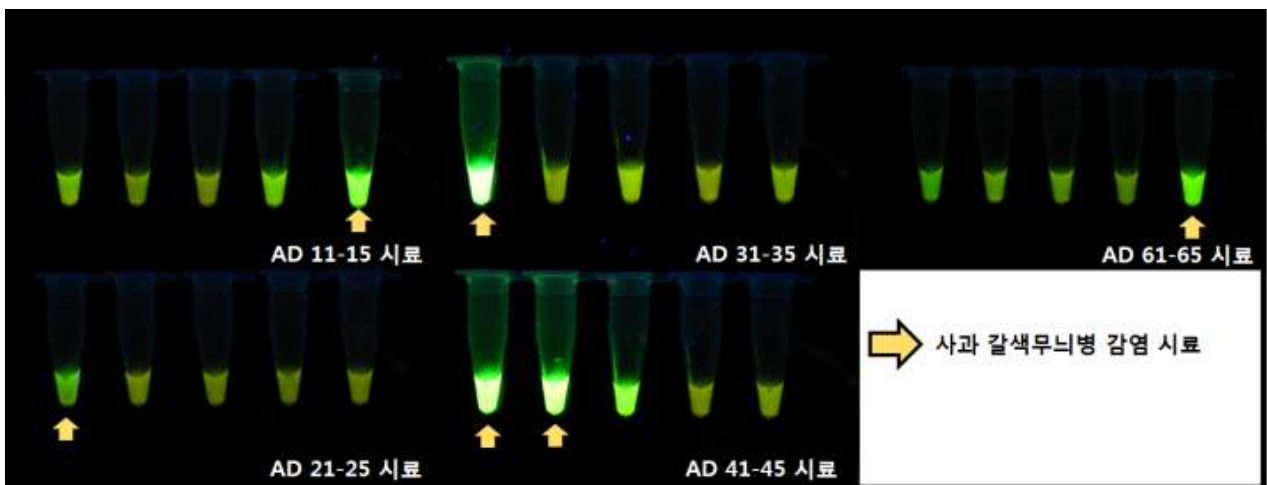


그림 20. 경북 안동 채집시료의 LAMP 진단법을 이용한 사과 갈색무늬병의 진단결과

- SD-OCT로 촬영한 경상북도 안동 채집 사과 잎 대상으로 LAMP법으로 감염유무를 검정함.

표 9. 경상북도 안동에서 채집한 사과 잎에 대한 사과 갈색무늬병 진단 결과

	1	2	3	4	5
AD-1	건전	건전	건전	건전	감염
AD-2	감염	건전	건전	건전	건전
AD-3	감염	건전	건전	건전	건전
AD-4	감염	감염	건전	건전	건전
AD-6	건전	건전	건전	건전	감염

○ LAMP법을 이용하여 감염유무를 검정한 결과, 경상북도 안동소재 농가에서 채집한 25개의 시료 중 6개가 감염으로 확인됨.

의

② 경상북도 의성 채집 시료의 LAMP 분석 결과 및 갈색무늬병 감염 여부 진단 결과

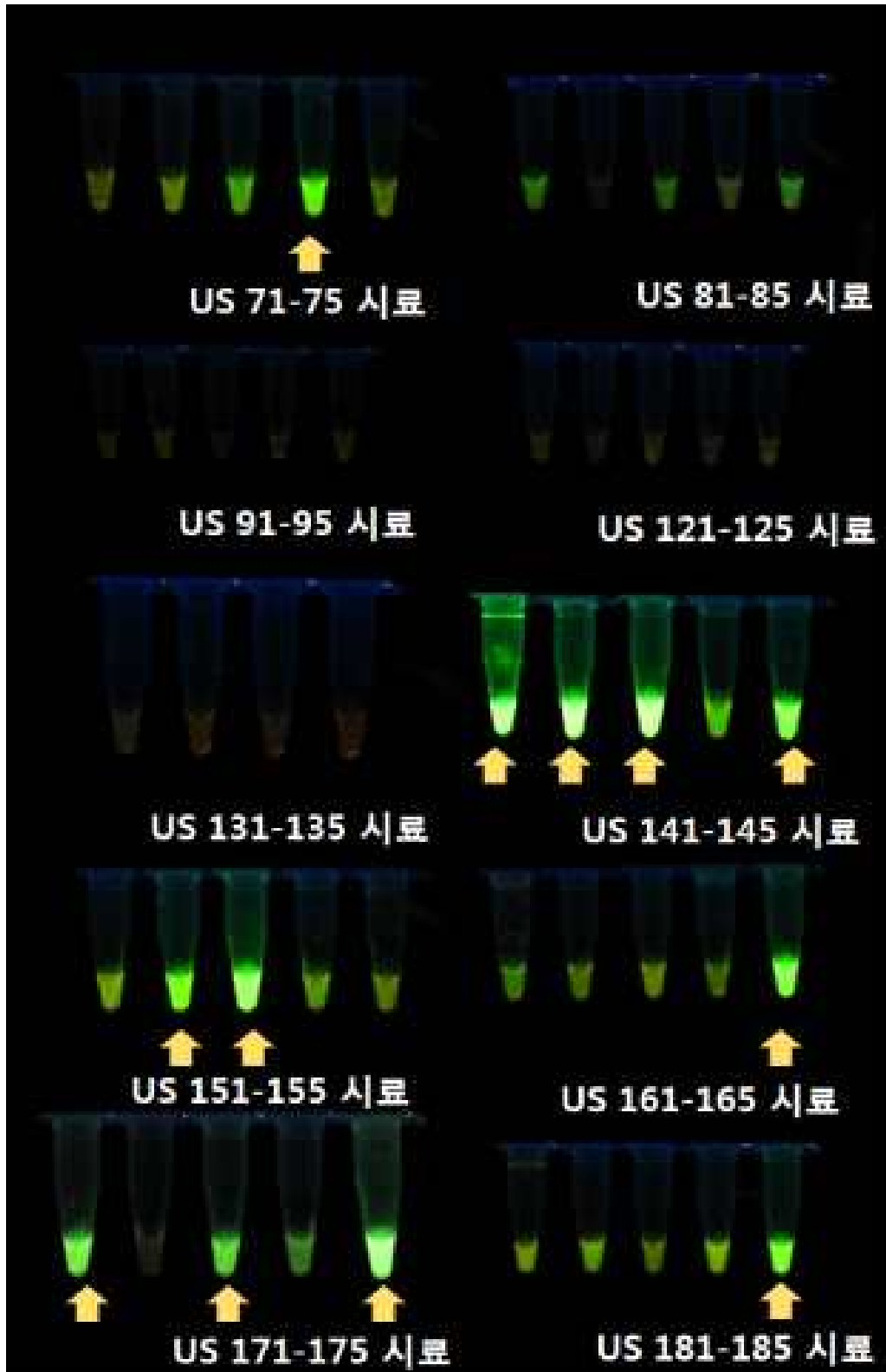


그림 21. 경북 의성 채집시료의 LAMP 진단법을 이용한 사과 갈색무늬병의 진단결과

○ SD-OCT로 촬영한 경상북도 의성 채집 사과 잎 대상으로 LAMP법으로 감염유무를 검정함.

표 10. 경상북도 의성에서 채집한 사과 잎에 대한 사과 갈색무늬병 진단 결과

	1	2	3	4	5
US-7	건전	감염	건전	건전	건전
US-8	건전	건전	건전	건전	건전
US-9	건전	건전	건전	건전	건전
US-12	건전	건전	건전	건전	건전
US-13	건전	건전	건전	건전	건전
US-14	감염	감염	감염	감염	건전
US-15	감염	감염	건전	건전	건전
US-16	감염	건전	건전	건전	건전
US-17	감염	감염	건전	감염	건전
US-18	건전	건전	건전	감염	건전

○ LAMP법을 이용하여 감염유무를 검정한 결과, 경상북도 의성소재 농가에서 채집한 50개의 시료 중 10개가 감염으로 확인됨.

③ 경상북도 영천 채집 시료의 LAMP 분석 결과 및 갈색무늬병 감염 여부 진단 결과

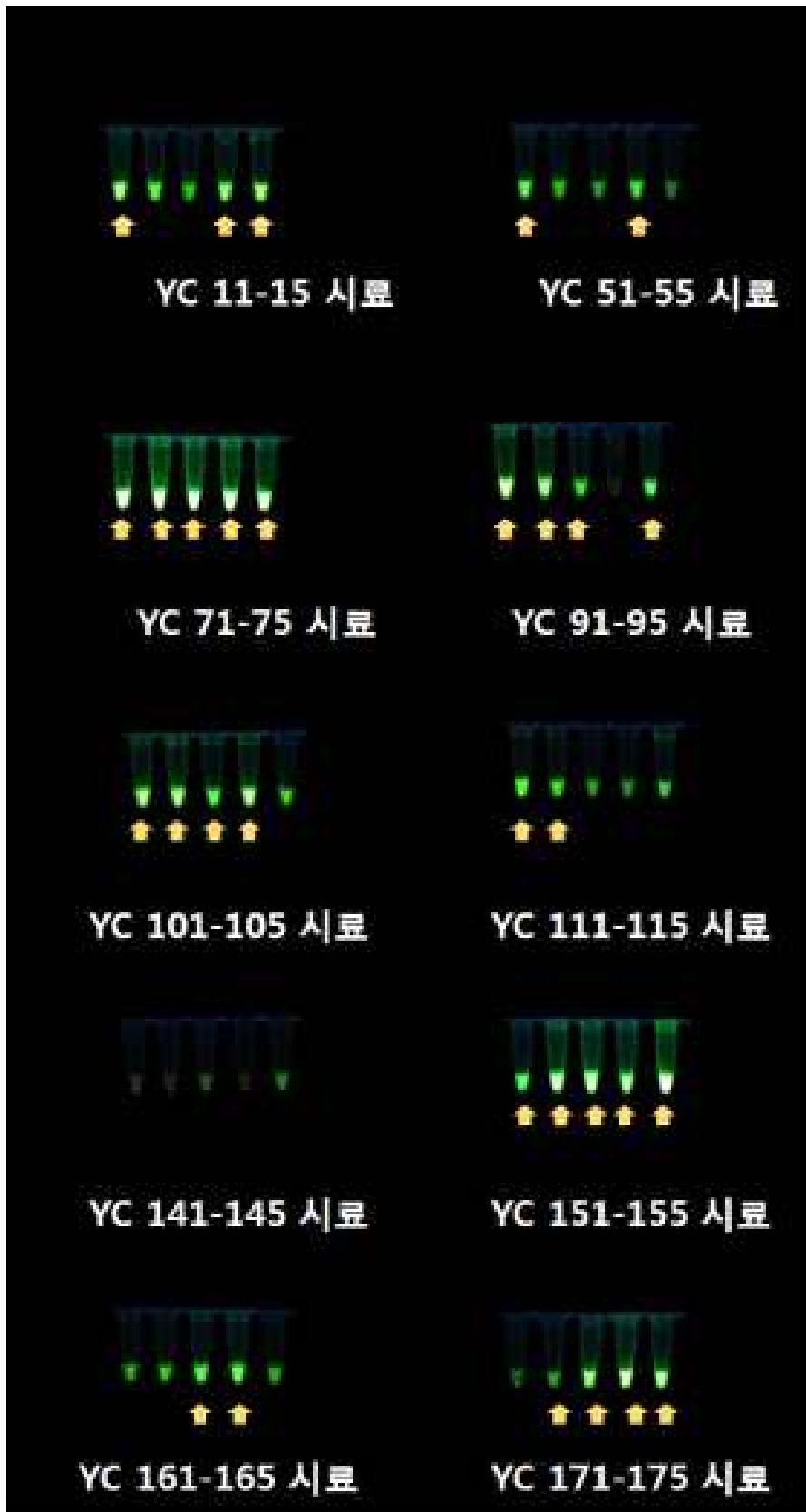


그림 22. 경북 영천 채집시료의 LAMP 진단법을 이용한 사과 갈색무늬병의 진단결과

○ SD-OCT로 촬영한 경상북도 영천 채집 사과 잎 대상으로 LAMP법으로 감염유무를 검정함.

표 11. 경상북도 영천에서 채집한 사과 잎에 대한 사과 갈색무늬병 진단 결과

	1	2	3	4	5
YC-1	감염	건전	건전	감염	감염
YC-5	감염	건전	건전	감염	건전
YC-7	감염	감염	감염	감염	감염
YC-9	감염	감염	감염	건전	감염
YC-10	감염	감염	감염	감염	건전
YC-11	감염	감염	건전	건전	건전
YC-14	건전	건전	건전	건전	건전
YC-15	감염	감염	감염	감염	감염
YC-16	건전	건전	감염	감염	건전
YC-17	건전	감염	감염	감염	감염

○ LAMP법을 이용하여 감염유무를 검정한 결과, 경상북도 영천소재 농가에서 채집한 50개의 시료 중 31개가 감염으로 확인됨.

(3) SD-OCT와 LAMP법으로 분석된 결과의 비교

○ SD-OCT로 촬영 후 A-scan으로 분석한 결과와 촬영이 끝난 시료를 이용한 LAMP결과를 비교하여 분석함.

① 경상북도 안동 채집 시료의 A-scan 및 LAMP 분석 결과

표 12. 경북 안동지역에서 채집한 시료의 A-scan 및 LAMP 분석 비교 결과

도	시/군	채집 시료	A-scan 결과	LAMP 결과	일치여부	
경상북도	안동	AD-1	1	건전	건전	O
			2	건전	건전	O
			3	건전	건전	O
			4	건전	건전	O
			5	감염	감염	O
		AD-2	1	감염	감염	O
			2	건전	건전	O
			3	건전	건전	O
			4	건전	건전	O
			5	건전	건전	O
		AD-3	1	감염	감염	O
			2	건전	건전	O
			3	건전	건전	O
			4	건전	건전	O
			5	감염	건전	X
		AD-4	1	감염	감염	O
			2	감염	감염	O
			3	건전	건전	O
			4	건전	건전	O
			5	건전	건전	O

	1	감염	건전	X
	2	감염	건전	X
AD-6	3	감염	건전	X
	4	건전	건전	O
	5	감염	감염	O
총계	25	감염: 10	감염: 6	84%

○ 감염 일치율: $(21/25) \times 100 = 84\%$

- 경상북도 안동 채집시료의 경우, SD-OCT로 관찰 후 A-scan 분석 결과 25개의 시료 중 10개의 시료가 감염으로 판정되었으며, LAMP 결과 25개의 시료 중 6개가 감염으로 판정되었음.
- 또한 A-scan 분석 결과와 LAMP 결과의 일치율은 84%로 나타났음.

② 경상북도 의성 채집 시료의 A-scan 및 LAMP 분석 결과

표 13. 경북 의성지역에서 채집한 시료의 A-scan 및 LAMP 분석 비교 결과

도	시/군	채집 시료	A-scan 결과	LAMP 결과	일치여부	
		1	건전	건전	O	
		2	감염	감염	O	
	US-7	3	감염	건전	X	
		4	건전	건전	O	
		5	건전	건전	O	
경상북도	의성	1	감염	건전	X	
		2	건전	건전	O	
		US-8	3	감염	건전	X
		4	감염	건전	X	
		5	건전	건전	O	
	US-9	1	건전	건전	O	
		2	건전	건전	O	

	3	건전	건전	O
	4	건전	건전	O
	5	감염	건전	X
US-12	1	건전	건전	O
	2	건전	건전	O
	3	감염	건전	X
	4	건전	건전	O
	5	건전	건전	O
US-13	1	건전	건전	O
	2	건전	건전	O
	3	건전	건전	O
	4	건전	건전	O
	5	건전	건전	O
US-14	1	감염	감염	O
	2	건전	감염	X
	3	감염	감염	O
	4	감염	감염	O
	5	건전	건전	O
US-15	1	감염	감염	O
	2	감염	감염	O
	3	건전	건전	O
	4	건전	건전	O
	5	건전	건전	O
US-16	1	감염	감염	O
	2	건전	건전	O

	3	건전	건전	O
	4	건전	건전	O
	5	건전	건전	O
	1	감염	감염	O
	2	감염	감염	O
US-17	3	건전	건전	O
	4	건전	감염	X
	5	건전	건전	O
	1	건전	건전	O
	2	감염	건전	X
US-18	3	건전	건전	O
	4	감염	감염	O
	5	건전	건전	O
총계	50	감염: 17	감염: 10	84%

감염 일치율: $(42/50) \times 100 = 84\%$

- 경상북도 의성 채집시료의 경우, SD-OCT로 관찰 후 A-scan 분석 결과 50개의 시료 중 17개의 시료가 감염으로 판정되었으며, LAMP 분석 결과 10개가 감염으로 판정되었음.
- 또한 A-scan 분석 결과와 LAMP 결과의 일치율은 84%로 나타났음.

③ 경상북도 영천 채집 시료의 A-scan 및 LAMP 분석 결과

표 14. 경북 영천지역에서 채집한 시료의 A-scan 및 LAMP 분석 비교 결과

도	시/군	채집 시료	A-scan 결과	LAMP 결과	일치여부	
			1	감염	감염	O
			2	감염	건전	X
경상북도	의성	YC-1	3	건전	건전	O
			4	감염	감염	O

	5	감염	감염	O
YC-5	1	감염	감염	O
	2	건전	건전	O
	3	감염	건전	X
	4	감염	감염	O
	5	감염	건전	X
YC-7	1	감염	감염	O
	2	감염	감염	O
	3	감염	감염	O
	4	감염	감염	O
	5	건전	감염	X
YC-9	1	감염	감염	O
	2	감염	감염	O
	3	감염	감염	O
	4	감염	건전	X
	5	감염	감염	O
YC-10	1	건전	감염	X
	2	감염	감염	O
	3	감염	감염	O
	4	감염	감염	O
	5	건전	건전	O
YC-11	1	감염	감염	O
	2	감염	감염	O
	3	감염	건전	X

	4	건전	건전	O
	5	건전	건전	O
YC-14	1	감염	건전	X
	2	건전	건전	O
	3	감염	건전	X
	4	건전	건전	O
	5	건전	건전	O
YC-15	1	감염	감염	O
	2	감염	감염	O
	3	감염	감염	O
	4	감염	감염	O
	5	감염	감염	O
YC-16	1	감염	건전	X
	2	감염	건전	X
	3	감염	감염	O
	4	감염	감염	O
	5	감염	건전	X
YC-17	1	건전	건전	O
	2	감염	감염	O
	3	감염	감염	O
	4	감염	감염	O
	5	감염	감염	O
총계	50	감염: 39	감염: 31	일치율: 76%

감염 일치율: $(38/50) \times 100 = 76\%$

- 경상북도 영천 채집시료의 경우, SD-OCT로 관찰 후 A-scan 분석 결과 50개의 시료 중 39개의 시료가 감염으로 판정되었으며, LAMP 분석 결과 31개가 감염으로 판정되었음.
- 또한 A-scan 분석 결과와 LAMP 결과의 일치율은 76%로 나타났음.

④ SD-OCT를 이용한 A-scan 및 LAMP 분석 결과의 비교

- 경상북도 안동, 의성, 영천에서 채집된 125개의 시료 중, A-scan법으로 분석한 결과 66개의 시료가 감염으로 확인되었으며, LAMP 법으로 분석한 결과 47개의 시료가 감염으로 확인되었음.
- 또한 A-scan 분석 결과와 LAMP 결과를 비교한 결과, 안동지역은 84%, 의성지역은 84% 그리고 영천지역의 경우 76%의 높은 일치율을 확인함.

다. 1차년도: 배 검은별무늬병 감염 잎 및 건전 잎에 대한 OCT 단층 이미지 확보 및 배검은별무늬병균 유전체 분석을 통한 분자마커 탐색

(1) SD-OCT를 이용한 배 검은별무늬병 감염 및 건전 잎에 대한 OCT 단층 이미지 확보

- 개발된 휴대용 SD-OCT를 이용하여 배 검은별무늬병 감염 잎과 건전 잎에 대한 분석 및 OCT 단층 이미지를 확보함.
- 경상북도 상주소재 배 농가에서 배검은별무늬병균에 감염된 잎과 건전 잎을 각각 약 50엽 이상 채집하여 SD-OCT로 관찰함.
- 감염된 잎은 뒷부분에 부정형, 타원형, 원형의 흑색 반점과 줄기에 그을음 증상을 동반하였으며, 신고 품종의 건전 잎과 이병잎을 채집함.

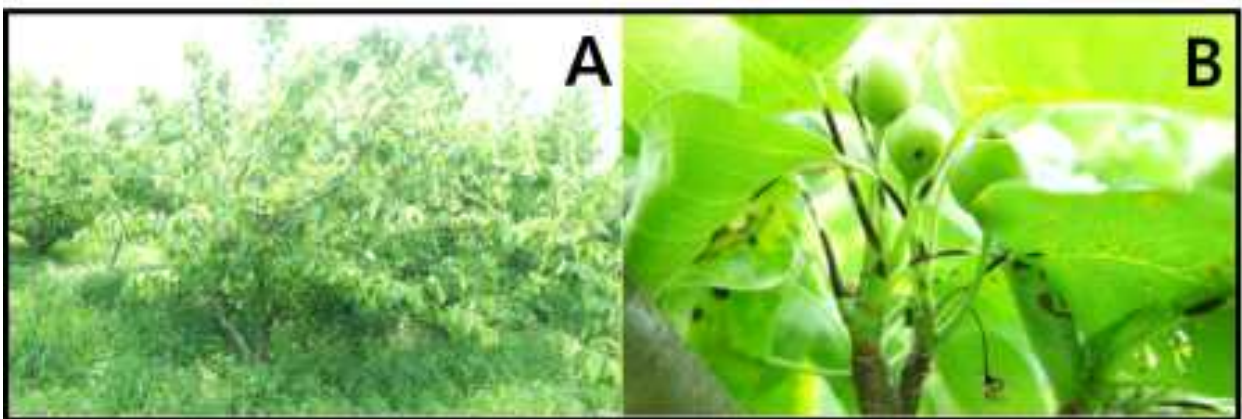
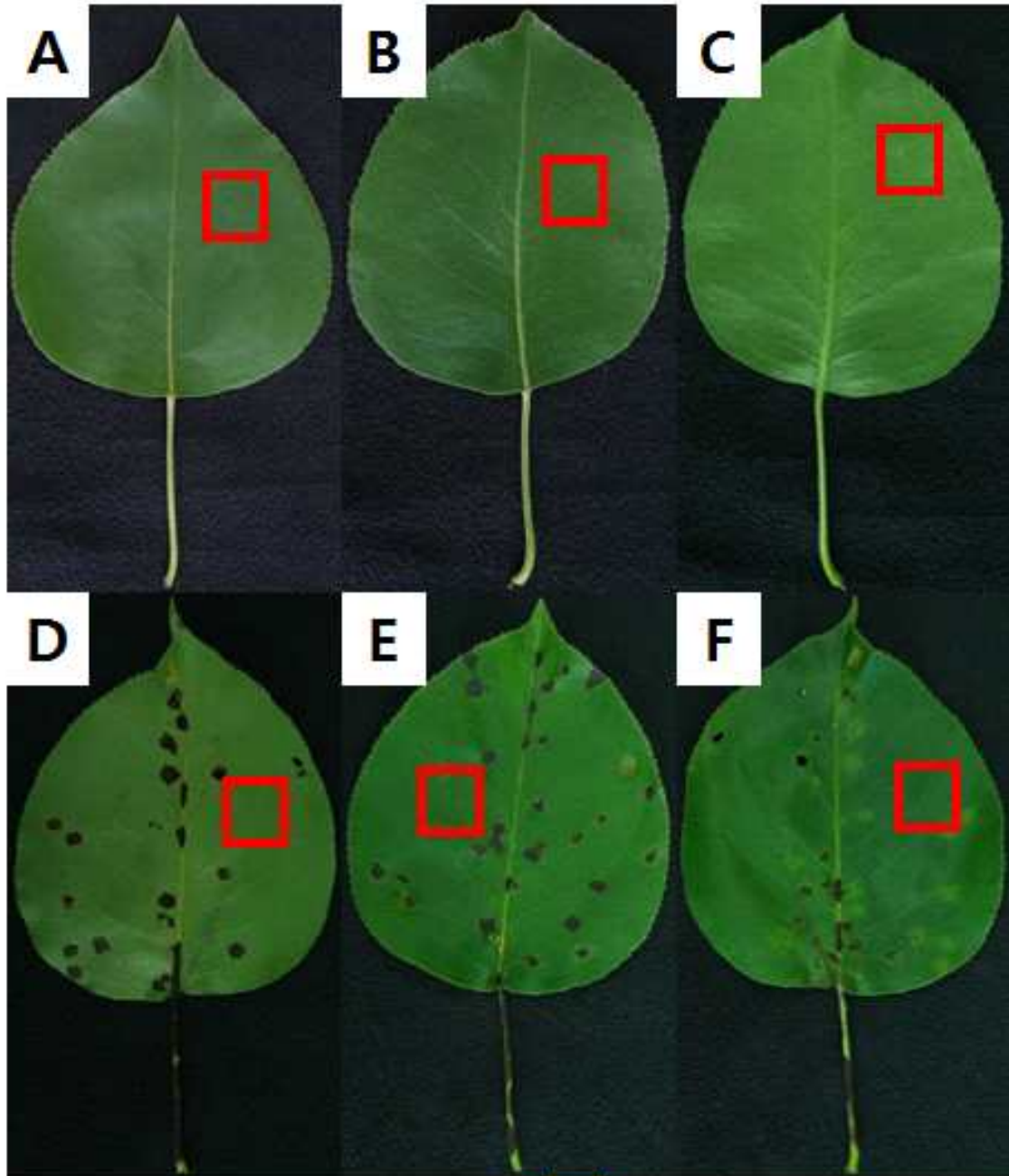


그림 23. 배 검은별무늬병 감염 잎의 채집. A: 배 검은별무늬병 다발생 포장의 모습, B: 배 검은별무늬병의 전형적인 증상

- 채집된 건전 잎과 감염 잎을 이용하여 SD-OCT로 건전 잎의 건전부위와 이병잎의 건전한 부위를 관찰하였으며, 건전 잎의 잎자루와 병이 발생한 잎자루의 내부형태를 SD-OCT로 관찰함.
- SD-OCT로 획득된 이미지는 신호의 강도를 분석하기 위해 OCT image에서 60개의 신호를 이용하여 A-scan 분석을 진행함.

① SD-OCT를 이용한 건전 잎과 배 검은별무늬병 감염 잎의 단층 이미지 확보

- SD-OCT로 관찰된 부위는 건전 잎의 건전부위와 감염 잎의 건전부위를 촬영 하였으며 촬영 후 획득된 이미지는 A-scan 분석을 진행함.




 SD- OCT 촬영 부위

그림 24. 경상북도 상주소재 배 농가에서 채집한 ‘신고’ 배 건전 잎과 배 검은별무늬병 감염 잎. A, B, C: 건전 잎, D, E, F: 배 검은별무늬병 감염 잎.

- SD-OCT로 촬영 결과, 건전 잎과 감염 잎 모두 첫 번째 층(1st layer)과 두 번째 층(2nd layer)이 잘 관찰되었으며, 건전 잎과 감염 잎의 경우 이러한 첫 번째 층과 두 번째 층간의 간격이 차이가 나타나는 것을 확인함(그림 23).

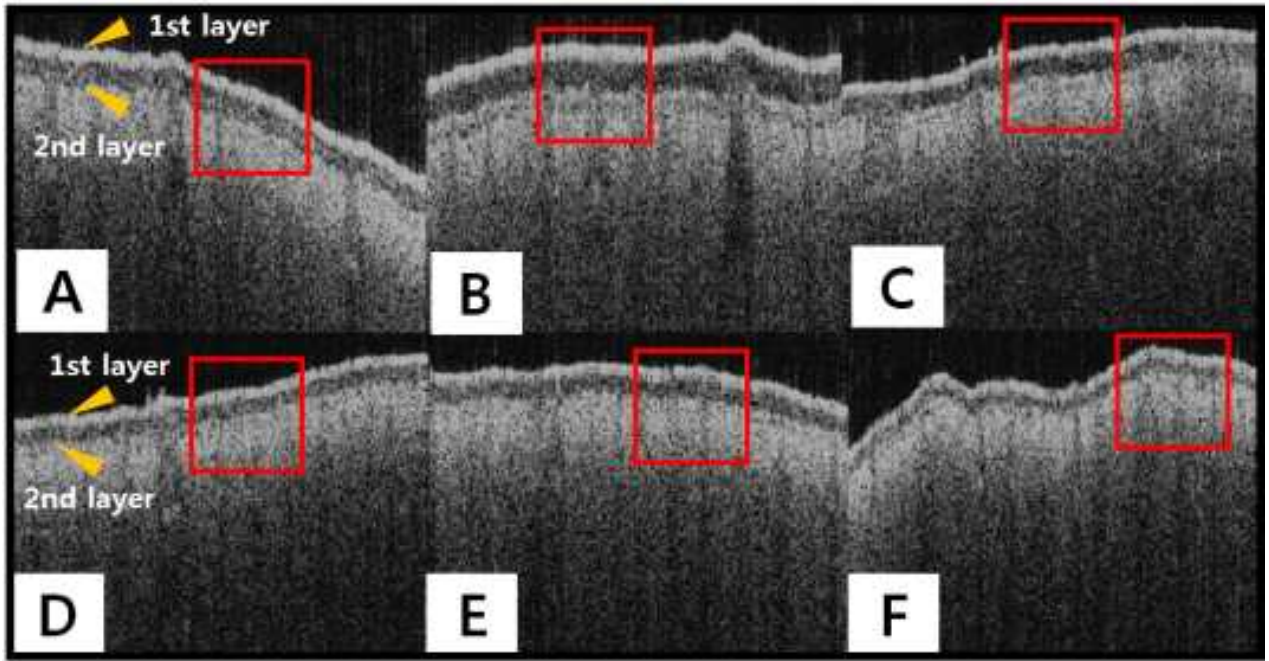


그림 25. SD-OCT로 관찰된 배 건전 잎과 배 검은별무늬병 감염 잎. A, B, C: 건전 잎, D, E, F: 배 검은별무늬병 감염 잎. 적색사각형: A-scan 분석 부위

- SD-OCT로 촬영한 결과를 이용하여 A-scan 분석법으로 신호의 강도를 분석한 결과, 감염 잎들의 신호강도는 건전 잎들과는 구별되는 신호강도를 나타내었음(그림 25).

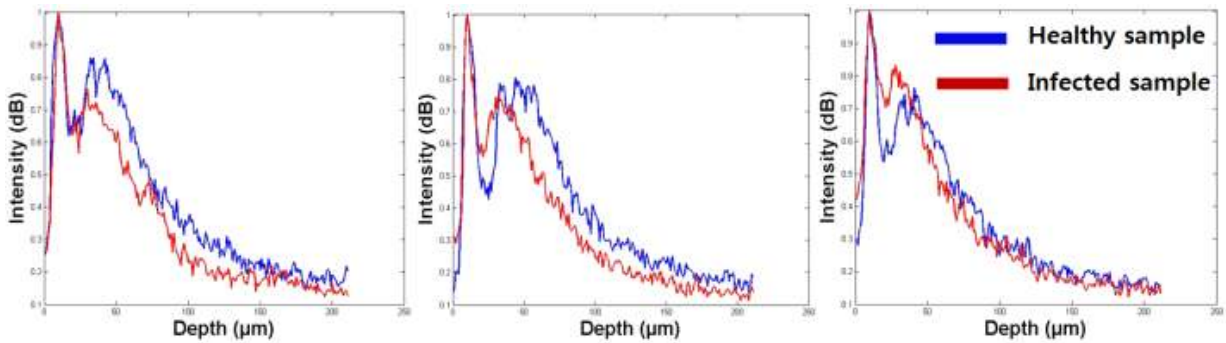


그림 26. SD-OCT로 획득된 배 건전 잎과 배 검은별무늬병 감염 잎의 이미지에 대한 A-scan 분석 결과. A, B, C: 건전 잎, D, E, F: 배 검은별무늬병 감염 잎. 파란색: 건전 잎, 붉은색: 감염 잎

- 즉, 병반이 관찰되지 않는 감염 잎의 건전부위의 경우, 건전 잎의 건전부위보다 신호의 강도가 약하거나, 깊이에 따른 신호강도가 서로 다른 모습으로 관찰되었음(그림 26).

② SD-OCT를 이용한 건전 잎자루와 배 검은별무늬병 감염 잎자루의 단층 이미지 확보

- 배검은별무늬병균의 경우, 잎뿐만 아니라 잎자루에도 감염되므로 병반이 없는 건전한 잎의 잎자루와 병반이 관찰되는 감염 잎의 잎자루를 SD-OCT로 관찰함.



그림 27. 경상북도 상주소재 배 농가에서 채집한 ‘신고’ 배 건전 잎자루와 배 검은별무늬병 감염 잎자루. A, B, C: 건전 잎자루, D, E, F: 배 검은별무늬병 감염 잎자루.

○ SD-OCT로 촬영 결과, 건전 잎자루와 감염 잎자루 모두 내부 형태가 잘 관찰 되었으며, 건전 잎자루와 감염 잎자루간의 형태적 차이가 관찰됨(그림 25).

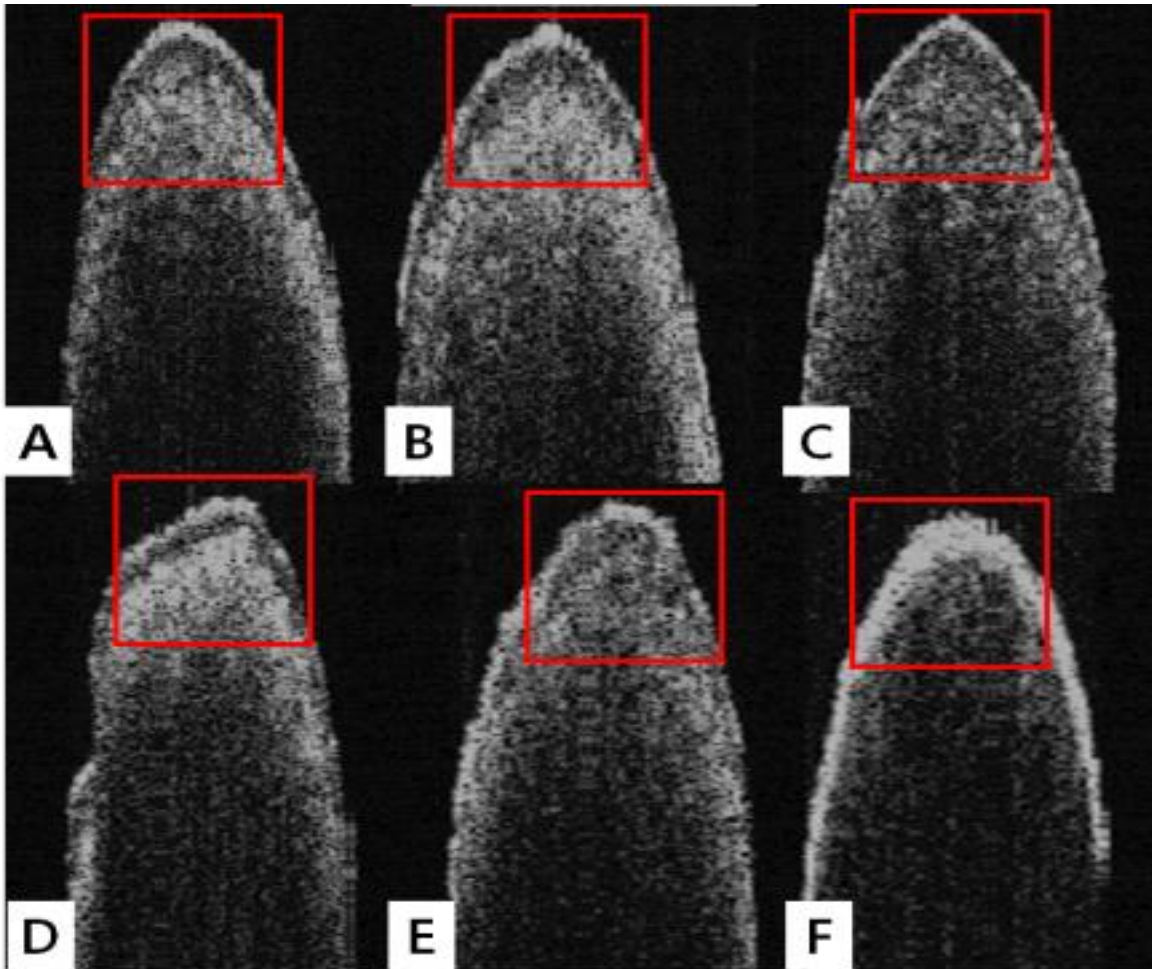


그림 28. SD-OCT로 관찰된 배 건전 잎자루와 배 검은별무늬병 감염 잎자루. A, B, C: 건전 잎자루, D, E, F: 배 검은별무늬병 감염 잎자루. 적색사각형: A-scan 분석 부위

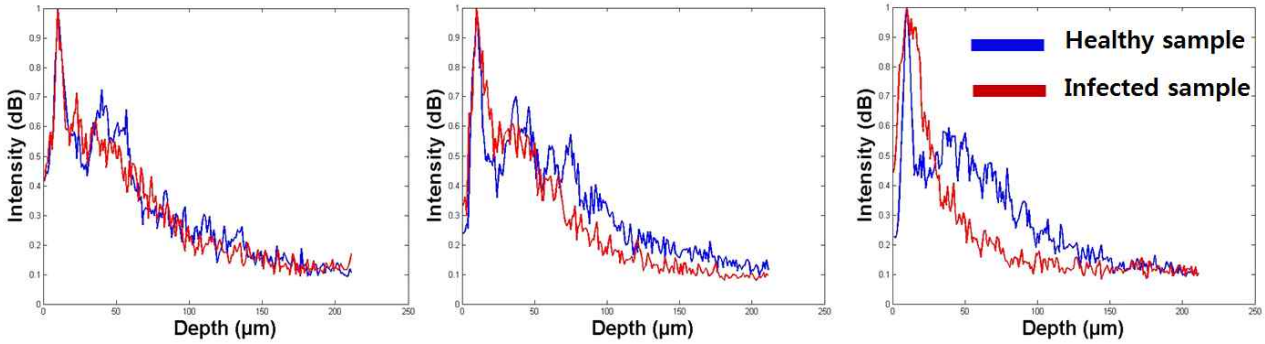


그림 29. SD-OCT로 획득된 배 건전 잎자루와 배 검은별무늬병 감염 잎자루의 이미지에 대한 A-scan 분석 결과. A, B, C: 건전 잎자루, D, E, F: 배 검은별무늬병 감염 잎자루. 파란색: 건전 잎, 붉은색: 감염 잎

- 감염 잎자루의 OCT 이미지를 A-scan법으로 분석한 결과, 건전 잎자루 부위보다 신호의 강도가 약하거나, 깊이에 따른 신호강도가 건전 잎자루와는 다르게 관찰되었음(그림 27).

(2) 배검은별무늬병균 유전체 해독과 이를 이용한 특이 분자마커 탐색

- 배검은별무늬병 이병 시료를 정확히 진단하기 배검은별무늬병균의 유전체 분석과 이를 토대로 특이 분자마커를 탐색함.

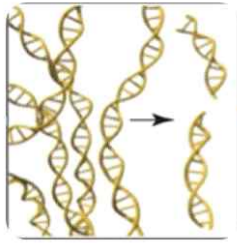
① 공시균주의 total genomic DNA 추출

- 배검은별무늬병균(균주번호 : KNU001) total genomic DNA는 Higene™ Genomic DNA Prep Kit를 사용하여 추출되었으며, 방법은 제조사의 매뉴얼대로 진행함.
- 추출된 total genomic DNA의 개략적인 농도를 측정하기 위해, 전기영동을 실시하여 DNA 단편을 확인함.

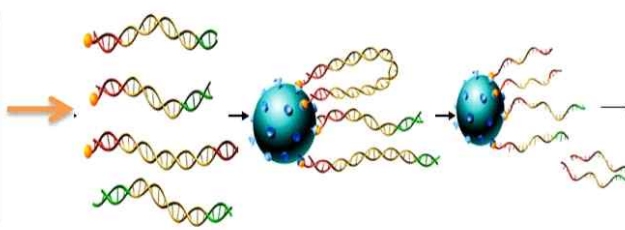
② 반도체 시퀀서를 이용한 배검은별무늬병균의 유전체 분석

- 추출된 total genomic DNA의 농도를 picodrop으로 측정하여 1 μg/100 μl로 보정 후 사용함.
- 배검은별무늬병균 KNU001의 total genomic DNA를 Bioruptor(공진방식 세포파쇄기) 장치를 이용하여 200~400 bp 크기의 DNA 단편으로 제작하고, 단편화 된 DNA 단편 양쪽 말단에 adaptor를 붙이고, DNA library를 제작함. Adaptor가 달린 DNA library를 bead에 1:1로 붙이고, Emulsion PCR을 통해 동일한 DNA library를 대량으로 제작함.
- 대량의 library가 증폭된 bead산물을 반도체 시퀀서에 장착한 후 염기서열 분석을 실시함.
- 대량의 output data를 Linux 기반의 MIRA 3 assembly program을 이용하여 data를 가공하여 draft sequence를 획득함(그림 27).
- 배검은별무늬병균의 draft sequence를 미국 국립생물공학정보센터(National Center for Biotechnology Information(NCBI))에서 contig별로 염기서열을 분석하여 배검은별무늬병균의 특이 적 분자마커 영역을 탐색함.

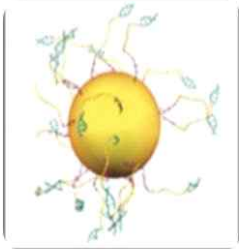
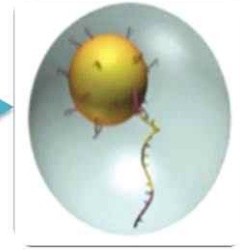
Total genomic DNA단편화



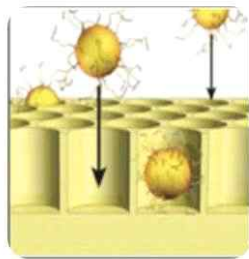
DNA단편에 adaptor 부착



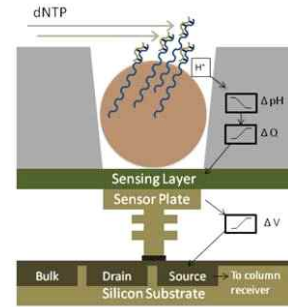
Adaptor와 bead결합



Emulsion PCR 반응 완료



단일가닥 제작 및 micro chip 삽입



수소이온농도 차이를 이용한 염기서열 결정

그림 30. Semiconductor sequencer의 염기서열 분석 원리(Elaine, 2008)

라. 1차년도: 감 등근무늬낙엽병 감염 잎 및 건전 잎에 대한 OCT 단층 이미지 확보 및 감등근무늬 낙엽병균의 유전체 분석을 통한 분자마커 탐색

- 감나무 재배에서 가장 주요한 병해인 감 등근무늬낙엽병을 OCT로 진단 가능한지 확인 하고자, 감염 잎과 건전 잎을 채집하여 OCT 데이터를 확보함.

(1) SS-OCT를 이용한 감 등근무늬낙엽병 감염 및 건전시료의 단층 이미지 확보

- 본 연구팀에서 보유하고 있는 Swept source-optical coherence tomography (SS-OCT)를 이용하여 감 등근무늬낙엽병 감염 잎과 건전 잎을 촬영하여 단층 이미지 확보 및 A-scan 분석을 진행함.

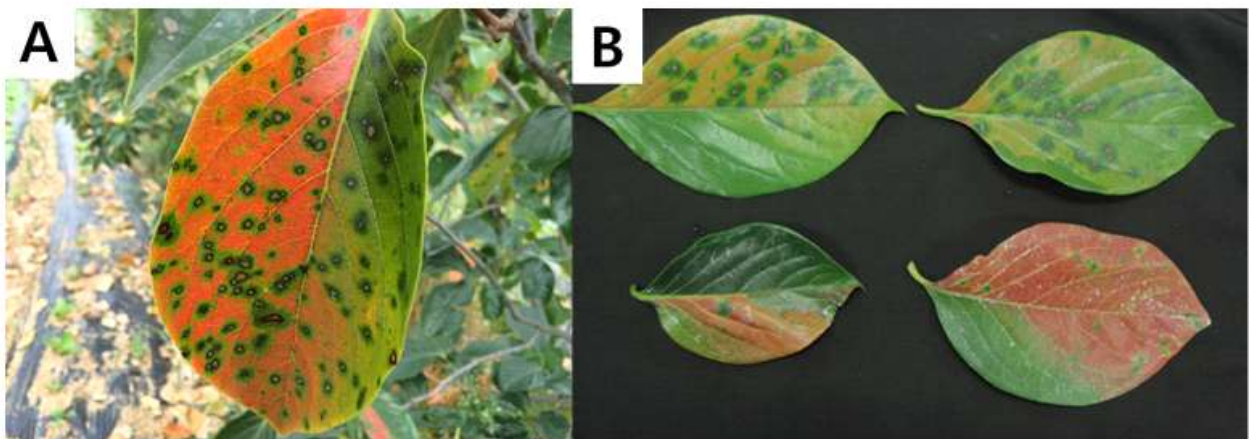


그림 31. 감 등근무늬낙엽병 감염 잎의 채집. A: 감 등근무늬낙엽병의 병징, B: 채집한 감 등근무늬낙엽병 감염 시료.

- 시료의 채집은 2014년 8월-10월까지 경상북도 상주소재 감 재배 농가에서 감 등근무늬낙엽병의 병반을 나타내는 감염시료와 육안 상 병반이 없는 건전 감잎을 채집하여 실험에 사용함.

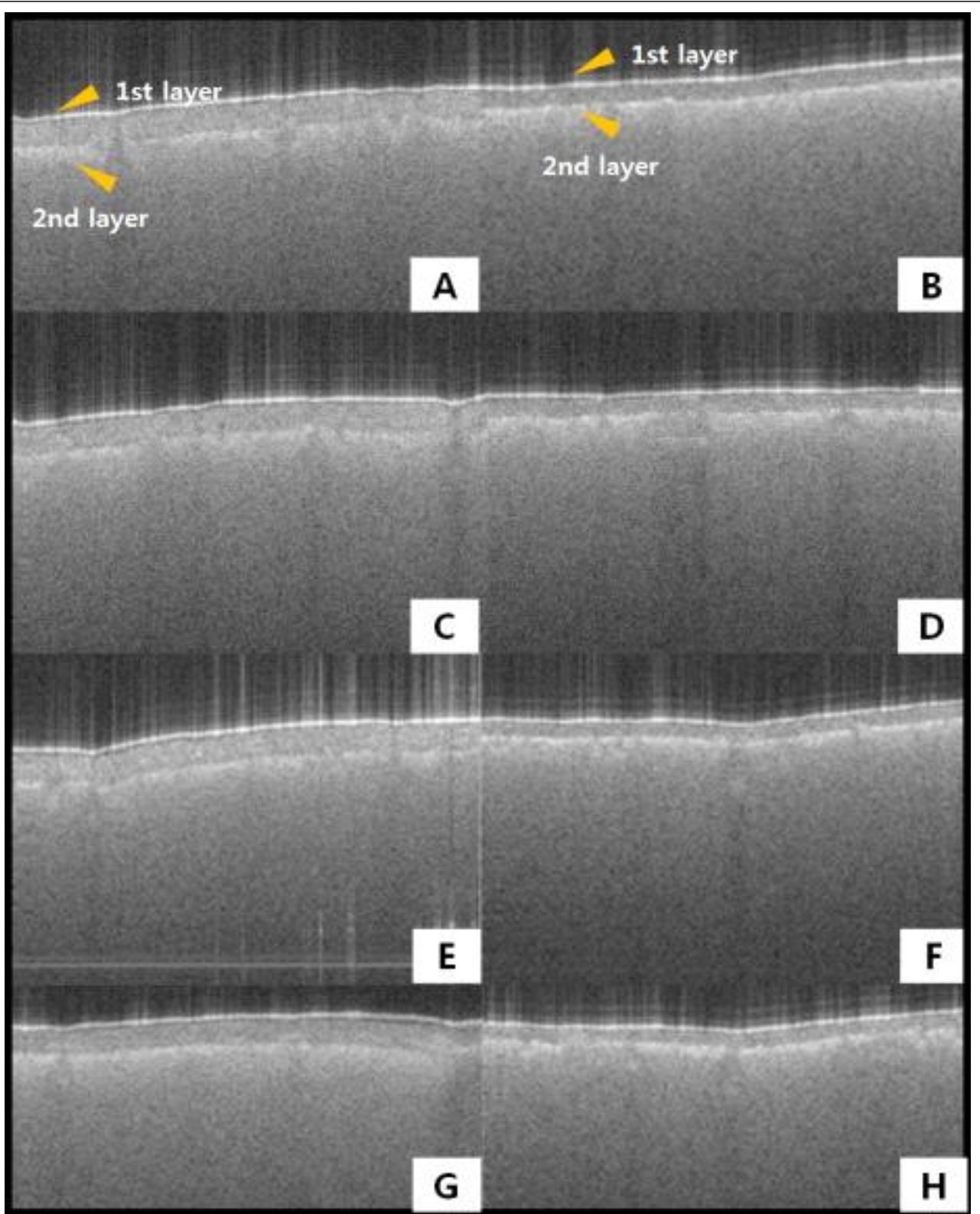


그림 32. SS-OCT로 관찰된 감 건전 앞과 감 등근무늬낙엽병 감염 앞. A, C: 건전 앞, B, D: 감 등근무늬낙엽병 감염 앞

(2) A-scan 분석을 이용한 건전 및 이병시료의 비교분석

- 채집된 건전 감잎과 감 둥근무늬낙엽병 감염 잎을 이용하여 SS-OCT로 건전 잎의 건전부위와 이병잎의 이병 부위를 관찰함.
- SS-OCT로 획득된 이미지는 신호의 강도를 분석하기 위해 OCT image에서 60개의 신호를 이용하여 A-scan 분석을 진행함.
- SS-OCT로 건전 잎과 감염 잎을 관찰한 결과, 건전 잎 감염 잎 모두 첫 번째 층(1st layer)과 두 번째 층(2nd layer)이 명백하게 관찰 되었으며, 건전 잎 감염 잎의 경우 이러한 첫 번째 층과 두 번째 층간의 간격이 차이가 나타나는 것이 확인됨(그림 32).

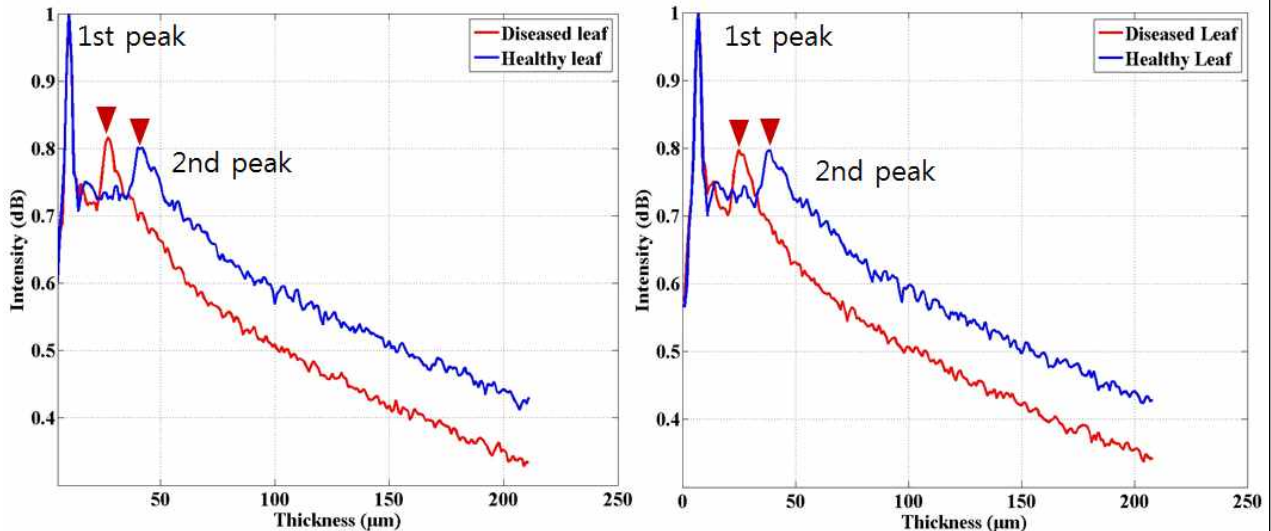


그림 33. SS-OCT로 획득된 건전 잎 감염 잎에 대한 A-scan 분석 결과. 파란색: 건전 붉은색: 감염 잎

- SS-OCT로 획득된 건전 잎 감염 잎의 이미지를 이용하여 A-scan 방법으로 신호의 강도를 분석한 결과, 감염 잎에서 나타나는 신호강도의 peak는 건전 잎에서 나타나는 신호 강도의 peak와 구분되었음(그림 33).

(3) 건전 잎 감염 잎의 내부형태 관찰

- 건전 잎과 감염 잎의 내부형태적인 차이점을 관찰하기 위하여, 각각의 잎을 잘라내어 karnovsky's fixative를 이용하여 24시간동안 고정함.
- 그 후 30%-50%-70%- 80%-90%-absolute EtOH를 차례대로 각각 20분간 처리하여 탈수를 진행하였으며, 탈수가 끝난 시료는 propylen oxide를 이용하여 치환과정을 진행함.
- 치환 과정이 끝난 시료는 spurr's resin으로 포매하고 80℃에서 7시간동안 처리하여 경화시킴. 경화 과정이 끝난 시료는 ultra microtome(RMC, USA)을 이용하여 4 μ m 두께로 잘라 methylene blue로 염색 후 광학현미경(BX-50, Olympus, Japan)으로 200배율로 관찰함.
- 관찰 결과, 감염 잎의 경우 건전 잎 비교하였을 때, 책상조직(PP)과 해면조직(SP)이 붕괴되고, 두께가 약 100 μ m이상 얇아진 것을 확인하였음(그림 34).
- 따라서, 이러한 내부 형태적 결과로 인해 SS-OCT image와 A-scan 분석 결과에서 건전 잎과 감염 잎이 차이를 나타내는 것으로 판단됨.

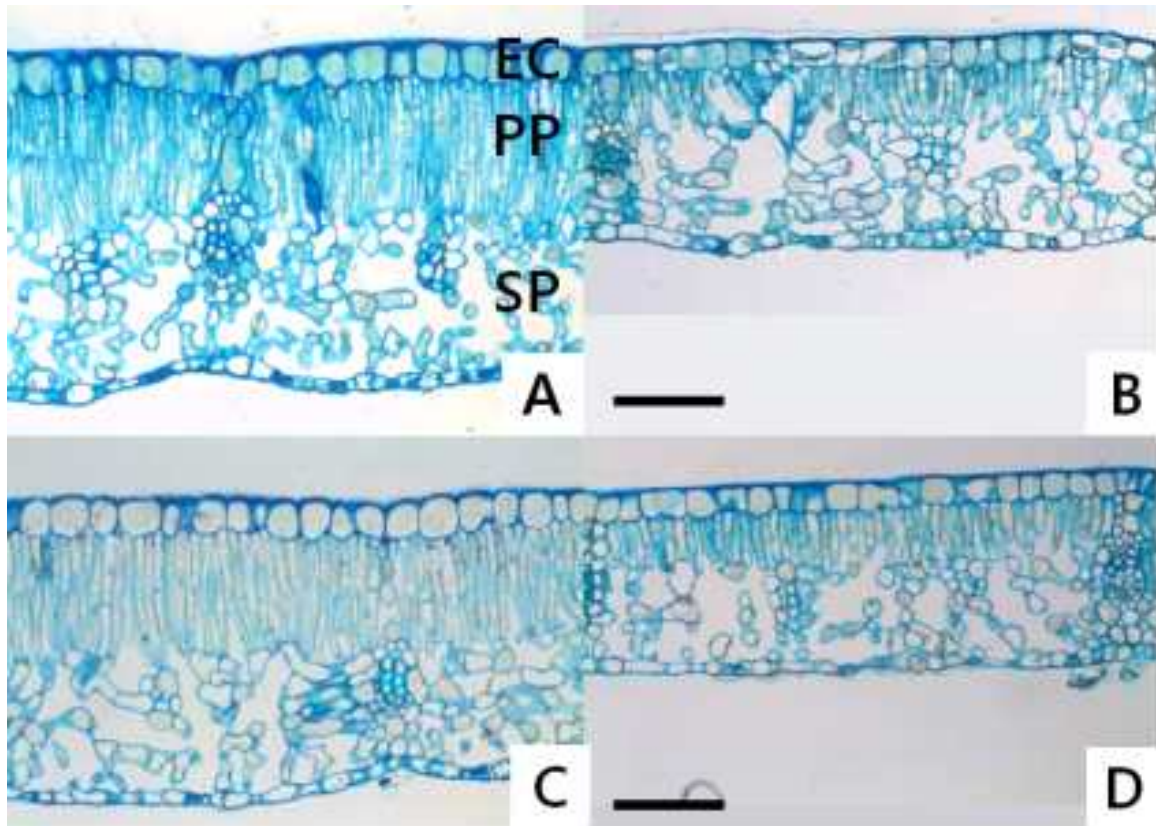


그림 34. 건전 잎과 감 등근무늬낙엽병 이병잎의 내부형태 관찰결과. A, C: 건전 잎, B, D: 이병 잎. EC: 표피세포(Epidermal cell), PP: 책상조직(Palisade parenchyma), SP: 해면조직(Spongy parenchyma). Scale bar: 100 μ m.

(4) 감등근무늬낙엽병균의 유전체 해독과 이를 이용한 분자마커 선발 및 특이 primer 제작

- 감 등근무늬낙엽병 감염 시료를 분자생물학적으로 진단하기 위해 종 특이적 분자마커를 탐색함.

(가) 공시균주의 total genomic DNA 추출

- 감등근무늬낙엽병균 (균주번호 : MN-KNU001) total genomic DNA는 Higene™ Genomic DNA Prep Kit를 사용하여 추출되었으며, 방법은 제조사의 매뉴얼대로 진행함.
- 추출된 total genomic DNA의 개략적인 농도를 측정하기 위해, 전기영동을 실시하여 DNA 단편을 확인함.

(나) 반도체 시퀀서를 이용한 감등근무늬낙엽병균의 유전체 분석

- 감등근무늬낙엽병균 MN-KNU001의 total genomic DNA를 Bioruptor(공진방식 세포파쇄기) 장치를 이용하여 200~400 bp 크기의 DNA 단편으로 제작하고, 단편화 된 DNA 단편 양쪽 말단에 adaptor를 붙인 후, DNA library를 제작함. Adaptor가 달린 DNA library를 bead에 1:1로 붙이고, Emulsion PCR을 통해 동일한 DNA library를 대량으로 제작함.
- 추출된 total genomic DNA의 개략적인 농도를 측정하기 위해, 전기영동을 실시하여 DNA 단편을 확인함.
- 대량의 library가 증폭된 bead산물을 반도체 시퀀서에 장착한 후 염기서열 분석을 실시함.
- 대량의 output data를 Linux 기반의 MIRA 3 assembly program을 이용하여 data를 가공하여 draft sequence를 획득함.

```

IPO-Export-fac-XM003852023      ATGCAGCC-CATCAT-GGTCTCCAGCAAGAGCGCTGCTCCGTCGCCCCGAC 48.
MN-KNU001                       CTTAAGCCTCGTCATCGGTATCGGGAGGGTGTGGGGTTCCTTG----- 44.
*   **** *   **** *   **** *   *   *   *   *   **** *   *

IPO-Export-fac-XM003852023      GACATCGCCGCCCTCAACAAGACGATTTACACCTCAAAGACCTCTCAGGA 98.
MN-KNU001                       -GGACTGTTG-----AGCCATTCGATGTG-----TCGCAGGCGTCTTCTAA 84.
*   *   *   *   *   *   *   **** *   *   *   *   *   *

IPO-Export-fac-XM003852023      G-TCGCTCGACGCCTCTTACGCGCTCACAGATGTTCTCCTGAACAGTGTG 147.
MN-KNU001                       CCTCGCGCTCCTTCTGCTGAGCTCTCGTCAAC-TTCTTCT----- 123.
**** *   *   ** *   ** *   *   *   *   *   **** *

IPO-Export-fac-XM003852023      GGTGCTCGCGGACTTGCCGCCTATGGCGTCTCGAAGAGGTTCTGAAGGC 197.
MN-KNU001                       -TCTTCTTAGCCCTGAACCTTCATGTCATC--AGCAGGTCCTT-----C 163.
*   ** *   *   ** *   **** *   *   *   **** *   *

```

그림 35. 감동근무늬낙엽병균의 진단용 분자마커 선발이 가능한 mRNA export factor 유전자 영역 (노란색 박스: Primer 선발 가능 영역)

- 감동근무늬낙엽병균의 draft sequence를 미국 국립생물공학정보센터(NCBI)에서 contig 별로 염기 서열을 분석하여 감동근무늬낙엽병균의 특이적 분자마커 영역을 탐색함.

(다) 감동근무늬낙엽병균의 특이적 primer 선발

- 선발된 감동근무늬낙엽병균의 특이적 분자마커 영역에서 감동근무늬낙엽병균의 특이적 primer를 선발하여 PCR을 수행함.
- 선발된 Glycoside hydrolase family 3 유전자 영역에서 종 특이적 primer를 제작하여 종 특이적 primer pair(예상크기: 200bp)로 PCR을 수행하였으며, 수행결과, 목적인 약 200bp의 DNA 단편이 증폭되는 것을 확인함.

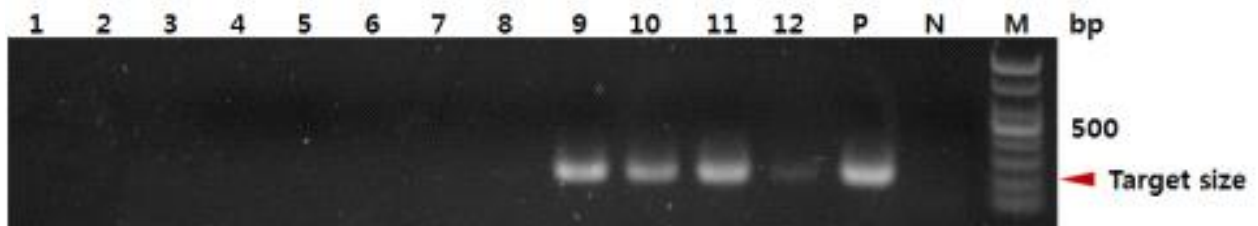


그림 35-1. 감동근무늬낙엽병균 특이적 primer를 이용하여 수행한 PCR 결과. 1-4: 건전 잎, 5-8: 감염된 이병나무에서 채집한 건전 잎, 9-12: 병징이 관찰되는 이병잎, P: 감동근무늬낙엽병균 DNA(Positive), N: Negative control.

마. 2차년도: OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 및 배 검은별무늬병 진단기술 확립 및 확대 적용

- 사과 갈색무늬병과 배 검은별무늬병은 사과 및 배에 가장 주요한 병해중 하나이며, 두 병해 모두 접종이 어려워 그 생태에 대한 연구가 어렵고, 발생하면 방제가 어려워 조기 진단이 매우 중요함. 이에 OCT를 이용하여 사과 갈색무늬병 및 배 검은별무늬병을 진단하는 기술을 검정하고 확립하기 위하여 포장시험을 수행함.

(1) OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 진단 기술 확대 적용

- 휴대용 SD-OCT를 이용하여 ‘홍로’ 및 ‘후지’ 품종 사과를 대상으로 병징이 관찰되지 않는 4월 중순부터 5월 중순까지 사과 잎을 OCT로 관찰하여 A-scan 분석을 수행하였으며, LAMP법을 이용하여 사과갈색무늬병균의 감염여부 진단을 병행함.

(가) 실험구 설정

- 경상북도 상주시 공검면(SJ-Gong) 소재 사과원과 대구광역시 북구 경북대학교(DG-KNU) 내 사과원에서 실험을 수행함.
- 시험품종은 ‘홍로’ 및 ‘후지’ 품종으로 실험을 수행하였으며, 상주시 공검면의 사과원에는 ‘홍로’ 품종 사과나무 3그룹을 선발하여 실험을 진행하였으며, 경북대학교 내 사과원에서는 ‘후지’ 품종의 사과나무 5그룹을 선발하여 실험을 수행함.



그림 36. 휴대용 SD-OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 진단 실험. A: 실험대상 잎의 구별을 위한 라벨링 모습, B: 휴대용 SD-OCT를 이용한 대상 잎의 촬영 모습, C: 촬영 부위. Red line: 촬영 부위



그림 37. 휴대용 SD-OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 진단 실험. A: 실험대상 잎의 구별을 위한 라벨링 모습, B: 휴대용 SD-OCT를 이용한 대상 잎의 촬영 모습, C: 촬영 부위. Red line: 촬영 부위

- 선발된 나무에서 6개의 잎을 선발하여, 3개의 잎은 계속적으로 모니터링을 실시하였고, 나머지 3잎은 채집하여 LAMP 검정을 수행함. SD-OCT 촬영은 전년도에 수행했던 촬영 방법과 동일하게 한 잎 당 3곳을 촬영하여 데이터를 확보함.

(나) 조사기간 및 실험방법

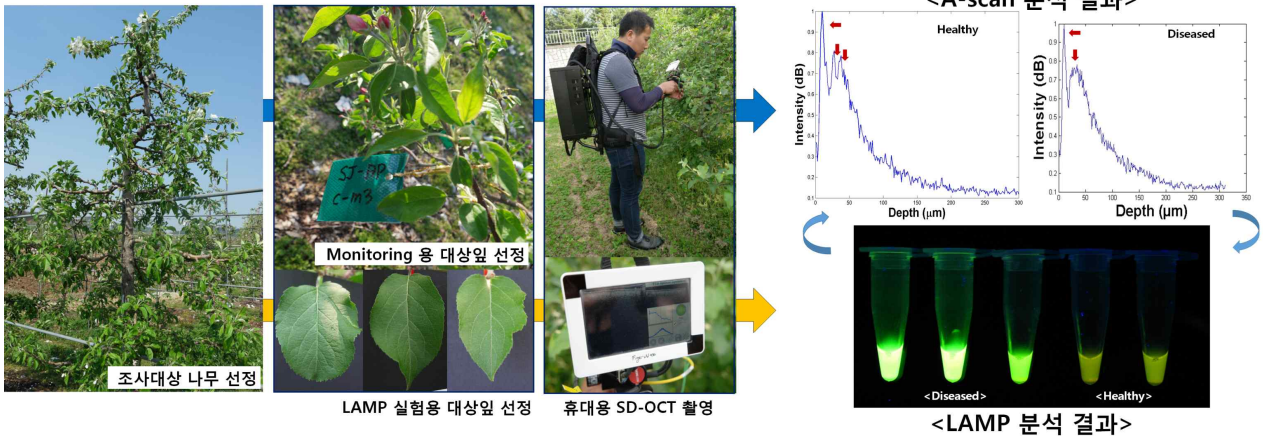


그림 38. 휴대용 SD-OCT와 LAMP법을 이용한 갈색무늬병 진단법의 모식도

- Monitoring 용으로 선발된 잎들은 채집하지 않고, 실험기간동안 동일한 부위를 촬영하여 A-scan 데이터를 확보하였으며, LAMP 실험용으로 선발된 잎들은 OCT 촬영 후 채집하여 LAMP법으로 분석하고, 획득된 OCT에서 A-scan 분석을 실시하여 LAMP 진단 결과와 비교하였음. 조사 기간은 16년 4월 15일부터 5월 18일까지 진행하였으며, 4월은 기상 상황에 따라 3-4일 간격으로 조사하였고, 5월은 7일 간격으로 조사를 하였음.

(다) LAMP법을 이용한 사과 갈색무늬병 진단



그림 39. LAMP법을 이용한 사과 갈색무늬병의 현장형 진단법

- 채집된 건전 사과 잎은 0.5×0.5 cm로 절단하고, LAMP용 마쇄액(0.2M NaCl, 0.2M Tris-HCl(pH 8.0))에 시료를 침지시켜 마쇄함.

- 마쇄액 1 μl 를 취하여 LAMP 반응액(2 μl 의 10 pM FIP/BIP primer set, 0.5 μl 의 F3/B3 primer set, 2.5 μl 의 $10 \times$ ThermoPol Reaction Buffer [20 mM Tris-HCl, 10 mM KCl, 10 mM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 2mM MgSO_4 , 0.1% TritonX-100, New England Biolabs, USA], 0.5 μl 의 10 mM dNTP, 16 μl DDW)에 첨가한 후 60°C로 설정한 항온수조에서 반응시킨 후 1 μl *Bst* DNA polymerase large fragment(8 unit/ μl , New England Biolabs, USA) 첨가하여 45분간 반응하였으며, 반응이 종료된 후 1 μl SYBR green solution I(1,000 \times stock)로 염색하여 감염유무를 확인함.

(라) 휴대용 SD-OCT 및 LAMP 진단법을 이용한 사과 갈색무늬병의 진단

(2) A-scan을 이용한 사과 갈색무늬병의 진단

- 상주시 공검면 ‘홍로’사과 재배포장(SJ-Field-1)과 대구시 북구 경북대학교 내 ‘후지’ 사과 재배 포장(DG-Field-2)에서 4월 중순부터 5월 중순까지 약 1달간 실험을 수행함.
- OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 진단은 4월 중순을 기점으로 기상 상황을 고려하여 기준일에서 5일, 7일, 10일, 14일, 20일, 26일, 33일 후 OCT로 가슴 높이에 있는 잎을 무작위로 3잎을 선정하여 촬영하였음.
- OCT로 촬영한 잎들은 채집하여 LAMP를 수행하였고, 획득된 OCT image는 A-scan 분석을 수행하고, 나타나는 peak로 감염유무를 검정함.

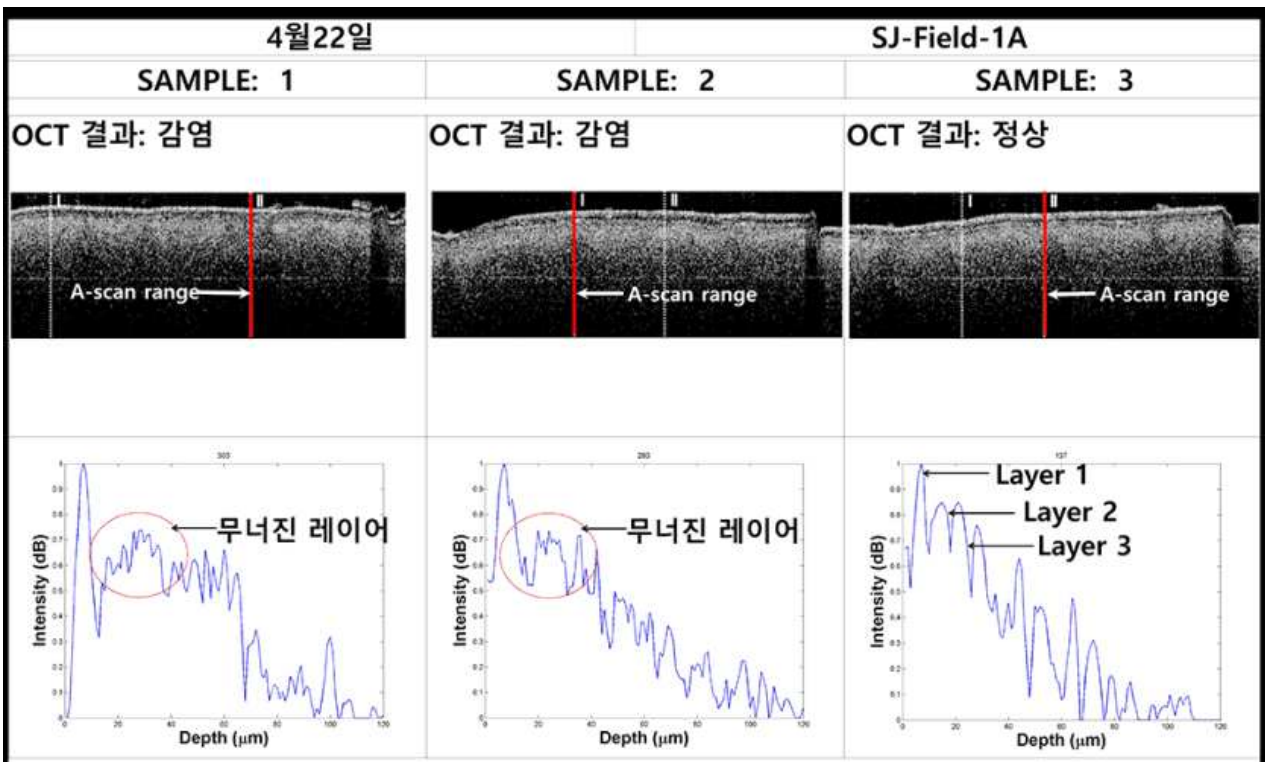


그림 40. 상주시 공검면 재배포장(SJ-Field-1) 시험구 A에서 획득된 OCT 이미지 및 A-scan 분석결과

- 전년도 결과와 마찬가지로, 엽육조직에서 획득된 OCT image를 대상으로 A-scan 분석을 실시하고, 나타나는 layer를 관찰함.
- A-scan 분석 결과, layer 1, layer 2, layer 3이 명확히 관찰되면 건전으로, layer 2와

layer 3이 붕괴되는 패턴을 보이면 감염으로 판단함.

- 각각 촬영한 OCT image의 A-scan 분석결과를 확인하고, Layer 3개가 명확하게 보이면 건전, layer 2번 및 layer 3번이 무너진 패턴을 보이면 감염으로 판단함(그림 40).

표 15. OCT를 이용한 상주시 공검면 홍로 시험구(SJ-Field-1)에서의 사과 갈색무늬병 진단

지역	품종	채집 시료	A-scan 결과	OCT 촬영일	
상주시 공검면 (SJ- Field-1)	홍로	1	건전	4월 중순 (D+5)	
		SJ-Field-1A	2		건전
			3		건전
			1		건전
		SJ-Field-1B	2		감염
			3		건전
			1		감염
		SJ-Field-1C	2		건전
			3		건전
	1		감염		
	홍로	SJ-Field-1A	2	감염	4월 말 (D+7)
			3	감염	
			1	건전	
		SJ-Field-1B	2	감염	
			3	건전	
			1	감염	
		SJ-Field-1C	2	감염	
			3	감염	
			1	건전	
	홍로	SJ-Field-1A	2	건전	4월 말 (D+14)
			3	감염	
1			건전		
SJ-Field-1B		2	건전		
		3	건전		
		1	감염		
SJ-Field-1C		2	건전		
		3	건전		
		1	감염		
홍로	SJ-Field-1A	1	감염	5월 중순	

		2	건전	
		3	감염	
		1	감염	
	SJ-Field-1B	2	감염	(D+26)
		3	감염	
		1	감염	
	SJ-Field-1C	2	감염	
		3	감염	
		1	감염	
	SJ-Field-1A	2	감염	
		3	감염	
		1	감염	5월 중순
	SJ-Field-1B	2	감염	(D+33)
		3	감염	
		1	감염	
	SJ-Field-1C	2	감염	
		3	건전	

표 16. OCT를 이용한 대구 경북대학교 후지 시험구(DG-Field-2)에서의 사과 갈색무늬병 진단 결과

지역	품종	채집 시료	A-scan 결과	OCT 촬영일
		1	건전	
		DG-Field-2A	2	감염
			3	건전
		1	감염	
		DG-Field-2B	2	감염
			3	건전
대구		1	감염	4월 말
북구		DG-Field-2C	2	감염
(DG-	후지		3	감염
Field-2)		1	건전	(D+7)
		DG-Field-2D	2	건전
			3	감염
		1	건전	
		DG-Field-2E	2	건전
			3	건전
		DG-Field-2A	1	건전
				4월 말

	2	감염	
	3	건전	
DG-Field-2B	1	감염	
	2	건전	
	3	건전	
DG-Field-2C	1	건전	
	2	감염	(D+14)
	3	건전	
DG-Field-2D	1	건전	
	2	감염	
	3	건전	
DG-Field-2E	1	건전	
	2	건전	
	3	건전	
DG-Field-2A	1	감염	
	2	감염	
	3	감염	
DG-Field-2B	1	감염	
	2	감염	
	3	감염	
DG-Field-2C	1	건전	5월 중순
	2	건전	(D+26)
	3	건전	
DG-Field-2D	1	건전	
	2	감염	
	3	감염	
DG-Field-2E	1	건전	
	2	건전	
	3	건전	
DG-Field-2A	1	감염	
	2	감염	
	3	건전	
DG-Field-2B	1	건전	5월 중순
	2	건전	(D+33)
	3	건전	
DG-Field-2C	1	건전	
	2	건전	

	3	건전
	1	건전
DG-Field-2D	2	감염
	3	감염
	1	감염
DG-Field-2E	2	감염
	3	감염

○ A-scan 분석 결과, 상주 홍로품종 시험구의 경우 4월 중순부터 일부 시험구에서 갈색무늬병의 감염패턴이 확인되었으며, 경북대학교 후지품종 시험구의 경우 4월 말부터 갈색무늬병의 감염패턴이 확인되었음.

(3) LAMP법을 이용한 상주 홍로품종 시험구 및 대구 후지품종 시험구 채집 시료의 진단

○ OCT를 이용하여 홍로 및 후지 품종 시험구에서 잎을 촬영하고, 촬영된 샘플을 기내에서 LAMP법으로 갈색무늬병 검정을 실시함.

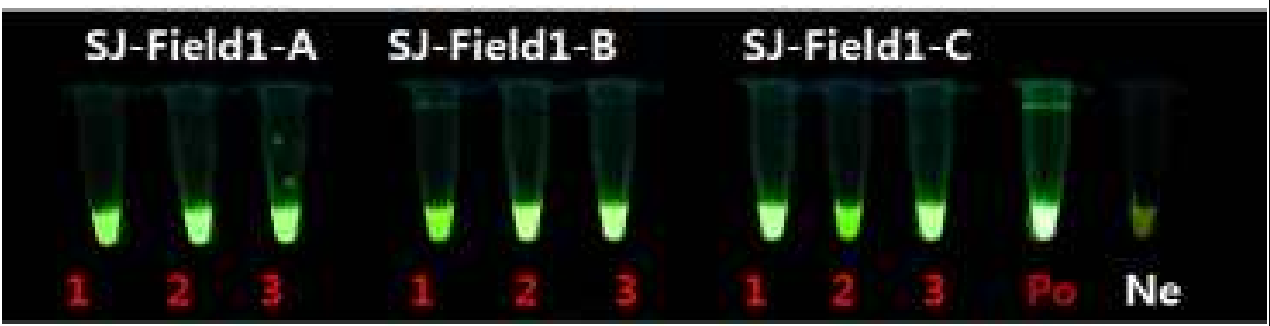


그림 41. 상주시 공검면 홍로 시험구(4월 말, D+7) 및 대구시 북구 경북대학교 내 후지 시험구(4월 말, D+7)에서 채집된 잎에 대한 갈색무늬병 진단 결과. Po: Positive(갈색무늬병균 genomic DNA), Ne: Negative(건전 사과 잎 DNA), LAMP 검정 후 UV illuminator에서 관찰함. 붉은색: LAMP 발색 sample(갈색무늬병 감염)

- 채집되는 시료를 대상으로 LAMP 검정을 수행한 결과, 상주 홍로품종 시험구에서는 4월 말 경 최초로 LAMP에서 발색이 관찰되었으며, 대구 경북대학교 후지품종 시험구에서도 마찬가지로 4월 말경 갈색무늬병에 감염된 샘플이 관찰되었으며(그림 X), 이 후 실험 종료인 5월 중순까지 갈색무늬병의 감염 패턴은 지속적으로 확인되었음.
- 이상 획득된 LAMP 결과와 A-scan 결과를 비교하여 일치율을 비교함.

표 17. 상주 및 대구에서 채집된 사과 잎에 대한 A-scan 및 LAMP법을 통한 갈색무늬병의 진단 결과

지역	품종	채집 시료	A-scan 결과	LAMP 결과	일치 여부	OCT 촬영 일	
상주시 공검면	홍로	SJ-Field-1A	1	Null	건전	-	4월 중순 (D+0)
			2	Null	건전	-	

		3	Null	건전	-	
		1	Null	건전	-	
	SJ-Field-1B	2	Null	건전	-	
		3	Null	건전	-	
		1	Null	건전	-	
	SJ-Field-1C	2	Null	건전	-	
		3	Null	건전	-	
		1	건전	건전	O	
	SJ-Field-1A	2	건전	건전	O	
		3	건전	건전	O	
		1	건전	건전	O	4월 중순 (D+5)
	SJ-Field-1B	2	감염	건전	X	
		3	건전	건전	O	
		1	감염	건전	X	
	SJ-Field-1C	2	건전	건전	O	
		3	건전	건전	O	
		1	감염	감염	O	
	SJ-Field-1A	2	감염	감염	O	
		3	감염	감염	O	
		1	건전	감염	X	4월 말 (D+7)
	SJ-Field-1B	2	감염	감염	O	
		3	건전	감염	X	
		1	감염	감염	O	
	SJ-Field-1C	2	감염	감염	O	
		3	감염	감염	O	
		1	Null	감염	-	4월 말 (D+10)
	SJ-Field-1A	2	Null	감염	-	
		3	Null	감염	-	
		1	Null	감염	-	
	SJ-Field-1B	2	Null	감염	-	
		3	Null	감염	-	
	SJ-Field-1C	1	Null	감염	-	

	2	Null	감염	-	
	3	Null	감염	-	
SJ-Field-1A	1	건전	건전	O	
	2	건전	건전	O	
	3	감염	감염	O	
SJ-Field-1B	1	건전	감염	X	4월 말 (D+14)
	2	건전	건전	O	
	3	건전	건전	O	
SJ-Field-1C	1	감염	감염	O	
	2	건전	감염	X	
	3	건전	건전	O	
SJ-Field-1A	1	감염	감염	O	
	2	건전	감염	X	
	3	감염	감염	O	
SJ-Field-1B	1	감염	건전	X	5월 초 (D+20)
	2	감염	감염	O	
	3	감염	감염	O	
SJ-Field-1C	1	감염	감염	O	
	2	감염	감염	O	
	3	감염	감염	O	
SJ-Field-1A	1	감염	감염	O	
	2	감염	감염	O	
	3	감염	감염	O	
SJ-Field-1B	1	감염	감염	O	5월 중순 (D+26)
	2	감염	감염	O	
	3	감염	감염	O	
SJ-Field-1C	1	감염	감염	O	
	2	감염	감염	O	
	3	건전	감염	X	
SJ-Field-1A	1	감염	감염	O	
	2	감염	감염	O	5월 중순 (D+33)
	3	감염	감염	O	
SJ-Field-1B	1	감염	감염	O	

			2	감염	감염	O	
			3	감염	건전	X	
		SJ-Field-1C	1	감염	감염	O	
			2	건전	건전	O	
			3	감염	건전	X	
지역	품종	채집 시료		A-scan 결과	LAMP 결과	일치 여부	OCT 촬영 일
		DG-Field-2A	1	건전	건전	O	
			2	감염	감염	O	
			3	건전	건전	O	
		DG-Field-2B	1	감염	감염	O	
			2	감염	감염	O	4월 말 (D+7)
			3	건전	건전	O	
		DG-Field-2C	1	감염	건전	X	
			2	감염	감염	O	
			3	감염	건전	X	
		DG-Field-2D	1	건전	건전	O	
			2	건전	건전	O	
			3	감염	감염	O	
		DG-Field-2E	1	건전	건전	O	
			2	건전	건전	O	
			3	건전	감염	X	
		DG-Field-2A	1	Null	감염	-	
			2	Null	건전	-	
			3	Null	감염	-	4월 말 (D+10)
		DG-Field-2B	1	Null	감염	-	
			2	Null	감염	-	

	3	Null	감염	-	
	1	Null	감염	-	
DG-Field-2C	2	Null	감염	-	
	3	Null	감염	-	
	1	Null	감염	-	
DG-Field-2D	2	Null	감염	-	
	3	Null	건전	-	
	1	Null	건전	-	
DG-Field-2E	2	Null	건전	-	
	3	Null	건전	-	
	1	건전	건전	O	
DG-Field-2A	2	감염	감염	O	
	3	건전	건전	O	
	1	감염	건전	X	
DG-Field-2B	2	건전	건전	O	
	3	건전	건전	O	
	1	건전	건전	O	
DG-Field-2C	2	감염	건전	X	4월 말 (D+14)
	3	건전	건전	O	
	1	건전	건전	O	
DG-Field-2D	2	감염	감염	O	
	3	건전	건전	O	
	1	건전	건전	O	
DG-Field-2E	2	건전	건전	O	
	3	건전	건전	O	
	1	감염	감염	O	
DG-Field-2A	2	감염	감염	O	
	3	감염	감염	O	5월 초 (D+20)
	1	감염	건전	X	
DG-Field-2B	2	감염	감염	O	
	3	감염	감염	O	

	1	건전	건전	O	
DG-Field-2C	2	건전	건전	O	
	3	건전	건전	O	
	1	건전	감염	X	
DG-Field-2D	2	감염	감염	O	
	3	감염	건전	X	
	1	건전	건전	O	
DG-Field-2E	2	건전	감염	X	
	3	건전	건전	O	
	1	감염	건전	X	
DG-Field-2A	2	감염	감염	O	
	3	건전	건전	O	
	1	건전	건전	O	
DG-Field-2B	2	건전	건전	O	
	3	건전	건전	O	
	1	건전	건전	O	
DG-Field-2C	2	건전	건전	O	5월 중순 (D+26)
	3	건전	건전	O	
	1	건전	건전	O	
DG-Field-2D	2	감염	감염	O	
	3	감염	감염	O	
	1	감염	감염	O	
DG-Field-2E	2	감염	건전	X	
	3	감염	감염	O	
	1	건전	건전	O	
DG-Field-2A	2	건전	건전	O	
	3	감염	감염	O	
	1	감염	감염	O	5월 중순 (D+33)
DG-Field-2B	2	건전	건전	O	
	3	건전	감염	X	
DG-Field-2C	1	건전	건전	O	

	2	건전	감염	X
	3	감염	감염	O
	1	감염	감염	O
DG-Field-2D	2	감염	건전	X
	3	감염	감염	O
	1	건전	건전	O
DG-Field-2E	2	감염	감염	O
	3	건전	건전	O

A-scan 분석 결과	총계	129	LAMP 검정 결과	총계	162
	감염	67		감염	84

OCT 감염률: $(67/129) \times 100 = 51.9\%$ LAMP 감염률: $(84/162) \times 100 = 51.8\%$

○ 감염 일치율: 80% (총 129개, 일치 104개)

- 4월 중순부터 5월 중순까지 수행된 채집시료에 대한 갈색무늬병 검정 결과, A-scan 분석은 총 129개가 검정되었으며 그중 감염샘플은 67개가 확인되어 감염률은 약 51.9%로 확인되었으며, LAMP법의 경우 총 162개의 샘플이 검정됨. 감염 샘플은 84개가 확인되어 감염률은 약 51.8%로 감염률은 A-scan 분석과 거의 동일하게 확인됨.
- 또한 상호간의 감염 일치율을 확인한 결과, 총 비교대상 129개 중, 104개의 결과가 일치하여 약 80%의 높은 일치율이 확인됨.
- 4월 중순부터 5월 중순까지 약 한달 동안 동일한 잎에 대하여 OCT로 촬영하고 지속적으로 A-scan을 수행한 결과, 실험을 처음 수행하였던 4월 중순에서는 대부분 샘플이 3개의 뚜렷한 layer가 관찰되었으나, 시간이 지날수록 layer 2번, layer 3번이 합쳐지거나, 무너지는 패턴을 관찰할 수 있었음.
- 위 결과는 시간이 지나면서 사과갈색무늬병균에 의해 감염이 이뤄지면서 사과 내부 잎에서 형태적인 변화가 관찰 되었으며, 시간이 지남에 따라 LAMP법으로 진단한 갈색무늬병의 감염율도 함께 높아지는 것과 관련이 있는 것으로 사료됨.

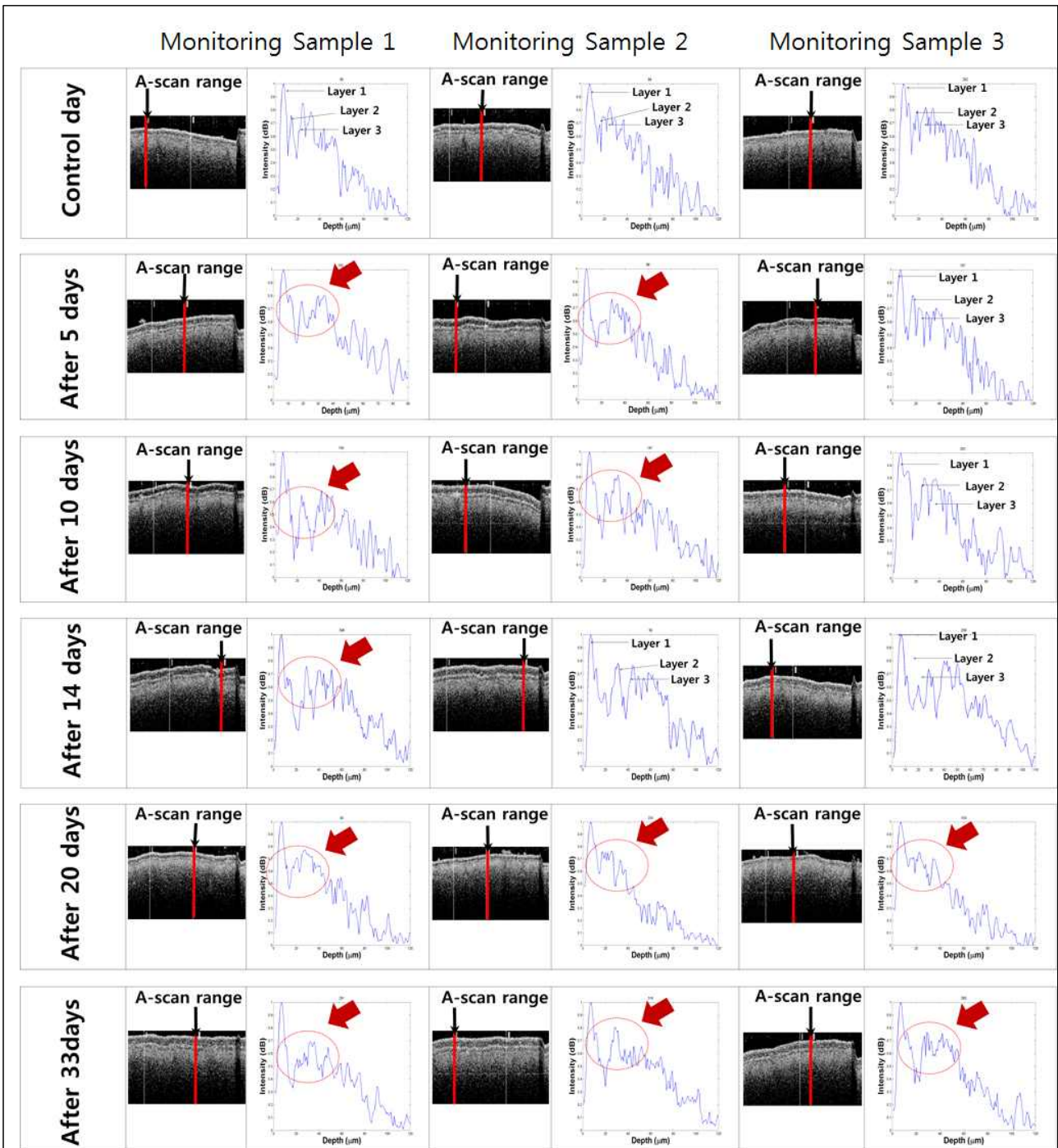


그림 42. 상주 공검면 홍로 시험구(SJ-Field-1)의 A번 사과나무(SJ-Field-1A) 모니터링 샘플의 OCT image 및 A-scan 결과. 붉은색 화살표: 사과 갈색무늬병 감염 패턴.

- 또한 사과 갈색무늬병의 경우, 상주(SJ-Field-1) 및 대구(DG-Field-2) 시험구 모두에서 4월 중순까지 감염이 거의 확인 되지 않다가, 4월 중순(D+7)에 높은 감염률이 확인되었다가, 다시 감소 한 후(D+14), 5월에는 다시 증가하는 패턴이 확인되었음.
- 4월 날씨를 살펴보면, 상주 및 대구지역 모두 4월 중순에 9-10회 정도의 강우를 기록한 것으로 확인됨(기상청, 2016). 따라서 저온 다습한 조건에서 발생이 잘되는 갈색무늬병의 특성상 4월 중순(D+7)에 진단한 결과는 감염률이 높을 수 있으나, 사과의 약제방제가 4

월 중순인 것을 고려하면 7일 후 진단 결과(D+14)에서 어느 정도 방제가 이뤄졌을 가능성이 있음.

(4) 배 검은별무늬병 진단용 분자마커 선발 및 특이적 primer 제작

- 배 검은별무늬병은 *Venturia nashicola*에 의해 발생하며, 병이 발병하게 되면 경제적으로 큰 손실을 일으키는 병해이므로 적절한 방제가 필요한 매우 주요한 병해임.
- 현재까지 배검은별무늬병균을 검출하기 위해 개발된 방법은 종-특이적 PCR법, Real-time PCR이 개발되어 있으나, 검사완료까지 4-5시간이 소요되고 현장진단이 불가능함.
- 위와 같은 사항들을 극복하고자 본 연구과제에서는 LAMP법을 이용하여 배 검은별무늬병을 진단하고자 함.

(가) 공시균주

표 18. 실험에 사용된 *V. nashicola* 및 배에서 발생하는 다른 병원균

No.	Species	Isolates	Culture collection accession number	Geographic origin
1	<i>Venturia nashicola</i>	VN-HD1-17		Hadong
2	<i>V. nashicola</i>	VN-HD1-3		Hadong
3	<i>V. nashicola</i>	VN-HD1-16		Hadong
4	<i>V. nashicola</i>	VN-SJ3		Sejong
5	<i>V. nashicola</i>	VN-SJ19		Sejong
6	<i>V. nashicola</i>	VN-SJ23		Sejong
7	<i>V. nashicola</i>	VN-WJ1-7		Bukwonju
8	<i>V. nashicola</i>	VN-WJ1-13		Bukwonju
9	<i>V. nashicola</i>	VN-WJ1-24	Provided by CNU	Bukwonju
10	<i>V. nashicola</i>	VN-HD3-15		Hadong
11	<i>V. nashicola</i>	VN-HD3-18		Hadong
12	<i>V. nashicola</i>	VN-HD3-19		Hadong
13	<i>V. nashicola</i>	VN-OC54		Occheon
14	<i>V. nashicola</i>	VN-OC48		Occheon
15	<i>V. nashicola</i>	VN-OC30		Occheon
16	<i>V. nashicola</i>	VN-NJ1-15		Naju
17	<i>V. nashicola</i>	VN-NJ1-17		Naju
18	<i>V. nashicola</i>	VN-NJ1-31		Naju
19	<i>Alternaria alternata</i>	Pear	KACC 42131	-
20	<i>A. gaisen</i>	Pear	KACC 42124	-
21	<i>Colletotrichum acutatum</i>	Pear	KACC 40898	-
22	<i>Phytophthora cactorum</i>	Pear	KACC 40174	-
23	<i>Penicillium crustosum</i>	Pear	KACC 44364	-
24	<i>P. expansum</i>	Pear	KACC 43471	-

- LAMP primer를 설계하고 실험을 수행하기 위해, 충북대학교 식물진균병학연구실에서 *V. nashicola* genomic DNA를 분양받아 실험에 사용하였으며, 국립원예특작과학원 나주 배연구소에서 *V. nashicola* 균주를 분양받아 실험에 사용하였음. 개발된 LAMP primer의 특이성을 검정하기 위해, 배에서 발생하는 다른 곰팡이들을 농촌진흥청 농업유전자원정보센터(KACC)에서 분양받아 실험에 이용함. 확보된 균주는 HiGene™ Genomic DNA Prep Kit를 이용하여 total DNA를 추출함.

(나) LAMP primer의 설계

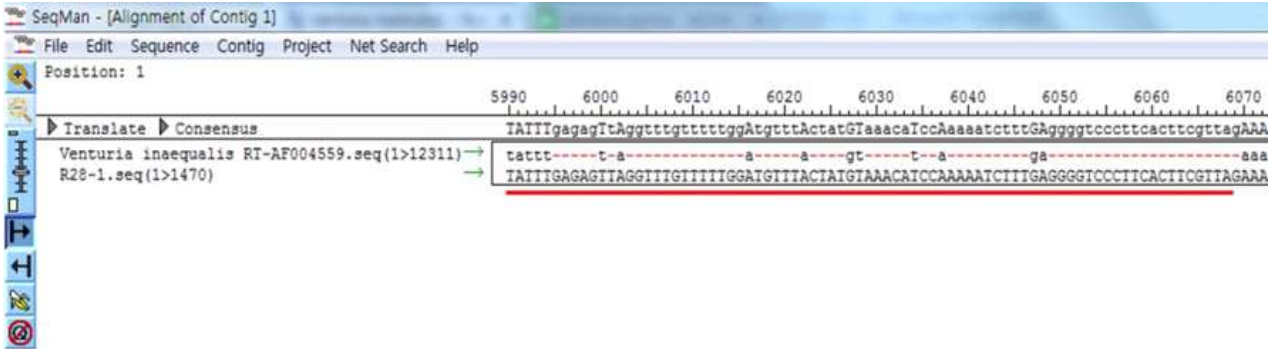


그림 43. 배검은별무늬병균의 진단용 분자마커 선발이 가능한 RT-like protein gene의 유전자 영역. 붉은색 선: 확보된 *V. nashicola* draft sequence(R28-1)와 *V. inaequalis* 와의 비교를 통해 확인된 *V. nashicola*의 특이적 영역

- 1차년도에 획득한 배검은별무늬병균의 draft sequence를 이용하여 종 특이적인 분자마커를 선발함.
- 선발된 RT-like protein gene 영역에서 배검은별무늬병균을 특이적으로 진단하기 위해, 종특이적인 영역의 sequence를 PrimerExploer V4(primerexplorer.jp/e/)에서 LAMP용 primer를 설계하고 확인된 primer를 검정함.

표 19. 배검은별무늬병균 draft sequence의 RT-like protein에서 설계된 LAMP primer

No.	Primer name	Sequence (5'-3')
1	RT-F3	XXX XXX TCA TGT XXX XX
2	RT-B3	XXX XXX TTT TTT GTC XXX XXX
3	RT-FIP	XXX XXX XXX XXX CAG ATT TTT CGC ATT TTT CAT TAA XXX XXX XXX XXX XXX X
4	RT-BIP	XXX XXX XXX XXX TTG ATA ACC CCA TTT TTT GCG GTA XXX XXX XXX XXX XXX XXX

- 설계된 primer를 이용하여 *V. nashicola* genomic DNA로 LAMP를 수행함.
- LAMP 수행의 적정온도를 확인하기 위해, LAMP는 2 μ l의 10 pM FIP/BIP primer set, 0.5 μ l의 F3/B3 primer set, 2 μ l의 10 \times ThermoPol Reaction Buffer [20 mM Tris-HCl, 10 mM KCl, 10 mM(NH₄)₂SO₄, 2mM MgSO₄, 0.1 % TritonX-100, New England Biolabs, USA], 0.5 μ l의 10 mM dNTP, 10.5 μ l DDW)에 첨가한 후, Veriti 96-Well Thermal Cycler(Applied Biosystem)에서 90°C에서 5분간 반응을 수행한 후, 1 μ l *Bst* DNA polymerase large fragment (8 unit/ μ l, New England Biolabs, USA) 첨가하여 50°C, 52°C, 54°C, 56°C, 58°C, 60°C에서 60분간 반응하였음, 반응이 종료된 산물은 1% agarose gel에 전기영동 후, 남은 산물은 1 μ l SYBR green solution I(1,000 \times stock)로 염색하여 UV 상에서 발색 여부를 확인함.
- 그 결과, 50°C에서는 발색이 되지 않았으며, 50°C를 제외한 나머지 온도에서는 발색과 laddering이 확인되었음. 그 중 60°C에서 laddering이 가장 강하게 관찰되었음(그림 7). 따라서 위 결과에 따라 LAMP법을 이용한 배검은별무늬병균의 진단은 60°C로 온도를 설정하여 실험을 수행함.
- LAMP primer의 작동여부를 확인하기 위해, 설정된 온도 및 조건에서 지역별 *V. nashicola* 균주, KACC 분양 균주, 배 꽃잎 및 건전 잎의 genomic DNA를 이용하여 실험을 수행함.

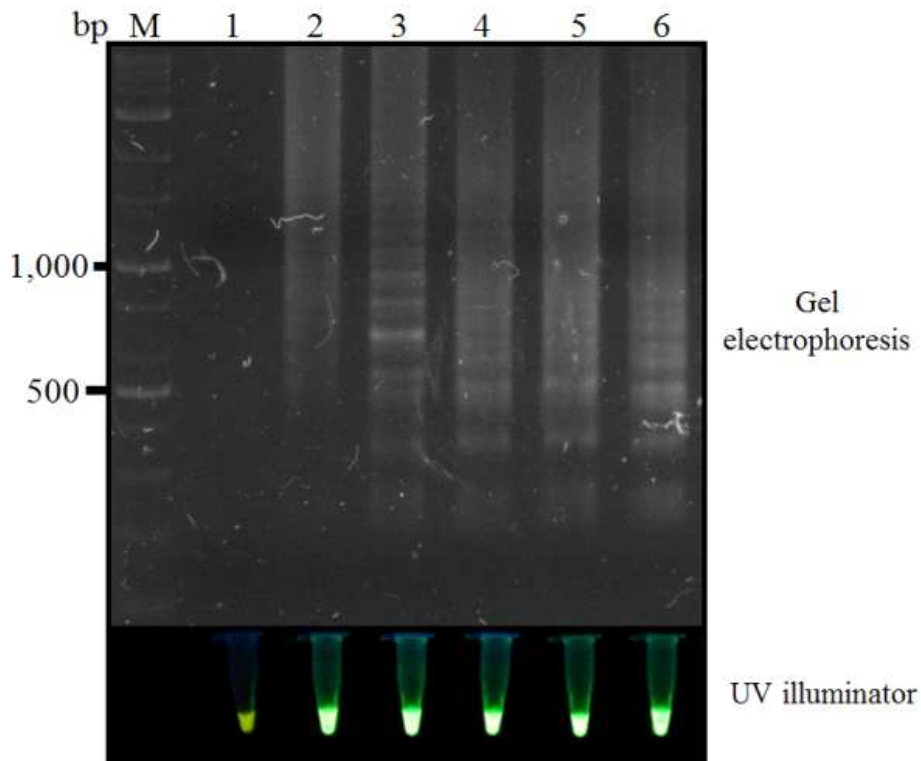


그림 44. 설계된 LAMP primer로 *V. nashicola* 균주를 이용하여 각각의 온도에서 60분간 LAMP를 수행된 결과. 1: 50°C, 2: 52°C, 3: 54°C, 4: 56°C, 5: 58°C, 6: 60°C.

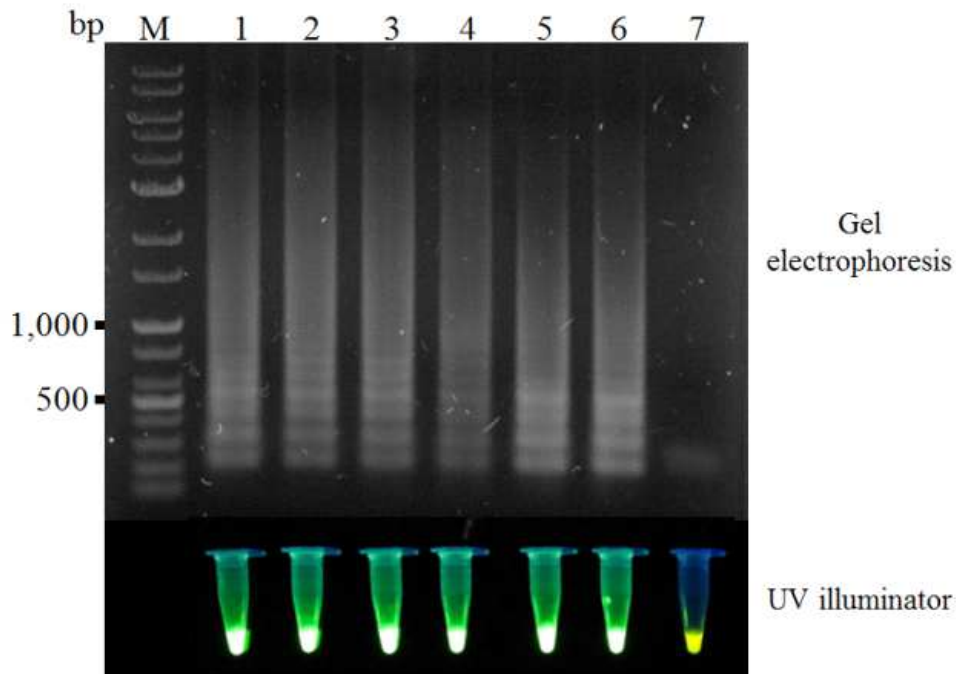


그림 45. 지역별 *V. nashicola* 균주 genomic DNA를 이용하여 설정된 온도에서 수행된 결과. 1: VNHD1-17, 2: VNSJ03, 3: VN-WJ1-7, 4: VNOC54, 5: VNNJ1-15, 6: *V. nashicola* genomic DNA, 7: DDW. HD: 하동, SJ: 상주, WJ: 북원주, OC: 옥천, NJ: 나주

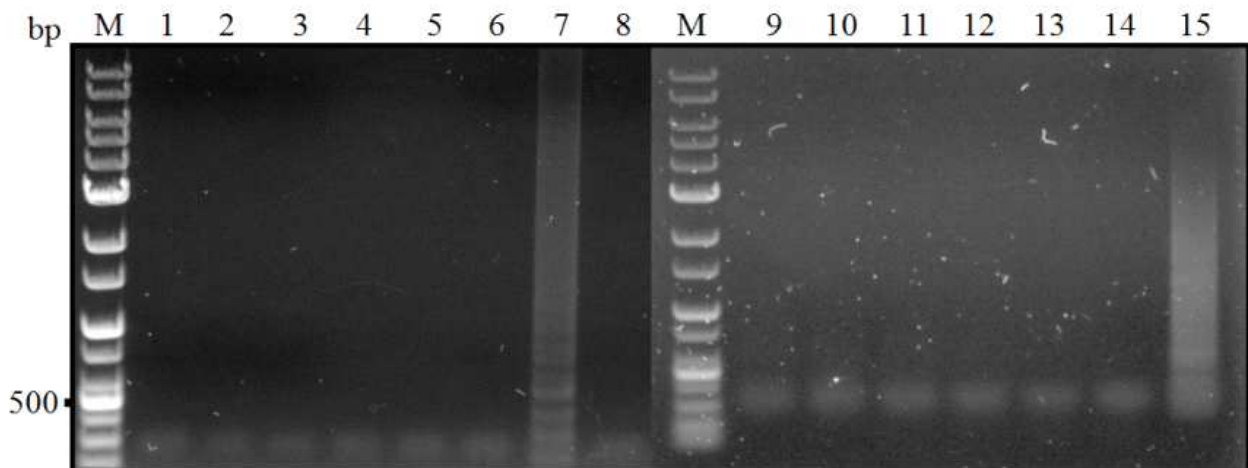


그림 46. 설계된 LAMP primer를 이용한 특이성 검정. 1: *Alternaria alternata*, 2: *Alternaria gaisen*, 3: *Alternaria kikuchiana*, 4: *Colletotrichum acutatum*, 5: *Phytophthora cactorum*, 6: *Penicillium expansum*, 7: *V. nashicola* genomic DNA, 8: DDW, 9: 배 꽃잎-1, 10: 배 꽃잎-2, 11: 배 신초-1, 12: 배 신초-2, 13: DDW-1, 14: DDW-2, 15: *V. nashicola* genomic DNA

- 설계된 LAMP primer를 이용하여 특이성을 검정한 결과, KACC에서 분양 받은 6종의 곰팡이; *A. alternata*, *A. gaisen*, *A. kikuchiana*, *C. acutatum*, *P. cactorum*, *Penicillium expansum* 균주의 경우 전기영동결과 laddering이 관찰되지 않았으며, 또한 배 건전 꽃잎 및 신초를 사용한 결과에서도 *V. nashicola* DNA를 제외한 나머지 샘플에서는 특이적인 반응이 관찰되지 않았음.

(다) LAMP법을 이용한 배 검은별무늬병 진단

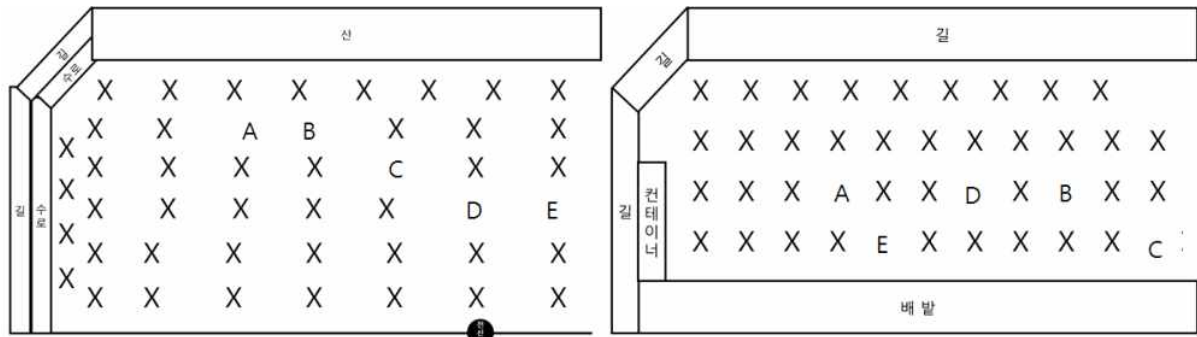


- 배 검은별무늬병의 현장진단을 위해, 사과 갈색무늬병의 현장 진단법대로 실험을 수행함.
- 채집한 배 잎은 에탄올로 표면 소독 후, LAMP용 마쇄액(0.2M NaCl, 0.2M Tris-HCl(pH 8.0))에 전체 잎을 sample bag(mesh, agdia)에 넣고 마쇄봉을 이용하여 마쇄함.
- 마쇄액 1 μ l를 취하여 LAMP 반응액(2 μ l의 10 pM FIP/BIP primer set, 0.5 μ l의 F3/B3 primer set, 2.5 μ l의 10 \times ThermoPol Reaction Buffer [20 mM Tris-HCl, 10 mM KCl, 10 mM(NH₄)₂SO₄, 2mM MgSO₄, 0.1% TritonX-100, New England Biolabs, USA], 0.5 μ l의 10 mM dNTP, 16 μ l DDW)에 첨가한 후 60°C로 설정한 항온수조에서 반응시킨 후 1 μ l *Bst* DNA polymerase large fragment(8 unit/ μ l, New England Biolabs, USA) 첨가하여 45분간 반응하였으며, 반응이 종료된 후 1 μ l SYBR green solution I(1,000 \times stock)로 염색하여 감염유무를 확인함.
- 위와 같이 확립된 LAMP 진단법을 기반으로 휴대용 SD-OCT로 촬영한 배 잎의 배 검은별무늬병의 감염유무를 검정함.

(5) OCT를 이용한 배 검은별무늬병 진단 기술 확립 및 적용

- 휴대용 SD-OCT를 이용하여 ‘신고’ 및 ‘원황’ 품종 배를 대상으로 병징이 관찰되지 않는 4월 중순부터 5월 중순까지 배 잎을 OCT로 관찰하여 A-scan 분석을 수행하였으며, 개발된 LAMP법을 이용하여 사과갈색무늬병균의 감염여부 진단을 병행함.

(가) 실험구 설정



SJ-Field-3번 시험구



SJ-Field-4번 시험구

그림 47. 상주(SJ)소재 배 검은별무늬병 조기진단 실험 수행 포장(SJ-Field-3번, SJ-Field-4번) 및 시험구 배치도



그림 48. 실험 대상잎 선정 및 OCT 촬영 부위

- 경상북도 상주시 공검면 소재 배 과원 2곳(SJ-Field-3, SJ-Field-4)을 선정함.
- SJ-Field-3 배 과원의 경우, 전년도에 배 검은별무늬병의 발생이 심하고 관행방제가 되지 않는 과원이었으며, SJ-Field-4의 경우 정상적으로 관행방제를 실시하는 포장을 선정함.
- 시험품종은 '신고' 및 '원황' 품종으로 실험을 수행하였으며, SJ-Field-3번 포장의 경우

신고 2품종(A, B), 원황 3품종(C, D, E)으로 선발하였고, SJ-Field-4번 포장의 경우 신고 3품종(A, B, E) 및 원황 2품종(C, D)으로 선발하여 대상 과수원내에 5그룹을 지정하여 실험을 수행함.

- 촬영부위는 검은별무늬병의 최초 병징 및 표징이 잘 관찰되는 부위인 엽맥과 주맥을 포함하는 엽육부분을 촬영하고 데이터를 확보함.

(나) 조사기간 및 실험방법

- 사과 갈색무늬병 조기동정 실험과 동일하게(그림 3 참조), monitoring 용으로 선발된 잎들은 채집하지 않고, 실험기간동안 동일한 부위를 촬영하여 A-scan 데이터를 확보하였으며, LAMP 실험용으로 선발된 잎들은 OCT 촬영 후 채집하여 LAMP법으로 분석하고, 획득된 OCT에서 A-scan 분석을 실시하여 LAMP 진단 결과와 비교하였음. 조사 기간은 16년 4월 11일부터 5월 18일까지 진행하였으며, 4월은 기상상황에 따라 3-4일 간격으로 조사하였고, 5월은 7일 간격으로 조사를 하였음.

(6) 휴대용 SD-OCT를 이용한 배 검은별무늬병의 진단법 확립

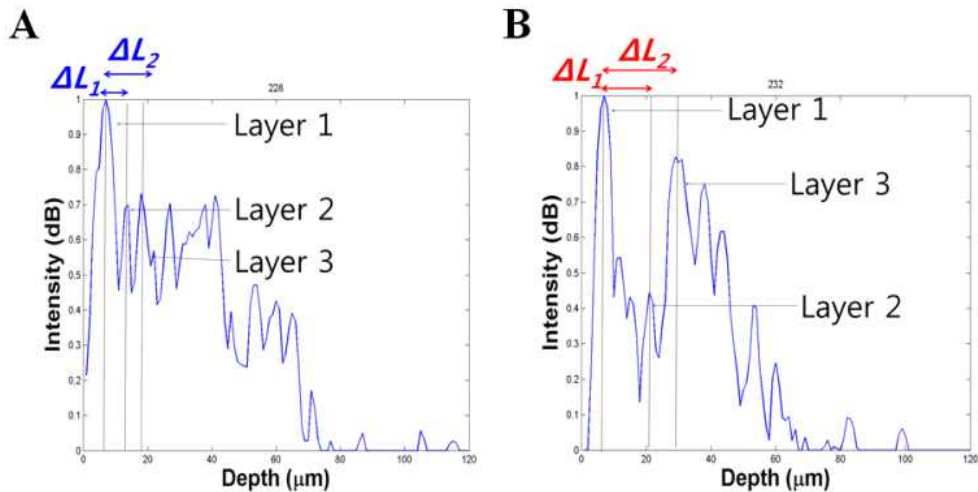


그림 49. OCT 이미지에서 획득된 배 검은별무늬병 감염 잎과 배 건전 잎의 A-scan 분석 결과. A: 건전 잎, B: 감염 잎, ΔL1: Layer 1과 Layer 2 간의 거리, ΔL2: Layer 2와 Layer 3 간의 거리

- 전년도에 배 검은별무늬병 감염 잎과 건전 잎을 OCT로 촬영하여 A-scan 분석을 수행하였을 때, 첫 번째 층(1st layer)과 두 번째 층(2nd layer)간의 간격에서 차이가 나타나는 것을 확인하였음.
- 선행된 전년도 결과를 기본으로 하여, OCT 이미지 획득 후 A-scan을 수행한 결과, 획득되는 OCT 이미지 중, A-scan 분석결과 차이가 나타나는 부분을 확인하였으며, 이를 감염으로 판단하여 실험 기준을 설정함(그림 12).
- OCT로 촬영한 잎들은 채집하여 LAMP를 수행하였고, 획득된 OCT image는 A-scan 분석을 수행하고, 나타나는 peak 간의 거리로 감염유무를 검정함.

표 20. 상주시 공검면 포장(SJ-Field-3)에서 채집된 배잎에 대한 A-scan 분석 결과

지역	품종	채집 시료	A-scan 결과	OCT 촬영 및 샘플채집일	
상주시 공검면 (SJ- Field-3)	신고	SJ-Field-3A	1	건전	4월 말 (D+9)
			2	건전	
			3	건전	
	신고	SJ-Field-3B	1	건전	
			2	감염	
			3	감염	
	원황	SJ-Field-3C	1	건전	
			2	건전	
			3	건전	
	원황	SJ-Field-3D	1	감염	
			2	감염	
			3	건전	
	원황	SJ-Field-3E	1	건전	
			2	건전	
			3	건전	
상주시 공검면 (SJ- Field-3)	신고	SJ-Field-3A	1	감염	4월 말 (D+12)
			2	건전	
			3	건전	
	신고	SJ-Field-3B	1	건전	
			2	감염	
			3	감염	
	원황	SJ-Field-3C	1	건전	
			2	건전	
			3	건전	
	원황	SJ-Field-3D	1	건전	
			2	건전	
			3	감염	
	원황	SJ-Field-3E	1	건전	
			2	건전	
			3	건전	
신고	SJ-Field-3A	1	건전	4월 말 (D+19)	
		2	건전		
		3	건전		

		1	건전	
신고	SJ-Field-3B	2	감염	
		3	건전	
원황	SJ-Field-3C	1	건전	
		2	건전	
		3	건전	
원황	SJ-Field-3D	1	건전	
		2	감염	
		3	건전	
원황	SJ-Field-3E	1	건전	
		2	건전	
		3	건전	
신고	SJ-Field-3A	1	건전	
		2	감염	
		3	감염	
신고	SJ-Field-3B	1	감염	
		2	건전	
		3	감염	
원황	SJ-Field-3C	1	건전	5월 초순 (D+25)
		2	건전	
		3	건전	
원황	SJ-Field-3D	1	건전	
		2	건전	
		3	건전	
원황	SJ-Field-3C	1	건전	
		2	건전	
		3	건전	
신고	SJ-Field-3A	1	감염	
		2	건전	
		3	감염	
신고	SJ-Field-3B	1	건전	
		2	감염	
		3	감염	
원황	SJ-Field-3C	1	건전	5월 중순 (D+31)
		2	건전	
		3	건전	
원황	SJ-Field-3D	1	건전	
		2	감염	
		3	건전	
원황	SJ-Field-3E	1	건전	
		2	감염	
		3	건전	
신고	SJ-Field-3A	1	건전	5월 중순 (D+38)
		2	건전	

			3	감염
			1	감염
신고	SJ-Field-3B		2	감염
			3	감염
			1	건전
원황	SJ-Field-3C		2	건전
			3	감염
			1	감염
원황	SJ-Field-3D		2	건전
			3	감염
			1	건전
원황	SJ-Field-3E		2	건전
			3	건전

표 21. 상주시 공검면 포장(SJ-Field-4)에서 채집된 배잎에 대한 A-scan 분석 결과

지역	품종	채집 시료	A-scan 결과	OCT 촬영 및 샘플채집일
			1	
	신고	SJ-Field-4A	2	
			3	
			1	
	신고	SJ-Field-4B	2	
			3	
			1	
	신고	SJ-Field-4C	2	4월 말 (D+9)
			3	
			1	
	원황	SJ-Field-4D	2	
			3	
			1	
상주시 공검면 (SJ- Field-4	원황	SJ-Field-4E	2	
			3	
			1	
	신고	SJ-Field-4A	2	
			3	
			1	
	신고	SJ-Field-4B	2	
			3	
			1	
	신고	SJ-Field-4C	2	4월 말 (D+12)
			3	
			1	
	원황	SJ-Field-4D	2	
			3	
			1	
	원황	SJ-Field-4E	2	
			3	

신고	SJ-Field-4A	1	건전	4월 말 (D+19)
		2	건전	
		3	건전	
신고	SJ-Field-4B	1	건전	
		2	건전	
		3	건전	
신고	SJ-Field-4C	1	건전	
		2	감염	
		3	건전	
원황	SJ-Field-4D	1	감염	
		2	감염	
		3	건전	
원황	SJ-Field-4E	1	건전	
		2	건전	
		3	건전	
신고	SJ-Field-4A	1	건전	5월 초순 (D+25)
		2	감염	
		3	건전	
신고	SJ-Field-4B	1	감염	
		2	건전	
		3	건전	
신고	SJ-Field-4C	1	건전	
		2	건전	
		3	감염	
원황	SJ-Field-4D	1	건전	
		2	건전	
		3	건전	
원황	SJ-Field-4E	1	감염	
		2	건전	
		3	감염	
신고	SJ-Field-4A	1	건전	5월 중순 (D+31)
		2	건전	
		3	감염	
신고	SJ-Field-4B	1	건전	
		2	건전	
		3	건전	
신고	SJ-Field-4C	1	건전	
		2	건전	
		3	건전	
원황	SJ-Field-4D	1	감염	
		2	건전	
		3	감염	
원황	SJ-Field-4E	1	건전	
		2	건전	
		3	건전	

		1	건전	
신고	SJ-Field-4A	2	건전	
		3	감염	
신고	SJ-Field-4B	1	건전	
		2	건전	
		3	건전	
신고	SJ-Field-4C	1	건전	5월 중순
		2	건전	(D+38)
		3	건전	
원황	SJ-Field-4D	1	감염	
		2	건전	
		3	감염	
원황	SJ-Field-4C	1	건전	
		2	건전	
		3	건전	

- A-scan 분석 결과, 상주시 공검면 시험포장 SJ-Field-3번 및 SJ-Field-4번의 경우 4월 말부터 감염된 패턴이 확인되기 시작하였으며, 5월 중순까지 지속적으로 감염 패턴이 확인됨.
- 또한 신고 및 원황 품종에 대한 OCT 이미지 및 A-scan 상의 차이도 확인되지 않았음.

(가) LAMP법을 이용한 상주시 공검면 채집 시료 결과

- OCT를 이용하여 신고 및 원황 품종 배 시험구에서 잎을 촬영하고, 촬영된 샘플을 기내에서 LAMP법으로 검은별무늬병 검정을 실시함.

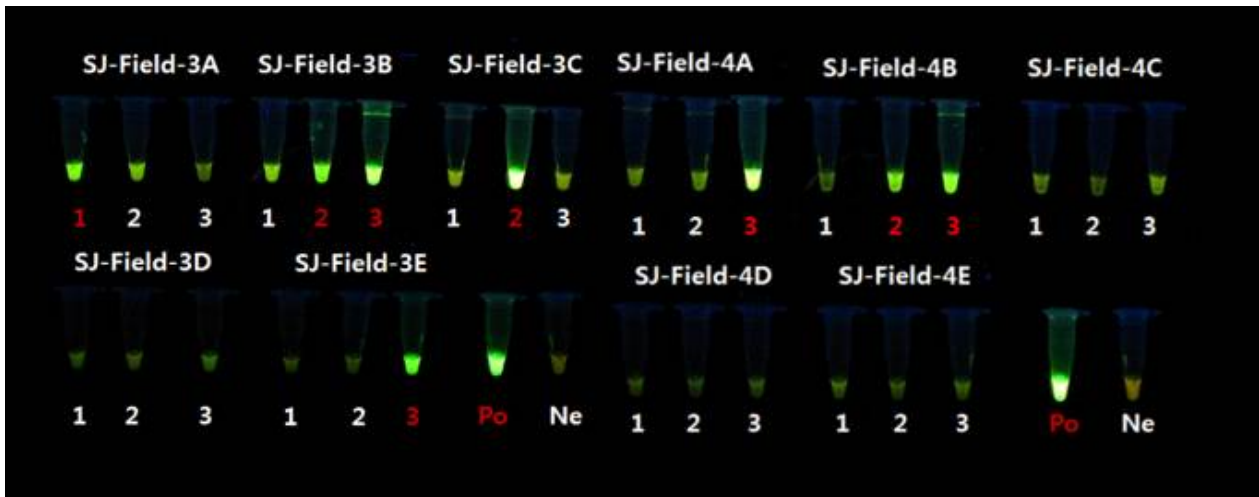


그림 50. 상주시 공검면 SJ-Field-3번, SJ-Field-4번 실험구에서 4월 말경(D+12) 채집된 잎에 대한 배 검은별무늬병 진단 결과. Po: Positive(검은별무늬병균 genomic DNA), Ne: Negative(건전 배잎 DNA), LAMP 검정 후 UV illuminator에서 관찰함.

- 배 검은별무늬병의 경우, 최초 실험이 시작된 시기인 4월 중순경(D+0)에 두 시험구 포장에서 LAMP 발색이 확인되었으나, 70% 에탄올로 외부를 소독 후 LAMP 검정을 시행한 결과 LAMP에서 배검은별무늬병균의 감염이 확인되지 않았음.

- 이 후 4월 말(D+12)경에 에 두 포장에서 모두 감염이 확인 되었으며, 이 후 실험 종료일 인 5월 초순까지 감염이 계속적으로 확인되었으나, 5월 중순경에는 두 포장 모두 배검은 별무늬병균이 검출이 되지 않았음.
- 이상 획득된 LAMP 결과와 A-scan 결과를 비교하여 일치율을 비교함.

표 22. 상주시 공검면에서 채집된 배 시료의 A-scan 및 LAMP법을 통한 검은별무늬병의 진단

지역	품종	채집 시료	A-scan 결과	LAMP 결과	일치 여부	OCT 촬영 및 샘플채집일			
상주시 공검면 (SJ-Field-3)	신고	SJ-Field-3A	1	Null	건전	-	4월 중순 (D+0)		
			2	Null	감염	-			
			3	Null	감염	-			
	신고	SJ-Field-3B	1	Null	감염	-			
			2	Null	감염	-			
			3	Null	건전	-			
	원황	SJ-Field-3C	1	Null	건전	-			
			2	Null	건전	-			
			3	Null	건전	-			
	원황	SJ-Field-3D	1	Null	건전	-			
			2	Null	건전	-			
			3	Null	건전	-			
	원황	SJ-Field-3E	1	Null	건전	-			
			2	Null	건전	-			
			3	Null	감염	-			
	상주시 공검면 (SJ-Field-3)	신고	SJ-Field-3A	1	Null	건전		-	4월 중순 (D+5)
				2	Null	건전		-	
				3	Null	건전		-	
신고		SJ-Field-3B	1	Null	건전	-			
			2	Null	건전	-			
			3	Null	건전	-			
원황		SJ-Field-3C	1	Null	건전	-			
			2	Null	건전	-			
			3	Null	건전	-			
원황		SJ-Field-3D	1	Null	건전	-			
			2	Null	건전	-			
			3	Null	건전	-			
원황	SJ-Field-3E	1	Null	건전	-				
		2	Null	건전	-				
		3	Null	건전	-				
상주시 공검면 (SJ-Field-3)	신고	SJ-Field-3A	1	건전	건전	O	4월 말 (D+9)		
			2	건전	건전	O			
			3	건전	건전	O			
	신고	SJ-Field-3B	1	건전	건전	O			
			2	감염	건전	X			
			3	감염	건전	X			
원황	SJ-Field-3C	1	건전	건전	O				

		2	건전	건전	O	
		3	건전	건전	O	
원황	SJ-Field-3D	1	감염	건전	X	
		2	감염	건전	X	
		3	건전	건전	O	
원황	SJ-Field-3E	1	건전	건전	O	
		2	건전	건전	O	
		3	건전	건전	O	
신고	SJ-Field-3A	1	감염	감염	O	
		2	건전	건전	O	
		3	건전	건전	O	
신고	SJ-Field-3B	1	건전	건전	O	
		2	감염	감염	O	
		3	감염	감염	O	
원황	SJ-Field-3C	1	건전	건전	O	4월 말
		2	건전	감염	X	(D+12)
		3	건전	건전	O	
원황	SJ-Field-3D	1	건전	건전	O	
		2	건전	건전	O	
		3	감염	건전	X	
원황	SJ-Field-3E	1	건전	건전	O	
		2	건전	건전	O	
		3	건전	감염	X	
신고	SJ-Field-3A	1	Null	감염	-	
		2	Null	감염	-	
		3	Null	감염	-	
신고	SJ-Field-3B	1	Null	건전	-	
		2	Null	감염	-	
		3	Null	건전	-	
원황	SJ-Field-3C	1	Null	건전	-	4월 말
		2	Null	건전	-	(D+15)
		3	Null	감염	-	
원황	SJ-Field-3D	1	Null	건전	-	
		2	Null	건전	-	
		3	Null	건전	-	
원황	SJ-Field-3E	1	Null	건전	-	
		2	Null	건전	-	
		3	Null	건전	-	
신고	SJ-Field-3A	1	건전	건전	O	
		2	건전	건전	O	
		3	건전	건전	O	
신고	SJ-Field-3B	1	건전	감염	X	
		2	감염	감염	O	
		3	건전	건전	O	4월 말
원황	SJ-Field-3C	1	건전	건전	O	(D+19)
		2	건전	건전	O	
		3	건전	건전	O	
원황	SJ-Field-3D	1	건전	건전	O	
		2	감염	건전	X	

		3	건전	건전	O	
원황	SJ-Field-3E	1	건전	건전	O	
		2	건전	건전	O	
		3	건전	건전	O	
신고	SJ-Field-3A	1	건전	건전	O	
		2	감염	건전	X	
		3	감염	건전	X	
신고	SJ-Field-3B	1	감염	감염	O	
		2	건전	건전	O	
		3	감염	건전	X	
원황	SJ-Field-3C	1	건전	감염	X	5월 초순 (D+25)
		2	건전	감염	X	
		3	건전	건전	O	
원황	SJ-Field-3D	1	건전	건전	O	
		2	건전	건전	O	
		3	건전	감염	X	
원황	SJ-Field-3C	1	건전	건전	O	
		2	건전	건전	O	
		3	건전	건전	O	
신고	SJ-Field-3A	1	감염	건전	X	
		2	건전	감염	X	
		3	감염	감염	O	
신고	SJ-Field-3B	1	건전	건전	O	
		2	감염	감염	O	
		3	감염	감염	O	
원황	SJ-Field-3C	1	건전	건전	O	5월 중순 (D+31)
		2	건전	건전	O	
		3	건전	건전	O	
원황	SJ-Field-3D	1	건전	건전	O	
		2	감염	건전	X	
		3	건전	건전	O	
원황	SJ-Field-3E	1	건전	건전	O	
		2	감염	건전	X	
		3	건전	건전	O	
신고	SJ-Field-3A	1	건전	건전	O	
		2	건전	건전	O	
		3	감염	건전	X	
신고	SJ-Field-3B	1	감염	건전	X	
		2	감염	건전	X	
		3	감염	건전	X	
원황	SJ-Field-3C	1	건전	건전	O	5월 중순 (D+38)
		2	건전	건전	O	
		3	감염	건전	X	
원황	SJ-Field-3D	1	감염	건전	X	
		2	건전	건전	O	
		3	감염	건전	X	
원황	SJ-Field-3E	1	건전	건전	O	
		2	건전	건전	O	
		3	건전	건전	O	

지역	품종	채집 시료	A-scan 결과	LAMP 결과	일치 여부	OCT 촬영 및 샘플채집일
	신고	SJ-Field-4A	1	Null	감염	-
			2	Null	건전	-
			3	Null	건전	-
	신고	SJ-Field-4B	1	Null	감염	-
			2	Null	감염	-
			3	Null	건전	-
	신고	SJ-Field-4C	1	Null	건전	-
			2	Null	건전	4월 중순 (D+0)
			3	Null	건전	-
	원황	SJ-Field-4D	1	Null	건전	-
			2	Null	건전	-
			3	Null	건전	-
	원황	SJ-Field-4E	1	Null	건전	-
			2	Null	건전	-
			3	Null	건전	-
상주시 공검면 (SJ- Field-4)	신고	SJ-Field-4A	1	Null	건전	-
			2	Null	건전	-
			3	Null	건전	-
	신고	SJ-Field-4B	1	Null	건전	-
			2	Null	건전	-
			3	Null	건전	-
	신고	SJ-Field-4C	1	Null	건전	-
			2	Null	건전	4월 중순 (D+5)
			3	Null	건전	-
	원황	SJ-Field-4D	1	Null	건전	-
			2	Null	건전	-
			3	Null	건전	-
	원황	SJ-Field-4E	1	Null	건전	-
			2	Null	건전	-
			3	Null	건전	-
신고	SJ-Field-4A	1	건전	건전	O	
		2	건전	건전	O	
		3	감염	건전	X	
신고	SJ-Field-4B	1	건전	건전	O	
		2	건전	건전	O	
		3	건전	건전	O	
신고	SJ-Field-4C	1	감염	건전	X	
		2	건전	건전	O	
		3	건전	건전	O	
원황	SJ-Field-4D	1	감염	건전	X	
		2	건전	건전	O	
		3	감염	건전	X	
원황	SJ-Field-4E	1	건전	건전	O	
		2	건전	건전	O	
		3	건전	건전	O	

신고	SJ-Field-4A	1	건전	건전	O	4월 말 (D+12)
		2	감염	건전	X	
		3	감염	감염	O	
신고	SJ-Field-4B	1	건전	건전	O	
		2	감염	감염	O	
		3	감염	감염	O	
신고	SJ-Field-4C	1	건전	건전	O	
		2	건전	건전	O	
		3	건전	건전	O	
원황	SJ-Field-4D	1	건전	건전	O	
		2	건전	건전	O	
		3	건전	건전	O	
원황	SJ-Field-4E	1	건전	건전	O	
		2	감염	건전	X	
		3	건전	건전	O	
신고	SJ-Field-4A	1	Null	감염	-	4월 말 (D+15)
		2	Null	감염	-	
		3	Null	감염	-	
신고	SJ-Field-4B	1	Null	건전	-	
		2	Null	건전	-	
		3	Null	건전	-	
신고	SJ-Field-4C	1	Null	건전	-	
		2	Null	건전	-	
		3	Null	건전	-	
원황	SJ-Field-4D	1	Null	감염	-	
		2	Null	감염	-	
		3	Null	건전	-	
원황	SJ-Field-4E	1	Null	감염	-	
		2	Null	건전	-	
		3	Null	건전	-	
신고	SJ-Field-4A	1	건전	건전	O	4월 말 (D+19)
		2	건전	건전	O	
		3	건전	건전	O	
신고	SJ-Field-4B	1	건전	건전	O	
		2	건전	건전	O	
		3	건전	건전	O	
신고	SJ-Field-4C	1	건전	건전	O	
		2	감염	건전	X	
		3	건전	건전	O	
원황	SJ-Field-4D	1	감염	건전	X	
		2	감염	건전	X	
		3	건전	건전	O	
원황	SJ-Field-4E	1	건전	건전	O	
		2	건전	건전	O	
		3	건전	건전	O	
신고	SJ-Field-4A	1	건전	건전	O	5월 초순 (D+25)
		2	감염	건전	X	
		3	건전	건전	O	

신고	SJ-Field-4B	1	감염	감염	O	5월 중순 (D+31)
		2	건전	건전	O	
		3	건전	건전	O	
신고	SJ-Field-4C	1	건전	건전	O	
		2	건전	건전	O	
		3	감염	건전	X	
원황	SJ-Field-4D	1	건전	건전	O	
		2	건전	건전	O	
		3	건전	건전	O	
원황	SJ-Field-4E	1	감염	감염	O	
		2	건전	건전	O	
		3	감염	감염	O	
신고	SJ-Field-4A	1	건전	건전	O	
		2	건전	건전	O	
		3	감염	건전	X	
신고	SJ-Field-4B	1	건전	건전	O	
		2	건전	건전	O	
		3	건전	건전	O	
신고	SJ-Field-4C	1	건전	건전	O	
		2	건전	건전	O	
		3	건전	건전	O	
원황	SJ-Field-4D	1	감염	건전	X	
		2	건전	건전	O	
		3	감염	건전	X	
원황	SJ-Field-4E	1	건전	건전	O	
		2	건전	건전	O	
		3	건전	건전	O	

신고	SJ-Field-4A	1	건전	건전	O	5월 중순 (D+38)
		2	건전	건전	O	
		3	감염	건전	X	
신고	SJ-Field-4B	1	건전	건전	O	
		2	건전	건전	O	
		3	건전	건전	O	
신고	SJ-Field-4C	1	건전	건전	O	
		2	건전	건전	O	
		3	건전	건전	O	
원황	SJ-Field-4D	1	감염	건전	X	
		2	건전	건전	O	
		3	감염	건전	X	
원황	SJ-Field-4C	1	건전	건전	O	
		2	건전	건전	O	
		3	건전	건전	O	

OCT	총계	180	LAMP	총계	270
	감염	51		감염	40

OCT 감염률:
(51/180)x100=28.3%

LAMP 감염률:
(40/270)x100=14.8%

○ 감염 일치율: 76%(총 180개, 일치 137개)

- 4월 중순부터 5월 중순까지 수행된 채집시료에 대한 배 검은별무늬병 검정 결과, A-scan 분석은 총 180개가 검정되었으며 그 중 감염샘플은 51개가 확인되어 감염률은 약 28.3 %로 확인 되었으며, LAMP법의 경우 총 270개의 검정 샘플 중, 감염 샘플은 40개가 확인되어 감염률은 약 14.8 %로 확인되었음.
- 또한 상호간의 감염 일치율을 확인한 결과, 총 비교대상 180개 중, 137개의 결과가 일치하여 약 76%의 일치율이 확인됨.

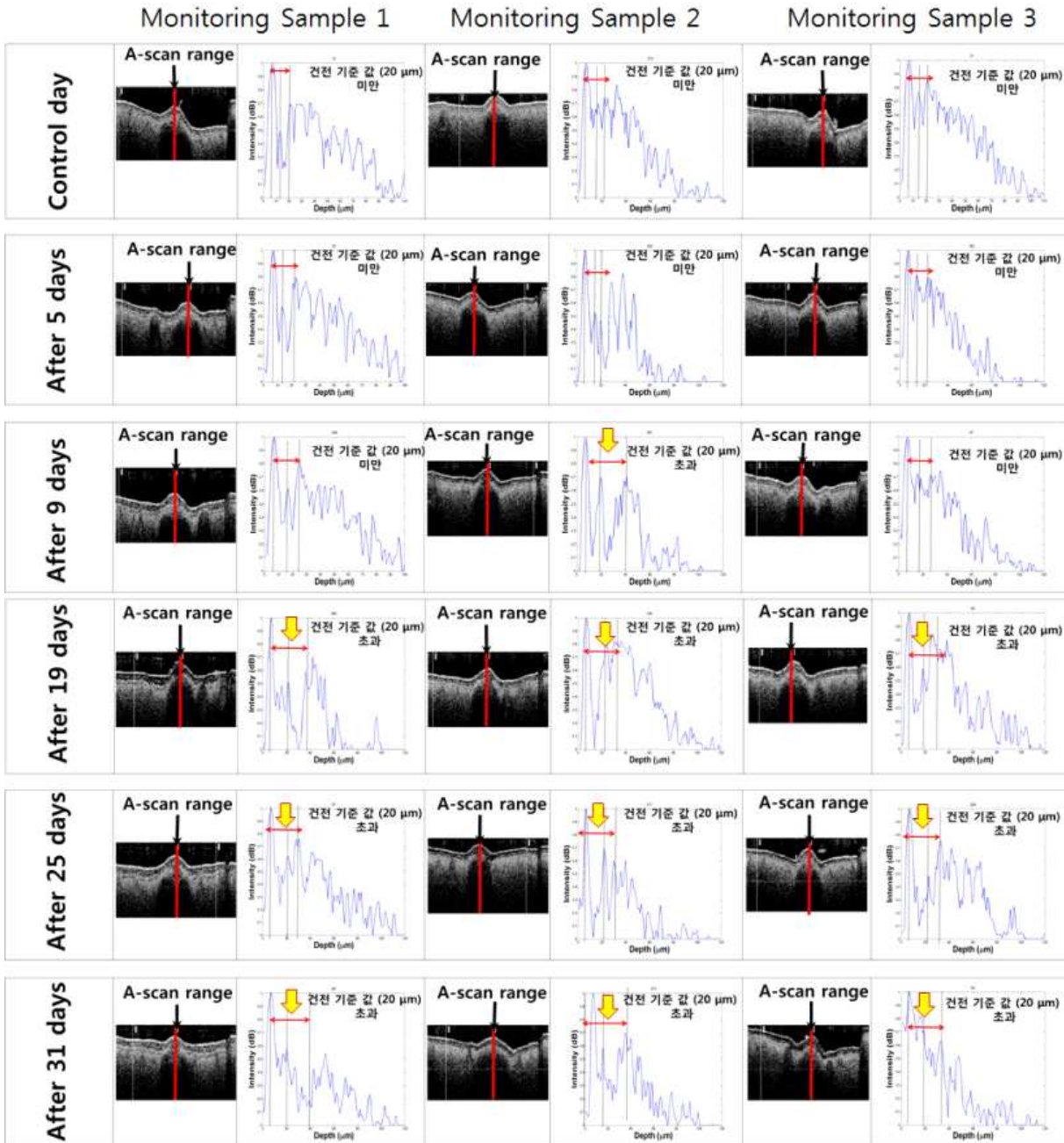


그림 51. 상주 공검면 시험구(SJ-Field-3)의 A번 배나무(SJ-Field-3A) 모니터링 샘플의 OCT image 및 A-scan 결과. 노란색 화살표: 배 검은별무늬병 감염 패턴.

- 4월 중순부터 5월 중순까지 약 한달 동안 동일한 배잎에 대하여 OCT로 촬영하고 지속적으로 A-scan을 수행한 결과, 실험을 처음 수행하였던 4월 중순에서는 대부분 샘플이 Layer 1-Layer 3까지의 거리가 약 20 μ m미만 이었으나, 시간이 지날수록 그 거리가 20 μ m

를 초과하는 패턴이 지속적으로 확인됨.

- 생육기간이 지남에 따라 동일한 기준에서도 건전패턴이 관찰되는 것으로 미루어 볼 때, 잎의 생장에 따른 차이와는 다른 것으로 판단됨. 이에 대한 결과는 3차년도에 재현성 실험과 지속적인 실험을 통해 확인되어야 할 것으로 사료됨.

(7) SD-OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 및 배 검은별무늬병 진단용 매뉴얼 작성

- 1차년도 및 2차년도 결과를 이용하여 휴대용 SD-OCT를 이용하여 사과 갈색무늬병 및 배 검은별무늬병 진단 매뉴얼을 작성함.

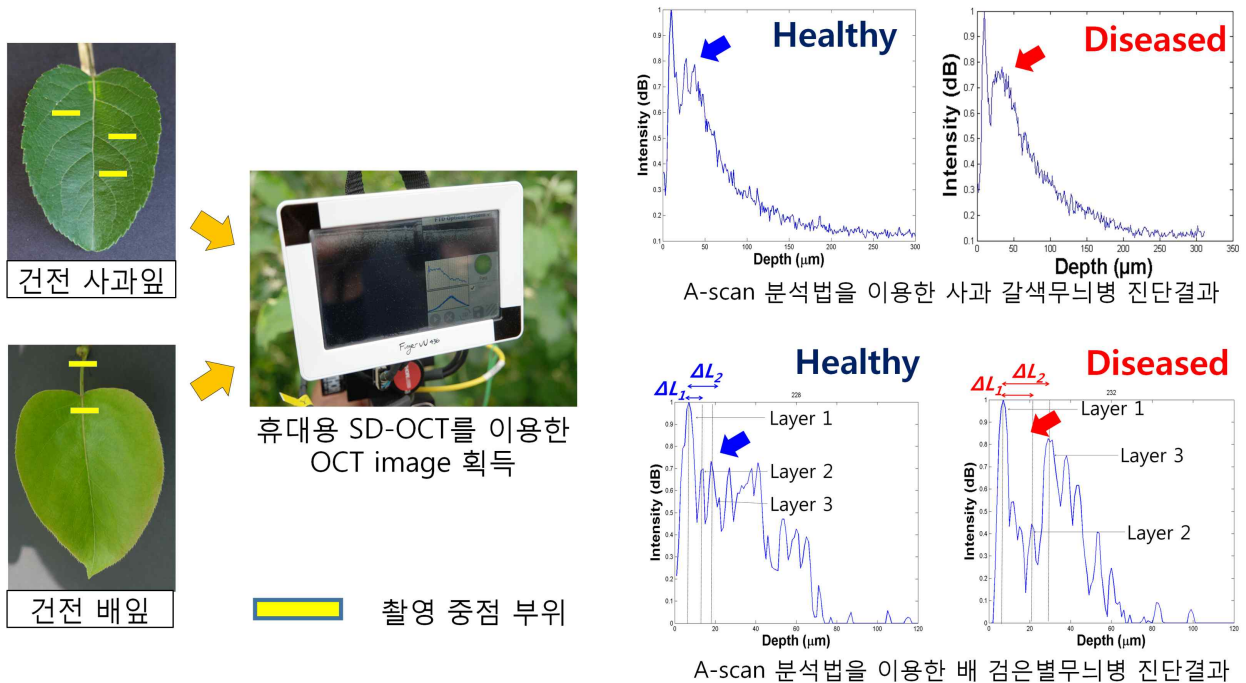


그림 52. 휴대용 SD-OCT를 이용한 건전 사과 잎 및 건전 배잎에 대한 사과 갈색무늬병 및 배 검은별무늬병 진단 매뉴얼

예) 휴대용 SD-OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 및 배 검은별무늬병의 진단 매뉴얼-초안

- 사용 시기; 사과: 4월 중순~5월 중순, 배: 4월 중순~5월 중순
- 촬영 대상잎의 선정: 육안상 건전한 잎을 선정하고, 시험자의 가슴부위에 있는 잎을 선정함.
- 기기작동방법:
 - ① 기기 작동 후 OCT 장비의 손잡이 정단부위를 촬영하고자 하는 부위에 가까이 둔다.
 - ② LCD 모니터에 OCT 이미지가 나오는 것을 확인하고, 손잡이 아래쪽 부분에 붉은색의 저장 버튼을 눌러 이미지를 저장한다.
 - ③ 분석된 A-scan 그래프를 보고 병해 감염유무를 판단한다.
- 병해 감염유무 판단
 - ① 사과 갈색무늬병: A-scan 결과 3개의 layer가 관찰되면 **건전**, 2번·3번 layer가 뭉쳐지거나 무너진 패턴이 확인되면 **감염**으로 판정함.

② 배 검은별무늬병: A-scan 결과 첫 번째, 세 번째 피크 사이의 거리가 $20\mu\text{m}$ 이하면 **건전**, $20\mu\text{m}$ 이상이면 **감염**으로 판정함.

- 3차년도에 기기의 작동법, 손잡이, LCD 모니터, 촬영법, 저장방법 및 감염유무를 판단할 수 있는 알고리즘의 개발을 수행할 예정이며, 이에 기기가 변경되면 진단 매뉴얼도 계속적으로 수정할 예정임.

바. 3차년도: 휴대용 SD-OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 및 배 검은별무늬병 진단법 적용

(1) 휴대용 OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 진단법 확립

- 3차년도에 개발된 휴대용 SD-OCT를 이용하여 ‘홍로’ 및 ‘후지’ 품종 사과를 대상으로 병징이 관찰되지 않는 4월 중순부터 5월 중순까지 사과 잎을 OCT로 관찰함.
- 확보된 OCT 이미지를 이용하여, A-scan 분석을 수행하였으며, LAMP법을 이용하여 사과갈색무늬병균의 감염여부 진단을 병행함.
- 지속적으로 모니터링을 수행하기 위해, 잎을 표시해두고 대상잎을 4-5일 간격으로 계속적으로 촬영하여 시기별로 어느 시기에 감염패턴이 나타나는지 확인함.



그림 53. 2017년 휴대용 SD-OCT 사과 갈색무늬병 진단 실험 수행포장

(가) 실험구 설정

- 경상북도 군위군 소재 사과 시험포장(GW)과 경상북도 군위군 소재 경북대학교 사과 시험포장 (GW-KNU)에서 실험을 수행함.
- 시험품종은 ‘후지’ 품종을 대상으로 실험을 수행하였으며, 두 시험포장 모두 갈색무늬병이 매년 발생하는 포장을 선정하였음. 두 시험포장에서는 ‘후지’품종의 사과나무 5그루를 무작위로 선발하여 실험을 수행하였음.
- 선발된 나무에서 5개의 잎을 선정하여 3-4일 간격으로 계속적으로 OCT를 촬영하여 모니터링을 수행하였으며, 5잎을 추가적으로 무작위로 선발 후 OCT로 촬영하고 채집하여 LAMP 검정을 수행하였음.
- OCT의 촬영부위는 한 잎당 엽맥을 제외한 엽육부분을 무작위로 3부분을 촬영하여 데이터를 확보함.



그림 54. 휴대용 SD-OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 진단 실험. A: 조사대상 나무, B: 휴대용 SD-OCT를 이용한 대상잎의 촬영 모습, C: 촬영 부위. Red line: 촬영 부위

- 3차년도에 개발된 휴대용 SD-OCT는 2차년도의 시제품과는 다르게 모니터 및 hand-held가 분리형이었고, hand-held에서 확인되는 aiming light를 보고 촬영 후 beep음을 듣고 촬영을 하거나, 모니터에서 확인이 되는 영상을 확인하고 촬영가능 하였음. 따라서 3차년도 휴대용 SD-OCT는 2차년도 시제품과는 달리 현장에서 적용되기 용이하도록 개발되었음.

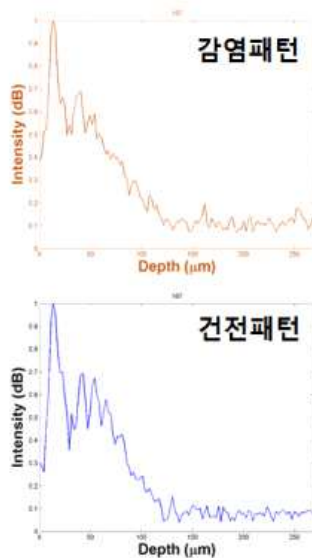


조사대상나무 선정

Monitoring용 대상잎 선정 및 LAMP용 실험 대상잎 선정



휴대용 SD-OCT 촬영



A-scan 분석 실시



LAMP 분석 실시

그림 55. 휴대용 SD-OCT와 LAMP법을 이용한 사과 갈색무늬병 진단법의 모식도

(나) 조사기간 및 실험방법

- Monitoring 용으로 선발된 잎들은 채집하지 않고, 실험기간동안 동일한 부위를 촬영하여 A-scan 데이터를 확보하였으며, LAMP 실험용으로 선발된 잎들은 OCT 촬영 후 채집하여 LAMP법으로 분석하고, 획득된 OCT에서 A-scan 분석을 실시하여 LAMP 진단 결과와 비교하였음.
- 조사 기간은 17년 5월 4일부터 6월 26일까지 진행하였으며, 전체 조사일자는 기상상황에 따라 3-4일 간격으로 조사함.

(다) LAMP법을 이용한 사과 갈색무늬병 진단

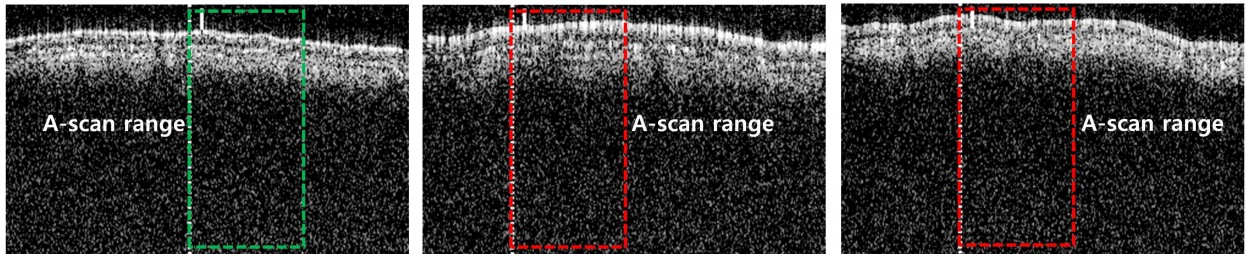


그림 56. LAMP법을 이용한 사과 갈색무늬병의 진단 모식도

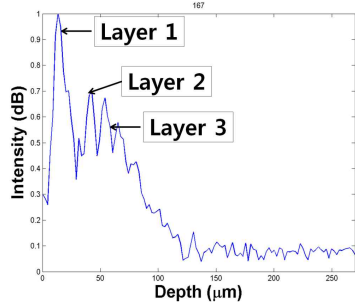
- 채집된 건전 사과 잎은 0.5×0.5 cm로 절단하고, LAMP용 마쇄액(0.2M NaCl, 0.2M Tris-HCl(pH 8.0))에 시료를 침지시켜 마쇄함.
- 마쇄액 1 μ l를 취하여 LAMP 반응액(2 μ l의 10 pM FIP/BIP primer set, 0.5 μ l의 F3/B3 primer set, 2.5 μ l의 10 × ThermoPol Reaction Buffer [20 mM Tris-HCl, 10 mM KCl, 10 mM(NH₄)₂SO₄, 2 mM MgSO₄, 0.1% TritonX-100, New England Biolabs, USA], 0.5 μ l의 10 mM dNTP, 16 μ l DDW)에 첨가한 후 60°C로 설정한 항온수조에서 반응시킨 후 1 μ l Bst DNA polymerase large fragment(8 unit/ μ l, New England Biolabs, USA) 첨가하여 45분간 반응하였으며, 반응이 종료된 후 1 μ l SYBR green solution I(1,000 × stock)로 염색하여 감염유무를 확인함.

(라) A-scan을 이용한 사과 갈색무늬병의 진단

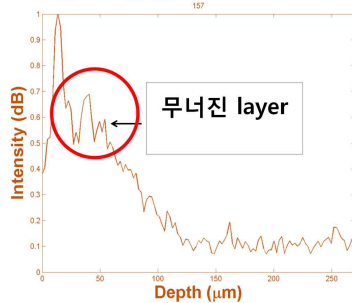
- OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 진단은 실험개시일인 5월 초를 기점으로 하여 기상 상황을 고려하여 기준 일에서 6일, 8일, 13일, 16일, 19일, 23일, 27일, 29일, 33일, 37일, 41일, 44일, 48일, 51일, 54일 후 까지 시험을 수행함.
- 획득된 OCT image는 A-scan 분석을 수행하고 나타나는 peak로 감염유무를 검정함.



OCT결과: 건전



OCT결과: 감염



OCT결과: 감염

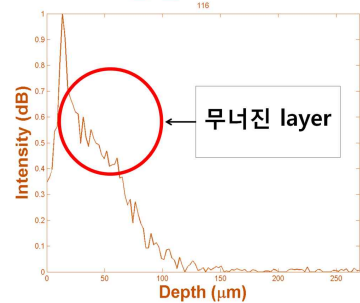


그림 57. 3차년도 군위포장에서 획득된 OCT 이미지 및 A-scan 검정을 통한 건전 패턴 및 사과 갈색무늬병 감염 패턴의 분석 결과

- A-scan 분석 결과, layer 1, layer 2, layer 3이 명확히 관찰되면 건전으로, layer 2와 layer 3이 붕괴되는 패턴을 보이면 감염으로 판단함.
- 각각 촬영한 OCT image의 A-scan 분석결과를 확인하고, Layer 3개가 명확하게 보이면 건전, layer 2번 및 layer 3번이 무너진 패턴을 보이면 감염으로 판단함(그림 1).

표 23. OCT를 이용한 경상북도 군위 소재 사과원(GW) 및 군위군 소재 경북대학교 실습포장 사과원(GW-KNU)에서의 사과 갈색무늬병 진단 결과

도	품종	채집 시료	A-scan 결과	OCT 촬영일	
경상북도 군위 (GW)	후지	1	건전	5월 초순 Control day	
		GW-A	2		건전
		3	건전		
		1	건전		
		GW-B	2		건전
		3	감염		

			1	건전	
		GW-C	2	건전	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-D	2	건전	
			3	건전	
			1	감염	
		GW-E	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-A	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-B	2	건전	
			3	감염	
경상북도 군위 (GW)	후지		1	건전	5월 초순
		GW-C	2	감염	D+6
			3	감염	
			1	감염	
		GW-D	2	감염	
			3	건전	
			1	건전	
		GW-E	2	감염	
			3	건전	
			1	감염	
		GW-A	2	감염	
			3	건전	
경상북도 군위 (GW)	후지		1	감염	5월 초중순
		GW-B	2	감염	D+8
			3	감염	
			1	건전	
		GW-C	2	건전	

			3	감염	
			1	건전	
		GW-D	2	건전	
			3	건전	
			1	건전	
		GW-E	2	건전	
			3	건전	
			1	감염	
		GW-K-A	2	건전	
			3	건전	
			1	건전	
		GW-K-B	2	감염	
			3	건전	
경상북도 군위 (GW-KNU)	후지		1	감염	5월 초중순 D+8
		GW-K-C	2	감염	
			3	감염	
			1	건전	
		GW-K-D	2	건전	
			3	감염	
			1	건전	
		GW-K-E	2	건전	
			3	건전	
			1	감염	
		GW-A	2	건전	
			3	감염	
경상북도 군위 (GW)	후지		1	감염	5월 중순 D+13
		GW-B	2	건전	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-C	2	건전	
			3	감염	

			1	건전	
		GW-D	2	건전	
			3	감염	
			1	건전	
		GW-E	2	감염	
			3	건전	
			1	감염	
		GW-K-A	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-B	2	감염	
			3	감염	
경상북도 군위 (GW-KNU)	후지		1	감염	5월 중순 D+13
		GW-K-C	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-D	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-E	2	감염	
			3	감염	
			1	건전	
		GW-A	2	건전	
			3	건전	
			1	감염	5월 중순 D+16
		GW-B	2	감염	
			3	건전	
			1	감염	
		GW-C	2	건전	
			3	건전	

			1	감염	
		GW-D	2	감염	
			3	건전	
			1	건전	
		GW-E	2	감염	
			3	건전	
			1	감염	
		GW-K-A	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-B	2	감염	
			3	감염	
경상북도 군위 (GW-KNU)	후지		1	감염	5월 중순 D+16
		GW-K-C	2	건전	
			3	건전	
			1	건전	
		GW-K-D	2	건전	
			3	건전	
			1	건전	
		GW-K-E	2	건전	
			3	건전	
			1	감염	
		GW-A	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	5월 중하순 D+19
경상북도 군위 (GW)	후지	GW-B	2	건전	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-C	2	감염	
			3	감염	
		GW-D	1	감염	

			2	건전	
			3	건전	
			1	감염	
		GW-E	2	감염	
			3	건전	
			1	감염	
		GW-K-A	2	건전	
			3	감염	
			1	건전	
		GW-K-B	2	감염	
			3	감염	
경상북도 군위 (GW-KNU)	후지		1	건전	5월 중하순 D+19
		GW-K-C	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-D	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-E	2	건전	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-A	2	건전	
			3	건전	
			1	건전	
		GW-B	2	감염	
			3	건전	
경상북도 군위 (GW)	후지		1	감염	5월 하순 D+23
		GW-C	2	감염	
			3	감염	
			1	건전	
		GW-D	2	건전	
			2	건전	

			3	감염	
			1	감염	
		GW-E	2	건전	
			3	감염	
			1	건전	
		GW-K-A	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-B	2	감염	
			3	감염	
경상북도 군위 (GW-KNU)	후지		1	감염	5월 하순 D+23
		GW-K-C	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-D	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-E	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-A	2	감염	
			3	감염	
			1	건전	
		GW-B	2	감염	5월 하순 D+27
			3	감염	
			1	감염	
		GW-C	2	감염	
			3	건전	
			1	건전	
		GW-D	2	감염	
			3	건전	

			1	감염	
		GW-E	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-A	2	감염	
			3	건전	
			1	감염	
		GW-K-B	2	건전	
			3	건전	
경상북도 군위 (GW-KNU)	후지		1	감염	5월 하순 D+27
		GW-K-C	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-D	2	감염	
			3	감염	
			1	건전	
		GW-K-E	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-A	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-B	2	감염	
			3	감염	6월 초순 D+29
경상북도 군위 (GW)	후지		1	감염	
		GW-C	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-D	2	감염	
			3	감염	

			1	건전	
		GW-E	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-A	2	건전	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-B	2	건전	
			3	건전	
경상북도 군위 (GW-KNU)	후지		1	감염	6월 초순 D+29
		GW-K-C	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-D	2	건전	
			3	건전	
			1	건전	
		GW-K-E	2	감염	
			3	건전	
			1	건전	
		GW-A	2	건전	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-B	2	감염	
			3	감염	
경상북도 군위 (GW)	후지		1	감염	6월 초순 D+33
		GW-C	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-D	2	건전	
			3	건전	
			1	감염	
		GW-E	1	감염	

		2	건전		
		3	감염		
경상북도 군위 (GW-KNU)	후지	1	감염	6월 초순 D+33	
		GW-K-A	2		감염
			3		감염
			1		감염
		GW-K-B	2		감염
			3		감염
			1		감염
		GW-K-C	2		감염
			3		감염
			1		감염
		GW-K-D	2		감염
			3		건전
			1		감염
		GW-K-E	2		감염
			3		감염
경상북도 군위 (GW)	후지	1	감염	6월 초중순 D+37	
		GW-A	2		감염
			3		감염
			1		감염
		GW-B	2		감염
			3		감염
			1		감염
		GW-C	2		감염
			3		감염
			1		감염
		GW-D	2		감염
			3		감염
			1		건전
		GW-E	2		건전

			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-A	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-B	2	감염	
			3	감염	
경상북도 군위 (GW-KNU)	후지		1	감염	6월 초중순 D+37
		GW-K-C	2	감염	
			3	감염	
			1	건전	
		GW-K-D	2	건전	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-E	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-A	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-B	2	감염	
			3	감염	
경상북도 군위 (GW)	후지		1	감염	6월 중순 D+41
		GW-C	2	건전	
			3	건전	
			1	감염	
		GW-D	2	건전	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-E	1	감염	

			2	건전	
			3	감염	
			1	건전	
		GW-K-A	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-B	2	감염	
			3	감염	
경상북도 군위 (GW-KNU)	후지		1	감염	6월 중순 D+41
		GW-K-C	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-D	2	건전	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-E	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-A	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-B	2	감염	
			3	감염	
경상북도 군위 (GW)	후지		1	건전	6월 중순 D+44
		GW-C	2	건전	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-D	2	감염	
			3	건전	
		GW-E	1	감염	

			2	건전	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-A	2	건전	
			3	감염	
			1	건전	
		GW-K-B	2	감염	
			3	건전	
경상북도 군위 (GW-KNU)	후지		1	감염	6월 중순 D+44
		GW-K-C	2	감염	
			3	감염	
			1	건전	
		GW-K-D	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-E	2	감염	
			3	감염	
			1	건전	
		GW-A	2	감염	
			3	건전	
			1	건전	
		GW-B	2	건전	
			3	감염	
경상북도 군위 (GW)	후지		1	감염	6월 중하순 D+48
		GW-C	2	건전	
			3	감염	
			1	건전	
		GW-D	2	건전	
			3	감염	
		GW-E	1	건전	
			2	감염	

			3	건전	
경상북도 군위 (GW-KNU)	후지		1	감염	6월 중하순 D+48
		GW-K-A	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-B	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-C	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-D	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-E	2	감염	
			3	건전	
경상북도 군위 (GW)	후지		1	감염	6월 하순 D+51
		GW-A			
			2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-B	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-C	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-D	2	감염	
	3	감염			

			1	감염		
		GW-E	2	감염		
			3	감염		
			1	감염		
		GW-K-A	2	감염		
			3	감염		
			1	감염		
		GW-K-B	2	감염		
			3	감염		
경상북도 군위 (GW-KNU)	후지		1	감염	6월 하순 D+51	
		GW-K-C	2	감염		
			3	감염		
			1	감염		
		GW-K-D	2	감염		
			3	감염		
			1	감염		
		GW-K-E	2	감염		
			3	감염		
			1	감염		
		GW-A	2	감염		
			3	감염		
경상북도 군위 (GW)	후지		1	건전		6월 하순 D+54
		GW-B	2	감염		
			3	감염		
			1	건전		
		GW-C	2	감염		

			3	감염	
			1	감염	
		GW-D	2	감염	
			3	건전	
			1	건전	
		GW-E	2	건전	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-A	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-B	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
경상북도 군위	후지	GW-K-C	2	감염	6월 하순
(GW-KNU)			3	감염	D+54
			1	감염	
		GW-K-D	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-K-E	2	감염	
			3	감염	
<p>○ A-scan 분석 결과, 경상북도 군위 시험구 (GW) 및 군위군 소재 경북대학교 시험 사과원(GW-KNU)에서는 5월 초중순부터 갈색무늬병의 감염패턴이 확인되었음.</p> <p>○ 이러한 결과는 2013년 본 연구팀에서 수행하였던 선행연구결과, 1차년도 및 2차년도에 수행하였던 결과와도 일치하였음. 또한, 촬영일자별 감염패턴의 수는 5월 초중순부터 6월 하순까지 점진적으로 증가하는 경향이 확인되었음.</p>					

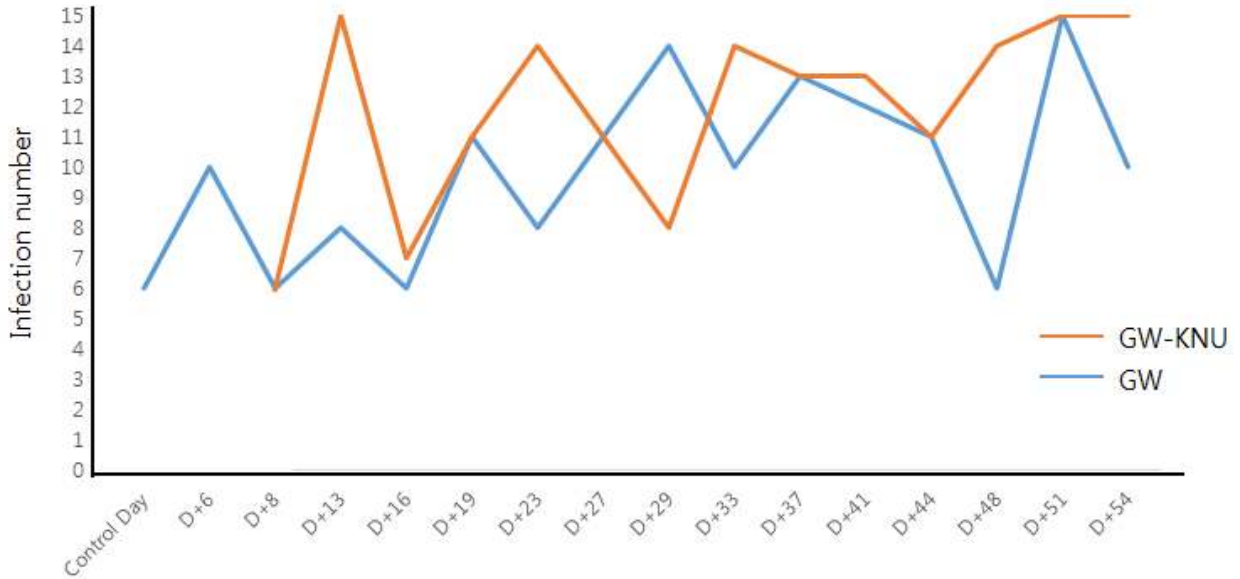


그림 58. 3차년도 군위포장에서 획득된 OCT 이미지 및 A-scan 검정을 통한 건전 패턴 및 사과 갈색무늬병 감염 패턴의 분석 결과

(마) LAMP법을 이용한 갈색무늬병 진단결과

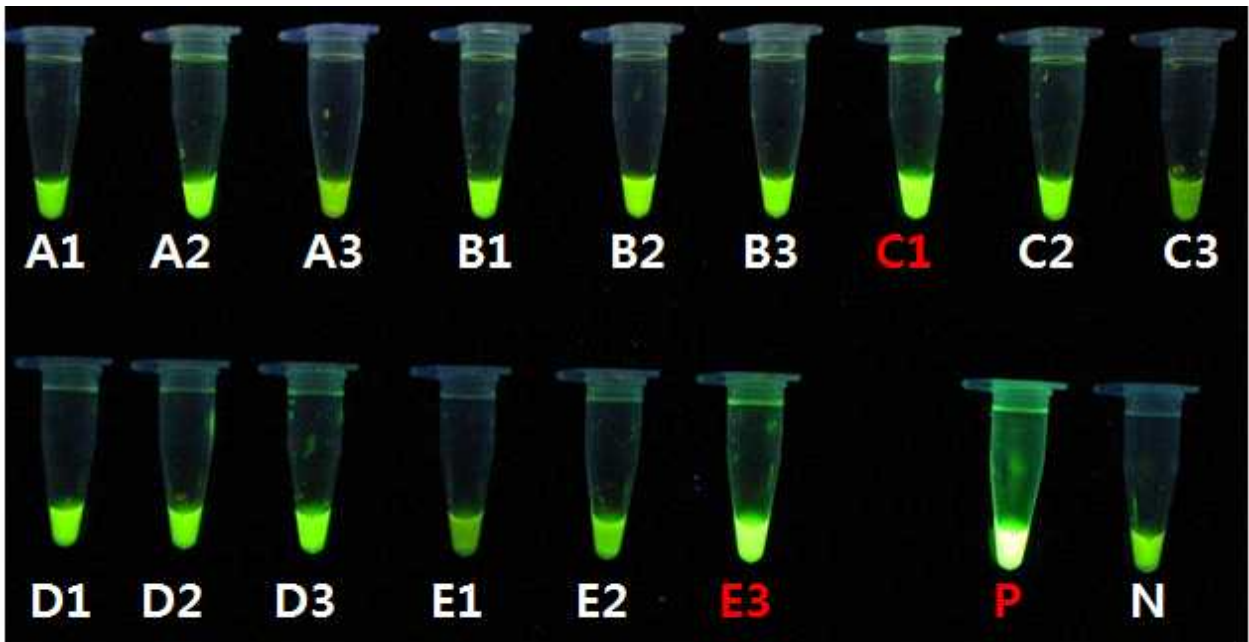


그림 59. 휴대용 SD-OCT를 촬영한 사과 잎에 대한 사과 갈색무늬병 진단 결과. Po: Positive(갈색무늬병균 genomic DNA), Ne: Negative(건전 사과 잎 DNA). 붉은색: LAMP 발색 sample(갈색무늬병 감염)

- 군위 소재 사과 시험포장 2곳에서 실험을 수행하면서, OCT로 촬영된 샘플은 기내에서 LAMP법으로 사과 갈색무늬병 검정을 실시함.
- 채집되는 시료를 대상으로 LAMP 검정을 수행한 결과, 군위 시험구 2곳 모두 5월 초중순 LAMP 검정 결과 사과 갈색무늬병 감염이 확인되었으며 이 후 실험 종료인 6월 하순까지 갈색무늬병의 감염 패턴은 지속적으로 확인되었음.

○ 이상 획득된 LAMP 결과와 A-scan 결과를 비교하여 일치율을 비교함.

표 24. 군위 시험포장에서 채집된 사과 잎에 대한 A-scan 및 LAMP 진단 결과

도	품종	채집 시료	A-scan 결과	LAMP 결과	일치 여부	OCT 촬영일	
경상북도 군위 (GW)	후지	1	건전	건전	O	5월 초순 Control day	
		GW-A	2	건전	감염		X
		3	건전	건전	O		
		GW-B	1	건전	건전		O
		2	건전	감염	X		
		3	감염	감염	O		
		GW-C	1	건전	건전		O
		2	건전	감염	X		
		3	감염	감염	O		
		GW-D	1	감염	감염		O
		2	건전	감염	X		
		3	건전	건전	O		
		GW-E	1	감염	감염		O
		2	감염	감염	O		
		3	감염	감염	O		
경상북도 군위 (GW)	후지	1	감염	건전	X	5월 초순 D+6	
		GW-A	2	감염	건전		X
		3	감염	감염	O		
		GW-B	1	감염	감염		O
		2	건전	건전	O		
		3	감염	감염	O		
		GW-C	1	건전	건전		O
		2	감염	감염	O		
		3	감염	건전	X		
		GW-D	1	감염	감염		O
		2	감염	감염	O		
		3	건전	건전	O		
		GW-E	1	건전	감염		X
		2	감염	감염	O		
		3	건전	감염	X		
경상북도 군위 (GW)	후지	1	감염	건전	X	5월 초중순 D+8	
		GW-A	2	감염	건전		X
		3	건전	건전	O		
		GW-B	1	감염	건전		X
		2	감염	감염	O		
		3	감염	건전	X		

			1	건전	건전	O	
		GW-C	2	건전	건전	O	
			3	감염	건전	X	
			1	건전	건전	O	
		GW-D	2	건전	감염	X	
			3	건전	건전	O	
			1	건전	건전	O	
		GW-E	2	건전	건전	O	
			3	건전	감염	X	
			1	감염	건전	X	
		GW-K-A	2	건전	건전	O	
			3	건전	건전	O	
			1	건전	건전	O	
		GW-K-B	2	감염	건전	X	
			3	건전	건전	O	
경상북도 군위 (GW-KNU)	후지		1	감염	감염	O	5월 초중순 D+8
		GW-K-C	2	감염	건전	X	
			3	감염	건전	X	
			1	건전	건전	O	
		GW-K-D	2	건전	건전	O	
			3	감염	건전	X	
			1	건전	건전	O	
		GW-K-E	2	건전	건전	O	
			3	건전	감염	X	
			1	감염	건전	X	
		GW-A	2	건전	건전	O	
			3	감염	감염	O	
			1	감염	감염	O	
		GW-B	2	건전	건전	O	
			3	감염	감염	O	
			1	감염	감염	O	5월 중순 D+13
		GW-C	2	건전	건전	O	
			3	감염	감염	O	
			1	건전	감염	X	
		GW-D	2	건전	감염	X	
			3	감염	건전	X	
			1	건전	감염	X	
		GW-E	2	감염	감염	O	
			3	건전	감염	X	
경상북도 군위 (GW-KNU)	후지		1	감염	건전	X	5월 중순 D+13
		GW-K-A	2	감염	감염	O	

		3	감염	감염	O		
		1	감염	감염	O		
	GW-K-B	2	감염	감염	O		
		3	감염	감염	O		
		1	감염	감염	O		
	GW-K-C	2	감염	건전	X		
		3	감염	건전	X		
		1	감염	감염	O		
	GW-K-D	2	감염	감염	O		
		3	감염	감염	O		
		1	감염	감염	O		
	GW-K-E	2	감염	감염	O		
		3	감염	감염	O		
경상북도 군위 (GW)	후지	1	건전	감염	X	5월 중순 D+16	
		GW-A	2	건전	감염		X
			3	건전	감염		X
			1	감염	감염		O
		GW-B	2	감염	감염		O
			3	건전	건전		X
			1	감염	감염		O
		GW-C	2	건전	감염		X
			3	건전	감염		X
			1	감염	감염		O
		GW-D	2	감염	감염		O
			3	건전	감염		X
			1	건전	감염		X
		GW-E	2	감염	감염		O
			3	건전	감염		X
경상북도 군위 (GW-KNU)	후지	1	감염	감염	O	5월 중순 D+16	
		GW-K-A	2	감염	감염		O
			3	감염	건전		X
			1	감염	감염		O
		GW-K-B	2	감염	감염		O
			3	감염	감염		O
			1	감염	감염		O
		GW-K-C	2	건전	감염		X
			3	건전	감염		X
			1	건전	감염		X
		GW-K-D	2	건전	감염		X
			3	건전	감염		X
			1	건전	감염		X
		GW-K-E	2	건전	감염		X

			3	건전	감염	X	
경상북도 군위 (GW)	후지	GW-A	1	감염	감염	O	5월 중하순 D+19
			2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
		GW-B	1	감염	감염	O	
			2	건전	감염	X	
			3	감염	감염	O	
		GW-C	1	감염	감염	O	
			2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
		GW-D	1	감염	감염	O	
			2	건전	감염	X	
			3	건전	감염	X	
		GW-E	1	감염	감염	O	
			2	감염	감염	O	
			3	건전	감염	X	
경상북도 군위 (GW-KNU)	후지	GW-K-A	1	감염	감염	O	5월 중하순 D+19
			2	건전	감염	X	
			3	감염	감염	O	
		GW-K-B	1	건전	건전	O	
			2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
		GW-K-C	1	건전	건전	O	
			2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
		GW-K-D	1	감염	감염	O	
			2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
		GW-K-E	1	감염	감염	O	
			2	건전	감염	X	
			3	감염	감염	O	
경상북도 군위 (GW)	후지	GW-A	1	감염	감염	O	5월 하순 D+23
			2	건전	감염	X	
			3	건전	감염	X	
		GW-B	1	건전	감염	X	
			2	감염	감염	O	
			3	건전	감염	X	
		GW-C	1	감염	감염	O	
			2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
		GW-D	1	건전	감염	X	

			2	건전	감염	X	
			3	감염	감염	O	
		GW-E	1	감염	감염	O	
			2	건전	감염	X	
			3	감염	감염	O	
경상북도 군위 (GW-KNU)	후지	GW-K-A	1	건전	건전	O	5월 하순 D+23
			2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
		GW-K-B	1	감염	감염	O	
			2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
		GW-K-C	1	감염	감염	O	
			2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
		GW-K-D	1	감염	감염	O	
			2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
		GW-K-E	1	감염	감염	O	
			2	감염	건전	X	
			3	감염	감염	O	
경상북도 군위 (GW)	후지	GW-A	1	감염	감염	O	5월 하순 D+27
			2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
		GW-B	1	건전	감염	X	
			2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
		GW-C	1	감염	감염	O	
			2	감염	감염	O	
			3	건전	감염	X	
		GW-D	1	건전	건전	O	
			2	감염	감염	O	
			3	건전	감염	X	
		GW-E	1	감염	감염	O	
			2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
경상북도 군위 (GW-KNU)	후지	GW-K-A	1	감염	감염	O	5월 하순 D+27
			2	감염	감염	O	
			3	건전	감염	X	
		GW-K-B	1	감염	감염	O	
			2	건전	감염	X	

			3	건전	건전	0	
			1	감염	감염	0	
		GW-K-C	2	감염	감염	0	
			3	감염	감염	0	
			1	감염	감염	0	
		GW-K-D	2	감염	감염	0	
			3	감염	감염	0	
			1	건전	건전	0	
		GW-K-E	2	감염	감염	0	
			3	감염	감염	0	
경상북도 군위 (GW)	후지		1	감염	감염	0	6월 초순 D+29
		GW-A	2	감염	감염	0	
			3	감염	감염	0	
			1	감염	감염	0	
		GW-B	2	감염	감염	0	
			3	감염	감염	0	
			1	감염	감염	0	
		GW-C	2	감염	감염	0	
			3	감염	감염	0	
			1	감염	감염	0	
		GW-D	2	감염	감염	0	
			3	감염	감염	0	
			1	건전	감염	X	
		GW-E	2	감염	감염	0	
			3	감염	감염	0	
경상북도 군위 (GW-KNU)	후지		1	감염	감염	0	6월 초순 D+29
		GW-K-A	2	건전	감염	X	
			3	감염	감염	0	
			1	감염	감염	0	
		GW-K-B	2	건전	감염	X	
			3	건전	감염	X	
			1	감염	감염	0	
		GW-K-C	2	감염	감염	0	
			3	감염	감염	0	
			1	감염	감염	0	
		GW-K-D	2	건전	건전	0	
			3	건전	건전	0	
			1	건전	감염	X	
		GW-K-E	2	감염	감염	0	
			3	건전	감염	X	
경상북도 군위 (GW)	후지	GW-A	1	건전	건전	0	6월 초순 D+33
			2	건전	건전	0	

			3	감염	감염	O	
			1	감염	감염	O	
		GW-B	2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
			1	감염	감염	O	
		GW-C	2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
			1	감염	감염	O	
		GW-D	2	건전	감염	X	
			3	건전	감염	X	
			1	감염	감염	O	
		GW-E	2	건전	감염	X	
			3	감염	감염	O	
			1	감염	감염	O	
		GW-K-A	2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
			1	감염	감염	O	
		GW-K-B	2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
			1	감염	감염	O	
경상북도 군위 (GW-KNU)	후지	GW-K-C	2	감염	감염	O	6월 초순 D+33
			3	감염	감염	O	
			1	감염	감염	O	
		GW-K-D	2	감염	감염	O	
			3	건전	감염	X	
			1	감염	감염	O	
		GW-K-E	2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
			1	감염	감염	O	
		GW-A	2	감염	건전	X	
			3	감염	감염	O	
			1	감염	감염	O	
		GW-B	2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
			1	감염	감염	O	
경상북도 군위 (GW)	후지	GW-C	2	감염	감염	O	6월 초중순 D+37
			3	감염	감염	O	
			1	감염	감염	O	
		GW-D	2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
			1	건전	건전	O	
		GW-E	2	건전	감염	X	

경상북도 군위 (GW-KNU)	후지	GW-K-A	3	감염	감염	O	6월 초중순 D+37
			1	감염	감염	O	
			2	감염	감염	O	
		GW-K-B	3	감염	감염	O	
			1	감염	감염	O	
			2	감염	감염	O	
		GW-K-C	3	감염	건전	X	
			1	건전	감염	X	
			2	건전	감염	X	
		GW-K-D	3	감염	감염	O	
			1	감염	감염	O	
			2	감염	감염	O	
		GW-K-E	3	감염	감염	O	
			1	감염	감염	O	
			2	감염	감염	O	
경상북도 군위 (GW)	후지	GW-A	1	감염	감염	O	6월 중순 D+41
			2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
		GW-B	1	감염	감염	O	
			2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
		GW-C	1	감염	감염	O	
			2	건전	감염	X	
			3	건전	감염	X	
		GW-D	1	감염	감염	O	
			2	건전	건전	O	
			3	감염	감염	O	
		GW-E	1	감염	감염	O	
			2	건전	건전	O	
			3	감염	감염	O	
경상북도 군위 (GW-KNU)	후지	GW-K-A	1	건전	감염	X	6월 중순 D+41
			2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
		GW-K-B	1	감염	감염	O	
			2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
		GW-K-C	1	감염	감염	O	
			2	감염	감염	O	
			3	감염	건전	X	

			1	감염	감염	O	
		GW-K-D	2	건전	감염	X	
			3	감염	감염	O	
			1	감염	감염	O	
		GW-K-E	2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
경상북도 군위 (GW)	후지		1	감염	감염	O	6월 중순 D+44
		GW-A	2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
			1	감염	감염	O	
		GW-B	2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
			1	건전	감염	X	
		GW-C	2	건전	건전	O	
			3	감염	감염	O	
			1	감염	감염	O	
		GW-D	2	감염	감염	O	
			3	건전	감염	X	
			1	감염	감염	O	
		GW-E	2	건전	감염	X	
			3	감염	감염	O	
경상북도 군위 (GW-KNU)	후지		1	감염	감염	O	6월 중순 D+44
		GW-K-A	2	건전	감염	X	
			3	감염	감염	O	
			1	건전	감염	X	
		GW-K-B	2	감염	감염	O	
			3	건전	감염	X	
			1	감염	감염	O	
		GW-K-C	2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
			1	건전	감염	X	
		GW-K-D	2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
		GW-K-E	1	감염	감염	O	

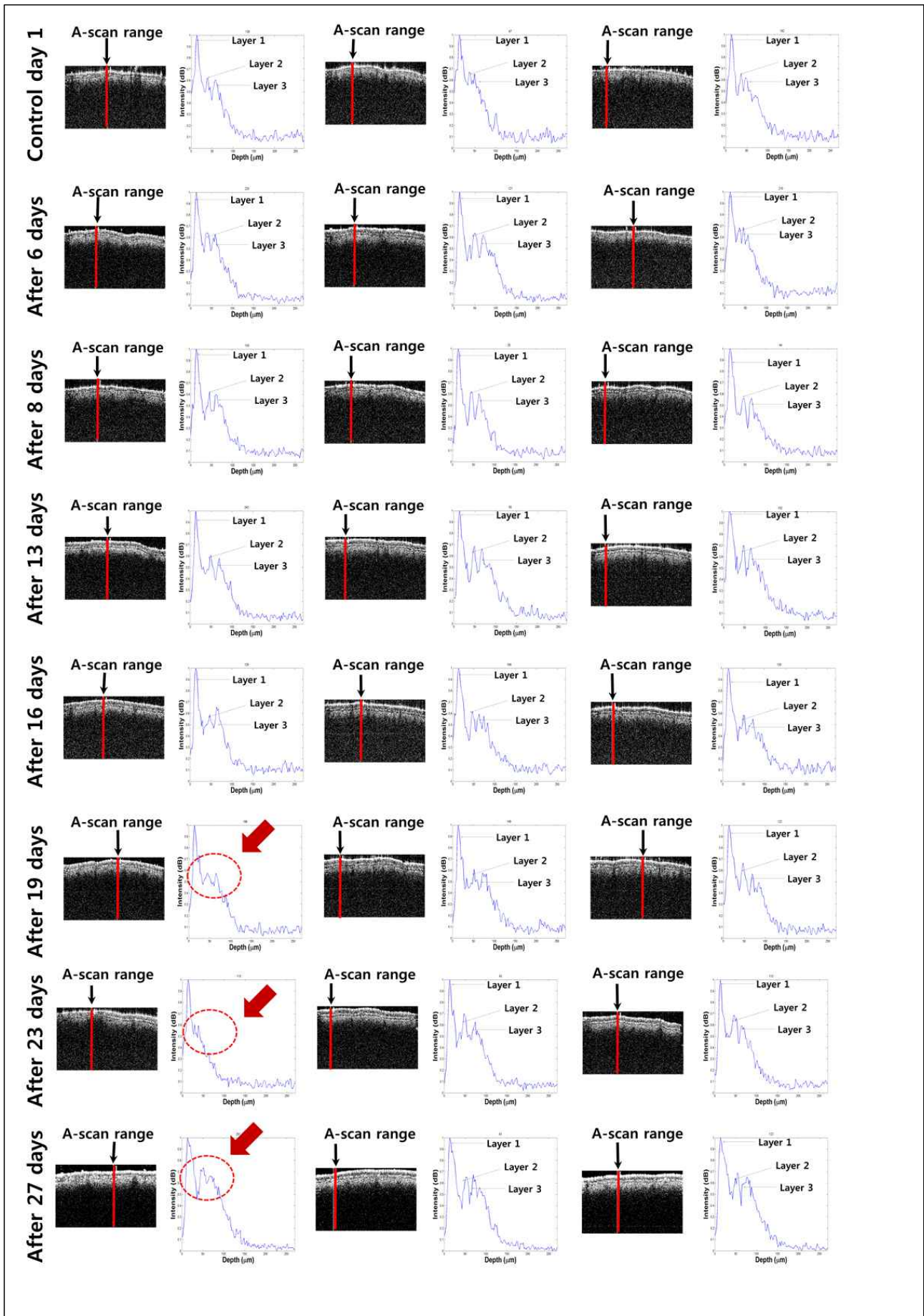
		2	감염	건전	X		
		3	감염	감염	O		
경상북도 군위 (GW)	후지	GW-A	1	건전	감염	X	6월 중하순 D+48
			2	감염	감염	O	
			3	건전	감염	X	
		GW-B	1	건전	감염	X	
			2	건전	감염	X	
			3	감염	감염	O	
		GW-C	1	감염	감염	O	
			2	건전	감염	X	
			3	감염	감염	O	
		GW-D	1	건전	감염	X	
			2	건전	감염	X	
			3	감염	감염	O	
		GW-E	1	건전	감염	X	
			2	감염	감염	O	
			3	건전	감염	X	
경상북도 군위 (GW-KNU)	후지	GW-K-A	1	감염	감염	O	6월 중하순 D+48
			2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
		GW-K-B	1	감염	감염	O	
			2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
		GW-K-C	1	감염	감염	O	
			2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
		GW-K-D	1	감염	감염	O	
			2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
		GW-K-E	1	감염	감염	O	
			2	감염	감염	O	
			3	건전	감염	X	
경상북도 군위 (GW)	후지	GW-A	1	감염	감염	O	6월 하순 D+51
			2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
		GW-B	1	감염	감염	O	
			2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	

			1	감염	감염	0	
		GW-C	2	감염	감염	0	
			3	감염	감염	0	
			1	감염	감염	0	
		GW-D	2	감염	감염	0	
			3	감염	감염	0	
			1	감염	감염	0	
		GW-E	2	감염	감염	0	
			3	감염	감염	0	
			1	감염	감염	0	
		GW-K-A	2	감염	감염	0	
			3	감염	감염	0	
			1	감염	건전	X	
		GW-K-B	2	감염	감염	0	
			3	감염	감염	0	
경상북도 군위 (GW-KNU)	후지		1	감염	감염	0	6월 하순 D+51
		GW-K-C	2	감염	감염	0	
			3	감염	감염	0	
			1	감염	감염	0	
		GW-K-D	2	감염	감염	0	
			3	감염	감염	0	
			1	감염	감염	0	
		GW-K-E	2	감염	감염	0	
			3	감염	감염	0	
			1	감염	감염	0	
		GW-A	2	감염	감염	0	
			3	감염	감염	0	
			1	건전	건전	0	
		GW-B	2	감염	감염	0	
			3	감염	감염	0	
경상북도 군위 (GW)	후지		1	건전	감염	X	6월 하순 D+54
		GW-C	2	감염	건전	X	
			3	감염	감염	0	
			1	감염	감염	0	
		GW-D	2	감염	감염	0	
			3	건전	감염	X	

경상북도 군위 (GW-KNU)	후지	GW-E	1	건전	감염	X	6월 하순 D+54
			2	건전	감염	X	
			3	감염	감염	O	
		GW-K-A	1	감염	감염	O	
			2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
		GW-K-B	1	감염	감염	O	
			2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
		GW-K-C	1	감염	감염	O	
			2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
		GW-K-D	1	감염	감염	O	
			2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
GW-K-E	1	감염	감염	O			
	2	감염	감염	O			
	3	감염	감염	O			

A-scan 분석 결과	총계	450	LAMP 검정 결과	총계	450
	감염	323		감염	382
OCT 감염률:		LAMP 감염률:			
(323/450)x100=71.7%		(382/450)x100=84.8%			
○ 감염 일치율: 75.1% (총 450개, 일치 338개)					

- 5월 초중순부터 6월 하순까지 수행된 채집시료에 대한 갈색무늬병 검정 결과, A-scan 및 LAMP 분석으로 총 450개의 시료가 분석되었음. A-scan 분석 결과 450 샘플 중, 감염 샘플은 323개가 확인되어 감염률은 약 71.7%로 확인되었으며, LAMP법의 경우 총 382개의 감염 샘플이 확인되어 약 84.8%의 감염률이 확인되었음.
- 또한 상호간의 감염 일치율을 확인한 결과, 총 비교대상 450개 중, 338개의 결과가 일치하여 약 75.1%의 일치율이 확인됨.
- 2차년도 상주 및 대구 시험포장에서 수행된 결과에서는 사과 갈색무늬병 감염률이 A-scan 결과 51.9%(129샘플 검정), LAMP 결과 51.8%(169샘플 검정)로 확인되었으나, 3차년도 결과에서는 A-scan 및 LAMP 결과 모두 상대적으로 높은 감염률이 확인되었음.



After 29 days
After 33 days
After 37 days
After 41 days
After 44 days
After 48 days
After 51 days

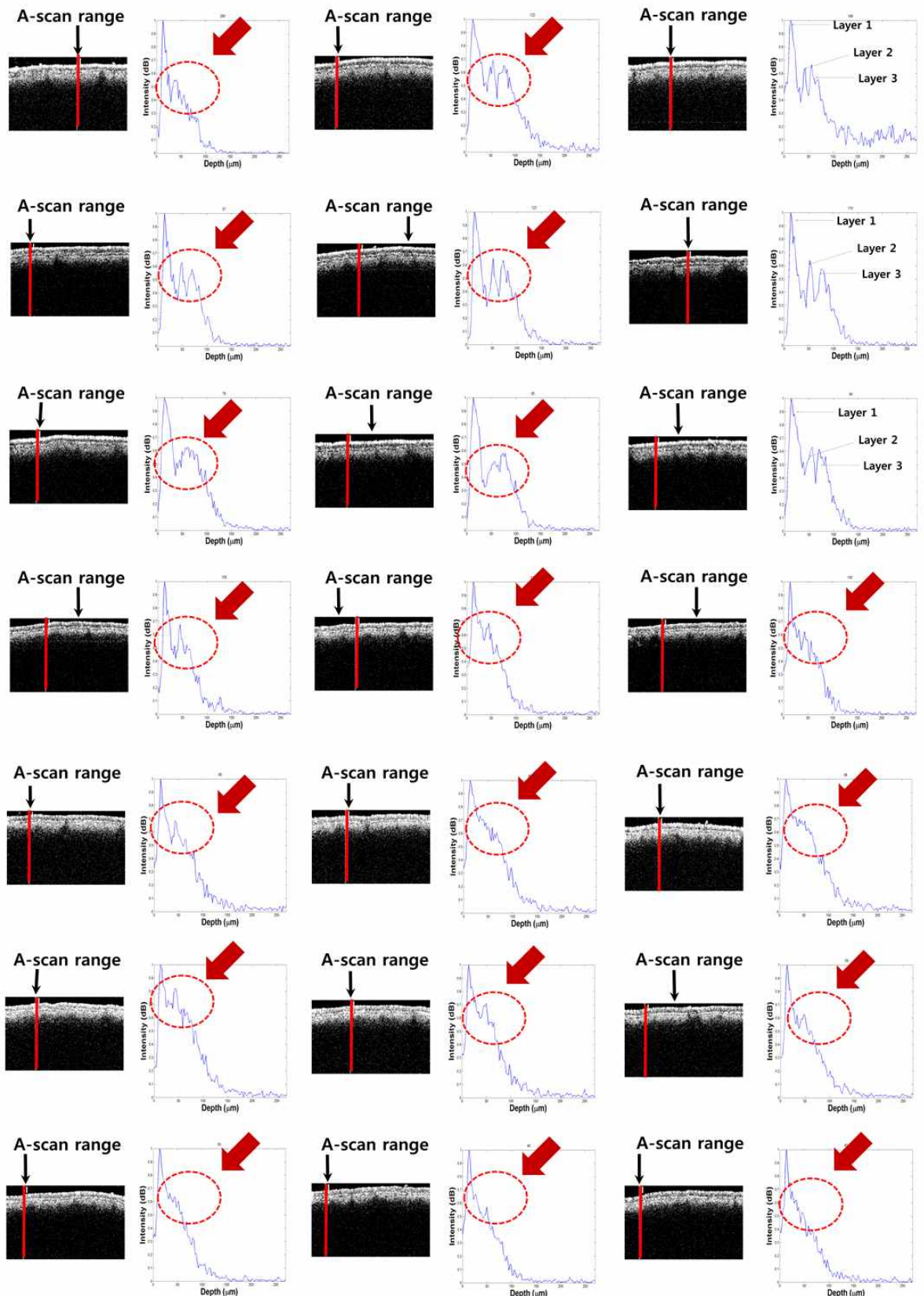


그림 60. 군위 (GW) 시험 포장 4번 사과나무 모니터링 샘플의 OCT image 및 A-scan 결과. 붉은색 화살표: 사과 갈색무늬병 감염 패턴.

표 25. 군위 (GW) 시험 포장 4번 사과나무 모니터링 샘플의 감염 패턴 정리 결과

군위 (GW) 시험 포장 4번 사과나무			
	1번잎	2번잎	3번잎
Control Day	건전	건전	건전
5월 초순 After 6 days	건전	건전	건전
5월 초중순 After 8 days	건전	건전	건전
5월 중순 After 13 days	건전	건전	건전
5월 중순 After 16 days	건전	건전	건전
5월 중하순 After 19 days	감염	건전	건전
5월 하순 After 23 days	감염	건전	건전
5월 하순 After 27 days	감염	건전	건전
6월 초순 After 29 days	감염	감염	건전
6월 초순 After 33 days	감염	감염	건전
6월 초중순 After 37 days	감염	감염	건전
6월 중순 After 41 days	감염	감염	감염
6월 중순 After 44 days	감염	감염	감염
6월 중하순 After 48 days	감염	감염	감염
6월 하순 After 51 days	감염	감염	감염

- 5월 초중순부터 6월 하순까지 약 50일 동안 동일한 잎에 대하여 모니터링을 수행한 결과, 실험을 처음 수행하였던 5월 초순에서는 대부분 샘플이 3개의 뚜렷한 layer가 관찰되었으나, 5월 중하순부터 layer 2번, layer 3번이 합쳐지거나, 무너지는 패턴이 대부분 지속적으로 관찰되었음.
- 모니터링 샘플뿐만 아니라, OCT 및 LAMP법으로 진단한 갈색무늬병의 감염율도 시간이 지나면서 함께 증가되는 것으로 확인되었으며, 이는 2차년도 결과와도 동일하였음.
- 3차년도에 수행된 군위 사과원 포장 2곳은 모두 전년도에 갈색무늬병이 심하게 발병한 포장이었으므로, 감염률이 2차년도 수행된 결과보다 감염률이 높게 나타난 것으로 사료됨. 또한 6월 중하순 시험포장에서 갈색무늬병의 최초 병징이 확인되었으므로, 사과갈색무늬병균의 잠복기를 고려할 때, 이전에 보고된 결과와 연관 있는 것으로 판단됨.
- 하지만 6월 하순까지 진단한 결과는 감염률이 상대적으로 매우 높았으나, 17년 4월부터 6월까지 강우일수가 적어 발병환경이 부적당하였고, 약제 방제가 관행적으로 이뤄졌으므로 어느 정도 발병이 억제된 것으로 사료됨.

(2) 휴대용 OCT를 이용한 배 검은별무늬병 진단법 확립

- 휴대용 SD-OCT를 이용하여 ‘신고’ 및 ‘화산’ 품종 배를 대상으로 병징이 관찰되지 않는 4월 중순부터 5월 중순까지 배잎을 OCT로 관찰하여 A-scan 분석을 수행하였으며, 개발된 LAMP법을 이용하여 사과갈색무늬병균의 감염여부 진단을 병행함.



그림 61. 2017년 휴대용 SD-OCT 배 검은별무늬병 진단 실험 수행포장

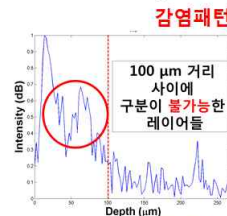


조사대상나무 선정

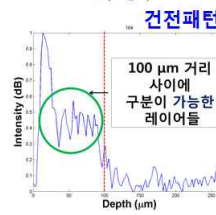
Monitoring용 대상잎 선정 및 LAMP용 실험 대상잎 선정



휴대용 SD-OCT 촬영



감염패턴



건전패턴

A-scan 분석 실시



감염패턴

건전패턴

LAMP 분석 실시

그림 62. 휴대용 SD-OCT와 LAMP법을 이용한 배 검은별무늬병 진단법의 모식도

(가) 실험방법 및 조사 기간

- 실험에서 수행되었던 배 과원은 경상북도 칠곡군 소재 배 과원(CG) 및 경상북도 군위군 소재 배 과원(GW)에서 실험을 수행하였으며, 칠곡군 배 시험포장에서는 4월 중순부터 5월 중순까지, 군위군 소재 배 과원에서는 5월 초순부터 6월 중순까지 수행하였음.
- 칠곡군 소재 배 과원의 경우, 유기농으로 재배를 하는 과원이었고, 군위군 소재 배 과원은 관행적으로 살균제를 살포하여 재배하는 과원이었음.

- 시험품종은 ‘신고’, ‘원황’ 및 ‘화산’ 품종으로 실험을 수행하였으며, CG 및 GW 과원에서 는 과원 내에 5그룹을 임의로 지정하여 실험을 수행하였음.
- 휴대용 SD-OCT 촬영부위는 검은별무늬병의 최초 병징 및 표징이 주로 관찰되는 부위 인 엽맥과 주맥을 포함하는 엽육부분을 촬영하고 OCT 데이터를 확보하였음.
- Monitoring 용으로 선발된 잎들은 채집하지 않고, 실험기간동안 동일한 부위를 촬영하여 A-scan 데이터를 확보하였으며, LAMP 실험용으로 선발된 잎들은 OCT 촬영 후 채집하여 LAMP법으로 분석하고, 획득된 OCT에서 A-scan 분석을 실시하여 LAMP 진단 결과 와 비교하였음.

(나) LAMP법을 이용한 배 검은별무늬병의 진단

- 채집된 배잎은 OCT 촬영 부위를 중심으로 절단하고, LAMP용 마쇄액(0.2M NaCl, 0.2M Tris-HCl(pH 8.0))에 시료를 침지시켜 마쇄함.
- 마쇄액 1 μl 를 취하여 LAMP 반응액(2 μl 의 10 pM FIP/BIP primer set, 0.5 μl 의 F3/B3 primer set, 2.5 μl 의 10 \times ThermoPol Reaction Buffer [20 mM Tris-HCl, 10 mM KCl, 10 mM(NH₄)₂SO₄, 2 mM MgSO₄, 0.1% TritonX-100, New England Biolabs, USA], 0.5 μl 의 10 mM dNTP, 16 μl DDW)에 첨가한 후 60°C로 설정한 항온수조에서 반응시킨 후 1 μl Bst DNA polymerase large fragment(8 unit/ μl , New England Biolabs, USA) 첨가하여 45분간 반응하였으며, 반응이 종료된 후 1 μl SYBR green solution I(1,000 \times stock)로 염색하여 감염유무를 확인함.

(다) A-scan을 이용한 사과 갈색무늬병의 진단

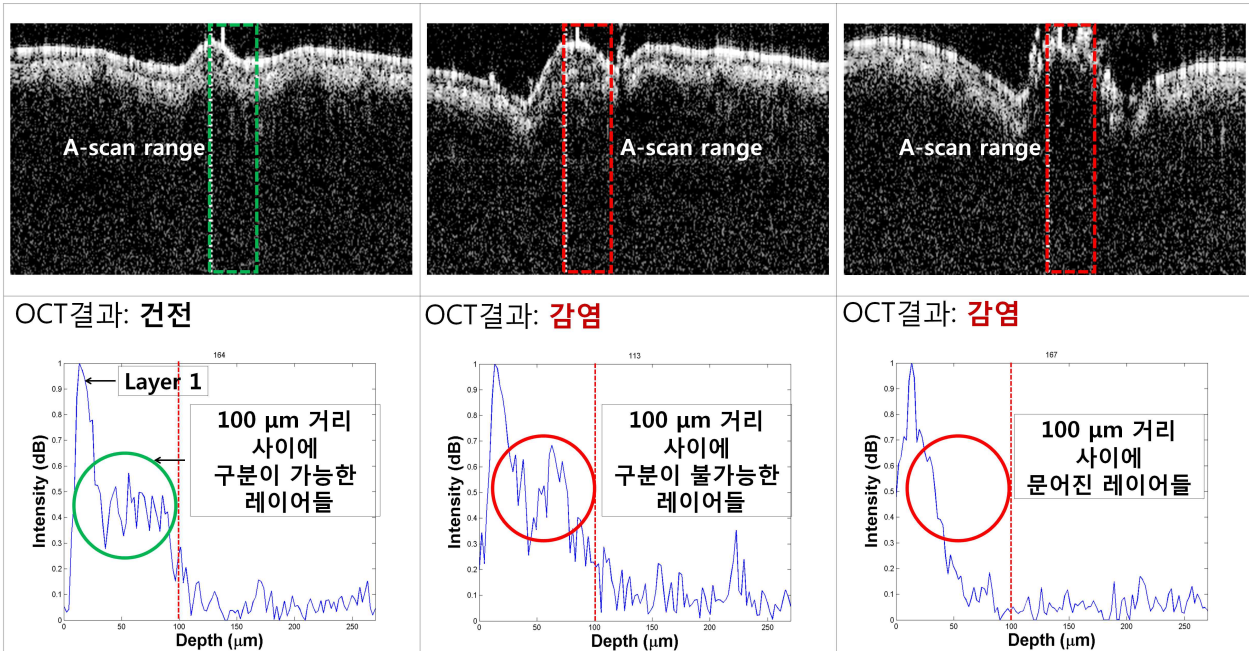


그림 63. 3차년도 시험포장에서 획득된 OCT 이미지 및 A-scan 검정을 통한 건전 패턴 및 배 검은별무늬병 감염 패턴의 분석 결과

- OCT를 이용한 배 검은별무늬병 진단은 실험개시일인 4월 중순을 기점으로 하여 기상 상황을 고려하여 기준 일에서 4일, 8일, 10일, 15일, 17일, 21일, 24일, 29일, 32일, 35일, 39일, 43일, 45일, 49일, 53일, 57일 후 까지 시험을 수행함.
- 획득된 OCT image는 A-scan 분석을 수행하고 나타나는 peak로 감염유무를 검정함.

표 26. OCT를 이용한 경상북도 칠곡군 소재 배 과원(CG) 및 군위군 소재 배 과원(GW)에서의 배 검은별무늬병 진단 결과

도	품종	채집 시료	A-scan 결과	OCT 촬영일			
경상북도 칠곡 (CG)	화산	1	건전	4월 중하순 Control Day			
		CG-A	2		건전		
		3	건전				
	신고	1	건전				
		CG-B	2		건전		
		3	건전				
	신고	1	건전				
		CG-D	2		건전		
		3	건전				
	원황	1	건전				
		CG-E	2		건전		
		3	건전				
	경상북도 칠곡 (CG)	화산	1		건전	4월 중하순 D+4	
			CG-A		2		건전
			3		건전		
신고		1	건전				
		CG-B	2	건전			
		3	건전				
신고		1	건전				
		CG-C	2	건전			
		3	건전				
원황		1	건전				
		CG-D	2	건전			
		3	건전				
원황		1	건전				
		CG-E	2	건전			

			3	건전	
			1	건전	
		CG-A	2	건전	
	화산		3	건전	
			1	건전	
		CG-B	2	건전	
			3	건전	
경상북도 칠곡 (CG)			1	건전	4월 중하순 D+8
	신고	CG-C	2	건전	
			3	건전	
			1	건전	
	신고	CG-D	2	건전	
			3	건전	
			1	건전	
	원황	CG-E	2	건전	
			3	건전	
			1	건전	
		CG-A	2	건전	
	화산		3	건전	
			1	건전	
		CG-B	2	건전	
			3	건전	
경상북도 칠곡 (CG)			1	건전	4월 하순 D+10
	신고	CG-C	2	감염	
			3	건전	
			1	건전	
	신고	CG-D	2	건전	
			3	건전	
			1	건전	
	원황	CG-E	2	건전	
			3	건전	
			1	건전	
		CG-A	2	건전	5월 초순 D+15
경상북도 칠곡 (CG)	화산		3	건전	
			1	건전	
		CG-B	2	감염	

			3	건전		
	신고	CG-C	1	건전		
			2	건전		
			3	건전		
	신고	CG-D	1	건전		
			2	건전		
			3	건전		
	원황	CG-E	1	감염		
			2	건전		
			3	감염		
경상북도 군위 (GW)			1	건전	5월 초순 D+15	
		GW-A	2	건전		
			3	감염		
		GW-B	1	감염		
			2	감염		
			3	건전		
		GW-C	1	건전		
			2	감염		
			3	건전		
		GW-D	1	감염		
			2	건전		
			3	건전		
		GW-E	1	감염		
			2	감염		
			3	건전		
경상북도 칠곡 (CG)			1	건전	5월 초순 D+17	
		CG-A	2	건전		
		화산	3	건전		
		CG-B	1	건전		
			2	감염		
			3	건전		
		신고	CG-C	1		감염
			2	건전		
			3	건전		
		신고	CG-D	1		감염
		2	건전			

			3	감염						
			1	감염						
	원황	CG-E	2	감염						
			3	감염						
경상북도 군위 (GW)			1	건전	5월 초순 D+17					
				GW-A		2	건전			
						3	건전			
	신고			1		건전				
						GW-B	2	건전		
							3	건전		
						1	건전			
							GW-C	2	감염	
								3	건전	
				1		감염				
						GW-D	2	건전		
							3	건전		
						1	건전			
							GW-E	2	건전	
								3	건전	
경상북도 칠곡 (CG)	화산		1	건전	5월 초순 D+21					
				CG-A		2	감염			
						3	건전			
							1	건전		
								CG-B	2	건전
									3	건전
	신고			1		건전				
						CG-C	2	건전		
							3	건전		
	신고			1		건전				
						CG-D	2	건전		
							3	건전		
	원황			1		건전				
						CG-E	2	건전		
							3	건전		
경상북도 군위 (GW)	신고		1	감염	5월 초순 D+21					
				GW-A		2	건전			

			3	건전	
			1	감염	
		GW-B	2	감염	
			3	건전	
			1	감염	
		GW-C	2	감염	
			3	건전	
			1	감염	
		GW-D	2	감염	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-E	2	건전	
			3	감염	
			1	감염	
		CG-A	2	감염	
	화산		3	건전	
			1	건전	
		CG-B	2	건전	
			3	건전	
경상북도 칠곡 (CG)			1	건전	5월 초중순 D+24
	신고	CG-C	2	건전	
			3	건전	
			1	감염	
	신고	CG-D	2	건전	
			3	건전	
			1	감염	
	원항	CG-E	2	건전	
			3	건전	
			1	감염	
		GW-A	2	건전	
			3	감염	
경상북도 군위 (GW)			1	건전	5월 초중순 D+24
	신고	GW-B	2	감염	
			3	건전	
		GW-C	1	건전	

			2	감염	
			3	감염	
		GW-D	1	건전	
			2	건전	
			3	감염	
		GW-E	1	건전	
			2	감염	
			3	건전	
			1	건전	
		CG-A	2	건전	
	화산		3	건전	
			1	건전	
		CG-B	2	감염	
			3	건전	
경상북도 칠곡 (CG)			1	건전	5월 중순
	신고	CG-C	2	건전	D+29
			3	건전	
			1	건전	
	신고	CG-D	2	감염	
			3	건전	
			1	감염	
	원황	CG-E	2	건전	
			3	건전	
			1	건전	
		GW-A	2	감염	
			3	감염	
			1	건전	
		GW-B	2	건전	
			3	건전	
경상북도 군위 (GW)	신고		1	건전	5월 중순
		GW-C	2	감염	D+29
			3	감염	
			1	건전	
		GW-D	2	건전	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-E	2	감염	
			3	건전	

경상북도 칠곡 (CG)	화산		1	건전	5월 중순 D+32
		CG-A	2	감염	
			3	감염	
			1	건전	
		CG-B	2	감염	
			3	건전	
	신고	CG-C	1	건전	
			2	건전	
			3	건전	
	신고	CG-D	1	건전	
			2	건전	
			3	건전	
	원황	CG-E	1	건전	
			2	감염	
			3	건전	
경상북도 군위 (GW)			1	감염	5월 중순 D+32
		GW-A	2	감염	
			3	건전	
	신고	GW-B	1	건전	
			2	감염	
			3	건전	
		GW-C	1	건전	
			2	건전	
			3	건전	
	GW-D	1	건전		
		2	건전		
		3	건전		
	GW-E	1	건전		
		2	감염		
		3	감염		
경상북도 군위 (GW)	신고		1	건전	5월 중하순 D+35
		GW-A	2	건전	
			3	감염	
		GW-B	1	건전	
			2	건전	

			3	건전	
		GW-C	1	감염	
			2	건전	
			3	건전	
		GW-D	1	건전	
			2	건전	
			3	감염	
		GW-E	1	건전	
			2	건전	
			3	건전	
경상북도 군위 (GW)	신고		1	감염	5월 하순 D+39
		GW-A	2	감염	
			3	감염	
		GW-B	1	감염	
			2	건전	
			3	감염	
		GW-C	1	건전	
			2	건전	
			3	건전	
		GW-D	1	건전	
			2	건전	
			3	건전	
		GW-E	1	건전	
			2	건전	
			3	건전	
경상북도 군위 (GW)	신고		1	감염	5월 하순 D+43
		GW-A	2	감염	
			3	건전	
		GW-B	1	건전	
			2	건전	
			3	감염	
		GW-C	1	건전	
			2	건전	
			3	건전	
		GW-D	1	건전	
			2	건전	

			3	건전	
			1	건전	
		GW-E	2	건전	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-A	2	건전	
			3	건전	
			1	건전	
		GW-B	2	건전	
			3	감염	
경상북도 군위 (GW)	신고		1	건전	6월 초순 D+45
		GW-C	2	건전	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-D	2	건전	
			3	감염	
			1	건전	
		GW-E	2	건전	
			3	감염	
			1	건전	
		GW-A	2	감염	
			3	감염	
			1	건전	
		GW-B	2	감염	
			3	건전	
경상북도 군위 (GW)	신고		1	건전	6월 초순 D+49
		GW-C	2	감염	
			3	건전	
			1	감염	
		GW-D	2	건전	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-E	2	건전	
			3	건전	
경상북도 군위 (GW)	신고		1	감염	D+53
		GW-A	2	건전	6월 초중순

			3	건전	
			1	건전	
		GW-B	2	건전	
			3	건전	
			1	건전	
		GW-C	2	건전	
			3	감염	
			1	감염	
		GW-D	2	감염	
			3	건전	
			1	건전	
		GW-E	2	건전	
			3	건전	
			1	건전	
		GW-A	2	건전	
			3	건전	
			1	건전	
		GW-B	2	감염	
			3	건전	
경상북도 군위 (GW)	신고		1	건전	D+57 6월 중순
		GW-C	2	감염	
			3	N/A	
			1	건전	
		GW-D	2	건전	
			3	건전	
			1	감염	
		GW-E	2	건전	
			3	N/A	

- A-scan 분석 결과, 경상북도 칠곡군 시험구(CG) 및 군위 시험구 (GW)의 경우, 5월 초 중순부터 검은별무늬병의 감염패턴이 확인되었으며, 이 후 감염 패턴이 지속적으로 확인 되었음.
- 2차년도의 경우, 역시 4월 하순부터 감염 패턴이 확인되었으므로 전년도 결과와도 일치 한 것으로 사료됨.

(라) LAMP법을 이용한 갈색무늬병 진단결과

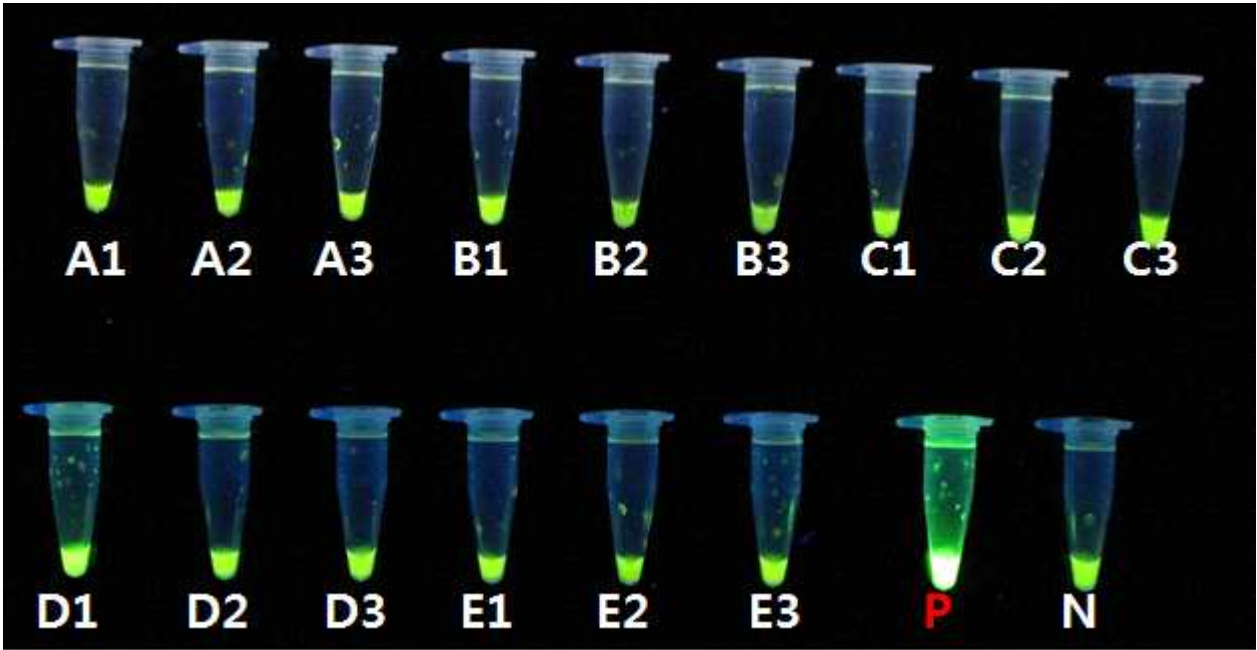


그림 64. 휴대용 SD-OCT를 촬영한 사과 잎에 대한 배 검은별무늬병 진단 결과. Po: Positive(검은별무늬병균 genomic DNA), Ne: Negative(건강 배잎 DNA).

- 군위 소재 배 시험포장 3곳에서 실험을 수행하면서, OCT로 촬영된 샘플은 기내에서 LAMP법으로 배 검은별무늬병 감염 검정을 실시함.
- 채집되는 시료를 대상으로 LAMP 검정을 수행한 결과, CG 시험구 및 GW 시험구에서는 4월 중하순부터 배 검은별무늬병 감염이 확인되었으며, 나머지 시험구 모두 실험 종료인 6월 하순까지 감염이 지속적으로 확인되었음.
- 이상 획득된 LAMP 결과와 A-scan 결과를 비교하여 일치율을 비교함.

표 27. 배 시험포장에서 채집된 배잎에 대한 A-scan 및 LAMP 진단 결과 비교

도	품종	채집 시료	A-scan 결과	LAMP 결과	일치 여부	OCT 촬영일	
경상북도 칠곡 (CG)	화산	1	건강	건강	O	4월 중하순 Control Day	
		CG-A	2	건강	건강		O
		3	건강	건강	O		
	신고	CG-C	1	건강	건강		O
			2	건강	감염		X
			3	건강	감염		X

			1	건전	건전	O			
	신고	CG-D	2	건전	감염	X			
			3	건전	감염	X			
	원황	CG-E	1	건전	건전	O			
			2	건전	건전	O			
			3	건전	건전	O			
경상북도 칠곡 (CG)	화산	CG-A	1	건전	건전	O	4월 중하순 D+4		
			2	건전	건전	O			
			3	건전	건전	O			
	신고	CG-C	1	건전	건전	O			
			2	건전	건전	O			
			3	건전	건전	O			
	신고	CG-D	1	건전	감염	X			
			2	건전	건전	O			
			3	건전	건전	O			
	원황	CG-E	1	건전	건전	O			
			2	건전	건전	O			
			3	건전	건전	O			
	경상북도 칠곡 (CG)	화산	CG-A	1	건전	건전		O	4월 중하순 D+8
				2	건전	건전		O	
				3	건전	건전		O	
신고		CG-C	1	건전	건전	O			
			2	건전	건전	O			
			3	건전	건전	O			
신고		CG-D	1	건전	건전	O			
			2	건전	건전	O			
			3	건전	건전	O			
원황		CG-E	1	건전	건전	O			
			2	건전	건전	O			
			3	건전	건전	O			

경상북도 칠곡 (CG)	화산		1	건전	건전	O	4월 하순 D+10		
		CG-A	2	건전	건전	O			
			3	건전	건전	O			
	신고	CG-C		1	건전	건전		O	
				2	감염	건전		X	
				3	건전	건전		O	
	신고	CG-D		1	건전	건전		O	
				2	건전	건전		O	
				3	건전	건전		O	
	원황	CG-E		1	건전	건전		O	
				2	건전	건전		O	
				3	건전	건전		O	
	경상북도 칠곡 (CG)	화산		1	건전	건전		O	5월 초순 D+15
			CG-A	2	건전	건전		O	
				3	건전	건전		O	
신고		CG-B		1	건전	건전	O		
				2	감염	건전	X		
				3	건전	건전	O		
신고		CG-C		1	건전	건전	O		
				2	건전	건전	O		
				3	건전	건전	O		
신고		CG-D		1	건전	건전	O		
				2	건전	건전	O		
				3	건전	건전	O		
신고		CG-E		1	감염	건전	X		
				2	건전	건전	O		
				3	감염	건전	X		
경상북도 군위 (GW)	신고	GW-A	1	건전	건전	O	5월 초순 D+15		
			2	건전	건전	O			
			3	감염	건전	X			
	신고	GW-B	1	감염	건전	X			
			2	감염	건전	X			

			3	건전	건전	O	
			1	건전	건전	O	
		GW-C	2	감염	건전	X	
			3	건전	건전	O	
			1	감염	건전	X	
		GW-D	2	건전	건전	O	
			3	건전	건전	O	
			1	감염	건전	X	
		GW-E	2	감염	건전	X	
			3	건전	건전	O	
			1	건전	건전	O	
		CG-A	2	건전	건전	O	
	화산		3	건전	건전	O	
			1	건전	건전	O	
		CG-B	2	감염	감염	O	
			3	건전	건전	O	
경상북도 칠곡 (CG)			1	감염	감염	O	5월 초순 D+17
	신고	CG-C	2	건전	건전	O	
			3	건전	건전	O	
			1	감염	건전	X	
	신고	CG-D	2	건전	건전	O	
			3	감염	건전	X	
			1	감염	건전	X	
	원황	CG-E	2	감염	건전	X	
			3	감염	건전	X	
			1	건전	건전	O	
		GW-A	2	건전	건전	O	
			3	건전	건전	O	
			1	건전	건전	O	
경상북도 군위 (GW)		GW-B	2	건전	건전	O	5월 초순 D+17
	신고		3	건전	건전	O	
			1	건전	감염	X	
		GW-C	2	감염	건전	X	
			3	건전	건전	O	
		GW-D	1	감염	건전	X	
			2	건전	건전	O	

			3	건전	감염	X	
			1	건전	건전	O	
		GW-E	2	건전	건전	O	
			3	건전	건전	O	
			1	건전	감염	X	
		CG-A	2	감염	감염	O	
	화산		3	건전	건전	O	
			1	건전	건전	O	
		CG-B	2	건전	건전	O	
			3	건전	건전	O	
경상북도 칠곡 (CG)			1	건전	건전	O	5월 초순 D+21
	신고	CG-C	2	건전	건전	O	
			3	건전	건전	O	
			1	건전	건전	O	
	신고	CG-D	2	건전	건전	O	
			3	건전	건전	O	
			1	건전	건전	O	
	월항	CG-E	2	건전	건전	O	
			3	건전	건전	O	
			1	감염	건전	X	
		GW-A	2	건전	건전	O	
			3	건전	건전	O	
			1	감염	건전	X	
		GW-B	2	감염	건전	X	
			3	건전	건전	O	
경상북도 군위 (GW)			1	감염	건전	X	5월 초순 D+21
	신고	GW-C	2	감염	건전	X	
			3	건전	건전	O	
			1	감염	건전	X	
		GW-D	2	감염	건전	X	
			3	감염	건전	X	
			1	감염	건전	X	
		GW-E	2	건전	건전	O	
			3	감염	건전	X	
경상북도 칠곡 (CG)			1	감염	건전	X	5월 초중순 D+24
	화산	CG-A	2	감염	건전	X	

			3	건전	건전	O	
			1	건전	건전	O	
		CG-B	2	건전	건전	O	
			3	건전	건전	O	
	신고	CG-C	1	건전	건전	O	
			2	건전	건전	O	
			3	건전	건전	O	
	신고	CG-D	1	감염	건전	X	
			2	건전	건전	O	
			3	건전	건전	O	
	원항	CG-E	1	감염	건전	X	
			2	건전	건전	O	
			3	건전	건전	O	
경상북도 군위 (GW)	신고	GW-A	1	감염	감염	O	5월 초중순 D+24
			2	건전	건전	O	
			3	감염	감염	O	
		GW-B	1	건전	건전	O	
			2	감염	감염	O	
			3	건전	건전	O	
		GW-C	1	건전	건전	O	
			2	감염	건전	X	
			3	감염	건전	X	
		GW-D	1	건전	건전	O	
			2	건전	건전	O	
			3	감염	건전	X	
		GW-E	1	건전	건전	O	
			2	감염	건전	X	
			3	건전	건전	O	
경상북도 칠곡 (CG)	화산	CG-A	1	건전	건전	O	5월 중순 D+29
			2	건전	건전	O	
			3	건전	감염	X	
	CG-B	1	건전	건전	O		
		2	감염	감염	O		
		3	건전	건전	O		
	신고	CG-C	1	건전	건전	O	
			2	건전	건전	O	

			3	건전	건전	O		
	신고	CG-D	1	건전	건전	O		
			2	감염	건전	X		
			3	건전	건전	O		
	원황	CG-E	1	감염	건전	X		
			2	건전	건전	O		
			3	건전	감염	X		
경상북도 군위 (GW)			1	건전	건전	O	5월 중순 D+29	
		GW-A	2	감염	감염	O		
			3	감염	건전	X		
			1	건전	건전	O		
		GW-B	2	건전	건전	O		
			3	건전	건전	O		
		신고	GW-C	1	건전	건전		O
				2	감염	건전		X
				3	감염	건전		X
				1	건전	건전		O
		GW-D	2	건전	건전	O		
				3	감염	건전		X
				1	감염	건전		X
		GW-E	2	감염	건전	X		
				3	건전	건전		O
경상북도 칠곡 (CG)			1	건전	건전	O	5월 중순 D+32	
				2	감염	건전		X
		화산	3	감염	건전	X		
			1	건전	건전	O		
		CG-B	2	감염	건전	X		
			3	건전	건전	O		
		신고	CG-C	1	건전	건전		O
				2	건전	건전		O
				3	건전	건전		O
		신고	CG-D	1	건전	건전		O
				2	건전	건전		O
				3	건전	건전		O
		원황	CG-E	1	건전	건전		O
				2	감염	감염		O
				3	건전	건전		O

경상북도 군위 (GW)	신고	GW-A	1	감염	건전	X	5월 중순 D+32
			2	감염	건전	X	
			3	건전	건전	O	
		GW-B	1	건전	건전	O	
			2	감염	건전	X	
			3	건전	건전	O	
		GW-C	1	건전	건전	O	
			2	건전	건전	O	
			3	건전	건전	O	
		GW-D	1	건전	건전	O	
			2	건전	건전	O	
			3	건전	건전	O	
		GW-E	1	건전	건전	O	
			2	감염	건전	X	
			3	감염	건전	X	
경상북도 군위 (GW)	신고	GW-A	1	건전	건전	O	5월 중하순 D+35
			2	건전	건전	O	
			3	감염	건전	X	
		GW-B	1	건전	건전	O	
			2	건전	건전	O	
			3	건전	건전	O	
		GW-C	1	감염	건전	X	
			2	건전	건전	O	
			3	건전	건전	O	
		GW-D	1	건전	건전	O	
			2	건전	건전	O	
			3	감염	건전	X	
		GW-E	1	건전	건전	O	
			2	건전	건전	O	
			3	건전	건전	O	
경상북도 군위 (GW)	신고	GW-A	1	감염	감염	O	5월 하순 D+39
			2	감염	건전	X	
			3	감염	건전	X	
		GW-B	1	감염	감염	O	
			2	건전	건전	O	

			3	감염	건전	X	
		GW-C	1	건전	건전	O	
			2	건전	건전	O	
			3	건전	건전	O	
		GW-D	1	건전	건전	O	
			2	건전	건전	O	
			3	건전	건전	O	
		GW-E	1	건전	건전	O	
			2	건전	건전	O	
			3	건전	건전	O	
경상북도 군위 (GW)	신고	GW-A	1	감염	건전	X	5월 하순 D+43
			2	감염	건전	X	
			3	건전	건전	O	
		GW-B	1	건전	건전	O	
			2	건전	건전	O	
			3	감염	건전	X	
		GW-C	1	건전	건전	O	
			2	건전	건전	O	
			3	건전	건전	O	
	GW-D	1	건전	건전	O		
		2	건전	건전	O		
		3	건전	건전	O		
	GW-E	1	건전	건전	O		
		2	건전	건전	O		
		3	감염	건전	X		
경상북도 군위 (GW)	신고	GW-A	1	감염	건전	X	6월 초순 D+45
			2	건전	건전	O	
			3	건전	건전	O	
		GW-B	1	건전	건전	O	
			2	건전	건전	O	
			3	감염	감염	O	
	GW-C	1	건전	건전	O		
		2	건전	건전	O		
		3	감염	감염	O		
	GW-D	1	감염	건전	X		
		2	건전	건전	O		

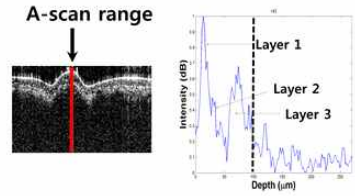
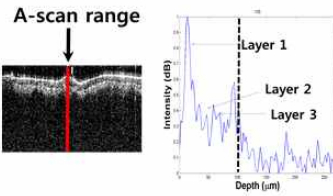
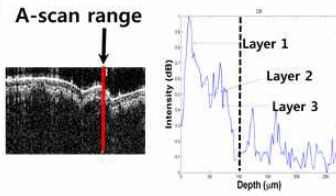
			3	감염	건전	X	
			1	건전	감염	X	
		GW-E	2	건전	건전	O	
			3	감염	건전	X	
			1	건전	건전	O	
		GW-A	2	감염	건전	X	
			3	감염	건전	X	
			1	건전	건전	O	
		GW-B	2	감염	감염	O	
			3	건전	건전	O	
			1	건전	건전	O	
경상북도 군위 (GW)	신고	GW-C	2	감염	감염	O	6월 초순 D+49
			3	건전	건전	O	
			1	감염	건전	X	
		GW-D	2	건전	건전	O	
			3	감염	건전	X	
			1	감염	건전	X	
		GW-E	2	건전	건전	O	
			3	건전	건전	O	
			1	감염	건전	X	
		GW-A	2	건전	건전	O	
			3	건전	건전	O	
			1	건전	건전	O	
		GW-B	2	건전	건전	O	
			3	건전	건전	O	
			1	건전	건전	O	
경상북도 군위 (GW)	신고	GW-C	2	건전	건전	O	D+53 6월 초중순
			3	감염	건전	X	
			1	감염	건전	X	
		GW-D	2	감염	건전	X	
			3	건전	건전	O	
			1	건전	건전	O	
		GW-E	2	건전	건전	O	
			3	건전	건전	O	
			1	건전	건전	O	
경상북도 군위 (GW)	신고	GW-A	2	건전	건전	O	D+57 6월 중순
			3	건전	감염	X	

	1	건전	건전	O
GW-B	2	감염	건전	X
	3	건전	건전	O
	1	건전	건전	O
GW-C	2	감염	건전	X
	3	N/A	건전	-
	1	건전	건전	O
GW-D	2	건전	감염	X
	3	건전	건전	O
	1	감염	감염	O
GW-E	2	건전	감염	X
	3	N/A	건전	-

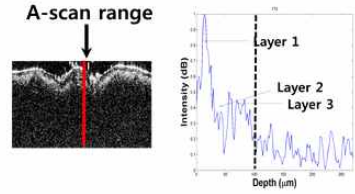
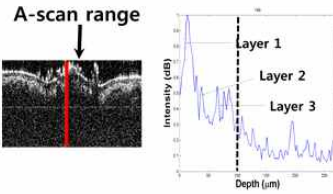
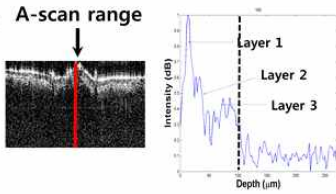
경상북도 칠곡 (CG)	A-scan	총계	150	LAMP	총계	150
	분석 결과	감염	23	검정 결과	감염	13
	OCT 감염률:			LAMP 감염률:		
	(23/150)x100=15.3%			(13/150)x100=8.6%		
○ 감염 일치율: 82.6% (총 150개, 일치 124개)						
경상북도 군위 (GW)	A-scan	총계	178	LAMP	총계	180
	분석 결과	감염	63	검정 결과	감염	17
	OCT 감염률:			LAMP 감염률:		
	(63/178)x100=35.3%			(17/180)x100=9.4%		
○ 감염 일치율: 67.4% (총 178개, 일치 120개)						
전체 감염 일치율	A-scan	총계	343	LAMP	총계	345
	분석 결과	감염	93	검정 결과	감염	30
	OCT 감염률:			LAMP 감염률:		
	(93/343)x100=27.1%			(30/345)x100=8.6%		
○ 감염 일치율: 73.4% (총 343개, 일치 252개)						

- 4월 중순부터 6월 하순까지 수행된 채집시료에 대한 갈색무늬병 검정 결과, A-scan 및 LAMP 분석으로 총 345개의 시료가 분석되었음. A-scan 분석 결과, 분석된 343개의 샘플 중, 감염샘플은 93개가 확인되어 감염률은 약 27.1%로 확인되었으며, LAMP법의 경우 총 345개의 샘플 중, 30개의 감염샘플이 확인되어 약 8.6%의 감염률이 확인되었음.
- 또한 상호간의 감염 일치율을 확인한 결과, 총 비교대상 343개 중, 252개의 결과가 일치하여 약 73.4%의 일치율이 확인됨.
- 2차년도 상주시 공검면에서 수행된 결과에서는 배 검은별무늬병 감염률이 A-scan 결과 28.3%(180샘플 검정), LAMP 결과 14.8%(270샘플 검정)로 확인되었으나, 3차년도 결과에서는 OCT 진단결과는 27.1%로 거의 유사하게 나타났으나, LAMP 결과는 8.6%로 상대적으로 낮게 나타났음.

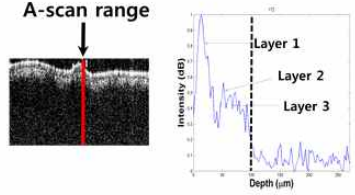
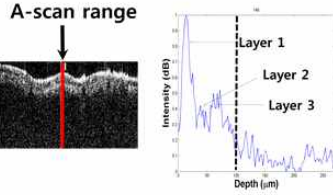
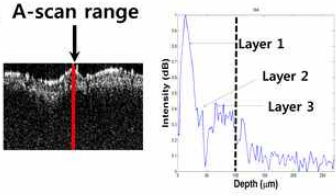
After 15 days



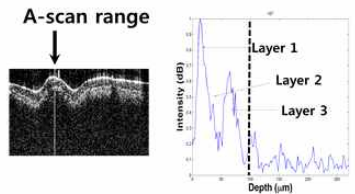
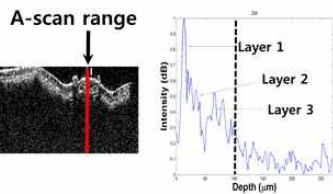
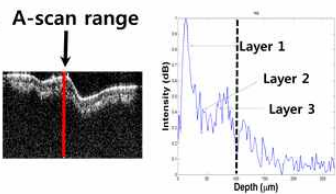
After 17 days



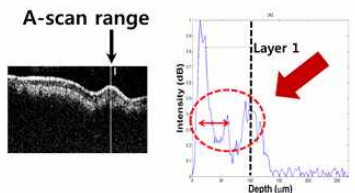
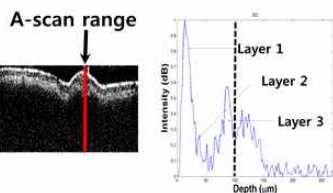
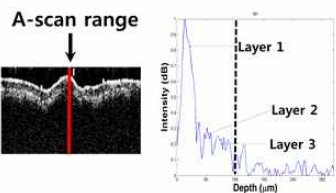
After 21 days



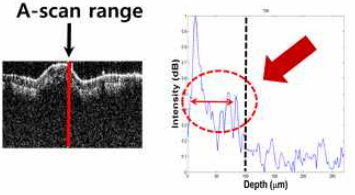
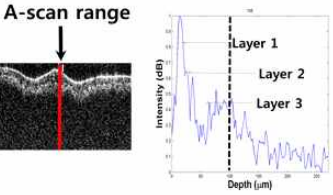
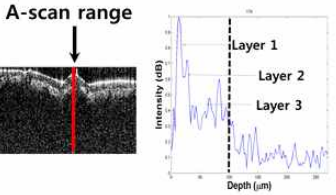
After 24 days



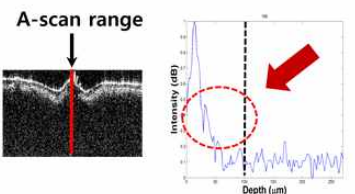
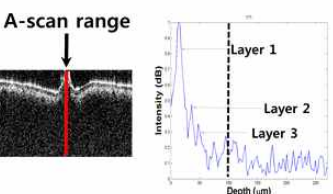
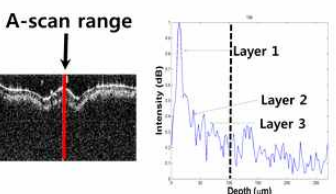
After 29 days



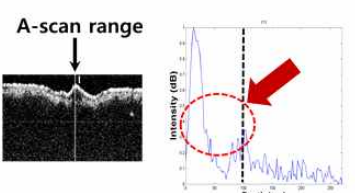
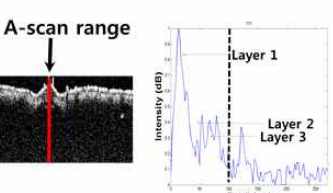
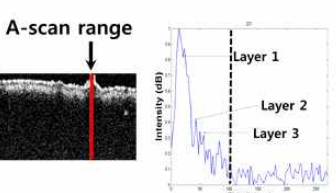
After 32 days



After 35 days



After 39 days



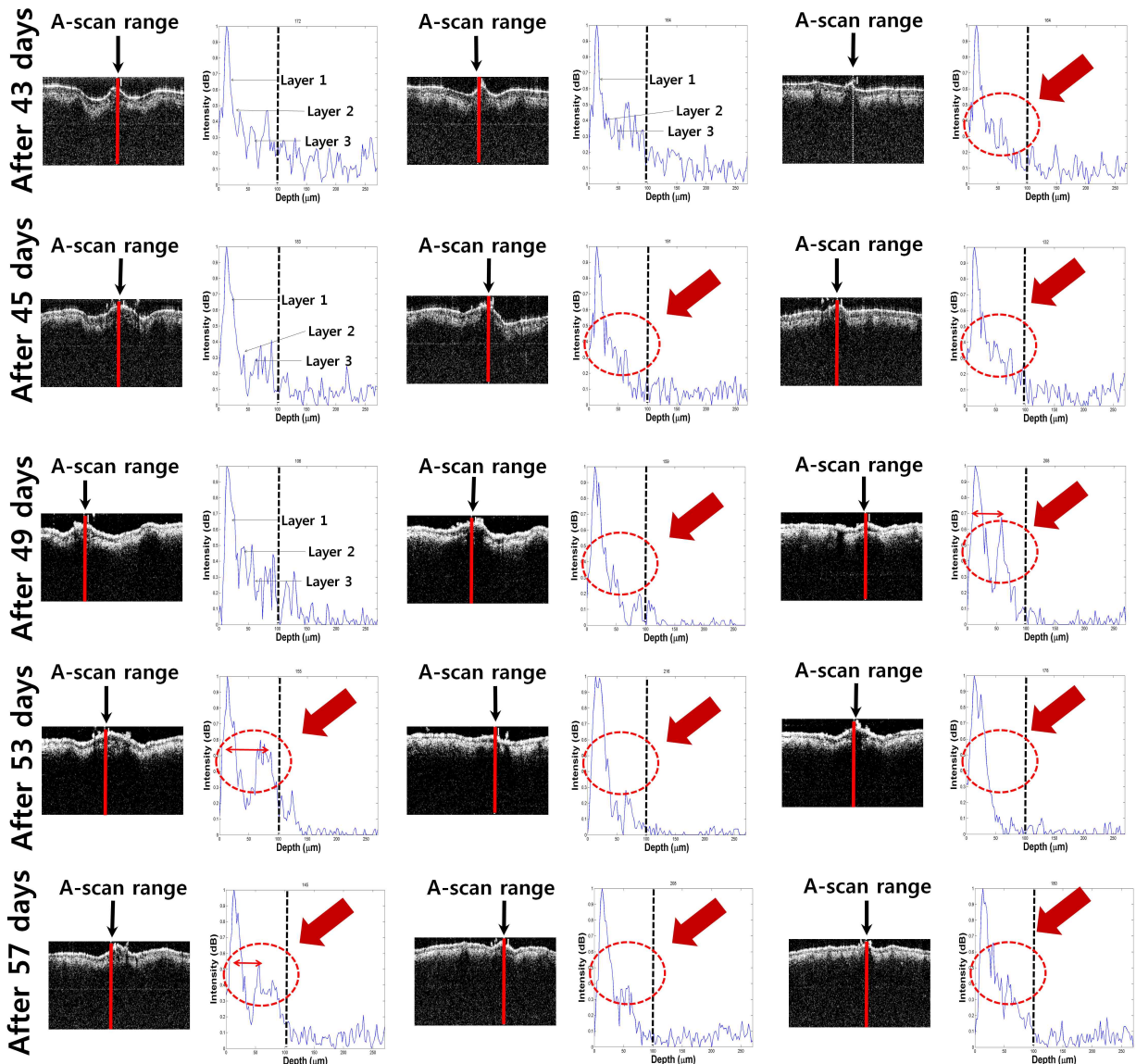


그림 65. 균위 (GW) 시험 포장 4번 배나무 모니터링 샘플의 OCT image 및 A-scan 결과. 붉은색 화살표: 감염 패턴

표 28. 균위 (GW) 시험 포장 2번 배나무 모니터링 샘플의 감염 패턴 정리 결과

균위 (GW) 시험 포장 2번 배나무			
	1번잎	2번잎	3번잎
5월 초순	건전	건전	건전
After 15 days	건전	건전	건전
5월 초순	건전	건전	건전
After 17 days	건전	건전	건전
5월 초중순	건전	건전	건전
After 21 days	건전	건전	건전
5월 중순	건전	건전	건전
After 24 days	건전	건전	건전
5월 중순	건전	건전	감염

After 29 days 5월 중순	건전	건전	감염
After 32 days 5월 중하순	건전	건전	감염
After 35 days 5월 하순	건전	건전	감염
After 39 days 5월 하순	건전	건전	감염
After 43 days 6월 초순	건전	감염	감염
After 45 days 6월 초순	건전	감염	감염
After 49 days 6월 초중순	감염	감염	감염
After 53 days 6월 중순	감염	감염	감염
After 57 days			

- 5월 초중순부터 6월 하순까지 약 40일 동안 동일한 잎에 대하여 모니터링을 수행한 결과, 실험을 처음 수행하였던 5월 초순에서는 건전 패턴이 관찰되었으나, 5월 중순부터 감염패턴이 6월 하순까지 지속적으로 관찰되었음.
- 3차년도와 비교하여, 4-5월에 낮은 강우량으로 인해 발병환경이 부적절하여 검은별무늬병이 전년도에 비해 발생이 적었음. 또한 CG포장에서는 유기농 재배를 통해 화학 살균제를 살포하지 않았으나 석회유황합제를 지속적으로 살포 하였으며, GW 시험포장에서는 지속적인 살균제 살포를 통해 검은별무늬병균이 효과적으로 억제된 것으로 판단됨.
- 지역별로 OCT 진단 결과와 LAMP 진단결과를 각각 나눠 살펴보았을 때, 3차년도의 경우 2차년도 결과와 마찬가지로 OCT 진단 결과가 LAMP 진단 결과보다 모두 높게 나오는 것을 확인 할 수 있었음. 2차년도 및 3차년도 결과 모두 동일하게 확인되었으므로 이러한 결과는 병원균에 의한 형태적인 변화를 분석하는 OCT 장비의 특성에 기인한 것으로 사료되나, 원인에 대해서는 추가적인 분석이 요구됨.

사. 3차년도: OCT를 이용한 감동근무늬낙엽병균 진단기술 및 분자생물학적 진단법 확립

(1) 감동근무늬낙엽병균 진단용 LAMP 진단법 확립

- 감동근무늬낙엽병은 *Mycosphaerella nawae*에 의해 발생하며, 병이 발병하게 되면 조기 낙엽, 낙과 등으로 인해 농가에 경제적으로 큰 손실을 끼치므로 조기에 적절한 방제가 매우 요구됨.
- 또한 감동근무늬낙엽병균은 감에 발생하는 다른 병원성 곰팡이와는 달리 90-120일간의 긴 잠복기를 가지므로, 조기에 진단하여 방제하는 것이 매우 중요함.
- 현재까지 배점은별무늬병균을 검출하기 위해 개발된 방법은 종-특이적 nested PCR법이 유일함. 이러한 방법은 검사완료까지 4-5시간이 소요되고 현장진단이 불가능하므로 이러한 사항들을 극복하고 현장에서 진단할 수 있는 LAMP법을 개발하여 감동근무늬낙엽병을 진단하고자 함.

(가) 공시균주

표 29. 실험에 사용된 *M. nawae* 분리주 및 감에서 발생하는 다른 병원균

No.	Species	Isolates	Culture collection accession number	Geographic origin
1	<i>Mycosphaerella nawae</i>	SJ01		
2	<i>M. nawae</i>	SJ02		
3	<i>M. nawae</i>	SJ03		Korea (Sangju)
4	<i>M. nawae</i>	SJ04		
5	<i>M. nawae</i>	SJ05		
6	<i>M. nawae</i>	KH01		
7	<i>M. nawae</i>	KH02		Korea (Kimhae)
8	<i>M. nawae</i>	KH03		
9	<i>M. nawae</i>	GM01	Isolated fungi in this study	
10	<i>M. nawae</i>	GM02		Korea (Gumi)
11	<i>M. nawae</i>	GM03		
12	<i>M. nawae</i>	MY01		
13	<i>M. nawae</i>	MY02		Korea (Miryang)
14	<i>M. nawae</i>	MY03		
15	<i>M. nawae</i>	CW01		
16	<i>M. nawae</i>	CW02		Korea
17	<i>M. nawae</i>	CW03		(Changwon)
18	<i>M. nawae</i>	Jap01		
19	<i>M. nawae</i>	Jap03		Japan
20	<i>M. nawae</i>	Jap06		
21	<i>Botrytis cinerea</i>	Persimmon	KACC 41008	Korea
22	<i>Pestalotiopsis diospyri</i>	Persimmon	KACC 44266	Korea
23	<i>Phomopsis diospyri</i>	Persimmon	KACC 41009	Korea
24	<i>Penicillium expansum</i>	Persimmon	KACC 41007	Korea
25	<i>Colletotrichum acutatum</i>	Persimmon	KACC 45234	Korea
26	<i>Pseudocercospora kaki</i>	Persimmon	KACC 43176	Korea
27	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	Persimmon	KACC 41011	Korea

○ LAMP primer를 설계하고 실험을 수행하기 위해, 경상북도 상주, 김해, 구미, 밀양, 창원 및 일본에서 감 둥근무늬낙엽병 감염 잎을 채집하여 균주를 분리함. 또한 12종의 서로 다른 품종의 건전 감잎, 그리고 감잎에서 발생하는 7종의 병원성 곰팡이를 농촌진흥청 농업유전자원정보센터(KACC)에서 분양받아 실험에 사용하였음. 확보된 샘플은 HiGene™ Genomic DNA Prep Kit를 이용하여 total DNA를 추출함.



그림 66. 각 지역에서 채집된 감동근무늬병 이병엽의 모습

(나) 감동근무늬낙엽병균 특이적 LAMP primer의 설계 및 특이성 검정

- 2차년도에 획득한 감동근무늬낙엽병균의 draft sequence를 이용하여 종특이적인 분자마커를 선발함.
- 그 결과, 568 bp 크기의 특이적인 유전자 단편이 확인되었으며, 이를 단백질로 변환하여 확인한 결과 mating type 유전자와 높은 상동성을 나타내는 것으로 확인됨.
- 선발된 mating type gene 영역에서 감동근무늬낙엽병균을 특이적으로 진단하기 위해, 획득된 종특이적인 영역의 sequence를 PrimerExplorer V4(primerexplorer.jp/e/)에서 LAMP 용 primer를 설계하고 확인된 primer를 검정함.

표 30. 동근무늬낙엽병균 증폭용 LAMP법에 사용된 primer set

Primer name	Sequence (5' → 3')	Orientation	Length (mer)
MN-F3	XXX XXX TTG CAA XXX XXX XX	F3(Forward)	20
MN-B3	XXX XXX CTG XXX XXX XXX	B3(Reverse)	18
MN-FIP*	XXX XXX XXX XXX TGA GGT XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX X	FIP(Forward)	46
MN-BIP*	XXX XXX XXX XXX GCT GTC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XX	BIP(Reverse)	44

*FIP : forward inner primer, BIP : backward inner primer

- 설계된 primer를 이용하여 *M. nawae* genomic DNA로 LAMP를 수행함.
- LAMP 수행의 적정온도를 확인하기 위해, LAMP는 2 μ l의 10 pM FIP/BIP primer set, 0.5 μ l의 F3/B3 primer set, 2 μ l의 10 \times ThermoPol Reaction Buffer [20 mM Tris-HCl, 10 mM KCl, 10 mM(NH₄)₂SO₄, 2mM MgSO₄, 0.1 % TritonX-100, New England Biolabs, USA], 0.5 μ l의 10 mM dNTP, 10.5 μ l DDW)에 첨가한 후, Veriti 96-Well Thermal Cycler(Applied Biosystem)에서 90°C에서 5분간 반응을 수행한 후, 1 μ l Bst DNA polymerase large fragment (8 unit/ μ l, New England Biolabs, USA) 첨가하여 50°C, 53°C, 55°C, 60°C, 63°C, 65°C에서 60분간 반응하였음, 반응이 종료된 산물은 1% agarose gel에 전기영동 후, 남은 산물은 1 μ l SYBR green solution I(1,000 \times stock)로 염색하여 UV 상에서 발색 여부를 확인함.

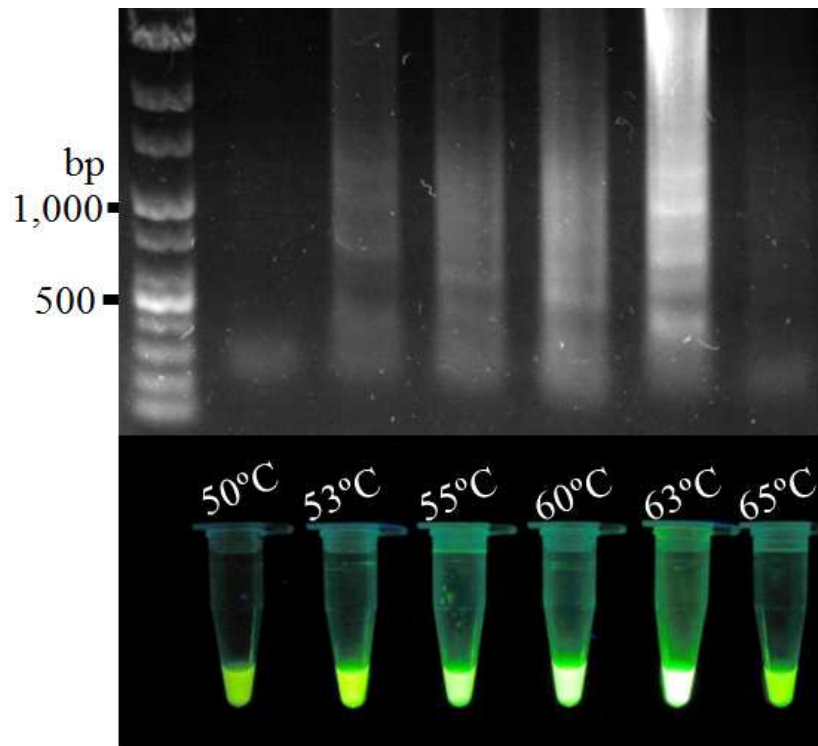


그림 67. 설계된 LAMP primer로 *M. nawae* SJ균주를 이용하여 각각의 온도에서 60분간 LAMP를 수행하고 전기영동 및 UV illuminator에서 관찰한 결과.

- 그 결과, 50°C 및 65°C에서는 발색이 되지 않았으며, 나머지 온도에서는 발색과 laddering이 확인되었음. 그 중 63°C에서 laddering이 가장 강하게 관찰되었음. 따라서 위 결과에 따라 LAMP법을 이용한 감동근무늬낙엽병균의 진단은 63°C로 온도를 설정하여 실험을 수행함.
- LAMP primer의 작동여부를 확인하기 위해, 설정된 온도 및 조건에서 지역별 *M. nawae* 균주, KACC 분양 균주, 품종별 감 건전 잎의 genomic DNA를 이용하여 실험을 수행함.

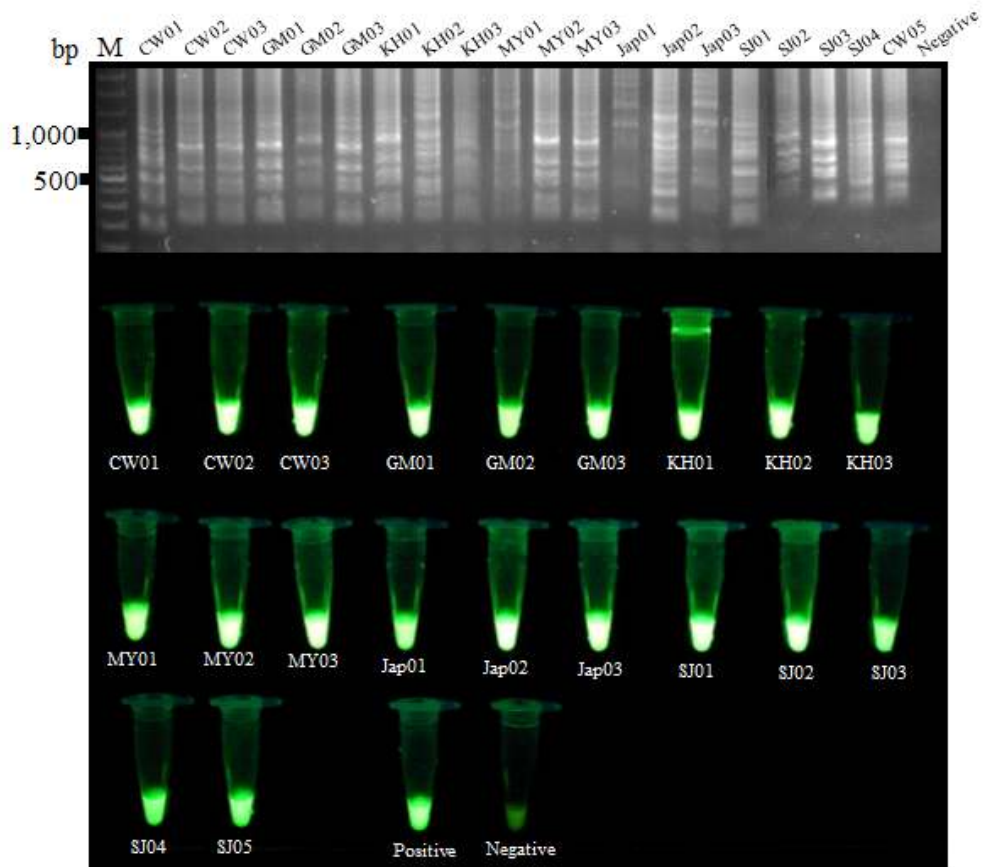


그림 68. 지역별 *M. nawae* 균주 genomic DNA를 이용하여 설정된 온도에서 수행된 결과. CW01-03: 창원 isolates, GM01-03: 구미 isolates, KH01-03: 김해 isolates, MY01-03: 밀양 isolates, Jap01-03: 일본 isolates, SJ01-05: 상주 isolates, P: positive DNA, N: negative (DDW).

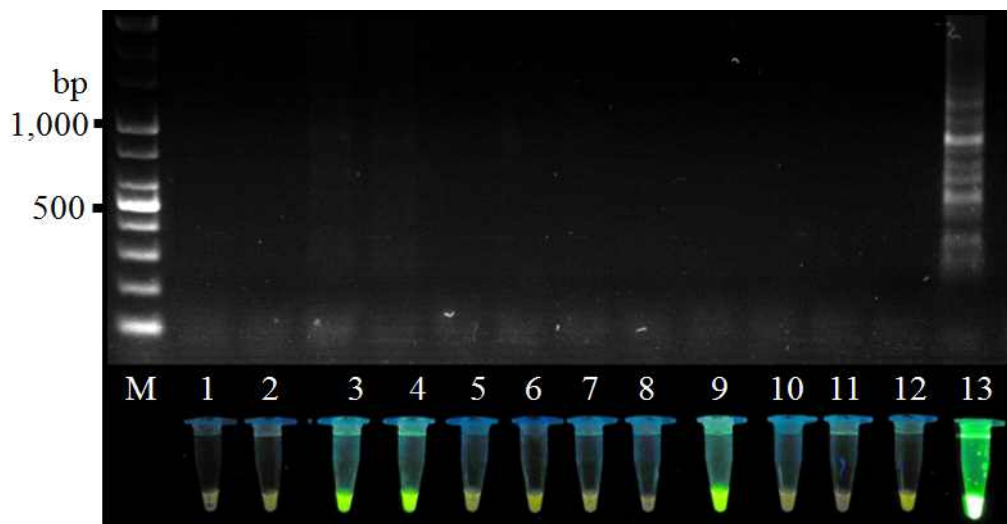


그림 69. 건전감앞에서 추출된 DNA를 이용한 LAMP검정 결과. M: 100bp DNA ladder. 1: 상주 등시, 2: 도근조생, 3: 차광, 4: 갑주백목, 5: 함안수시, 6: 수홍, 7: 청도반시, 8: 단상시, 9: 월하시, 10: 운풍준시, 11: 경산반시, 12: 고종시. 13: Positive DNA sample

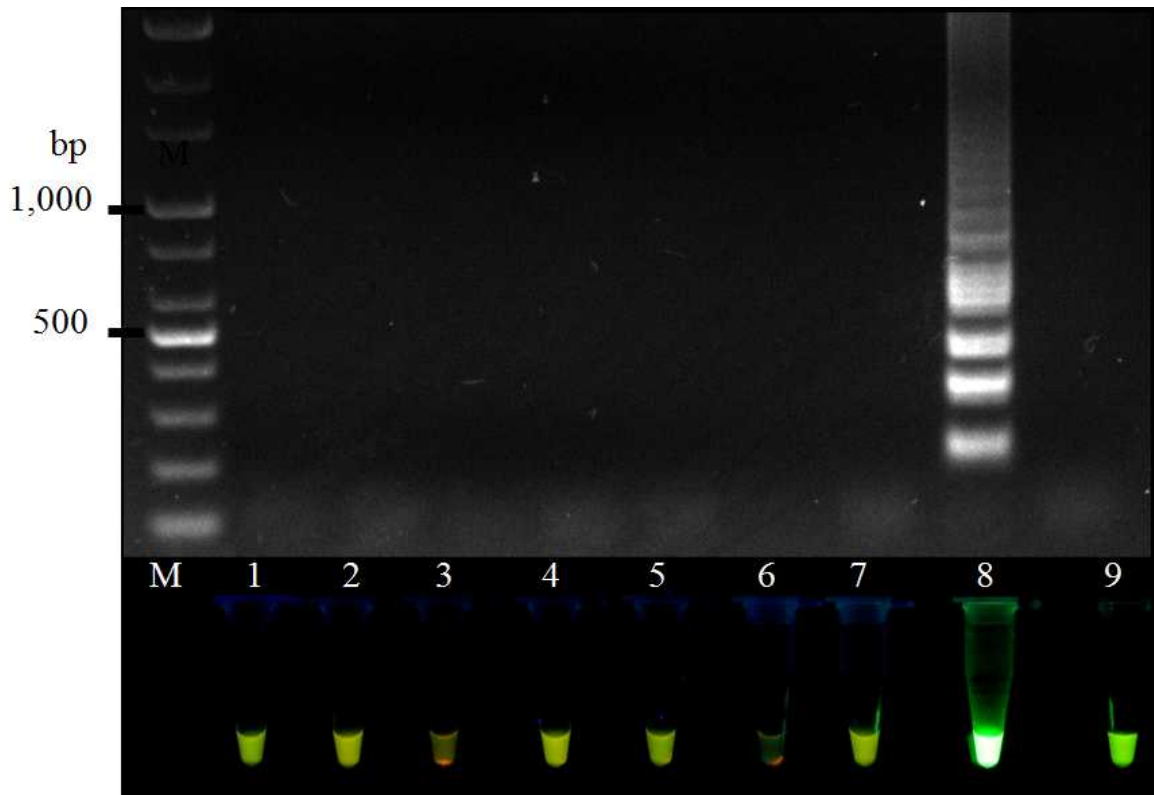


그림 70. 감에서 발생하는 병원균에서 추출된 DNA를 이용한 LAMP검정 결과. M: 100bp DNA ladder. 1: *Botrytis cinerea*, 2: *Pestalotiopsis diospyri*, 3: *Phomopsis diospyri*, 4: *Cladosporium cladosporioides*, 5: *Colletotrichum acutatum*, 6: *Pseudocercospora kaki*, 7: *Penicillium expansum*. 8: Positive DNA sample, 9: Negative (DDW).

- 설계된 LAMP primer를 이용하여 특이성을 검정한 결과, KACC에서 분양 받은 7종의 곰팡이인 *Botrytis cinerea*, *Pestalotiopsis diospyri*, *Phomopsis diospyri*, *Cladosporium cladosporioides*, *Colletotrichum acutatum*, *Pseudocercospora kaki*, *Penicillium expansum* 균주의 경우 전기영동결과 laddering 및 발색이 관찰되지 않았으며, 또한 품종별 건진 감잎의 DNA에서도 *M. nawae* DNA를 제외한 나머지 샘플에서는 특이적인 반응이 관찰되지 않았음.

(다) LAMP법을 이용한 감 등근무늬낙엽병 진단법 확립

- 채집한 감잎은 에탄올로 표면 소독 후, LAMP용 마쇄액(0.2M NaCl, 0.2M Tris-HCl(pH 8.0))에 전체 잎을 sample bag(mesh, agdia)에 넣고 마쇄봉을 이용하여 마쇄함.
- 마쇄액 1 μ l를 취하여 LAMP 반응액(2 μ l의 10 pM FIP/BIP primer set, 0.5 μ l의 F3/B3 primer set, 2 μ l의 10 \times ThermoPol Reaction Buffer, 0.5 μ l의 10 mM dNTP, 10.5 μ l DDW)에 첨가한 후 63°C로 설정한 항온수조에서 5분간 반응시킨 후 1 μ l Bst DNA polymerase large fragment(8 unit/ μ l, New England Biolabs, USA) 첨가하여 60분간 반응하였으며, 반응이 종료된 후 1 μ l SYBR green solution I(1,000 \times stock)로 염색하여 감염유무를 확인함.



그림 71. 감 둥근무늬낙엽병 진단용 LAMP법의 모식도

- 위와 같이 확립된 LAMP 진단법을 기반으로 OCT로 촬영한 감잎의 감 둥근무늬낙엽병의 감염유무를 검정함.

(2) OCT를 이용한 감 둥근무늬낙엽병 진단법 확립

(가) 실험구의 설정

- OCT를 이용하여 '상주동시'품종의 감을 대상으로 병징이 관찰되지 않는 7월 말부터 9월 초순까지 감잎을 OCT로 관찰하여 A-scan 분석을 수행하였으며, 개발된 LAMP법을 이용하여 감둥근무늬낙엽병균의 감염여부 진단을 병행함.



그림 72. 상주(SJ)소재 감 둥근무늬낙엽병 조기진단 실험 수행 포장의 모습

- 경상북도 상주시 소재 감 시험포장(SJ)에서 실험을 수행하였으며, 대상 시험 품종은 ‘상주등시’ 품종을 대상으로 실험을 수행하였음.
- 한 포장 내에서 약제 처리를 하는 나무 5그룹과 약제처리를 하지 않는 나무 5그룹을 무작위로 선발하여 실험을 수행하였음.
- 선발된 나무에서 5개의 잎을 선정하여 약 10-15일 간격으로 OCT를 촬영하여 모니터링을 수행하였으며, 5잎을 추가적으로 무작위로 선발 후 OCT로 촬영하고 채집하여 LAMP 검정을 수행하였음.
- OCT의 촬영부위는 한 잎당 엽맥을 제외한 엽육부분을 무작위로 3부분을 촬영하여 데이터를 확보함.

(나) 조사기간 및 실험방법

- Monitoring 용으로 선발된 잎들은 채집하지 않고, 실험기간동안 동일한 잎에서 촬영하여 A-scan 데이터를 확보하였으며, LAMP 실험용으로 선발된 잎들은 OCT 촬영 후 채집하여 LAMP법으로 분석하고, 획득된 OCT에서 A-scan 분석을 실시하여 LAMP 진단 결과와 비교하였음.
- 조사 기간은 7월 하순부터 9월 초순까지 4회에 걸쳐 수행하였음.

(다) A-scan을 이용한 감 등근무늬낙엽병의 진단

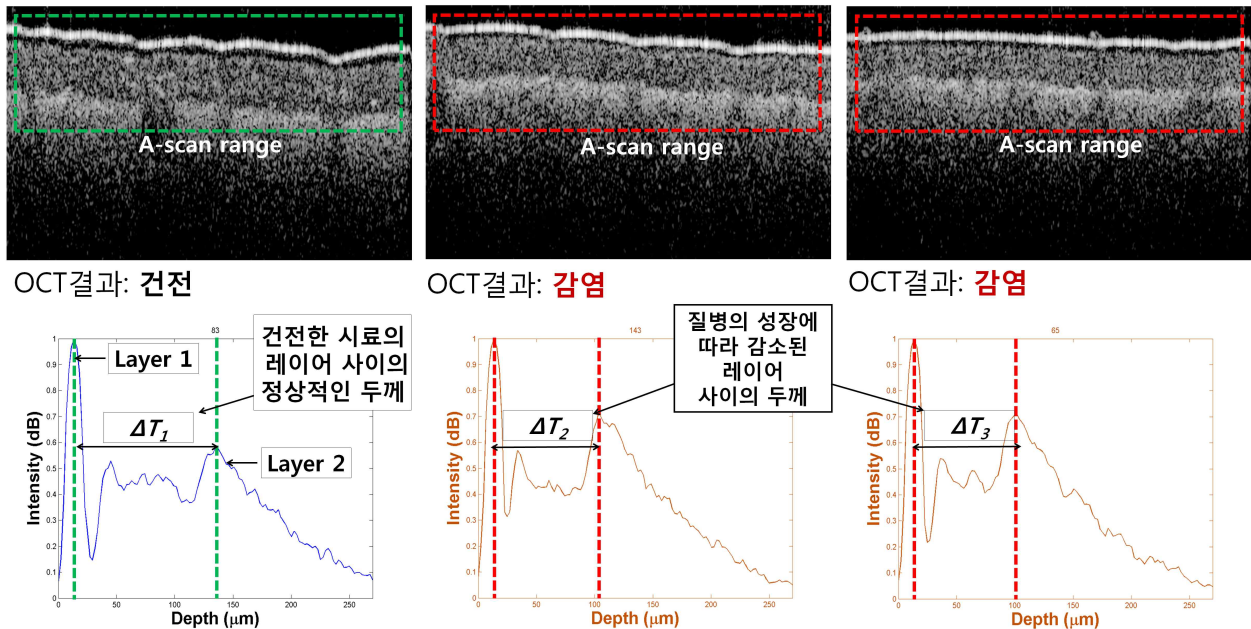


그림 73. 3차년도 상주 시험포장에서 획득된 OCT 이미지 및 A-scan 검정을 통한 건전 패턴 및 감 등근무늬낙엽병 감염 패턴의 분석 결과

- 획득된 OCT image는 A-scan 분석을 수행하고 나타나는 peak로 감염유무를 검정함.
- A-scan 분석 결과, layer 1과 layer 2 사이에 정상적인 두께가 관찰이 되면 건전, 병해에 의해 두 레이어 사이의 두께가 감소하면 이병시료로 판단함.

표 31. OCT를 이용한 경상북도 상주 소재 감 과원(SJ)에서의 감 등근무늬낙엽병 진단 결과

도	품종	채집 시료	A-scan 결과	OCT 촬영일	
경상북도 상주 (SJ)	상주동시		1	건전	7월 하순 Control Day
		SJ-A	2	건전	
			3	건전	
		SJ-B	1	감염	
			2	감염	
			3	감염	
		SJ-C	1	감염	
			2	감염	
			3	감염	
		SJ-D	1	건전	
			2	감염	
			3	감염	
		SJ-E	1	건전	
			2	감염	
			3	감염	
		SJ-a	1	건전	
			2	감염	
			3	감염	
		SJ-b	1	감염	
			2	건전	
			3	건전	
		SJ-c	1	감염	
			2	감염	
			3	감염	
		SJ-d	1	감염	
			2	건전	
			3	건전	
SJ-e	1	감염			
	2	건전			
	3	감염			
경상북도 상주 (SJ)	상주동시	SJ-A	1	감염	8월 중순 D+25
			2	건전	

			3	건전	
			1	건전	
		SJ-B	2	건전	
			3	건전	
			1	감염	
		SJ-C	2	감염	
			3	건전	
			1	건전	
		SJ-D	2	건전	
			3	건전	
			1	건전	
		SJ-E	2	건전	
			3	건전	
			1	건전	
		SJ-a	2	건전	
			3	건전	
			1	건전	
		SJ-b	2	건전	
			3	건전	
			1	감염	
		SJ-c	2	감염	
			3	감염	
			1	건전	
		SJ-d	2	감염	
			3	건전	
			1	감염	
		SJ-e	2	건전	
			3	감염	
			1	감염	
		SJ-A	2	건전	
			3	감염	
경상북도 상주 (SJ)	상주동시		1	감염	8월 하순 D+35
		SJ-B	2	건전	
			3	감염	
			1	감염	
		SJ-C	2	건전	
			3	감염	

		3	건전	
		1	감염	
	SJ-D	2	건전	
		3	감염	
		1	감염	
	SJ-E	2	건전	
		3	감염	
		1	감염	
	SJ-a	2	건전	
		3	건전	
		1	감염	
	SJ-b	2	건전	
		3	감염	
		1	감염	
	SJ-c	2	감염	
		3	감염	
		1	건전	
	SJ-d	2	건전	
		3	건전	
		1	건전	
	SJ-e	2	건전	
		3	건전	
		1	감염	
	SJ-A	2	감염	
		3	건전	
		1	건전	
	SJ-B	2	감염	
		3	감염	
경상북도 상주 (SJ)	상주동시	1	감염	9월 초순
	SJ-C	2	건전	D+48
		3	감염	
		1	건전	
	SJ-D	2	건전	
		3	감염	
		1	건전	
	SJ-E	2	건전	
		3	감염	

	1	건전
SJ-a	2	건전
	3	건전
	1	감염
SJ-b	2	감염
	3	건전
	1	감염
SJ-c	2	감염
	3	감염
	1	건전
SJ-d	2	건전
	3	건전
	1	감염
SJ-e	2	감염
	3	감염

○ A-scan 분석 결과, 경상북도 상주 소재 감 시험구 (SJ)에서는 감 등근무늬낙엽병의 병징이 관찰되지 않는 7월 하순경에 이미 OCT 진단 결과에서 감염 패턴이 확인되었음.

(라) LAMP법을 이용한 갈색무늬병 진단결과

- 감 시험포장에서 실험을 수행하면서, OCT로 촬영된 샘플은 기내에서 개발된 LAMP법을 이용하여 감 등근무늬낙엽병 검정을 실시함.
- 채집되는 시료를 대상으로 LAMP 검정을 수행한 결과, 7월 하순에 감 등근무늬낙엽병 감염이 확인되었으며 이 후 실험 종료인 9월 하순까지 등근무늬낙엽병의 감염 패턴이 지속적으로 확인됨.

표 32. OCT와 LAMP법을 이용한 감 등근무늬낙엽병 진단 결과

도	품종	채집 시료	A-scan 결과	LAMP 결과	일치 여부	OCT 촬영일	
경상북도 상주 (SJ)	상주동시	SJ-A	1	건전	건전	O	7월 하순 Control Day
			2	건전	건전	O	
			3	건전	감염	X	
		SJ-B	1	감염	감염	O	
			2	감염	감염	O	
			3	감염	건전	X	
		SJ-C	1	감염	감염	O	
			2	감염	건전	X	
			3	감염	감염	O	
		SJ-D	1	건전	건전	O	

		2	감염	감염	O
		3	감염	건전	X
SJ-E		1	건전	감염	X
		2	감염	감염	O
		3	감염	건전	X
SJ-a		1	건전	감염	X
		2	감염	감염	O
		3	감염	감염	O
SJ-b		1	감염	감염	O
		2	건전	건전	O
		3	건전	감염	X
SJ-c		1	감염	감염	O
		2	감염	건전	X
		3	감염	건전	X
SJ-d		1	감염	감염	O
		2	건전	감염	X
		3	건전	감염	X
SJ-e		1	감염	감염	O
		2	건전	감염	X
		3	감염	감염	O
SJ-A		1	감염	건전	X
		2	건전	건전	O
		3	건전	건전	O
SJ-B		1	건전	건전	O
		2	건전	감염	X
		3	건전	감염	X
SJ-C		1	감염	건전	X
		2	감염	감염	O
		3	건전	감염	X
SJ-D		1	건전	감염	X
		2	건전	건전	O
		3	건전	건전	O
SJ-E		1	건전	감염	X
		2	건전	감염	X
		3	건전	감염	X
SJ-a		1	건전	감염	X
		2	건전	감염	X
		3	건전	건전	O
SJ-b		1	건전	감염	X
		2	건전	감염	X
		3	건전	감염	X
SJ-c		1	감염	감염	O
		2	감염	감염	O
		3	감염	건전	X
SJ-d		1	건전	감염	X
		2	감염	감염	O
		3	건전	건전	O
SJ-e		1	감염	감염	O
		2	건전	감염	X

경상북도 상주 (SJ)

상주동시

8월 중순
D+25

			3	감염	감염	O	
경상북도 상주 (SJ)	상주동시	SJ-A	1	감염	감염	O	8월 하순 D+35
			2	건전	감염	X	
			3	감염	감염	O	
		SJ-B	1	감염	감염	O	
			2	건전	건전	O	
			3	감염	감염	O	
		SJ-C	1	감염	감염	O	
			2	건전	감염	X	
			3	건전	감염	X	
		SJ-D	1	감염	건전	X	
			2	건전	감염	X	
			3	감염	감염	O	
		SJ-E	1	감염	감염	O	
			2	건전	감염	X	
			3	감염	건전	X	
		SJ-a	1	감염	감염	O	
			2	건전	감염	X	
			3	건전	감염	X	
		SJ-b	1	감염	감염	O	
			2	건전	건전	O	
			3	감염	건전	X	
SJ-c	1	감염	감염	O			
	2	감염	감염	O			
	3	감염	감염	O			
SJ-d	1	건전	건전	O			
	2	건전	건전	O			
	3	건전	건전	O			
SJ-e	1	건전	건전	O			
	2	건전	건전	O			
	3	건전	감염	X			
경상북도 상주 (SJ)	상주동시	SJ-A	1	감염	감염	O	9월 초순 D+48
			2	감염	감염	O	
			3	건전	감염	X	
		SJ-B	1	건전	감염	X	
			2	감염	감염	O	
			3	감염	감염	O	
		SJ-C	1	감염	감염	O	
			2	건전	건전	O	
			3	감염	감염	O	
		SJ-D	1	건전	감염	X	
			2	건전	감염	X	
			3	감염	감염	O	
		SJ-E	1	건전	감염	X	
			2	건전	감염	X	
			3	감염	감염	O	
SJ-a	1	건전	감염	X			
	2	건전	감염	X			

	3	건전	감염	X
SJ-b	1	감염	감염	O
	2	감염	감염	O
	3	건전	감염	X
SJ-c	1	감염	감염	O
	2	감염	감염	O
	3	감염	감염	O
SJ-d	1	건전	건전	O
	2	건전	건전	O
	3	건전	감염	X
SJ-e	1	감염	감염	O
	2	감염	감염	O
	3	감염	감염	O

전체 감염 일치율	A-scan	총계	120	LAMP	총계	120
	분석 결과	감염	59	검정 결과	감염	87
	OCT 감염률: (59/120)x100=49.1%		LAMP 감염률: (87/120)x100=72.5%			
○ 감염 일치율: 56.6% (총 120개, 일치 68개)						

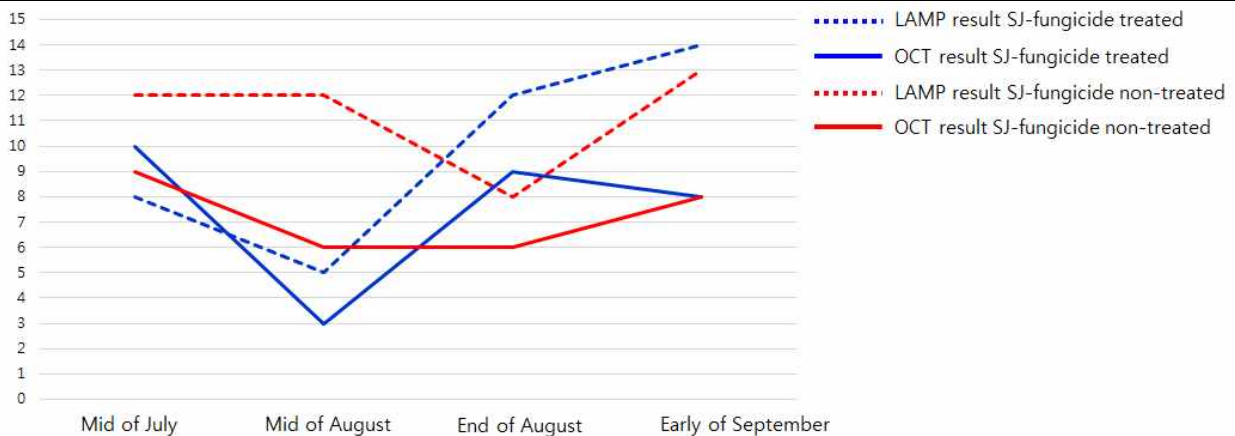


그림 74. 상주 감 시험포장 살균제 처리(SJ-fungicide treated) 및 살균제 무처리(SJ-fungicide non-treated) 감나무의 OCT 진단 결과 및 LAMP 진단결과 종합 결과

- 7월 하순부터 9월 초순까지 수행된 OCT 진단 결과 및 A-scan 수행 결과, 총 120개의 시료가 분석되었음. A-scan 분석 결과 120 샘플 중, 감염샘플은 59개가 확인되어 감염률은 약 49.1%로 확인되었으며, LAMP법의 경우 총 87개의 감염샘플이 확인되어 약 72.5%의 감염률이 확인되었음. 또한 상호간의 감염 일치율을 확인한 결과, 총 비교대상 120개 중, 68개의 결과가 일치하여 약 56.6%의 일치율이 확인됨.
- 살균제 처리 및 살균제 무처리 감나무에서 검정된 결과를 비교한 결과, LAMP 결과에서는 무처리 감나무에서는 살균제 처리 감나무에 비해 감염률에 높게 나타나는 것을 확인할 수 있었으며, 감 등근무늬낙엽병의 경우, LAMP 진단에 의한 감염률이 OCT 진단에 의한 감염률보다 높게 확인이 되었음. 이러한 결과는 시험기간 동안의 병원균의 자낭포자 비산시기, 환경 등에 의한 것으로 사료되었으나, LAMP 및 OCT 진단 결과가 시기별로 유사한 패턴을 나타내어 OCT의 감 등근무늬낙엽병의 진단 가능성을 제시하였음.

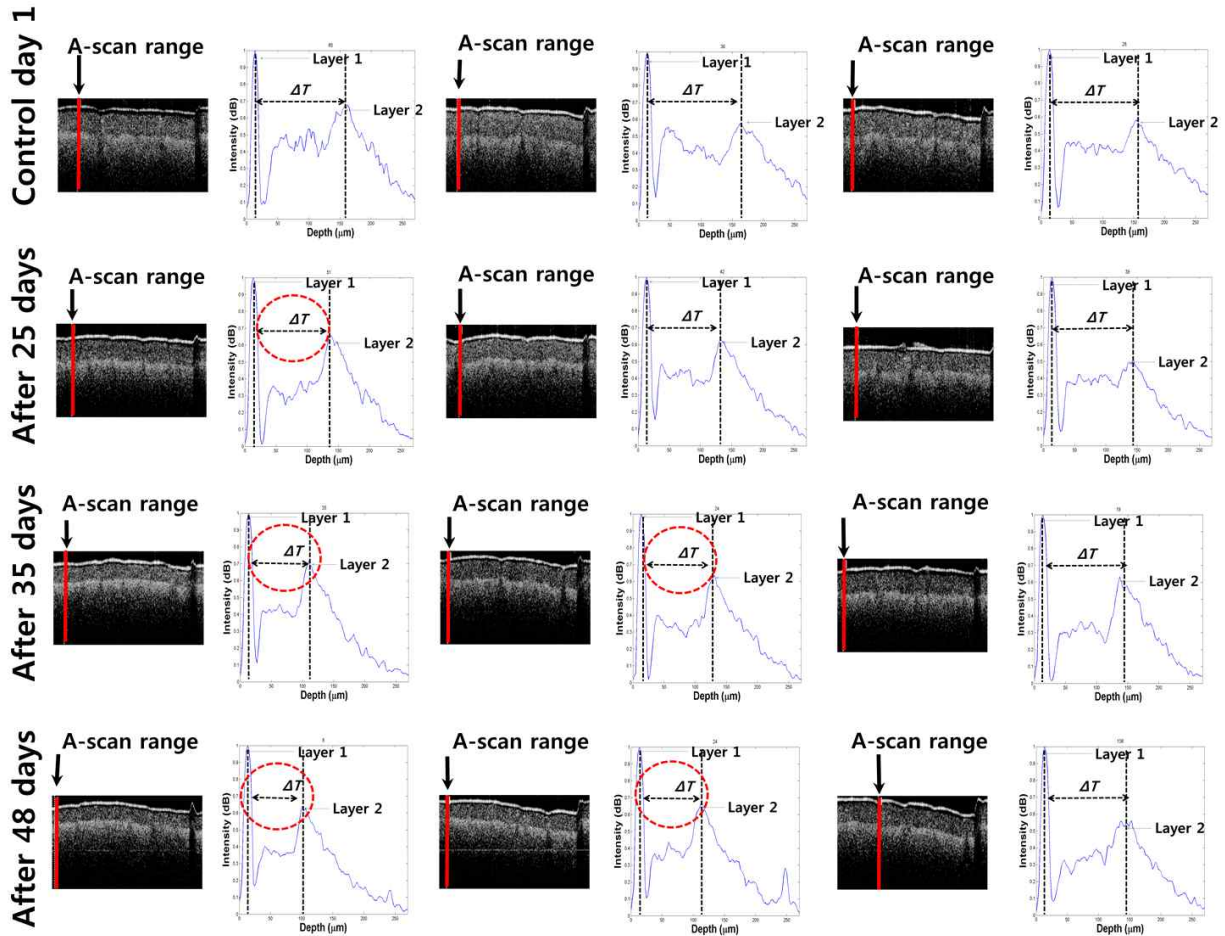


그림 75. 군위 (GW) 시험 포장 4번 사과나무 모니터링 샘플의 OCT image 및 A-scan 결과. 붉은 원: 감염패턴

표 33. 상주 (SJ) 시험 포장 1번 감나무 모니터링 샘플의 감염 패턴 정리 결과

군위 (GW) 시험 포장 4번 사과나무			
	1번잎	2번잎	3번잎
7월 중순 Control Day	건전	건전	건전
8월 중순 After 25 days	감염	건전	건전
8월 하순 After 35 days	감염	감염	건전
9월 초순 After 48 days	감염	감염	건전

○ 7월 중순부터 9월 초순까지 약 50일 동안 동일한 감잎에 대하여 모니터링을 수행한 결과, 7월 중순에는 건전패턴이 관찰되던 샘플에서 8월 중순이 지나면서부터, layer 간의 간격이 좁아지면서 감염 패턴이 관찰되었으며, 이는 9월 초까지 지속적으로 관찰되었음. 차 후 추가적인 시료와 분석을 통해 실험이 요구되나, 이러한 결과는 휴대용 OCT를 이용한 감 동근무늬나엽병의 현장 진단의 가능성을 제시하였음.

아. 3차년도: OCT를 이용한 사과 갈색무늬병, 배 검은별무늬병 및 감 등근무늬낙엽병 진단 방법에 대한 매뉴얼 작성 및 수정

(1) 사과 갈색무늬병, 배 검은별무늬병 및 감 등근무늬낙엽병 진단용 OCT 자동화 알고리즘 개발

(가) 사과 갈색무늬병 진단용 OCT 분석 알고리즘의 개발

- 휴대용 SD-OCT에 자동으로 감염여부를 진단 할 수 있는 알고리즘을 개발하기 위해, 이전까지 획득된 이미지 및 분석결과를 기반으로 하여 알고리즘을 개발함.
- 사과 시료에서 얻은 A-scan 분석 결과는 OCT로 촬영된 사과 앞의 신호 강도에서 3~4개의 뚜렷한 피크가 관찰되면 건진으로 판단하였고, 2번째 피크와 3번째 피크가 무너져 1개의 피크로 보일 경우 사과갈색무늬병균에 감염된 것으로 판단함(그림 76).

사과 시료 분석 방법

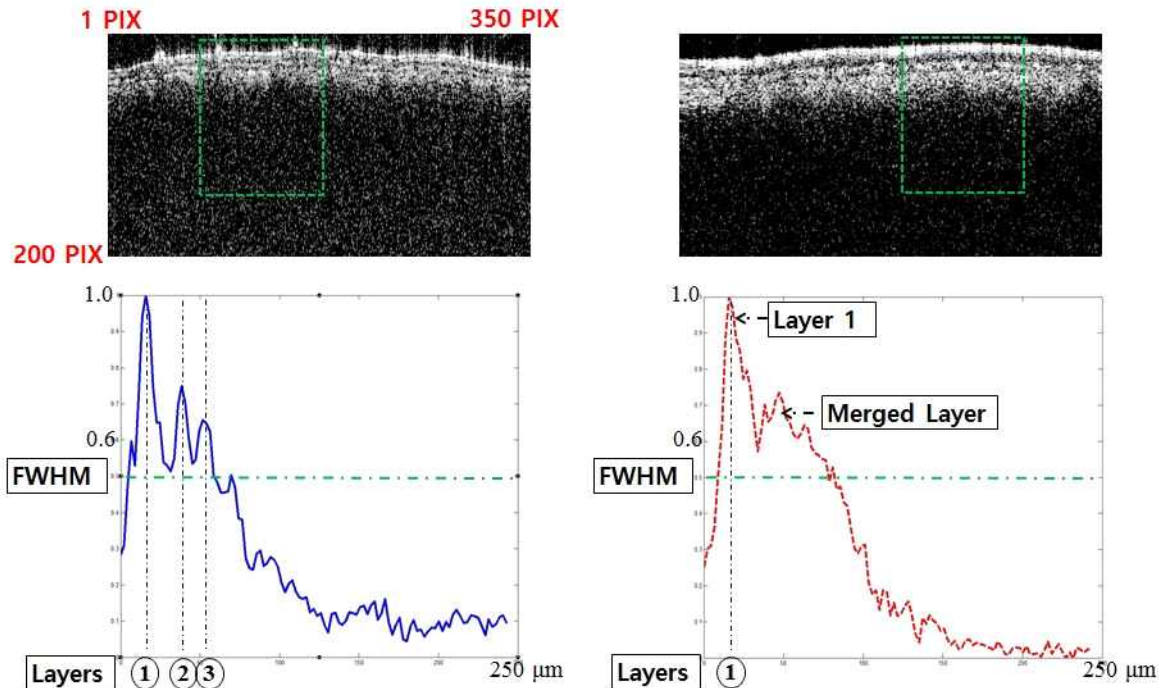


그림 76. 건전한 사과 시료와 사과갈색무늬병균에 감염된 사과 시료에서 촬영한 단층 이미지 및 A-scan 분석 결과

- 사과 시료 같은 경우에도 그림 76의 이미지에서 나오는 여러 가지 intensity points 때문에 생기는 피크들을 A-scan 상에서도 나타나는 것을 확인 할 수 있지만 제일 강하게 나오는 피크들만 쉽게 구분하기 위해서는 그림 77에 보이듯이 Normalized intensity 값에서 0.5 이하 값을 나타내는 피크들을 제거해서 측정함. 건전한 사과 시료의 실시간 진단을 위한 시료분석 정보 및 Threshold 값들은 그림 2에 있는 테이블 상에 표시 되어있음.

건강 사과 시료 분석 방법

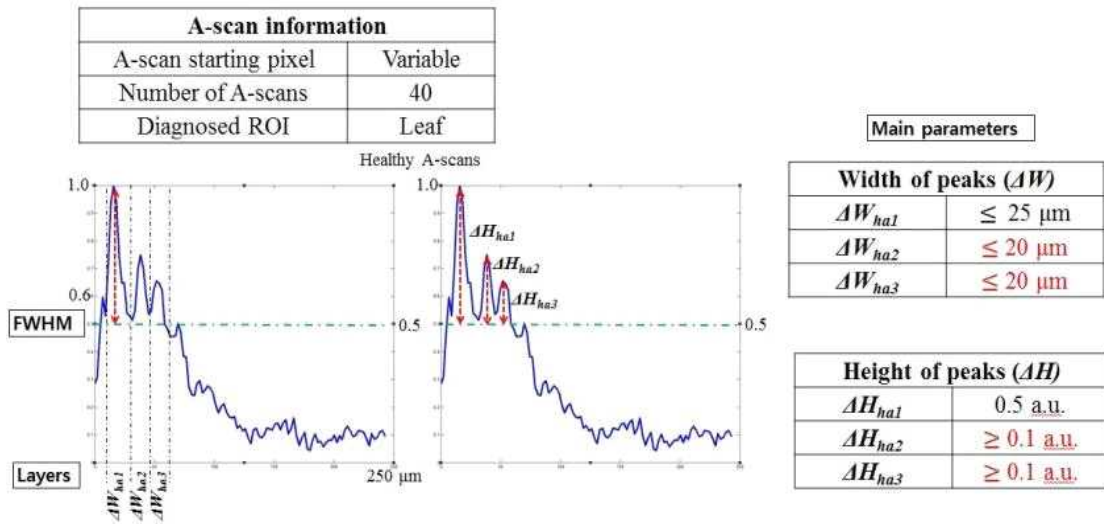


그림 77. 건강한 사과 시료의 실시간 진단을 위한 시료 분석 정보

- 그림 77에 보이듯이 실시간 진단을 위한 건강한 사과 시료 분석 정보 요약함. 이에 아래와 같은 두 가지 조건에서 분석되는 시료를 건전시료로 표시함.
1. 그래프에 나타나는 최대 강도를 가지는 첫 번째, 두 번째와 세 번째 피크들의 두께가 테이블에 표시되어 있는 값들을 만족시키는 경우 사과 시료가 사과 갈색무늬병에 감염되지 않은 건전한 시료임.
 2. 그래프에 나타나는 최대 강도를 가지는 첫 번째, 두 번째 와 세 번째 피크들의 높이가 테이블에 표시되어 있는 값들을 만족시키는 경우 사과 시료가 건전한 시료임.

감염 사과 시료 분석 방법

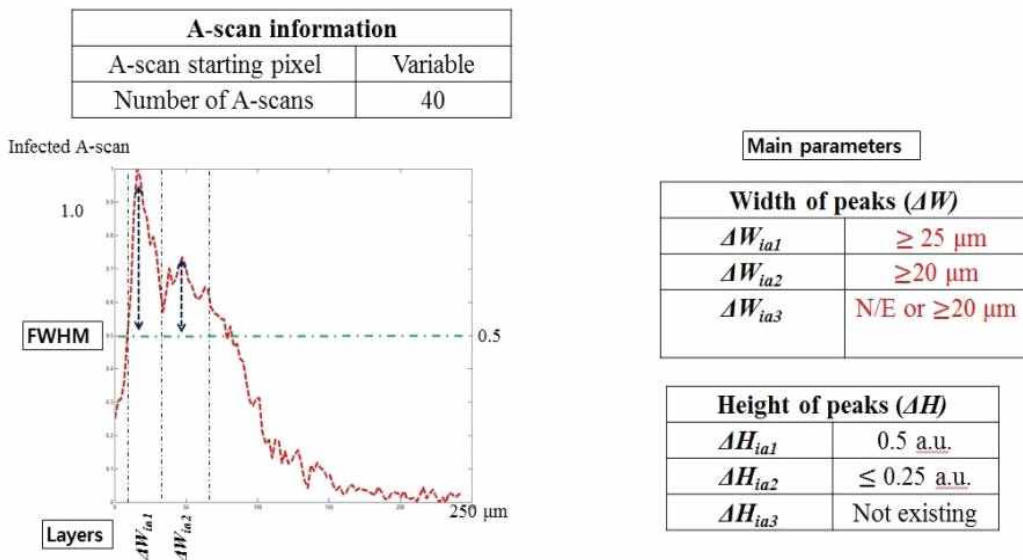


그림 78. 사과갈색무늬병균 감염 사과 시료 실시간 진단을 위한 시료 분석 정보

- 그림 78에 보이듯이 실시간 진단을 위한 감염된 사과 시료 분석 정보 요약함. 이에 아래와 같은 세 가지 조건에서 분석되는 시료를 건전시료로 표시함.

1. 그래프에 나타나는 최대 강도를 가지는 첫 번째 피크의 두께가 $\Delta W \geq 25 \mu\text{m}$ 인 경우.
 2. 그래프에 나타나는 최대 강도를 가지는 두 번째 피크의 두께가 $\Delta W \geq 20 \mu\text{m}$ 인 경우.
 3. 쉽게 구분 할 수 있는 두 번째와 세 번째 피크 안 나타나는 경우.
- 사과갈색무늬병균 감염 사과 시료의 실시간 진단을 위한 시료 분석 정보 및 Threshold 값들은 그림 78에 있는 테이블 상에 표시 되어있음.

(나) 감 등근무늬낙엽병 진단용 OCT 분석 알고리즘의 개발

- OCT 촬영 후 A-scan 분석을 진행하여 대상 시료의 건전 및 감염여부를 진단함. A-scan 분석 결과는 OCT로 촬영된 감잎의 깊이 방향으로 나오는 신호에서 제일 강하게 나오는 첫 번째 피크와 두 번째 피크사이의 거리의 크기가 중요함.

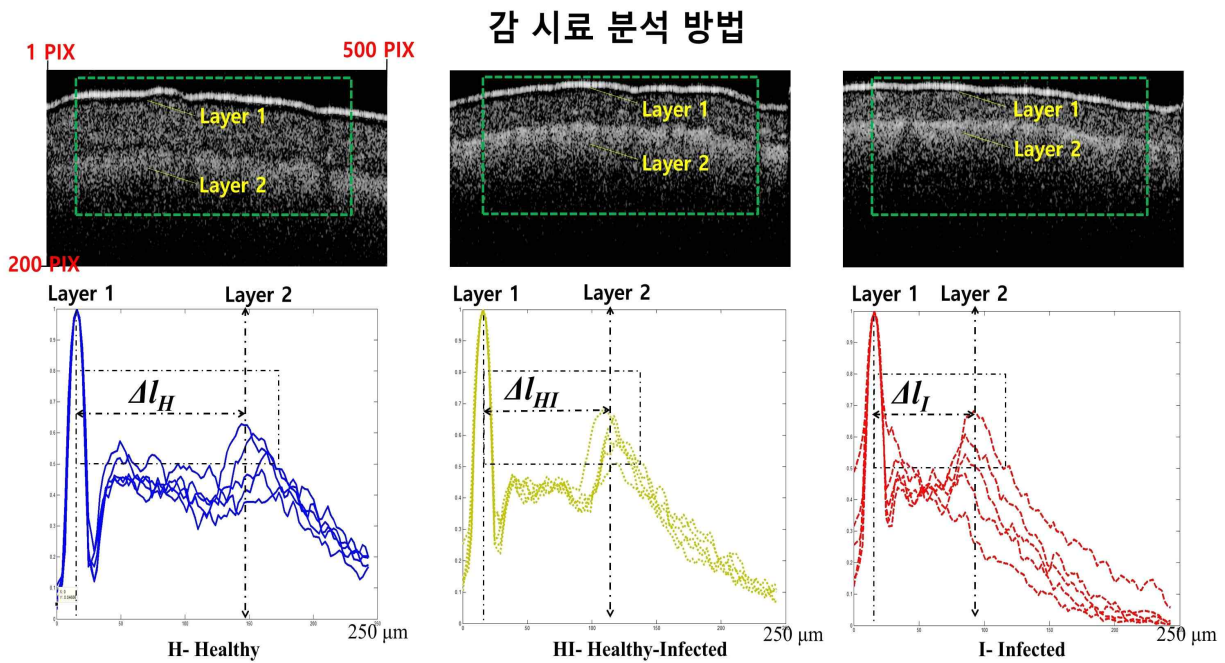


그림 79. 건전한 감 시료 및 감염된 감 시료를 통해서 얻은 OCT 단층 결과와 A-scan 분석 결과

- 그림 79의 이미지에서 나오는 여러 가지 intensity points 때문에 생기는 피크들을 A-scan 상에서도 확인됨. 하지만 제일 강하게 나오는 첫 번째 peak와 두 번째 peak를 쉽게 구분하기 위해서, 아래 그림 2에서 보이듯이 Normalized intensity 값에서 0.5 이하의 값을 나타내는 peak들은 제거하고 그래프로 나타내었음.
- 그림 79는 A-scan 분석 결과를 통하여 획득한 Threshold 값이므로 감 등근무늬낙엽병 진단용 OCT 분석 알고리즘에 아래와 같은 Threshold 값들을 적용하여 감 시료의 건전 및 감염여부를 실시간으로 진단 가능하게 함.

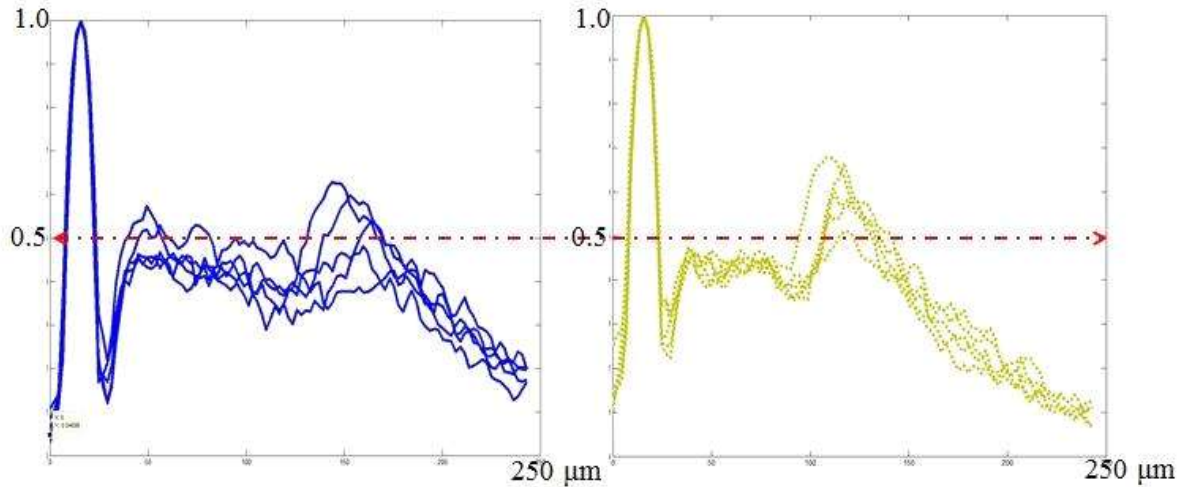


그림 80. Normalized 값에서 0.5 이하의 값을 제거한 피크 정보

A-scan information	
A-scan starting pixel	10 th PIX
Number of A-scans	200
Diagnosed ROI	Leaf

Healthy (H)	
Δl_H	$137 \pm 3 \mu\text{m}$

Healthy-Infected (HI)	
Δl_{HI}	$98 \pm 3 \mu\text{m}$

Infected (I)	
Δl_I	$70 \pm 3 \mu\text{m}$

그림 81. A-scan 분석 결과를 통하여 찾은 Threshold 값

- 실시간 진단을 위한 시료 분석 정보를 종합하여 아래 조건을 만족하는 시료를 각각 건전, 감염 시료로 판별함.
- 1. 그래프에 나타나는 최대 강도를 가지는 두 번째 피크 위치가 첫 번째 피크에서 $137 \pm 3 \mu\text{m}$ 위치에 나타나는 경우 시료가 건전한 시료임.
- 2. 그래프에 나타나는 최대 강도를 가지는 두 번째 피크 위치가 첫 번째 피크에서 $98 \pm 3 \mu\text{m}$ 위치에 나타나는 경우 시료가 건전한 나무에 있는 감염된 시료나 감염된 시료임.
- 3. 그래프에 나타나는 최대 강도를 가지는 두 번째 피크 위치가 첫 번째 피크에서 $70 \pm 3 \mu\text{m}$ 위치에 나타나는 경우 시료가 감염된 시료임,

(다) 배 검은별무늬병 진단용 OCT 분석 알고리즘

- 배 시료에서 얻은 A-scan 분석 결과는 배 검은별무늬병에 감염된 잎과 건전한 잎을 OCT로 촬영하여 A-scan 분석을 수행하였을 때 건전한 잎의 경우에는 0~100 μm 간격에서 최대 강도를 가지는 여러 피크들이 나타나는 것을 확인함(그림 82).
- 촬영한 OCT 단층 이미지를 사용 하여, A-scan 분석을 수행하였으며, 그 결과 획득되는 OCT 이미지 중 A-scan 분석 결과와 차이가 나타나는 부분을 확인하였으며, 이를 감염으로 판단하여 실험 기준으로 설정함.

건전 배 시료 분석 방법

Healthy sample (Visually)

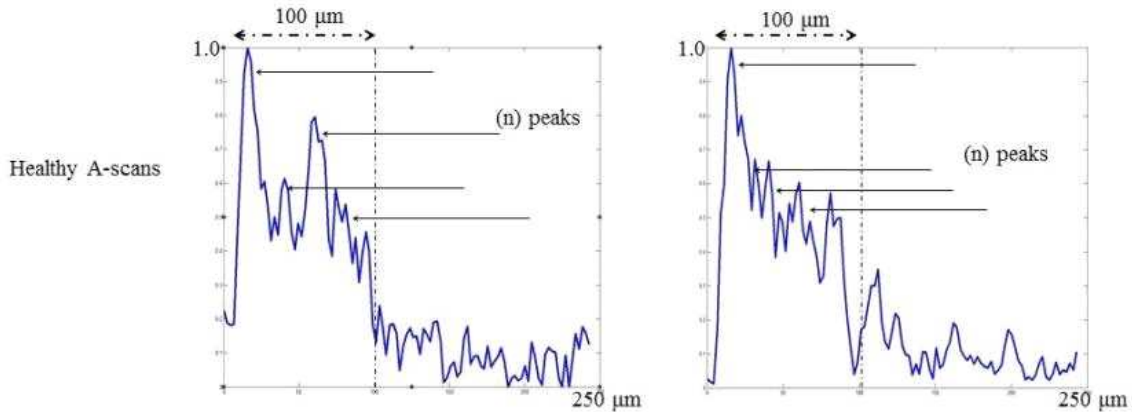
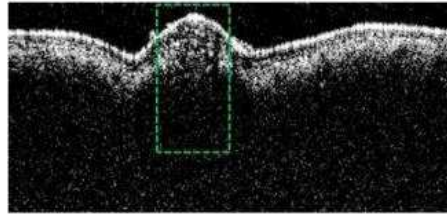


그림 82. 건전한 배 시료에서 촬영한 단층 이미지 및 A-scan 분석 결과

- 실시간으로 건전한 배잎에 대한 분석을 위해 건전한 배잎에 대한 A-scan 정보를 아래와 같이 요약함. 이에, 아래 세 조건을 만족하면 건전으로 판단함.
- 1. 그래프에 나타나는 최대 강도를 가지는 첫 번째 피크의 두께가 $15\ \mu\text{m} \sim 25\ \mu\text{m}$ 인 경우
- 2. 그래프에 나타나는 피크 높이가 $\geq 0.1\ \text{a.u.}$ 인 경우
- 3. $0 \sim 100\ \mu\text{m}$ 간격에서 위의 1번과 2번을 만족시키는 여러 피크가 나타나는 경우

Main parameters

Width of the 1 st peak (ΔW_{hp})	$15\ \mu\text{m} \sim 25\ \mu\text{m}$
Considerable peak height (H_{hp})	$\geq 0.1\ \text{a.u.}$
Negligible peak height (H_{hp})	$< 0.1\ \text{a.u.}$
Considerable peak occurrence depth range	$0\ \mu\text{m} \sim 100\ \mu\text{m}$

그림 83. 실시간 진단을 위한 건전 배 시료 분석 정보

- 배 OCT image에서 얻은 데이터를 이용하여 A-scan 분석을 수행하였을 때, 감염된 잎의 경우에는 $0 \sim 100\ \mu\text{m}$ 간격에서 최대 강도를 가지는 single peak만 확인되며 나머지 peak들은 확인이 불가하였음(그림 83).
- 이에 위와 마찬가지로 감염된 배 시료에 대한 정보를 요약하고 각 이미지에 대한 특성을 분석함(그림 83).

감염 배 시료 분석 방법

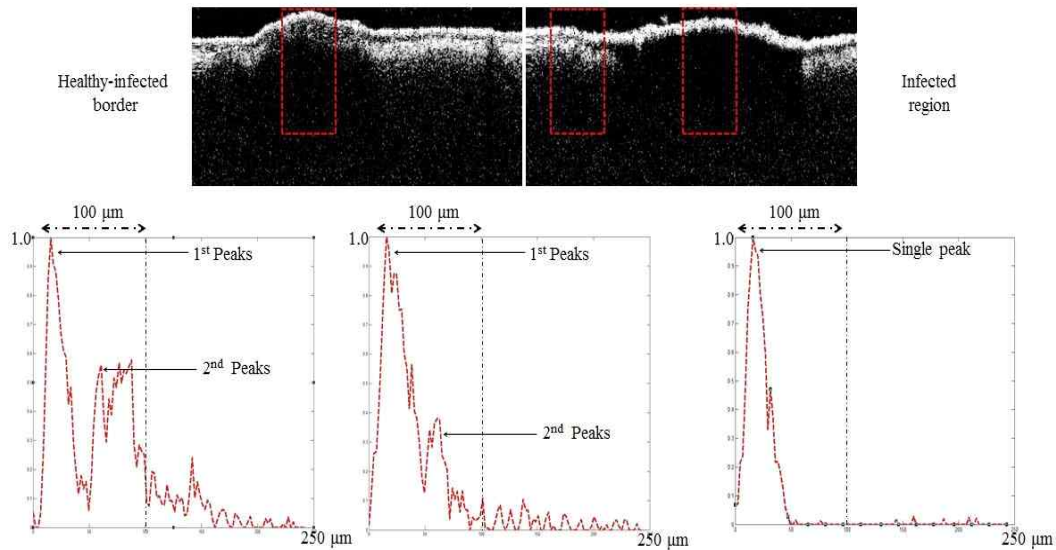


그림 84. 감염된 배 시료에서 촬영한 단층 이미지 및 A-scan 분석

- 위와 같이 실시간 진단을 위한 감염된 배 시료 분석 정보 요약은 아래와 같이 세 가지 조건으로 요약함.

 1. 그래프에 나타나는 최대 강도를 가지는 첫 번째 피크의 두께가 $\Delta W \geq 25 \mu\text{m}$ 인 경우.
 2. 그래프에 나타나는 피크 높이가 $\Delta H \leq 0.1 \text{ a.u.}$ 인 경우.
 3. 그래프에 나타나는 최대 강도를 가지는 첫 번째, 두 번째 피크 사이의 간격이 $\geq 40 \mu\text{m}$ 보다 큰 경우

Main parameters

Increased width of the 1 st peak (ΔW_{ip})	$\geq 25 \mu\text{m}$
Considerable peak height (H_{hp})	$\geq 0.1 \text{ a.u.}$
Negligible peak height (H_{hp})	$< 0.1 \text{ a.u.}$
Increased depth between 1 st and 2 nd peak (ΔD_{ip})	$\geq 40 \mu\text{m}$

그림 85. 실시간 진단을 위한 감염된 배 시료 분석 정보

- 위와 같이 사과 건전 잎, 사과 갈색무늬병 감염 잎, 배 건전 잎, 배 검은별무늬병 감염 잎, 감 건전 잎, 감 둥근무늬낙엽병 감염 잎을 촬영하여 획득된 OCT 이미지의 신호강도를 각각 분석하여, 확인되는 각각의 조건들을 threshold로 설정함.
- 이를 기반으로 하여 OCT 촬영 후 추가적인 A-scan 분석 없이 현장에서 즉시 감염여부를 확인할 수 있는 알고리즘을 개발하고, 휴대용 SD-OCT에 적용함.

(2) 휴대용 SD-OCT를 이용한 사과 갈색무늬병, 배 검은별무늬병 및 감 둥근무늬낙엽병 진단용 메뉴얼 작성

- 사과 갈색무늬병, 배 검은별무늬병, 감 둥근무늬낙엽병 진단용 알고리즘을 탑재한 휴대용

SD-OCT의 진단용 매뉴얼을 작성함.

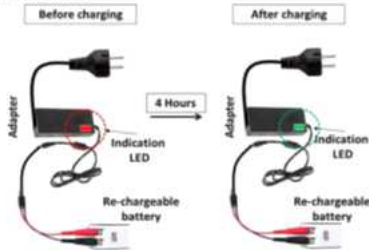
(가) 병해별 진단 시기 및 시료의 선정

- 감염여부의 정확한 분석을 위하여 휴대용 SD-OCT를 이용한 병해 감염여부의 진단은 다음과 같이 제시함; 사과 갈색무늬병(4월 중순 - 5월 중순), 배 검은별무늬병(4월말 - 5월 초), 감 둥근무늬낙엽병(6월 말 - 7월 하순).
- 촬영 대상잎의 선정: 곤충에 의한 식흔이 없고, 다른 병반이 없는 육안 상 건전한 잎을 선정하고, 시험자의 가슴부위에 있는 잎을 선정함.

(나) 휴대용 SD-OCT 작동 매뉴얼의 작성

Step 1: Battery charging

- Prior to operate the system, re-chargeable battery should be charged for 4 hours.
- The battery should be connected to the adapter and 220V voltage should be supplied.
- The adapter indicates 'red color LED bulb' during battery charging and once battery is fully charged 'red color LED' turns to 'green color LED' as shown below



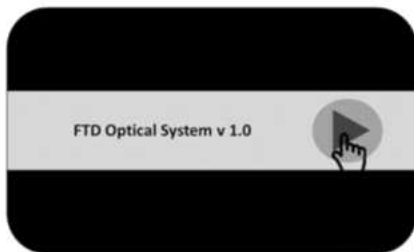
Step 2: Turning on the system

- In the operating panel of the back-pack OCT system, press once the 'Main' button first.
- Once the 'Main' button is pressed, blue color circular LED light of 'Main' button will be appeared.
- After 3 seconds, press once 'PC' button.
- Once the 'PC' button is pressed, orange color circular LED light of 'PC' button will be appeared.

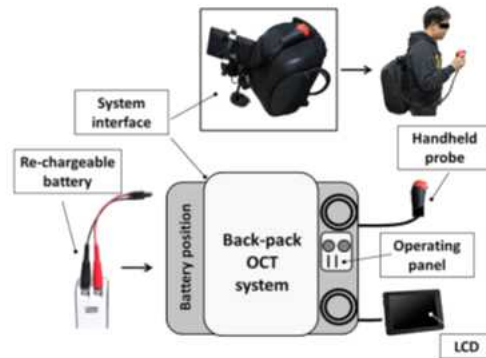


Step 4: Program execution

- Once the LCD is connected, FTD optical system user interface will be displayed on the screen.
- In this display, press the play button as shown below.

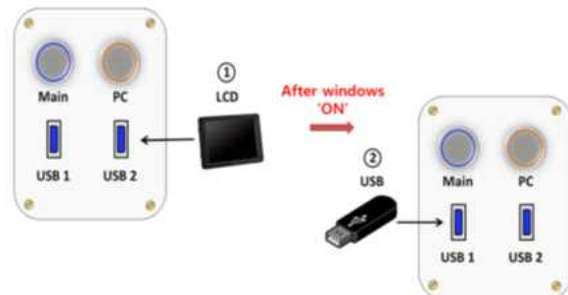


- The entire system interface along with the external structures are shown below



Step 3: Connecting the LCD

- Then connect the LCD panel to 'USB 2' port.
- Once windows are 'ON' in LCD display, USB flash memory should be connected to 'USB 1' port for data storage.



Step 5: Program execution

- Once the play button was pressed, the below program panel will be displayed.
- In this program panel, once again press the indicated play button.



그림 86. 휴대용 SD-OCT의 사용 매뉴얼(영문 버전).

- 초보자가 사용하더라도 즉시 숙련하게 사용할 수 있도록 상세한 사용 매뉴얼 초안을 아래와 같이 세분하여 작성함; Step 1: 배터리 충전, Step 2: 기기의 시동, Step 3: LCD 및 USB의 부착, Step 4-5: 프로그램 시동

(다) 자동화 진단 알고리즘이 장착된 휴대용 SD-OCT 기기의 사용 및 진단 결과 예시

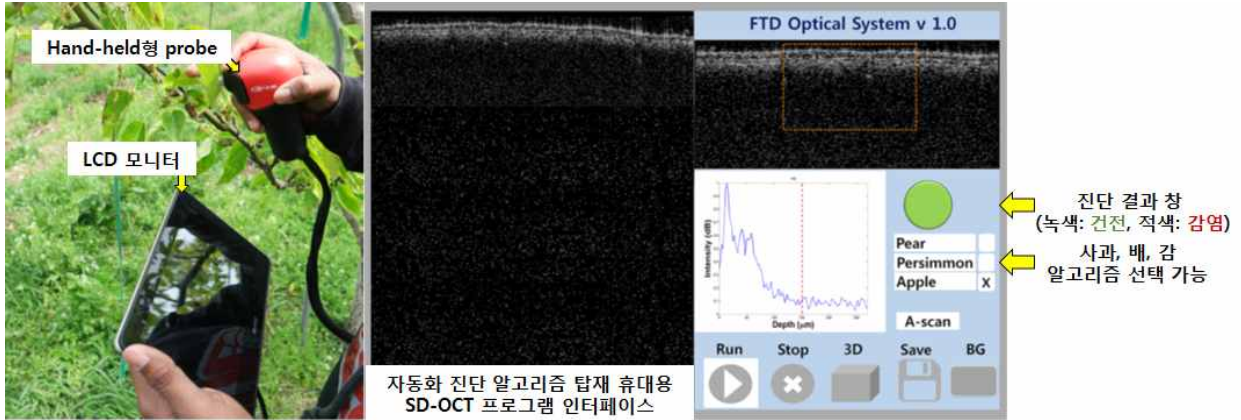


그림 87. 자동화 알고리즘 탑재 휴대용 OCT의 사용방법 및 프로그램의 인터페이스

- 장착한 LCD 모니터 내부에 사과, 배, 감을 터치하여 진단 알고리즘을 변경할 수 있음.
- 진단하고자 하는 과수를 터치하여 설정을 하고, hand-held probe를 앞에 대고 beep음이 2초 이상 지속적으로 들릴 때 까지 대고 있음.
- 사과 및 감잎은 엽맥을 제외한 엽육 조직을 주로 촬영을 하고, 배잎은 엽맥 혹은 주맥 부분을 대상으로 촬영을 함.

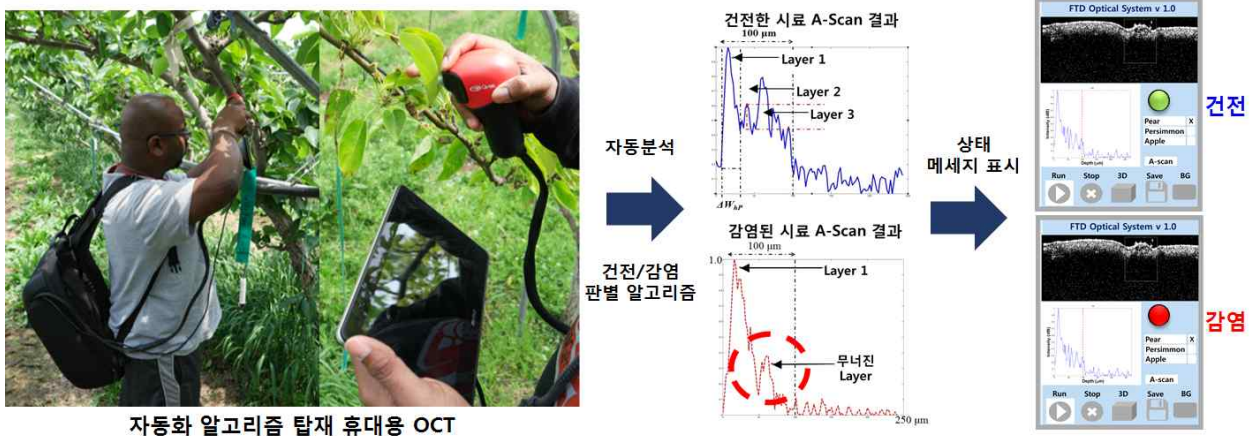


그림 88. 자동화 알고리즘 탑재 휴대용 OCT의 배 검은별무늬병 진단 모식도

- Beep 음이 꺼지면, 촬영이 완료가 되며 그 즉시 획득된 이미지에 대해서 A-scan을 수행함.
- 획득된 A-scan 결과는 시스템 내에 입력된 알고리즘에 입력된 건전 및 감염 조건과 비교하여, 조건에 가장 부합하는 LCD 모니터 오른쪽 편에 결과가 표시되며, 녹색 원이 나오면 건전, 붉은색 원이 표시되면 병원균에 감염된 패턴으로 인식함.
- 세부적인 분석이 요구될 경우, USB에 저장된 파일을 이용하여 추가적인 분석이 가능함.
- 차 후 매뉴얼의 보완사항과 기기의 변경사항이 생기면 진단 매뉴얼도 계속적으로 수정하여 보급할 예정임.

2. 1협동과제: 국내 사과 및 배 재배 지역에 발생하는 주요병해 조사 및 과수병해 진단기술 농가 적용

가. 1차년도: 국내 과수 재배지역에서 발생하는 주요 병해 조사 및 이병시료 확보

(1) 주요병해 조기진단 현장실증 조사농가 구성

○ 사과는 3개도 8개 시군, 배는 1개도 2시군 지정하였으며, 지역은 사과 : 김천, 상주, 의성, 영천, 문경, 예천, 거창, 무주이고 배는 상주, 예천으로 지역별당 각 10농가씩을 선정하였음.

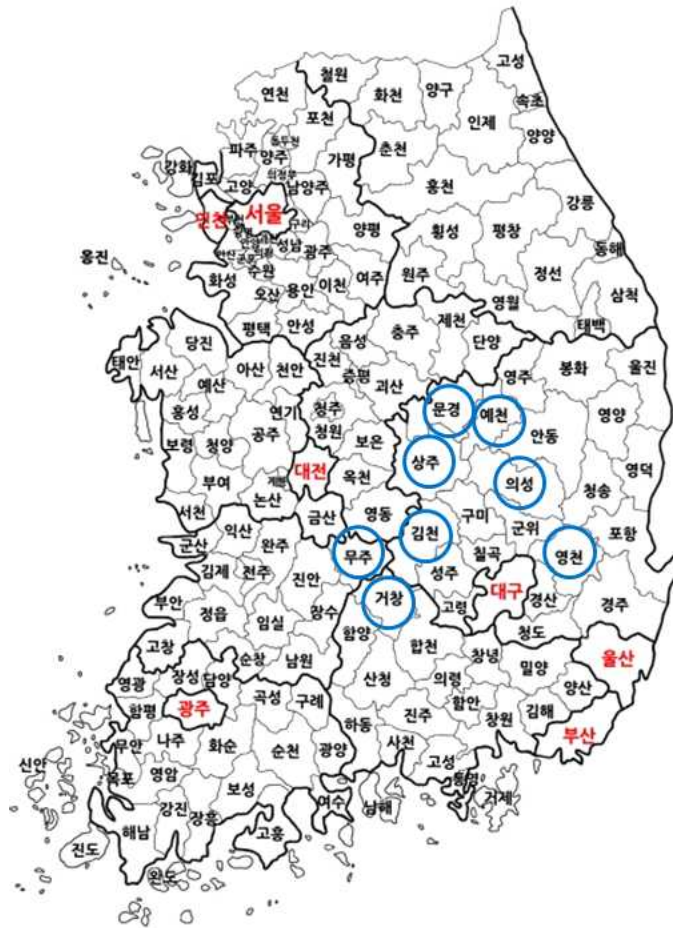


그림 89. 현장실증 조사지역 현황 및 예찰조사



그림 89. 사과 갈색무늬병



사과탄저병



배 검은별무늬병

(2) 주요 병해 조사방법

- 주로 재배하는 품종으로 사과는 후지, 배는 신고를 정하였고, 조사간격은 생육초기(발아기)부터 실시하여 2주 간격으로 4~11월까지 실시하였음.
- 조사병해는 사과는 갈색무늬병, 탄저병이며, 배는 검은별무늬병임. 조사방법으로 과종과 농가의 표본 주 선정(5그루), 선정(640잎), 육안조사 및 현미경 검경을 하였음.

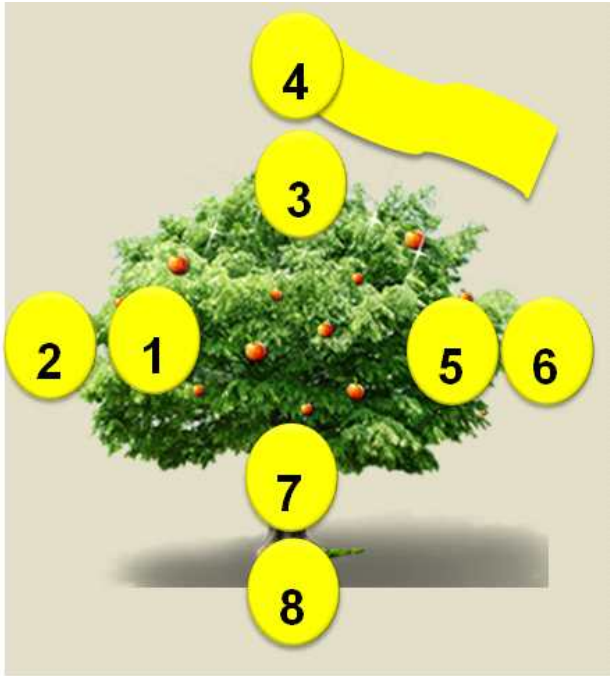


그림 90. 발병 조사 (왼쪽 첫 번째 사진 : 과원 내 수령, 주간의 종횡경, 수고가 평균인 5주를 선정하고, 오른쪽 첫 번째 사진 : 동서남북 8가지에 표본조사용 가지에 라벨 표식. 아래 첫 번째, 두 번째 사진 : 발병잎, 과실을 시기에 맞춰 조사함)

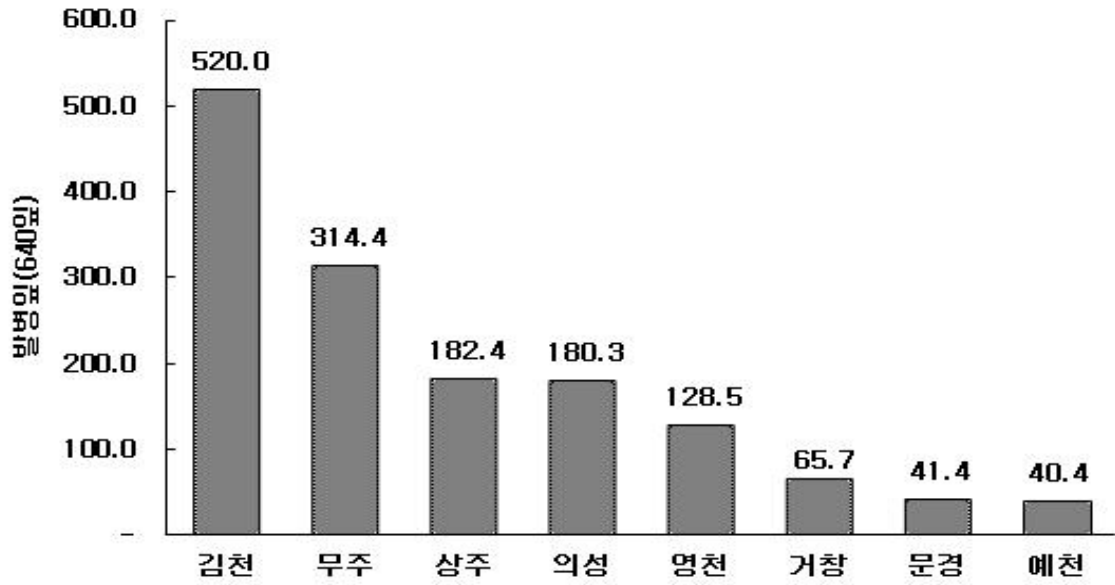


그림 91. 2014년 사과 갈색무늬병 평균 발병율

- 2014년 사과 갈색무늬병, 탄저병 발병을 조사한 결과 조사지역 중 김천이 가장 높게 발병된 것이 확인되었음.

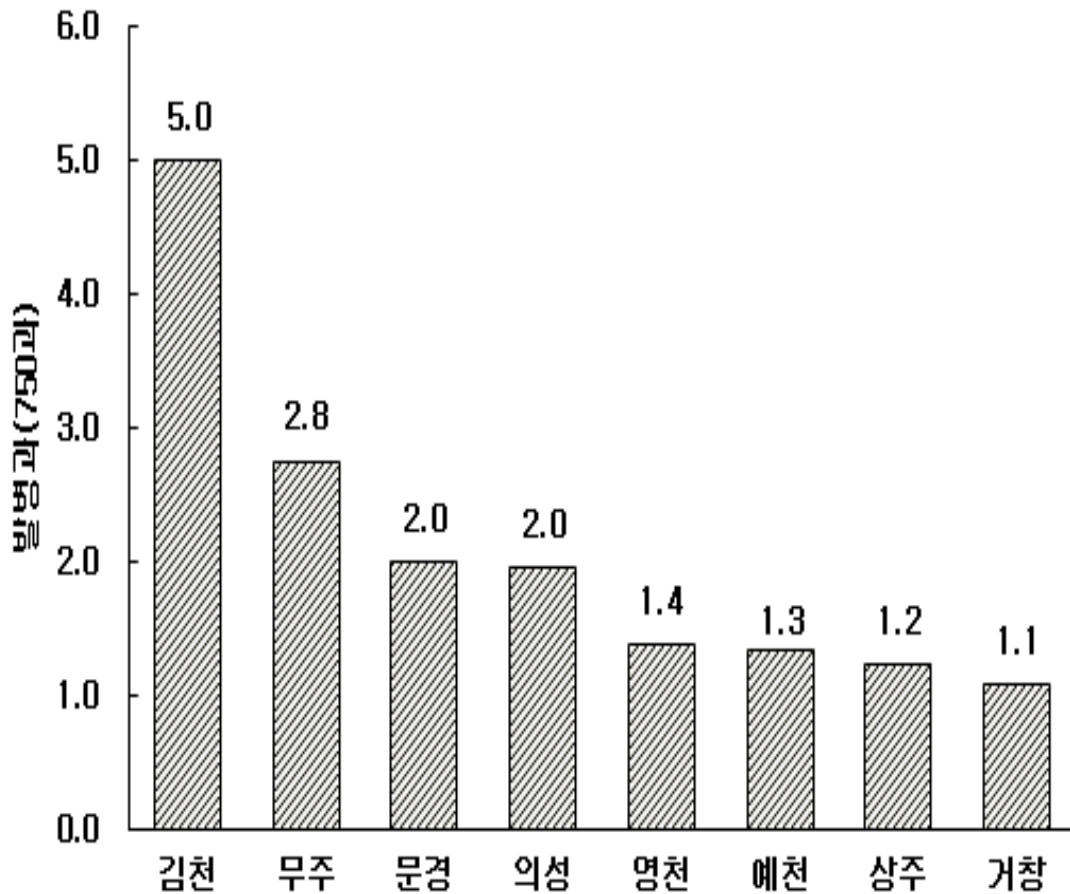


그림 92. 2014년 사과 탄저병 평균발병과

표 34. 2014년 사과 갈색무늬병 지역시기별 평균발병현황

(단위 : 발병잎/640잎)

지역 일자	김천	상주	의성	영천	문경	예천	거창	무주
4/12	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
4/26	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5/10	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5/24	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.4	0.1
6/7	0.3	0.1	0.3	0.3	0.3	0.0	0.6	1.4
6/21	2.6	2.8	0.5	0.5	2.0	0.1	1.8	2.2
7/5	4.6	4.5	4.9	2.7	2.1	1.8	3.6	6.5
7/19	8.0	5.7	6.1	4.1	2.5	2.6	5.8	18.2
8/2	13.1	4.0	6.6	4.3	2.0	4.2	5.6	28.2
8/16	45.9	9.6	6.7	4.3	0.5	4.5	3.8	26.5
8/30	153.4	25.6	21.6	16.7	6.2	8.2	13.6	39.9
9/13	128.4	26.7	30.2	32.2	7.9	19.1	12.7	78.5
9/27	85.8	33.8	15.1	34.1	7.5	8.6	6.3	55.0
10/11	61.7	35.6	47.6	25.3	8.2	7.5	4.8	51.4
10/25	16.2	34.0	40.7	14.7	2.0	3.0	6.5	51.2

○ 갈색무늬병 발병 시기는 지역적으로 차이가 있으며, 초발병일은 경남 거창, 경북 문경, 전북 무주에서 5월 24일로 조사되었음. 예천은 6월21일이 초발병으로 조사지역 중 가장 늦게 발병되었음.
○ 8월30일경 7개 조사시군이 발병 시기에 있어 가장 높게 나왔으며, 10월 25일 이 후 서리로 인한 낙엽으로 조사를 할 수 없었음.

표 35. 2014년 사과 탄저병 지역시기별 평균발병현황

(단위 : 피해과/750과)

지역 일자	김천	상주	의성	영천	문경	예천	거창	무주
4/12	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4/26	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5/10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5/24	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6/7	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6/21	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7/5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7/19	0.00	0.02	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
8/2	0.00	0.08	0.02	0.04	0.03	0.00	0.05	0.02
8/16	0.20	0.22	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.01
8/30	0.04	0.64	0.00	0.08	0.30	0.10	0.50	0.05
9/13	0.30	1.84	0.50	0.11	0.17	0.00	0.44	0.65
9/27	0.40	1.00	0.20	0.40	0.43	0.00	0.22	0.64
10/11	0.20	0.50	0.50	0.08	0.03	0.00	0.72	0.60
10/25	0.20	0.70	0.20	0.22	0.07	0.00	0.02	0.49

- 탄저병 발병도 지역별로 발병 시기에 차이가 있었음. 7월 19일 경북 상주, 영천에서 초발병을 시작하여 8월2일 조사에서 경북 상주, 의성, 문경, 거창, 무주가 나타났으며, 김천 8월 16일, 예천 8월30일 조사로 예천이 가장 늦게 발병되었음.
- 탄저병은 10월 25일까지 발병조사 되었음.
- 농가별 갈색무늬병과 탄저병, 검은별무늬병을 조사한 결과 지역 외에 농가별의 발생의 차가 컸음.
- 갈색무늬병은 대부분 5월 하순에서 6월 상순에 초발병이 되었으며, 탄저병은 8월 중순부터 이었음. 검은별무늬병 잎의 발병은 4월 하순, 과실발병은 5월 하순으로 과실발병은 봉지 씌우기를 한 후부터는 관찰되기가 어려움.
- 갈색무늬병의 초기발병은 사과나무 탁엽에서 시작하여 발병을 하며, 장마 이 후부터 잠복되어 있던 병원균들이 급격히 발병되어 장마 이 후에는 다량의 감염 잎이 관찰되었음.
- 2014년 탄저병의 경우 발병과가 낮았으며, 후지품종에 있어 상단에 위치한 과실에서 병반과가 관찰되었음.

○ 검은별무늬병은 4월하순시기에 저온 다습한 환경에서 발병이 되었고, 잎과 함께 과실에서도 같이 발병되었음. 검은별무늬병 또한 병원균이 좋아하는 환경에서는 급격히 증가를 하는 편이었음.

표 36. 2014년 김천 사과 갈색무늬병 농가별 발병현황

(단위 :발병잎/640잎)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/12	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
4/26	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5/10	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5/24	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
6/7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0
6/21	0.0	0.0	8.0	2.0	0.0	3.0	3.0	0.0	2.0	2.0
7/5	3.0	7.0	8.0	4.0	2.0	15.0	4.0	2.0	3.0	2.0
7/19	1.0	14.0	15.0	8.0	4.0	23.0	11.0	3.0	10.0	15.0
8/2	2.0	17.0	35.0	7.0	3.0	30.0	27.0	3.0	4.0	20.0
8/16	16.0	40.0	70.0	17.0	9.0	250.0	130.0	10.0	12.0	50.0
8/30	30.0	640.0	300.0	70.0	15.0	500.0	460.0	80.0	65.0	70.0
9/13	250.0	250.0	250.0	120.0	10.0	300.0	150.0	260.0	300.0	40.0
9/27	70.0	400.0	170.0	34.0	12.0	300.0	110.0	100.0	40.0	24.0
10/11	80.0	200.0	170.0	17.0	7.0	200.0	60.0	35.0	70.0	68.0
10/25	30.0	20.0	40.0	15.0	3.0	50.0	15.0	8.0	26.0	22.0

표 37. 2014년 상주 사과 갈색무늬병 농가별 발병현황

(단위 :발병잎/640잎)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/12	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
4/26	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5/10	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5/24	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
6/7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
6/21	0.0	0.0	0.0	0.0	4.0	0.0	4.0	1.0	0.0	14.0
7/5	2.0	0.0	3.0	0.0	6.0	3.0	0.0	3.0	0.0	17.0
7/19	7.0	0.0	2.0	15.0	8.0	6.0	6.0	8.0	5.0	54.0
8/2	0.0	0.0	8.0	7.0	0.0	3.0	2.0	14.0	0.0	31.0
8/16	0.0	0.0	8.0	20.0	3.0	24.0	9.0	16.0	6.0	68.0
8/30	14.0	27.0	6.0	20.0	24.0	35.0	35.0	28.0	48.0	200.0
9/13	13.0	26.0	60.0	26.0	18.0	60.0	70.0	60.0	37.0	65.0
9/27	0.0	50.0	36.0	60.0	17.0	80.0	70.0	68.0	72.0	180.0
10/11	0.0	30.0	18.0	160.0	14.0	75.0	36.0	20.0	80.0	300.0
10/25	0.0	60.0	20.0	64.0	0.0	100.0	30.0	15.0	80.0	300.0

표 38. 2014년 의성 사과 갈색무늬병 농가별 발병현황

(단위 :발병잎/640잎)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/12	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
4/26	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5/10	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5/24	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
6/7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
6/21	0.0	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
7/5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.0	6.0	3.0	0.0
7/19	26.0	0.0	4.0	10.0	17.0	5.0	10.0	0.0	15.0	5.0
8/2	7.0	6.0	7.0	6.0	15.0	5.0	20.0	6.0	13.0	6.0
8/16	7.0	0.0	23.0	11.0	3.0	7.0	21.0	15.0	20.0	17.0
8/30	17.0	5.0	18.0	15.0	21.0	6.0	19.0	13.0	24.0	20.0
9/13	250.0	30.0	100.0	8.0	30.0	22.0	22.0	11.0	80.0	60.0
9/27	300.0	26.0	250.0	40.0	40.0	31.0	80.0	32.0	500.0	120.0
10/11	120.0	40.0	400.0	250.0	90.0	39.0	100.0	26.0	560.0	95.0
10/25	65.0	100.0	400.0	25.0	72.0	30.0	90.0	50.0	460.0	150.0

표 39. 2014년 영천 사과 갈색무늬병 농가별 발병현황

(단위 :발병잎/640잎)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/12	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
4/26	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5/10	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5/24	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0
6/7	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.0
6/21	0.0	0.0	0.0	2.0	0.0	1.0	2.0	0.0	0.0	24.0
7/5	10.0	10.0	1.0	7.0	12.0	10.0	2.0	0.0	0.0	50.0
7/19	24.0	8.0	3.0	25.0	5.0	13.0	7.0	2.0	0.0	31.0
8/2	30.0	4.0	15.0	35.0	5.0	13.0	6.0	2.0	0.0	31.0
8/16	20.0	7.0	8.0	39.0	13.0	20.0	1.0	3.0	0.0	45.0
8/30	80.0	34.0	26.0	45.0	49.0	42.0	8.0	14.0	12.0	170.0
9/13	78.0	250.0	180.0	40.0	43.0	36.0	200.0	40.0	14.0	200.0
9/27	160.0	300.0	50.0	500.0	60.0	50.0	38.0	35.0	35.0	250.0
10/11	100.0	45.0	60.0	400.0	20.0	55.0	70.0	45.0	46.0	120.0
10/25	120.0	80.0	23.0	30.0	40.0	40.0	14.0	17.0	36.0	20.0

표 40. 2014년 문경 사과 갈색무늬병 농가별 발병현황

(단위 :발병잎/640잎)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I
4/12	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
4/26	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5/10	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5/24	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
6/7	0.0	6.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
6/21	0.0	36.0	0.0	0.0	7.0	0.0	0.0	0.0	1.0
7/5	0.0	26.0	0.0	0.0	7.0	0.0	0.0	0.0	1.0
7/19	0.0	24.0	0.0	2.0	9.0	0.0	0.0	0.0	0.0
8/2	0.0	12.0	0.0	3.0	11.0	0.0	0.0	0.0	0.0
8/16	3.0	14.0	0.0	0.0	4.0	0.0	0.0	0.0	3.0
8/30	0.0	17.0	0.0	14.0	16.0	0.0	12.0	12.0	6.0
9/13	6.0	23.0	0.0	15.0	15.0	0.0	15.0	15.0	6.0
9/27	0.0	23.0	0.0	25.0	45.0	0.0	0.0	0.0	15.0
10/11	5.0	15.0	0.0	30.0	50.0	0.0	12.0	12.0	8.0
10/25	0.0	0.0	0.0	0.0	40.0	0.0	0.0	0.0	0.0

표 41. 2014년 예천 사과 갈색무늬병 농가별 발병현황

(단위 :발병잎/640잎)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/12	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
4/26	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5/10	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5/24	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
6/7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
6/21	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
7/5	0.0	0.0	5.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0
7/19	0.0	0.0	15.0	3.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	3.0
8/2	0.0	5.0	7.0	4.0	0.0	1.0	0.0	3.0	0.0	3.0
8/16	0.0	3.0	10.0	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.0
8/30	0.0	5.0	10.0	4.0	0.0	1.0	0.0	10.0	0.0	0.0
9/13	1.0	50.0	20.0	9.0	15.0	0.0	0.0	30.0	18.0	5.0
9/27	0.0	20.0	70.0	10.0	20.0	1.0	0.0	0.0	19.0	0.0
10/11	3.0	10.0	30.0	40.0	0.0	0.0	0.0	20.0	11.0	0.0
10/25	3.0	50.0	20.0	20.0	0.0	0.0	18.0	0.0	0.0	0.0

표 42. 2014년 거창 사과 갈색무늬병 농가별 발병현황

(단위 :발병잎/640잎)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/12	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
4/26	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5/10	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5/24	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
6/7	0.0	0.0	2.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
6/21	0.0	0.0	0.0	6.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
7/5	1.0	3.0	5.0	1.0	2.0	1.0	5.0	0.0	0.0	0.0
7/19	1.0	2.0	0.0	10.0	0.0	2.0	15.0	1.0	0.0	5.0
8/2	2.0	3.0	5.0	8.0	4.0	10.0	16.0	2.0	0.0	8.0
8/16	3.0	4.0	3.0	9.0	1.0	12.0	10.0	2.0	2.0	10.0
8/30	0.0	5.0	0.0	10.0	5.0	15.0	12.0	2.0	10.0	8.0
9/13	0.0	7.0	17.0	5.0	4.0	30.0	20.0	21.0	50.0	30.0
9/27	0.0	15.0	5.0	20.0	14.0	15.0	20.0	15.0	20.0	50.0
10/11	0.0	70.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	20.0	24.0
10/25	0.0	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.0	4.0

표 43. 2014년 무주 사과 갈색무늬병 농가별 발병현황

(단위 : 발병잎/640잎)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/12	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
4/26	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5/10	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5/24	0.0	15.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
6/7	5.0	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
6/21	15.0	30.0	0.0	0.0	4.0	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0
7/5	30.0	30.0	0.0	5.0	0.0	0.0	2.0	3.0	4.0	0.0
7/19	30.0	30.0	0.0	20.0	20.0	8.0	3.0	0.0	5.0	0.0
8/2	30.0	20.0	40.0	20.0	30.0	23.0	3.0	2.0	20.0	3.0
8/16	20.0	40.0	0.0	30.0	0.0	19.0	5.0	0.0	20.0	3.0
8/30	30.0	100.0	30.0	30.0	40.0	56.0	3.0	0.0	40.0	18.0
9/13	20.0	90.0	100.0	220.0	60.0	71.0	25.0	0.0	60.0	40.0
9/27	40.0	90.0	30.0	150.0	30.0	57.0	26.0	10.0	40.0	35.0
10/11	50.0	100.0	0.0	230.0	20.0	52.0	50.0	10.0	30.0	0.0
10/25	10.0	0.0	40.0	180.0	0.0	89.0	135.0	10.0	20.0	20.0

표 44. 2014년 김천 사과 탄저병 농가별 발병현황

(단위 : 발병과/750과)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/12	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4/26	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5/10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5/24	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6/7	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6/21	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7/5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7/19	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8/2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8/16	0.00	0.00	0.00	0.00	3.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00
8/30	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
9/13	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	2.00	0.00	0.00	0.00
9/27	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	4.00	1.00	0.00	0.00	4.00
10/11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.00	2.00	0.00	0.00	0.00
10/25	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00

표 45. 2014년 상주 사과 탄저병 농가별 발병현황

(단위 : 발병과/750과)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/12	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4/26	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5/10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5/24	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6/7	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6/21	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7/5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7/19	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8/2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8/16	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8/30	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00
9/13	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	4.00	0.00
9/27	2.00	0.00	0.00	2.00	6.00	2.00	3.00	2.00	6.00	0.00
10/11	1.00	0.00	0.00	4.00	4.00	2.00	3.00	3.00	0.00	0.00
10/25	0.00	0.00	1.00	3.00	0.00	0.00	1.00	1.00	0.00	0.00

표 46. 2014년 의성 사과 탄저병 농가별 발병현황

(단위 : 발병과/750과)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/12	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4/26	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5/10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5/24	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6/7	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6/21	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7/5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7/19	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8/2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8/16	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8/30	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
9/13	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
9/27	0.00	0.00	5.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.00	0.00
10/11	3.00	0.00	3.00	0.00	0.00	3.00	0.00	2.00	0.00	0.00
10/25	0.00	0.00	3.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00

표 47. 2014년 영천 사과 탄저병 농가별 발병현황

(단위 : 발병과/750과)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/12	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4/26	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5/10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5/24	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6/7	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6/21	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7/5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7/19	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8/2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8/16	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8/30	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
9/13	0.00	0.00	2.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
9/27	1.00	3.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10/11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10/25	0.00	2.00	1.00	0.00	1.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00

표 48. 2014년 문경 사과 탄저병 농가별 발병현황

(단위 : 발병과/750과)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/12	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4/26	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5/10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5/24	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6/7	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6/21	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7/5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7/19	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8/2	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8/16	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.00
8/30	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.00	0.00	0.00	0.00	5.00
9/13	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	2.00	2.00	0.00	2.00
9/27	0.00	0.00	1.00	0.00	1.00	0.00	2.00	2.00	0.00	4.00
10/11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10/25	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

표 49. 2014년 예천 사과 탄저병 농가별 발병현황

(단위 : 발병과/750과)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/12	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4/26	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5/10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5/24	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6/7	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6/21	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7/5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7/19	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8/2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8/16	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8/30	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
9/13	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
9/27	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
10/11	2.00	10.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	3.00
10/25	2.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	3.00	0.00	0.00

표 50. 2014년 거창 사과 탄저병 농가별 발병현황

(단위 : 발병과/750과)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/12	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4/26	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5/10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5/24	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6/7	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6/21	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7/5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7/19	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8/2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8/16	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8/30	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
9/13	2.00	0.00	0.00	3.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
9/27	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	8.00	1.00	0.00
10/11	0.00	0.00	2.00	0.00	2.00	2.00	0.00	3.00	2.00	2.00
10/25	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.00	0.00

표 51. 2014년 무주 사과 탄저병 농가별 발병현황

(단위 : 발병과/750과)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/12	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4/26	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5/10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5/24	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6/7	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6/21	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7/5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7/19	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8/2	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8/16	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8/30	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
9/13	0.00	4.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
9/27	5.00	4.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00	0.00	0.00
10/11	0.00	3.00	0.00	0.00	0.00	0.00	8.00	0.00	5.00	0.00
10/25	0.00	6.00	0.00	0.00	0.00	0.00	6.00	0.00	0.00	0.00

(3) 배 병해 발생 결과

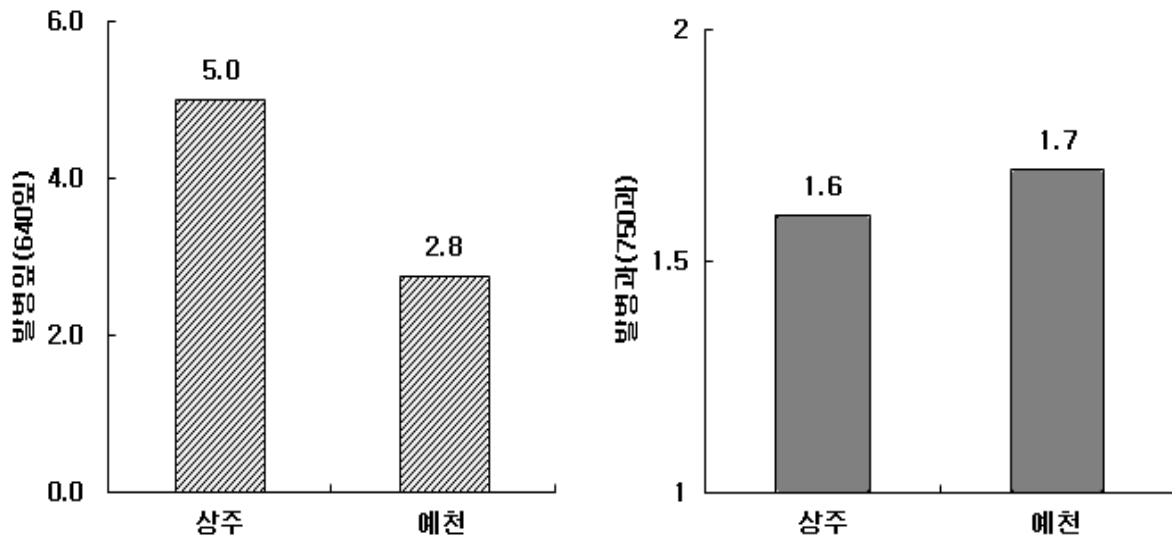


그림 93. 2014년 배 검은별무늬병 평균발병잎

○ 2014년 배 검은별무늬병 감염 잎과 과실을 조사한 결과 감염 잎은 상주, 감염과실은 예천으로 조사되었음. 과실은 봉지를 씌운 후에는 관찰하기가 어려움.



그림 95. 2014년 지역별 배 검은별무늬병 발병과 발생현황

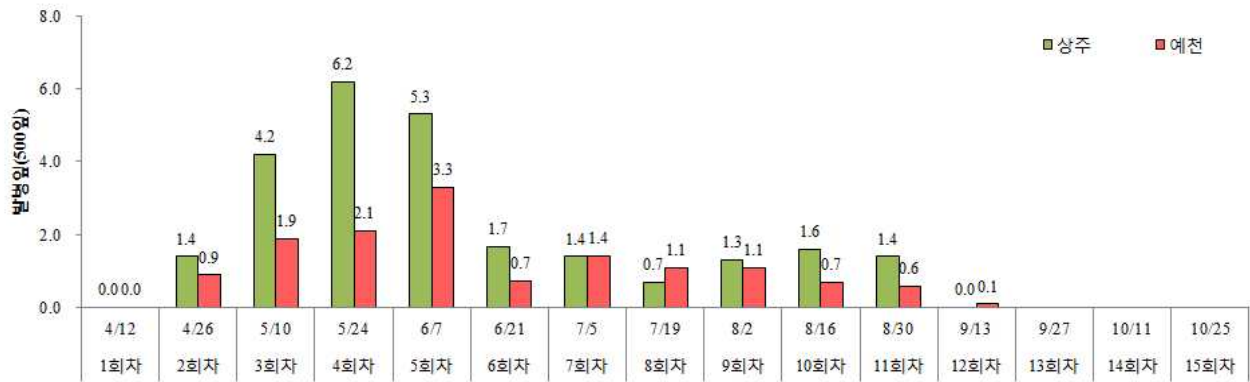


그림 96. 2014년 지역별 배 검은별무늬병 발병잎 발생현황

- 2014년 배 조사지역인 상주, 예천지역의 검은별무늬병 발병과 발병 시기는 5월24일 조사되어 6월 21일까지 지속적으로 발병되었고 상주는 그 이 후 발병되지 않았음. 8월2일과 9월27일 조사에 예 천에서는 발병관찰이 되었음.
- 또한, 잎에서의 발병은 4월26일에 처음으로 나타났으며, 상주는 5월24일, 예천은 6월7일에 발병이 가장 높게 조사되었음. 8월30일 이 후부터 상주는 발병 잎이 나타나지 않았으며, 예천은 9월13일 을 기점으로 나타나지 않았음.

(4) 현장진단 기술을 활용을 위한 이병시료 채집체계 구축

- 포장선정 : 주산단지 또는 주 재배지역의 재배면적 등 지역여건을 감안하여 선정
- 가장 재배가 많이 되고 있는 품종으로 경종방법에 의해 재배되고, 지력이 중(中) 정도이며, 관내 재배상황과 비교하여 작황이 중 정도인 포장 선정
- 조사대상
 사과 : 갈색무늬병, 점무늬낙엽병, 겹무늬썩음병, 탄저병, 부란병
 배 : 붉은별무늬병, 검은별무늬병, 잎검은점병, 겹무늬병
- 사과와 배에 발생하는 식물 병원성 곰팡이에 발생하는 시료 확보



그림 97. 탄저병 다발생 피해과



그림 98. 높은 곳에 있는 탄저병 이병과 시료 확보모습



그림 99. 홍로 사과와 신고 배에 발생한 병해시료 확보

(5) IBT기술 활용 조기진단체계 적용을 위한 조사기법연구

- 포장 및 조사지점 선정

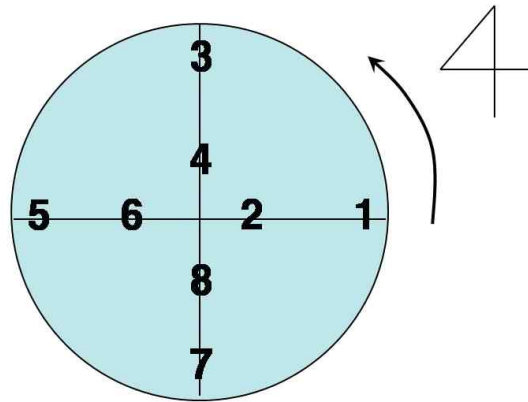
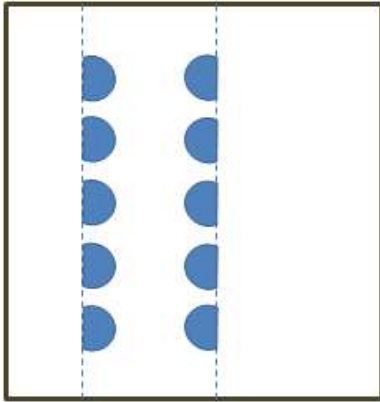


그림 100. 조사대상 과원에서 나무 및 조사가지 선정방법

- 조사 대상 과원에서 병해 발생의 표준이 되는 나무를 10주 선정하고 표식한 다음 열간의 좌우로 사과나무 한쪽 면을 조사함.
- 갈색무늬병, 검은별무늬병
- 이병엽율(%) 조사
 - 각 나무별로 내외부에서 1년생 가지를 각각 4가지씩, 10주에 총 40가지를 선정
 - 조사 시기마다 새로 발생하는 잎만이 아닌 관찰된 모든 병든 잎 수를 달관 조사하여 입력
 - 가지의 총 잎 수는 조사하지 않고 640잎을 기준으로 하여 이병엽율을 구함

$$\text{※ 이병엽율(\%)} = \frac{\text{병든잎수}}{640\text{잎}} \times 100$$

- 탄저병
- 이병과율(%) 조사
 - 조사대상 나무에서 병든 과실수를 달관 조사함
 - 조사대상 나무에서 총 과실수는 조사하지 않고 750과를 기준으로 병든과율을 구함
 - 과실이 1/3이상 부패한 경우에는 반드시 따서 나무 아래 두거나(사후 관찰할 경우), 묻거나 과원 밖으로 제거함

$$\text{※ 이병과율(\%)} = \frac{\text{병든과수}}{750\text{과}} \times 100$$

나. 2년차: 사과, 배 발생 주요병해 발생조사 및 과수병해 진단기술 농가 적용

(1) 주요병해 조기진단 현장실증 조사농가 구성

- 사과는 3개도 8개 시군, 배는 1개도 2시군 지정하였으며, 지역은 사과 : 김천,상주,의성,영천,문경,예천,거창,무주이고 배는 상주, 예천으로 지역별당 각 10농가씩을 선정하였음.

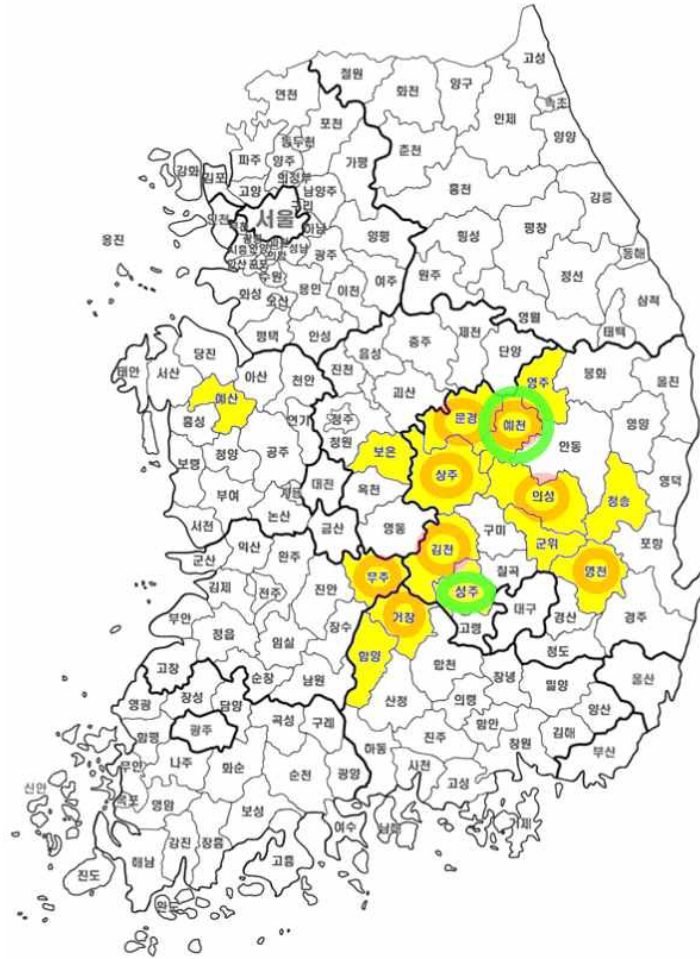


그림 101. 현장실증 조사지역 현황 및 예찰조사



그림 102. 사과 갈색무늬병



사과탄저병



배 검은별무늬병

(2) 주요 병해 조사방법

- 주로 재배하는 품종으로 사과는 후지, 배는 신고를 정하였고, 조사간격은 생육초기(발아기)부터 실시하여 2주 간격으로 4~11월까지 실시하였음.
- 조사병해는 사과는 갈색무늬병, 탄저병이며, 배는 검은별무늬병임. 조사방법으로 과종과 농가의 표본 주 선정(5그루), 선정(640잎), 육안조사 및 현미경 검경을 하였음.

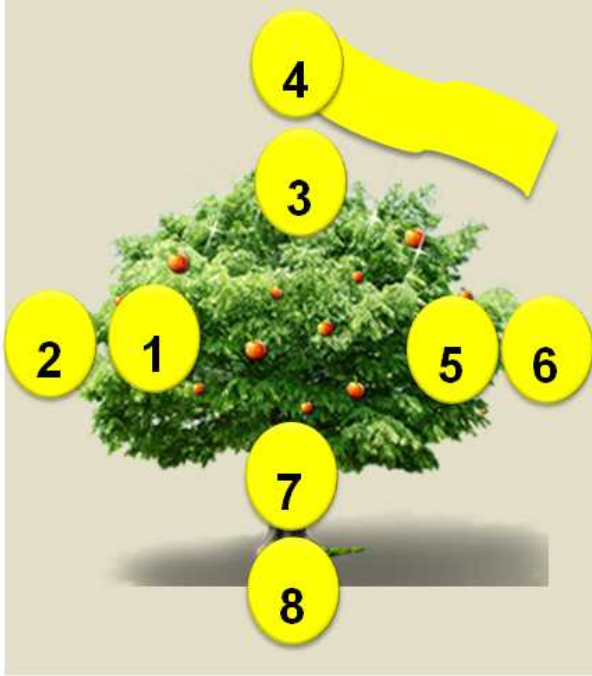


그림 103. 발병 조사 (왼쪽 첫 번째 사진 : 과원 내 수령, 주간의 종횡경, 수고가 평균인 5주를 선정하고, 오른쪽 첫 번째 사진 : 동서남북 8가지에 표본조사용 가지에 라벨 표식. 아래 첫 번째, 두 번째 사진 : 발병일, 과를 시기에 맞춰 조사함)

(3) 사과 병해 발생조사 결과

- 2015년 사과 갈색무늬병, 탄저병 발병을 조사한 결과 조사지역 중 경북 김천이 205.5잎으로 가장 높게 발병되었으며, 시군경계가 붙어 있는 전북 무주가 189.7 잎으로 다발생하였음.
- 거창, 영천, 예천, 상주는 평균적인 발생을 하였으며, 의성, 문경지역은 매우 적은 발병률을 기록하였음.

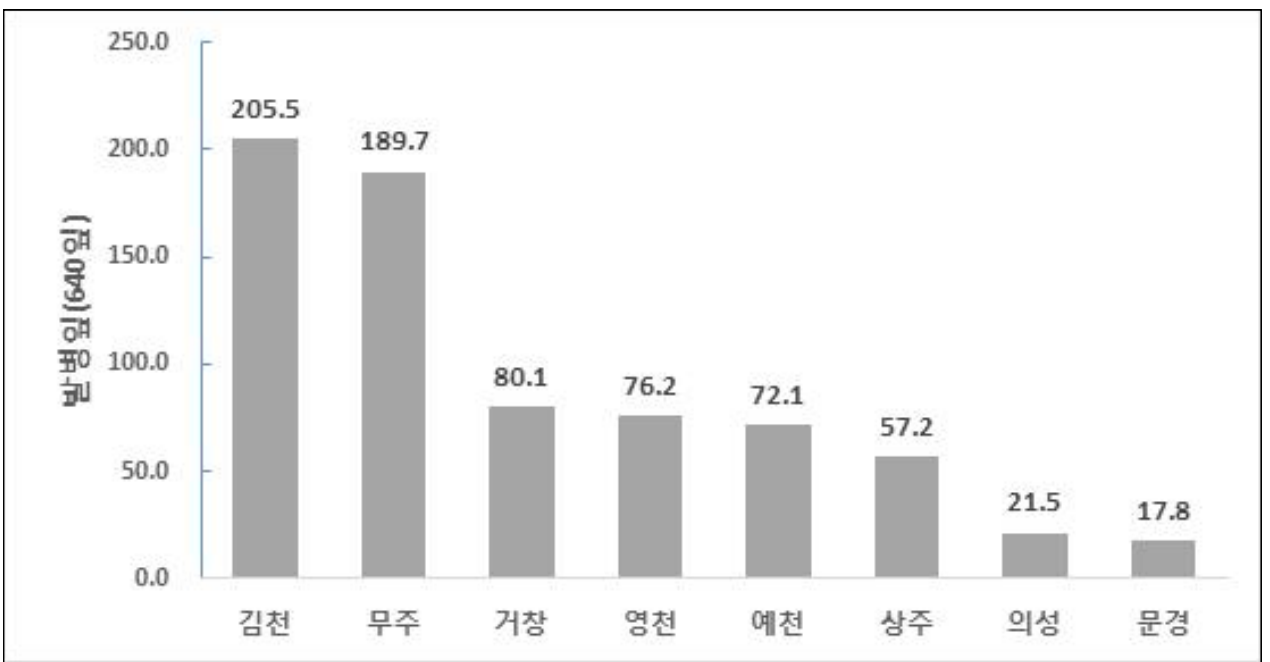


그림 104. 2015년 사과 갈색무늬병 평균발병율

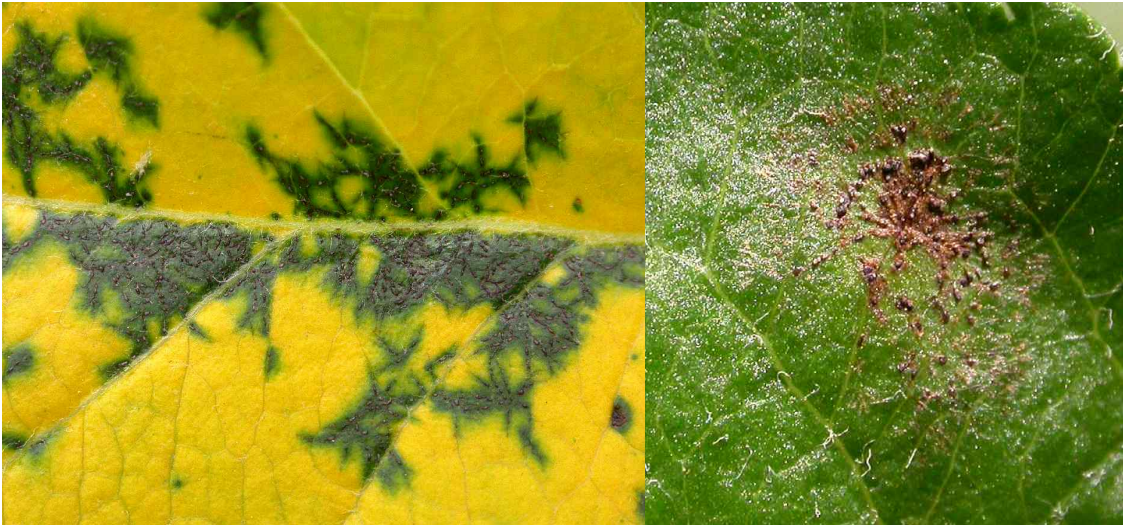


그림 105. 홍로품종 갈색무늬병 감염 잎(좌) 및 초기증상(우)

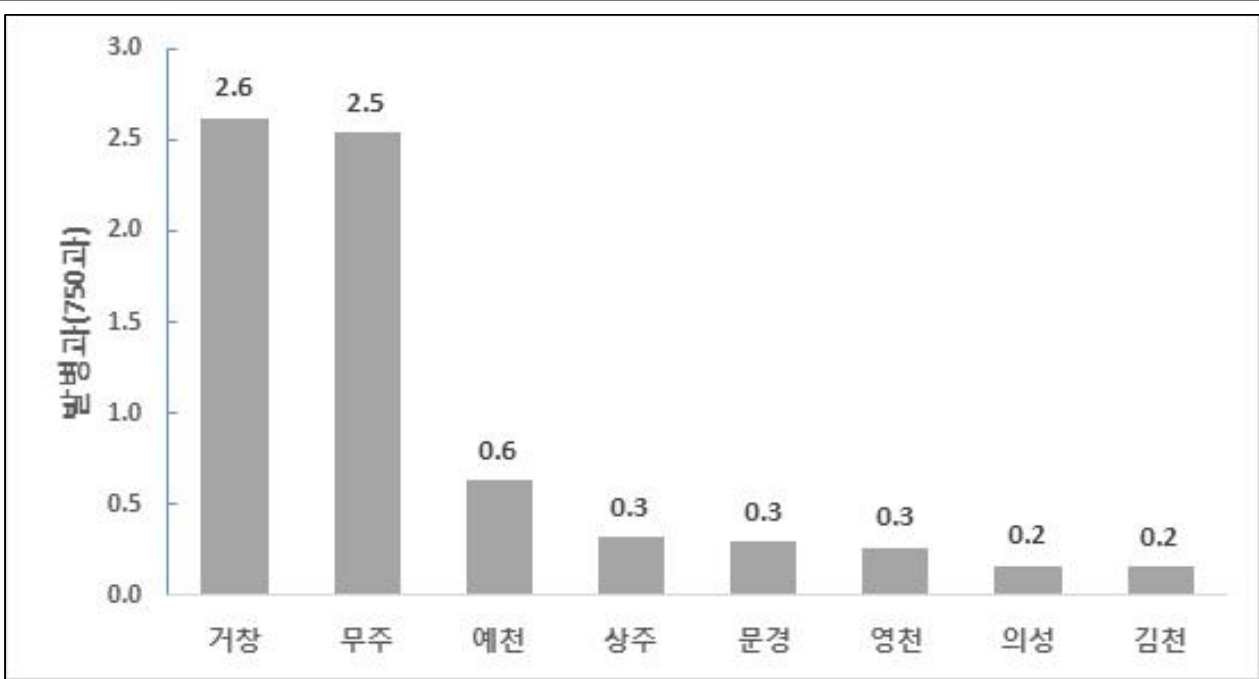


그림 106. 후지 2015년 사과 탄저병 평균발병과



그림 107. 탄저병의 전형적인 증상(좌), 점 모양 증상(우)

표 52. 2015년 사과 갈색무늬병 지역시기별 평균발병현황 (단위 : 발병잎/640잎)

지역 일자	김천	문경	상주	영천	예천	의성	무주	거창
4/4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
4/18	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5/4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5/18	0.0	0.0	0.1	0.2	0.0	0.0	0.0	0.4
6/1	0.3	0.5	0.4	0.3	0.1	0.0	0.5	0.9
6/15	1.3	0.9	2.4	1.0	1.0	0.3	3.0	2.6

6/29	2.6	0.9	2.9	4.3	2.3	1.3	3.0	5.0
7/13	4.3	0.0	3.8	5.2	5.2	2.0	6.4	8.6
7/27	8.7	1.6	6.5	7.3	6.7	1.9	10.6	8.1
8/10	8.2	2.7	7.4	8.0	10.0	2.1	12.8	7.7
8/24	9.7	3.3	6.6	10.3	9.4	1.8	13.6	12.5
9/7	9.7	3.0	7.5	12.5	10.6	3.6	22.2	15.4
9/21	19.9	2.6	11.1	13.0	14.7	4.0	54.4	3.6
10/5	49.7	2.2	8.4	14.2	12.0	4.5	37.1	10.0
10/19	91.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	25.9	5.2

- 발병 시기는 지역적으로 차이가 있으며, 초발병일은 경북 상주, 영천, 경남 거창무주에서 5월 18일 조사되었음.
- 의성은 6월 15일로 초발병으로 조사지역 중 가장 늦게 발병되었음.
- 10월 5일경 8개 조사시군이 발병시기에 있어 가장 높게 나왔으며, 10월 19일경 이 후 서리로 인한 낙엽으로 조사를 할 수 없었음.

표 53. 2015년 사과 탄저병 지역시기별 평균발병현황

(단위 : 피해과/750과)

지역 일자	김천	문경	상주	영천	예천	의성	무주	거창
4/4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4/18	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5/4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5/18	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6/1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6/15	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6/29	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7/13	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.39	0.00
7/27	0.00	0.02	0.05	0.00	0.00	0.01	2.71	0.00
8/10	0.04	0.02	0.31	0.06	0.00	0.39	1.87	0.08
8/24	0.14	0.07	0.12	0.11	0.11	0.33	0.71	0.35
9/7	0.04	0.17	0.07	0.09	0.06	1.06	1.29	1.30
9/21	0.06	0.00	0.06	0.12	0.00	0.48	0.74	2.21
10/5	0.04	0.00	0.03	0.00	0.00	0.22	0.10	1.93
10/19	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	1.95

- 탄저병 발병도 지역별로 발병시기에 차이가 있었음. 7월 27일 전북 무주에서 초발병을 시작하여 8월 하순에 예천이 가장 늦게 발병되었음.
- 탄저병은 10월 19일까지 발병조사 되었음.
- 농가별 갈색무늬병과 탄저병, 검은별무늬병을 조사한 결과 지역 외에 농가별의 발생의 차가 컸음.
- 갈색무늬병은 대부분 5월 하순에서 6월 상순에 초발병이 되었으며, 탄저병은 8월 중순부터 있음. 검은별무늬병 잎의 발병은 4월 하순, 과실발병은 5월 하순으로 과실발병은 봉지 씌우기를 한 후부터는 관찰되기가 어려움.
- 갈색무늬병의 초기발병은 사과나무 탁엽에서 시작하여 발병을 하며, 장마 이 후부터 잠복되어 있던 병원균들이 급격히 발병되어 장마 후에는 다량의 감염 잎이 관찰되었음.
- 2015년 탄저병의 경우 발병과가 낮았으며, 후지품종에 있어 상단에 위치한 과실에서 병반과가 관찰되었음.
- 검은별무늬병은 4월하순시기에 저온 다습한 환경에서 발병이 되었고, 잎과 함께 과실에서도 같이 발병되었음. 검은별무늬병 또한 병원균이 좋아하는 환경에서는 급격히 증가를 하는 편이었음.

표 54. 2015년 김천 사과 갈색무늬병 농가별 발병현황

(단위 :발병잎/640잎)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/13	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0
7/27	1	8	0	4	2	6	2	0	4	3
8/10	1	7	0	0	0	4	0	6	5	4
8/24	0	10	2	4	2	0	0	1	6	5
9/7	0	8	5	0	2	6	1	10	2	0
9/21	3	7	7	6	5	5	0	0	0	3
10/5	5	30	10	3	8	40	15	4	7	8
10/19	20	80	40	7	10	50	30	5	30	3

표 55. 2015년 상주 사과 갈색무늬병 농가별 발병현황

(단위 :발병잎/640잎)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

5/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/15	0	0	1	0	0	0	0	0	0	3
6/29	0	2	1	1	1	0	5	0	2	4
7/13	0	3	2	0	0	0	5	0	1	14
7/27	4	2	8	0	6	5	3	0	3	8
8/10	3	3	15	3	5	10	11	3	4	10
8/24	8	2	25	6	7	3	5	0	4	20
9/7	5	3	8	3	6	3	5	2	3	23
9/21	10	1	12	10	7	4	7	0	10	14
10/5	0	5	15	5	10	15	5	0	20	20
10/19	15	4	0	0	5	2	3	0	11	15

표 56. 2015년 의성 사과 갈색무늬병 농가별 발병현황

(단위 :발병잎/640잎)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/13	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/27	0	4	3	1	1	2	0	3	0	0
8/10	2	3	10	1	0	3	0	0	1	0
8/24	3	5	4	1	1	3	0	3	1	0
9/7	8	2	8	0	4	1	0	2	2	4
9/21	3	4	4	4	3	3	1	2	2	0
10/5	10	7	5	0	8	4	0	3	5	7
10/19	7	7	4	2	3	9	0	3	3	7

표 57. 2015년 영천 사과 갈색무늬병 농가별 발병현황

(단위 :발병잎/640잎)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

5/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/15	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
6/29	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
7/13	0	1	0	0	0	1	1	2	1	0
7/27	5	25	2	0	2	15	13	6	2	0
8/10	0	37	2	3	15	3	10	8	4	0
8/24	0	50	2	0	15	4	16	12	31	0
9/7	0	74	0	7	18	30	12	9	22	1
9/21	0	50	0	7	130	15	9	8	25	0
10/5	0	75	3	6	70	26	6	8	37	1
10/19	0	40	0	150	250	16	4	5	20	0

표 58. 2015년 문경 사과 갈색무늬병 농가별 발병현황

(단위 :발병잎/640잎)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/29	0	0	15	0	0	0	0	0	0	0
7/13	0	0	10	1	0	0	4	0	0	0
7/27	0	0	3	0	0	0	9	0	0	0
8/10	5	2	15	0	0	0	5	0	0	1
8/24	1	0	15	2	0	0	5	0	0	2
9/7	1	0	18	4	0	2	20	2	0	0
9/21	3	0	12	2	0	5	10	6	2	0
10/5	6	3	14	3	5	0	3	5	0	0
10/19	4	3	24	0	1	0	0	14	0	0

표 59. 2015년 예천 사과 갈색무늬병 농가별 발병현황

(단위 :발병잎/640잎)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

5/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/29	0	0	6	0	0	20	0	0	0	0
7/13	0	0	6	0	2	7	0	0	0	7
7/27	40	15	8	0	6	10	1	0	0	0
8/10	0	30	5	0	8	10	1	0	0	4
8/24	30	5	5	5	6	80	3	0	10	4
9/7	0	0	6	0	7	3	5	0	0	3
9/21	0	0	0	0	1	8	3	20	0	7
10/5	0	0	4	0	7	10	2	0	0	7
10/19	0	0	7	0	10	4	1	0	0	15

표 60. 2015년 거창 사과 갈색무늬병 농가별 발병현황

(단위 :발병잎/640잎)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/18	0	0	0	3	0	0	0	0	1	0
6/1	0	0	0	8	0	0	3	0	2	0
6/15	0	0	0	10	3	5	3	2	2	0
6/29	0	0	0	20	3	7	10	3	2	0
7/13	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0
7/27	5	5	10	25	4	7	30	8	2	3
8/10	7	0	0	5	0	0	15	9	5	5
8/24	15	0	0	3	23	12	38	28	6	6
9/7	5	0	20	10	8	0	100	50	0	8
9/21	4	0	0	15	0	0	300	0	13	0
10/5	0	0	0	2	0	0	60	60	0	10
10/19	0	0	0	10	0	0	0	0	0	15

표 61. 2015년 무주 사과 갈색무늬병 농가별 발병현황

(단위 :발병잎/640잎)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

5/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/1	0	5	2	0	0	0	0	0	0	0
6/15	3	2	17	1	5	0	0	0	0	1
6/29	0	15	7	0	8	0	0	5	0	0
7/13	0	39	10	0	150	0	0	0	1	0
7/27	5	45	5	3	120	0	0	0	2	3
8/10	30	49	8	2	86	0	0	0	3	0
8/24	30	37	7	0	125	0	0	5	4	0
9/7	20	62	4	3	160	5	0	10	0	0
9/21	10	49	24	10	120	10	0	20	0	0
10/5	30	0	0	10	40	10	0	0	0	10
10/19	50	0	0	20	10	20	0	0	0	10

표 62. 2015년 김천 사과 탄저병 농가별 발병현황

(단위 : 발병과/750과)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9/7	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
9/21	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
10/5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10/19	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0

표 63. 2015년 상주 사과 탄저병 농가별 발병현황

(단위 : 발병과/750과)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

5/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/24	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
9/7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9/21	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
10/5	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
10/19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

표 64. 2015년 의성 사과 탄저병 농가별 발병현황

(단위 : 발병과/750과)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9/7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9/21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10/5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
10/19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

표 65. 2015년 영천 사과 탄저병 농가별 발병현황

(단위 : 발병과/750과)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

5/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9/7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9/21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10/5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10/19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

표 66. 2015년 문경 사과 탄저병 농가별 발병현황

(단위 : 발병과/750과)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9/7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9/21	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
10/5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10/19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

표 67. 2015년 예천 사과 탄저병 농가별 발병현황

(단위 : 발병과/750과)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

5/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9/7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9/21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10/5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
10/19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

표 68. 2015년 거창 사과 탄저병 농가별 발병현황

(단위 : 발병과/750과)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/27	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
8/10	0	0	0	4	0	0	2	0	0	0
8/24	0	0	0	1	0	6	0	0	0	0
9/7	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0
9/21	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
10/5	2	0	0	0	0	0	2	1	0	0
10/19	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

표 69. 2015년 무주 사과 탄저병 농가별 발병현황

(단위 : 발병과/750과)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

5/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/10	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9/7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9/21	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10/5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12
10/19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2

(4) 배 병해 발생조사 결과

표 70. 2015 지역별 검은별무늬병 잎 이병률(%)

지역	4월		5월		6월		7월		8월			9월		10월	
	4/12	4/26	5/10	5/24	6/7	6/21	7/5	7/19	8/2	8/16	8/30	9/13	9/27	10/11	10/25
상주	0.00	0.19	0.27	0.35	0.14	0.12	0.29	0.10	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00
예천	0.00	0.11	0.23	0.32	0.14	0.03	0.62	0.14	0.02	0.23	0.03	0.01	0.00	0.00	0.00



그림 108. 배나무 잎에 감염된 검은별무늬병

- 배나무 검은별무늬병은 우리나라에서 발생하는 배 병 중에서 가장 피해가 크고 방제가 어려운 병이다. 이 병은 대부분의 경우 배의 생육 초기에 감염되는데, 4월, 5월에 비가 많이 내리고 서늘할

때 심하게 발생하며, 여름의 고온기에는 소강상태로 지나지만 9월에 기온이 낮아지고 습도가 높아지면 다시 발병하여 잎에 추계 병반이 형성된다. 우리나라에서는 감수성이 높은 '신고'가 대부분을 차지하고 있고, 근년에 와서 역시 감수성이 높은 '황금배'의 재배 면적이 증가하고 있으므로 검은별무늬병의 방제는 매우 중요하다.

- 2014년 5월 중순경 전남 나주, 울산광역시 울주, 전남 진주, 경북 상주 지역에서 처음 발생했던 것이 2015년에는 조사 지역 대부분에서 4월 하순경에 발생되었으며 전남 나주, 충남 예산, 경북 예천 지역의 발생은 지속적인 조사가 요망되며,
- 과실이병율이 5월~6월하순에 많이 발생되므로 이 시기에 적절한 방제가 필요하겠다.
- 상주, 예천 모두 4/26일 처음 발병이 확인되었다
- 봉지를 씌운 7월 이후 고온이 지속되면서 잎의 감염률이 떨어지는 것으로 확인된다.

표 71. 2015 지역별 검은별무늬병 과실이 병율(%)

지역	4월		5월		6월		7월		8월			9월		10월	
	4/12	4/26	5/10	5/24	6/7	6/21	7/5	7/19	8/2	8/16	8/30	9/13	9/27	10/11	10/25
상주	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.03	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00
예천	0.00	0.00	0.00	0.15	0.25	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

- 5월 24일 예천지역에서 처음 과실에 감염
- 상주는 1달 뒤인 6/21일 감염 보고
- 봉지 씌운 뒤로 감염여부 확인 불가하였으나, 8월 16일 낙과 조사시 발생 보고
- 수확 후 조사 결과 발병비율 전년도에 비해 매우 적었으며 이는 4월 이후 강우량의 변화에 다른 것으로 판단됨.

(5) 현장진단 기술을 활용을 위한 이병시료 채집체계 구축

- 포장선정 : 주산단지 또는 주 재배지역의 재배면적 등 지역여건을 감안하여 선정
가장 재배가 많이 되고 있는 품종으로 경종방법에 의해 재배되고,
지력이 중(中) 정도이며, 관내 재배상황과 비교하여 작황이 중 정도인 포장선정



그림 109. 어린 과실의 잎자루와 열매에 감염된 검은별무늬병(좌) 후기병징(우)

○ 조사대상

사과 : 갈색무늬병, 점무늬낙엽병, 겹무늬썩음병, 탄저병, 부란병

배 : 붉은별무늬병, 검은별무늬병, 잎검은점병, 겹무늬병

(6) IBT기술활용 조기진단체계 적용을 위한 조사 기법연구

○ 포장 및 조사지점 선정

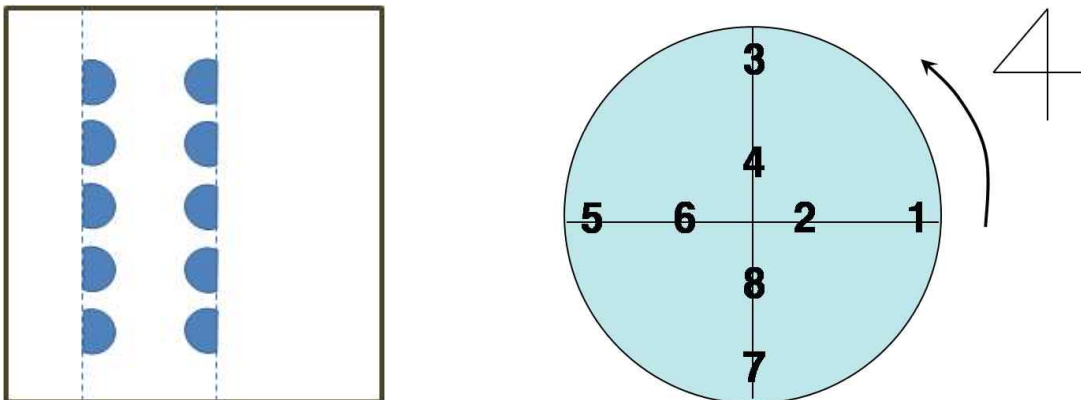


그림 110. 조사대상 과원에서 나무 및 조사가지 선정방법

- 조사 대상 과원에서 병해 발생의 표준이 되는 나무를 10주 선정하고 표식한 다음 열간의 좌우로 사과나무 한쪽 면을 조사함.

(가) 검은별무늬병

- 조사지점수 : 예찰포장의 대상작목이 재배되는 구를 대각선으로 나누고 3등분하여 표시지점끼리 선을 그어 맞닿은 지점(5지점)을 표시한 다음 표시지점에서 각1주씩 총 5주를 조사함.

○ 조사요령

- 이병과율 : 표시한 나무에서 봉지 씌우기 전 주당 300과, 수확 후 약 300과 조사

* 이병과율(%) = $\frac{\text{병든 과실수}}{\text{총 조사과실수}} \times 100$

- 이병엽율 : 농가별 표시한 나무부위에서 병든 잎 수를 계수

$$* \text{이병엽률(\%)} = \frac{\text{병든 잎수}}{\text{총 조사 잎수}} \times 100$$

(나) 붉은별무늬병

- 조사지점수 : 예찰포장의 대상작목이 재배되는 구를 대각선으로 나누고 3등분하여 표시지점끼리 선을 그어 맞닿은 지점(5지점)을 표시한 다음 표시지점에서 각1주씩 총 5주를 조사함.
- 향나무는 과수원 1km 반경 내 학교, 산림, 정원 등에 식재된 향나무(줄기 직경 15cm 이상)를 선택하고 부풀어 오른 겨울포자퇴를 계수함.

○ 조사요령

○ 이병과율 : 표시한 나무에서 봉지 씌우기 전 주당 300과, 수확 후 약 300과 조사

$$* \text{이병과율(\%)} = \frac{\text{병든 과실수}}{\text{총 조사 과실수}} \times 100$$

○ 이병엽률 : 농가별 표시한 나무부위에서 병든 잎 수를 계수

$$* \text{이병엽률(\%)} = \frac{\text{병든 잎수}}{\text{총 조사 잎수}} \times 100$$

○ 부풀은 겨울포자퇴 비율 : 지역별 표시한 나무부위에서 겨울포자퇴 수를 계수

$$* \text{부풀은 겨울포자퇴 비율(\%)} = \frac{\text{부풀은 겨울포자퇴 수}}{\text{총 겨울포자퇴 수}} \times 100$$

(다) 잎검은점병

조사지점수 : 예찰포장의 대상작목이 재배되는 구를 대각선으로 나누고 3등분하여 표시지점끼리 선을 그어 맞닿은 지점(5지점)을 표시한 다음 표시지점에서 각1주씩 총 5주를 조사함.

조사요령

○ 이병엽률 : 농가별 표시한 나무부위에서 병든 잎 수를 계수

$$* \text{이병엽률(\%)} = \frac{\text{병든 잎수}}{\text{총 조사 잎수}} \times 100$$

(라) 탄저병과율(\%) 조사

- 조사대상 나무에서 병든 과실수를 달관 조사함
- 조사대상 나무에서 총 과실수는 조사하지 않고 750과를 기준으로 병든 과율을 구함
- 과실이 1/3이상 부패한 경우에는 반드시 따서 나무 아래 두거나(사후 관찰할 경우), 묻거나 과원 밖으로 제거함

$$* \text{이병과율(\%)} = \frac{\text{병든과수}}{750\text{과}} \times 100$$

()차 배 병·해충 예찰 조사서

주소 : 시(군) 읍(면) 농가명: 조사자 : 일자: 2010년 월 일

병	검은별무늬병	붉은별무늬병	검은무늬병	잎검은점병	검은무늬병	기타
기준	피해율 /1000잎	피해과 /1000과	피해율 /1000잎	피해과 /1000과	피해율 /1000잎	피해과 /1000과
조사						
적용						

충	복숭아순나방	잎말이 나방	응애류	진딧물류	꼬마배나무이	파지벌레류	예매미충	애무늬고과장님노린재
기준	피해잎 /1000잎	피해과 /1000과	피해과 /1000과	피해과 /1000과	피해과 /1000과	피해과 /1000과	피해과 /1000과	피해과 /1000과
조사								
적용								

트랩	복숭아순나방	사과무늬잎말이나방	애무늬고과장님노린재	복숭아심식나방	갈색여지	적용 예설
유실수						<input type="checkbox"/> : 미미한 수준의 발생 <input type="checkbox"/> : 관찰이 필요 함 <input type="checkbox"/> : 발생은 적었으나 병해충을 수순은 여너내 오고 <input type="checkbox"/> : 2~4월내 발생실시 <input type="checkbox"/> : 급격하게 발생
적용						
소견						

천적	거미	무당벌레	풀잠자리	포식성 응애	사용약제(월 일)	재배 특이사항
기준	마리	마리	마리	마리/100잎	살균제 살충제 살비제	
조사						
메모						

* 조사항목에 대한 예찰조사원의 개인적인 의견 및 참고, 전달, 부탁 사항

그림 111. 배 조사 야장

()차 사과 병·해충 예찰 조사서

주소 : 시(군) 읍(면) 농가명: 조사자 : 일자: 2010년 월 일

병	갈색무늬병	검은무늬병	붉은별무늬병	꽃병	검은무늬병	검은무늬병	탄저병	그늘곰팡이	과심곰팡이	부락병	줄기검은무늬병	문무늬배리드	문무늬배리드
기준	피해율 /1000잎	피해율 /1000잎	피해율 /1000잎	피해율 /1000잎	피해과 /1000과	피해과 /1000과	피해과 /1000과	피해과 /1000과	피해과 /1000과	피해과 /1000과	피해과 /1000과	피해과 /1000과	피해과 /1000과
조사													
적용													

충	사과응애	검박어응애	조파나무진딧물	사과혹진딧물	사과굴나방	온무늬굴나방	사과유리나방	잎말이나방	복숭아순나방	복숭아심식나방	나무좀	말매미	연중
기준	마리 /100잎	마리 /100잎	마리 /100잎	피해율 /1000잎	피해율 /1000잎	피해율 /1000잎	피해율 /1000잎	피해과 /1000과	피해과 /1000과	피해과 /1000과	피해과 /1000과	피해과 /1000과	피해과 /1000과
조사													
적용													

트랩	복숭아순나방	사과굴나방	온무늬굴나방	사과유리나방	검은무늬굴나방	복숭아심식나방	복숭아순나방	노린재	나무좀	장명어	적용 예설
유실수											<input type="checkbox"/> : 발생하지 않거나 <input type="checkbox"/> : 미미한 수준의 발생 <input type="checkbox"/> : 발생은 적었으나 병해충을 수순은 여너내 오고 <input type="checkbox"/> : 2~4월내 발생실시 <input type="checkbox"/> : 급격하게 발생
적용											
소견											

천적	거미	무당벌레	풀잠자리	장중	진딧물	꽃등기	아리응애	사용약제(월 일)	재배 특이사항
기준	마리	마리	마리	마리	마리	마리	마리	살균제 살충제 살비제	
조사									
메모									

* 조사항목에 대한 예찰조사원의 개인적인 의견 및 참고, 전달, 부탁 사항

그림 112. 사과 조사 야장

다. 3년차: 주요병해 조기진단 현장실증 조사농가 구성

(1) 지역별 주요병해 조사

○ 사과는 3개도 8개 시군, 배는 1개도 2시군 지정하였으며, 지역은 사과 : 김천,상주,의성,영천,문경,예천,거창,무주이고 배는 상주, 예천으로 지역별당 각 10농가씩을 선정하였음.



그림 113. 사과 갈색무늬병



사과 탄저병



배 검은별무늬병

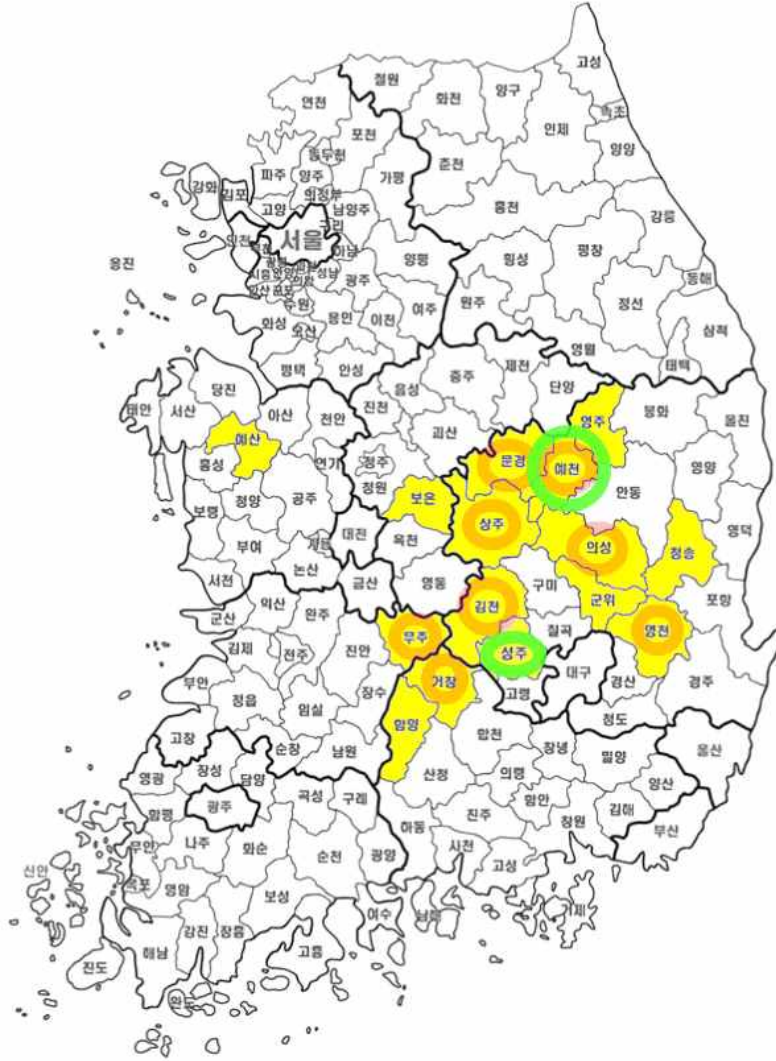


그림 114. 현장실증 조사지역 현황 및 예찰조사

(2) 주요 병해 조사방법

- 주로 재배하는 품종으로 사과는 후지, 배는 신고를 정하였고, 조사간격은 생육초기(발아기)부터 실시하여 2주 간격으로 4~11월까지 실시하였음.
- 조사병해는 사과는 갈색무늬병, 탄저병이며, 배는 검은별무늬병임. 조사방법으로 과종과 농가의 표본 주 선정(5그루), 선정(640잎), 육안조사 및 현미경 검경을 하였음.

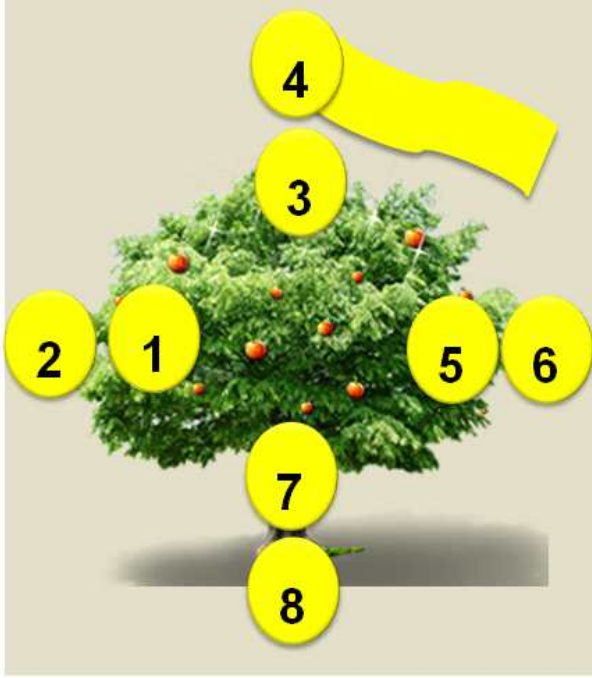


그림 115. 발병 조사 (왼쪽 첫 번째 사진 : 과원 내 수령, 주간의 종횡경, 수고가 평균인 5주를 선정하고, 오른쪽 첫 번째 사진 : 동서남북 8가지에 표본조사용 가지에 라벨 표식. 아래 첫 번째, 두 번째 사진 : 발병일,과를 시기에 맞춰 조사함)

(3) 사과 병해 발생조사 결과

- 2016년 사과 갈색무늬병 발병을 조사한 결과 조사지역 중 경북 김천이 830.0있으므로 가장 높게 발병되었으며,
- 상주는 평균적인 발생을 하였으며
- 무주, 영천, 예천, 문경, 거창 적게 발병을 기록하였음.

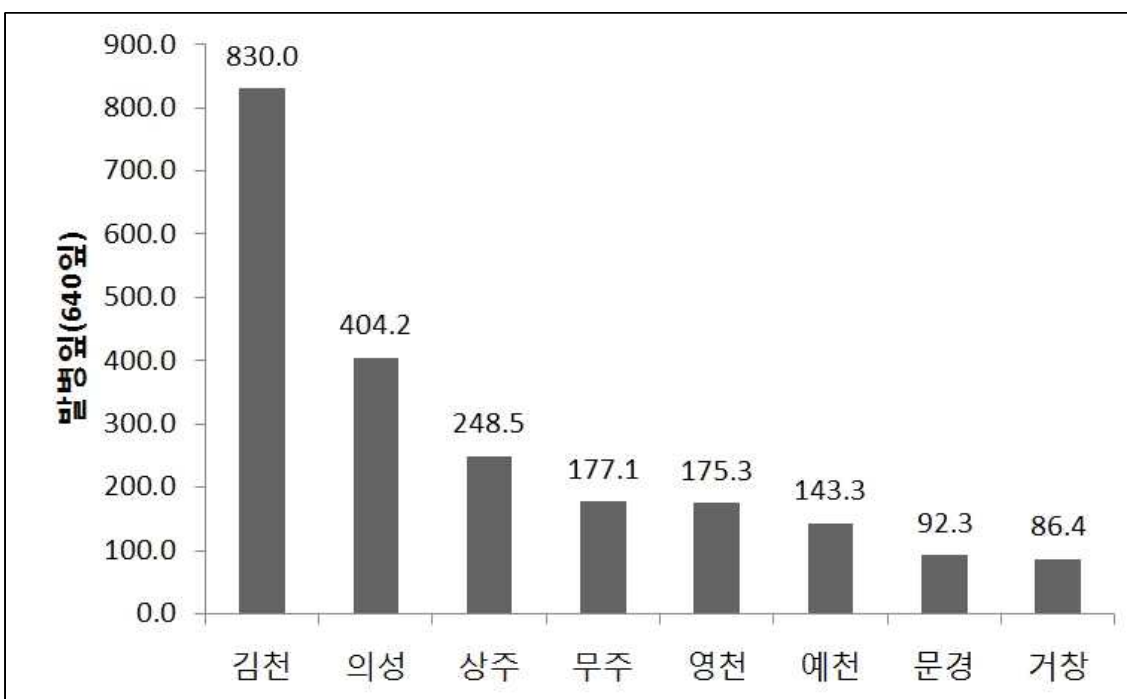


그림 116. 2016년 갈색무늬병 평균발병일

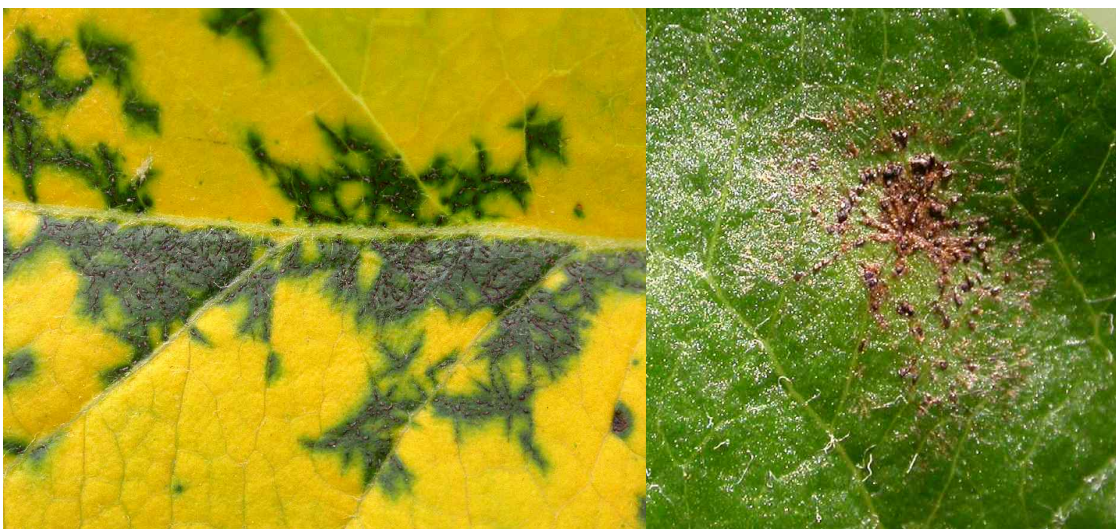


그림 117. 홍로품종 갈색무늬병 감염 잎(좌) 및 초기증상(우)

- 발병 시기는 지역적으로 차이가 있으며, 초발병일은 경북 예천, 전북 무주, 경남 거창에서 5월 23일 조사되었음.
- 김천, 문경, 영천은 6월 20일로 초발병으로 조사지역 중 가장 늦게 발병되었음.
- 10월 24일경 이 후 서리로 인한 낙엽으로 조사를 할 수 없었음.
- 갈색무늬병은 대목을 가리지 않으며, 한번 발생하고 시간이 지나면 멈추지 않고 반복적으로 잎을 떨어뜨리게 하는 무서운 병이다. 병원균이 기주 식물체에 침입하기 위해서는 적절한 온도와 습도가 갖춰져야 한다.
- 우리나라의 사과 생육기간 중의 기온은 대부분의 병원균의 활동 범위에 들어가며, 온도가 너무 높

거나 낮아서 병원균의 활동을 제약할 만한 경우는 거의 없음. 따라서 습도가 병원균의 기주체 침입에 결정적인 영향을 미치는데, 사과에 기생하는 병원균은 대부분 식물체에 침입하기 위해서 포화습도 즉, 식물체가 물에 젖어있는 습윤 상태를 요구됨.

- 갈색무늬병의 경우 24시간 습윤 상태로는 병이 발생하지 않고, 48시간의 습윤 조건에서는 20% 정도, 72시간 습윤 상태가 70%이상 발병함. 따라서 갈색무늬병이 발생하기 위해서는 반드시 연속강우가 필요함.
- 후지/M.9 사과나무의 갈색무늬병에 의한 낙엽 정도가 수체생장과 과실품질에 미치는 영향을 조사하고자 실시하였음. 갈색무늬병에 의해 9월말 수관 전체 낙엽율이 10% 이상 되면 가용성고형물 함량이 감소되었고, 30%이상이면 평균과중이 감소되었음. 과실의 착색과 전분 함량은 과실 주변 잎들의 낙엽 정도가 심해질수록 감소되는 경향을 나타내었음. 이듬해 개화율 및 과중, 총신초장은 전년도 낙엽율이 높을수록 감소되는 경향이 있었음. 9월말 갈색무늬병반이 전체 잎면적의 50% 이상을 차지한 잎의 광합성속도는 건전한 잎의 30% 수준이었음.

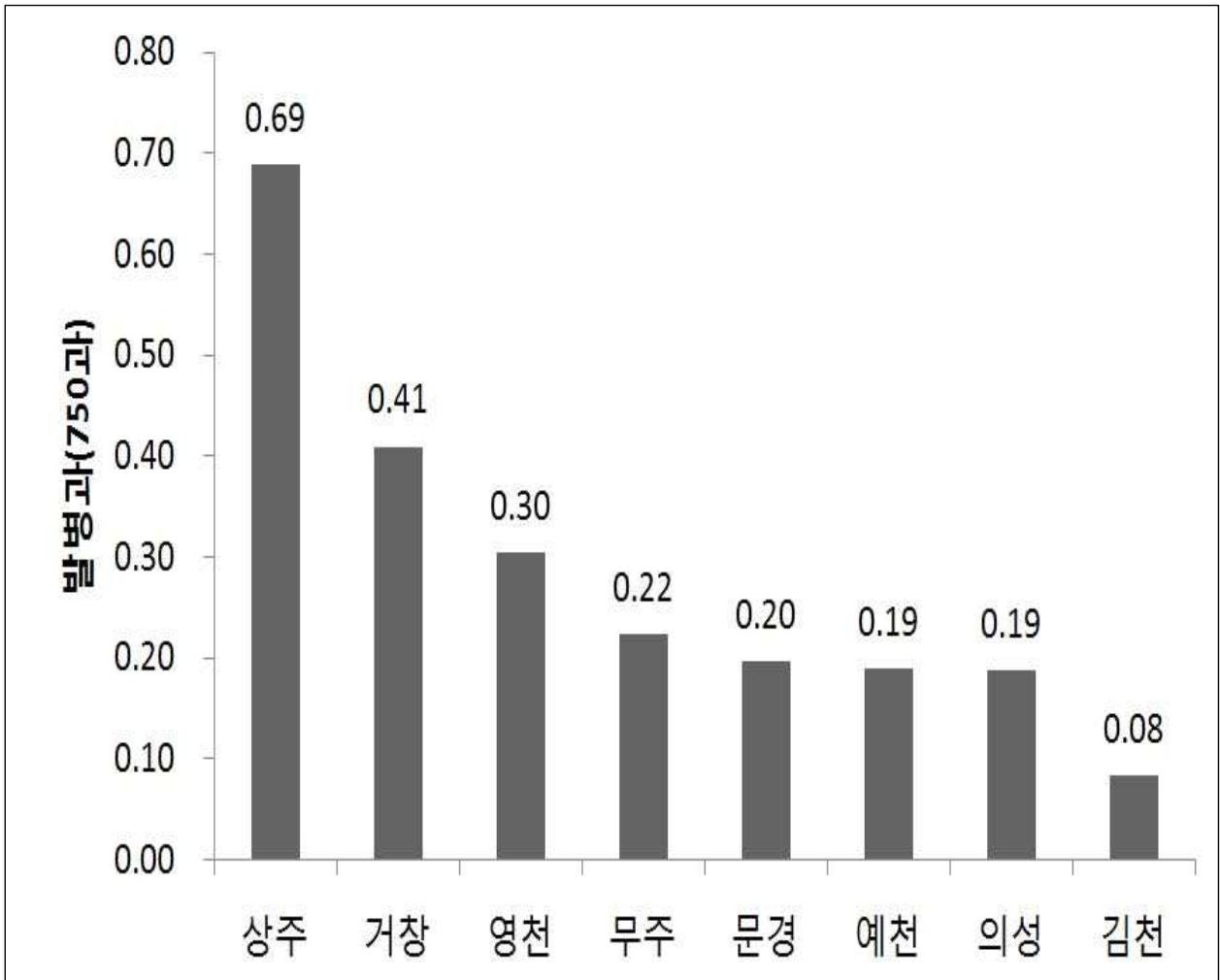


그림 118. 후지 2016년 사과 탄저병 평균발병과



그림 119. 탄저병의 전형적인 증상(좌), 점 모양 증상(우)

- 탄저병 발병도 지역별로 발병 시기에 차이가 있었음. 7월 18일 예천, 무주, 거창에서 초발병을 시작하여 8월 중순에 김천, 영천, 의성이 가장 늦게 발병되었음.
- 탄저병은 10월 24일까지 발병조사 되었음.
- 농가별 갈색무늬병과 탄저병을 조사한 결과 지역 외에 농가별의 발생의 차가 컸음.
- 갈색무늬병은 대부분 5월 하순에서 6월상중순에 초발병이 되었으며, 탄저병은 7월 중순부터 있음. 검은별무늬병 잎의 발병은 4월 하순, 과실발병은 5월 하순으로 과실발병은 봉지 씌우기를 한 후부터는 관찰되기가 어려움.
- 갈색무늬병의 초기발병은 사과나무 탁엽에서 시작하여 발병을 하며, 장마 이후부터 잠복되어 있던 병원균들이 급격히 발병되어 장마 후에는 다량의 감염 잎이 관찰되었음.
- 2016년 탄저병의 경우 발병과가 낮았으며, 후지품종에 있어 상단에 위치한 과실에서 병반과가 관찰되었음.
- 검은별무늬병은 4월하순시기에 저온 다습한 환경에서 발병이 되었고, 잎과 함께 과실에서도 같이 발병되었음. 검은별무늬병 또한 병원균이 좋아하는 환경에서는 급격히 증가를 하는 편이었음.

표 72. 2016년 사과 갈색무늬병 지역시기별 평균발병현황

(단위 : 발병잎/640잎)

지역 일자	김천	문경	상주	영천	예천	의성	무주	거창
4/11	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
4/25	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5/9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5/23	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.3	0.2
6/6	0.0	0.0	0.5	0.0	0.2	0.1	1.1	0.8
6/20	0.2	0.1	3.4	0.5	1.4	2.4	4.1	3.2

7/4	1.2	0.8	3.8	1.2	2.0	1.3	5.7	3.7
7/18	3.1	0.5	6.4	2.9	7.5	7.8	12.3	6.0
8/1	19.7	2.1	10.2	4.8	20.7	19.6	20.6	7.3
8/15	42.7	5.5	20.6	8.7	26.0	27.6	31.4	8.1
8/29	58.3	25.6	24.9	9.2	28.6	42.0	23.9	8.9
9/12	74.3	9.0	37.2	10.6	56.8	38.3	30.8	17.2
9/26	173.0	8.4	35.4	36.3	0.0	60.0	25.9	16.1
10/10	210.2	16.3	50.0	45.8	0.0	88.4	21.1	15.1
10/24	247.3	24.1	56.0	55.3	0.0	116.8	0.0	0.0

표 73. 2016년 사과 탄저병 지역시기별 평균발병현황

(단위 : 피해과/750과)

지역 일자	김천	문경	상주	영천	예천	의성	무주	거창
4/11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4/25	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5/9	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5/23	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6/6	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6/20	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7/4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7/18	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.01	0.04
8/1	0.00	0.20	0.06	0.00	0.18	0.00	0.35	0.18
8/15	0.03	1.03	0.81	0.52	0.60	0.02	0.65	0.71
8/29	0.37	0.67	3.74	1.55	1.12	0.63	1.18	2.21
9/12	0.40	0.63	2.58	1.00	0.89	1.25	0.37	1.31
9/26	0.17	0.35	1.74	0.69	0.00	0.49	0.39	1.00
10/10	0.15	0.07	1.23	0.50	0.00	0.31	0.40	0.69
10/24	0.13	0.00	0.16	0.31	0.00	0.12	0.00	0.00

표 74. 2016년 김천 사과 갈색무늬병 농가별 발병현황

(단위:발병잎/640잎)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/6	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0
6/20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/18	2	1	0	0	0	15	0	0	1	1
8/1	20	0	0	0	3	15	0	0	0	0
8/15	17	2	20	0	7	250	1	0	0	0
8/29	20	2	25	5	50	400	2	3	1	1
9/12	40	70	20	3	150	300	5	7	3	3
9/26	50	6	10	2	70	400	3	40	1	1
10/10	350	100	500	15	500	500	7	250	70	70
10/24	500	110	350	15	400	500	150	450	100	100

표 75. 2016년 상주 사과 갈색무늬병 농가별 발병현황

(단위 :발병잎/640잎)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/6	1	0	0	0	5	0	0	0	1	0
6/20	20	0	0	0	3	0	0	0	6	0
7/4	10	0	0	0	6	0	0	1	4	4
7/18	12	0	0	0	10	0	0	5	6	8
8/1	20	0	0	0	15	0	0	0	10	15
8/15	40	0	0	3	25	0	0	5	20	40
8/29	45	0	0	0	45	0	0	3	25	40
9/12	40	0	0	0	50	2	0	5	30	60
9/26	50	0	0	0	80	3	0	10	40	150
10/10	95	0	0	0	120	2	0	12	50	200
10/24	180	0	0	0	180	0	0	15	0	180

표 76. 2016년 의성 사과 갈색무늬병 농가별 발병현황

(단위 :발병잎/640잎)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/4	0	4	0	0	0	11	0	0	0	0
7/18	0	0	0	3	0	0	3	2	2	0
8/1	3	3	0	3	3	24	2	5	5	0
8/15	3	2	20	4	7	40	3	3	3	5
8/29	3	0	40	4	2	60	6	0	0	3
9/12	0	12	20	0	4	70	3	4	4	17
9/26	0	0	13	4	0	75	0	0	0	10
10/10	0	30	46	5	10	150	7	10	10	45
10/24	10	200	66	16	7	220	10	24	24	86

표 77. 2016년 영천 사과 갈색무늬병 농가별 발병현황

(단위 :발병잎/640잎)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/4	4	0	0	0	0	0	0	0	1	3
7/18	0	1	0	0	0	0	0	10	0	2
8/1	0	0	0	0	0	0	5	25	0	4
8/15	3	0	0	1	0	0	5	51	2	5
8/29	10	3	0	0	0	30	20	80	3	6
9/12	15	6	2	0	5	25	20	86	4	10
9/26	7	10	0	0	0	50	22	70	5	5
10/10	30	0	0	0	20	200	50	430	17	10
10/24	150	0	10	0	20	180	60	430	6	15

표 78. 2016년 문경 사과 갈색무늬병 농가별 발병현황

(단위 :발병잎/640잎)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/4	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
7/18	0	0	12	0	0	0	0	2	0	0
8/1	0	3	7	0	0	0	1	0	0	0
8/15	0	0	17	2	0	2	0	20	0	0
8/29	8	7	30	0	10	0	0	70	0	0
9/12	13	6	130	0	12	0	7	300	0	6
9/26	20	8	60	17	0	0	0	30	0	5
10/10	20	8	60	17	0	0	0	30	0	0
10/24	0	10	100	0	30	0	0	100	0	80

표 79. 2016년 예천 사과 갈색무늬병 농가별 발병현황

(단위 :발병잎/640잎)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
7/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/1	3	0	0	0	0	1	0	0	0	0
8/15	2	0	4	0	0	0	0	0	0	0
8/29	35	0	8	0	6	3	0	5	0	2
9/12	150	0	20	0	5	20	0	5	0	0
9/26	100	0	50	5	15	30	6	10	0	15
10/10	80	0	10	0	40	5	10	0	0	10
10/24	40	0	200	0	200	50	0	0	0	20

표 80. 2016년 거창 사과 갈색무늬병 농가별 발병현황

(단위 :발병잎/640잎)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/4	0	0	5	2	0	3	25	0	0	0
7/18	0	0	2	5	0	7	32	0	0	0
8/1	2	0	0	3	0	0	42	7	0	0
8/15	0	0	4	15	4	12	15	5	0	1
8/29	2	0	0	6	6	6	21	3	4	0
9/12	3	0	0	25	4	21	16	6	20	0
9/26	4	0	0	25	0	15	26	2	18	31
10/10	5	0	0	15	0	15	0	5	100	0
10/24	20	0	0	15	0	0	0	0	0	0

표 81. 2016년 무주 사과 갈색무늬병 농가별 발병현황

(단위 :발병잎/640잎)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/20	0	0	0	0	3	0	0	0	0	4
7/4	0	0	4	2	2	0	0	0	0	3
7/18	0	0	22	0	0	0	0	0	0	15
8/1	0	1	28	3	5	0	0	0	5	8
8/15	0	2	60	60	10	20	0	0	8	80
8/29	0	5	80	50	40	30	10	0	10	40
9/12	30	10	150	150	30	120	20	0	10	60
9/26	0	10	120	150	10	90	20	0	0	70
10/10	0	10	150	150	10	80	0	0	0	90
10/24	0	0	160	200	0	0	0	0	0	120

표 82. 2016년 김천 사과 탄저병 농가별 발병현황

(단위 : 발병과/750과)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9/12	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2
9/26	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1
10/10	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
10/24	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

표 83. 2016년 상주 사과 탄저병 농가별 발병현황

(단위 : 발병과/750과)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/15	0	1	1	3	1	0	2	0	0	0
8/29	0	4	1	0	40	1	1	0	12	0
9/12	7	0	1	0	35	2	0	0	0	0
9/26	0	0	0	0	25	0	0	0	0	0
10/10	0	0	0	0	15	0	0	0	0	1
10/24	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0

표 84. 2016년 의성 사과 탄저병 농가별 발병현황

(단위 : 발병과/750과)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9/12	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
9/26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10/10	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0
10/24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

표 85. 2016년 영천 사과 탄저병 농가별 발병현황

(단위 : 발병과/750과)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/29	0	2	0	0	0	0	1	0	1	0
9/12	0	4	1	0	5	0	0	5	0	12
9/26	0	2	0	0	0	0	0	5	0	2
10/10	0	4	1	0	2	0	0	2	1	2
10/24	0	0	0	0	2	0	0	6	0	0

표 86. 2016년 문경 사과 탄저병 농가별 발병현황

(단위 : 발병과/750과)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/29	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
9/12	2	0	0	2	0	0	1	0	0	5
9/26	1	0	1	2	0	0	0	0	0	3
10/10	1	0	1	2	0	0	0	0	0	0
10/24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

표 87. 2016년 예천 사과 탄저병 농가별 발병현황

(단위 : 발병과/750과)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9/12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
9/26	4	0	0	0	0	1	2	0	0	0
10/10	8	0	0	10	0	0	0	5	0	3
10/24	4	0	0	10	0	1	0	5	0	1

표 88. 2016년 거창 사과 탄저병 농가별 발병현황

(단위 : 발병과/750과)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/29	0	1	1	0	0	2	0	0	0	0
9/12	0	1	1	0	0	2	0	0	2	0
9/26	0	4	2	1	0	3	5	0	0	0
10/10	1	8	1	2	0	3	0	0	2	0
10/24	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0

표 89. 2016년 무주 사과 탄저병 농가별 발병현황

(단위 : 발병과/750과)

농가 일자	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4/11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7/18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/29	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
9/12	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
9/26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10/10	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0
10/24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(4) 배 병해 발생 조사

표 90. 2016년 지역별 검은별무늬병 잎 이병율(%)

지역	4월		5월		6월		7월		8월			9월		10월	
	4/11	4/25	5/9	5/23	6/6	6/20	7/4	7/18	8/1	8/15	8/29	9/12	9/26	10/10	10/24
상주	0.00	0.19	0.27	0.35	0.14	0.12	0.29	0.10	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00
예천	0.00	0.11	0.23	0.32	0.14	0.03	0.62	0.14	0.02	0.23	0.03	0.01	0.00	0.00	0.00



그림 120. 배나무 잎에 감염된 검은별무늬병

- 배나무 검은별무늬병은 우리나라에서 발생하는 배 병 중에서 가장 피해가 크고 방제가 어려운 병이다. 이 병은 대부분의 경우 배의 생육 초기에 감염되는데, 4월, 5월에 비가 많이 내리고 서늘할 때 심하게 발생하며, 여름의 고온기에는 소강상태로 지나지만 9월에 기온이 낮아지고 습도가 높아지면 다시 발병하여 잎에 추계 병반이 형성된다. 우리나라에서는 감수성이 높은 ‘신고’가 대부분을 차지하고 있고, 근년에 와서 역시 감수성이 높은 ‘황금배’의 재배 면적이 증가하고 있으므로 검은별무늬병의 방제는 매우 중요하다.
- 2014년 5월 중순경 전남 나주, 울산광역시 울주, 전남 진주, 경북 상주 지역에서 처음 발생했던 것이 2015년과 2016년 조사 지역 대부분에서 4월 하순경에 발생되었으며, 전남 나주, 충남 예산, 경북 예천 지역의 발생은 지속적인 조사가 요망되며,
- 과실이병율이 5월~6월 하순에 많이 발생되므로 이 시기에 적절한 방제가 필요하겠다.
- 상주, 예천 모두 4/25일 처음 발병이 확인되었다
- 봉지를 씌운 7월 이후 고온이 지속되면서 잎의 감염률이 떨어지는 것으로 확인된다.

표 91. 2016년 지역별 검은별무늬병 과실이병율(%)

지역	4월		5월		6월		7월		8월			9월		10월	
	4/11	4/25	5/9	5/23	6/6	6/20	7/4	7/18	8/1	8/15	8/29	9/12	9/26	10/10	10/24
상주	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.01	0.02	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00
예천	0.00	0.00	0.00	0.10	0.20	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

- 5월 23일 예천지역에서 처음 과실에 감염
- 상주는 1달 뒤인 6/20일 감염 보고
- 봉지 씌운 뒤로 감염여부 확인 불가하였으나, 8월 1일 발생 보고
- 수확 후 조사 결과 발병비율 전년도에 비해 매우 적었으며 이는 4월 이후 강우량의 변화에 다른 것으로 판단됨

(5) 현장진단 기술을 활용을 위한 이병시료 채집체계 구축

- 포장선정 : 주산단지 또는 주 재배지역의 재배면적 등 지역여건을 감안하여 선정
가장 재배가 많이 되고 있는 품종으로 경종방법에 의해 재배되고,
지력이 중(中) 정도이며, 관내 재배상황과 비교하여 작황이 중 정도인 포장선정



그림 121. 어린 과실의 잎자루와 열매에 감염된 검은별무늬병(좌) 후기병징(우)

- 조사대상
 - 사과 : 갈색무늬병, 점무늬낙엽병, 겹무늬썩음병, 탄저병, 부란병
 - 배 : 붉은별무늬병, 검은별무늬병, 잎검은점병, 겹무늬병

(6) IBT기술 활용 조기진단체계 적용을 위한 조사기법연구

- 포장 및 조사지점 선정

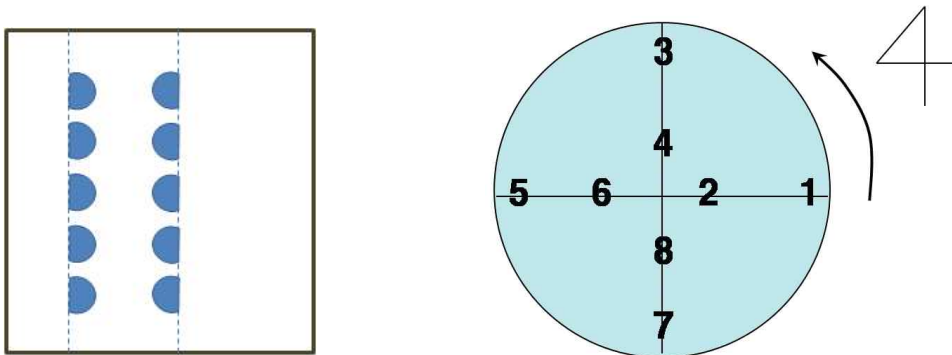


그림 122. 조사대상 과원에서 나무 및 조사가지 선정방법

- 조사 대상 과원에서 병해 발생의 표준이 되는 나무를 10주 선정하고 표식한 다음 열간의 좌우로 사과나무 한쪽 면을 조사함.

(7) 휴대용 SD-OCT를 이용한 진단체계 농가 적용 및 홍보



그림 123. 휴대용 SD-OCT의 농가 진단기술 농가적용

- 휴대용 SD-OCT를 실제 농가 현장에서 사용하는 모습을 농민에게 시연하고, 실제 적용 시 나타날 수 있는 장·단점에 대해 피드백을 받음.



그림 124. 갈색무늬병 및 탄저병 발병과실 분리수거



그림 125. 감염시료 수거 및 실내진단 적용



그림 126. 실외진단을 위한 현장 교육 및 실내 집체교육



그림 127. 시료채집방법 및 병징 발견시 대처방안 설명교육



그림 128. 검은별무늬병 감염여부 확인을 위한 무방제 과원 전경



그림 129. 검은별무늬병 감염여부 확인을 위한 관행방제 과원 전경



그림 130. 시료채집 및 진단의뢰 체계 확립을 위한 현장교육 (1)

시 료 채 집 봉 투

수 집 일	17년 8월 28일	접 수 일	년 월 일
농 가 명	김 우 최	휴대전화	010-3923-2457
우편수령 주 소			
문제발생 주 소			
현 황	발생시기 : 6~8월 발생부위 : 대목뿌리, 뿌리 발생정도 : 소 중 다 (심) 발생증상 : 땅 윗부분과 저도면 뿌리 갈변 및 갈라짐 등 나타남		
재 배 경 력		면 적	m ²
중 국		수 령	2년
영 국	<input checked="" type="checkbox"/>	관수시설	(유) / 무
시 료 의 료 자		휴대전화	
(사)한국과수병해충예찰연구센터 과학지소 : 경북 의성군 의성읍 중앙길 37-1, 2층 TEL : 054)833-1124 Fax : 054)833-1325			



그림 131. 시료채집봉투 기재사항 및 절차

(8) 작물보호제 살포 횟수 분석 현황

표 92. 사과 주산지역 농약살포 횟수 비교

(2016. 한국과수병해충예찰연구센터)

구분	살균제	살충제	살비제
거창	13.1	11.8	3.5
김천	14.0	10.5	4.0
무주	14.6	14.2	4.8
문경	15.5	14.3	4.0
보은	14.0	13.0	3.0
영주	13.0	12.0	3.3
영천	13.5	11.0	6.0
예산	13.6	13.2	3.8
예천	15.7	14.7	2.7
울산	11.7	11.3	3.3
의성	13.0	13.0	4.0
장수	12.0	10.0	5.0
진안	12.0	9.5	4.5
청송	12.8	12.0	3.5
함양	13.7	12.7	4.3
2010년	10.0	9.0	3.0
2011년	11.3	10.3	2.3
2012년	11.4	10.3	2.8
평균 2013년	12.6	11.2	3.0
2014년	13.2	11.8	3.1
2015년	13.3	12.4	3.4
2016년	13.6	12.5	3.9

○ 방제력 분석결과 2016년 작물보호제 평균사용횟수는 살균제 13.6회, 살충제 12.5회, 살비제 3.9회로 전년살포횟수보다 각 0.3회 증가, 0.1회 증가, 0.5회 증가하였음.

(가) 살균제

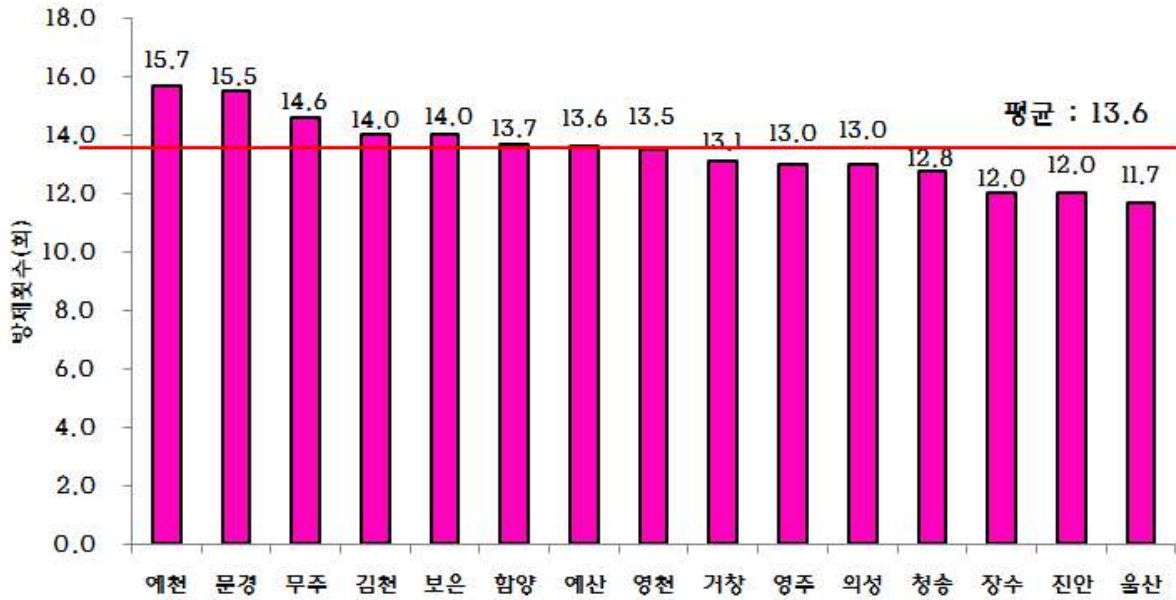


그림 132. 지역별 살균제 평균 방제횟수 비교 (2016. 한국과수병해충예찰연구센터)

- 예천, 문경, 무주 지역의 방제 횟수가 평균보다 높은 것으로 나타났다.
- 병원균의 내성관리차원에서 보면, 혼합제의 사용이 바람직하다는 의견도 있으며, 이와 반대로 혼합제의 경우 내성을 증가시킨다는 의견도 있음.

(나) 살충제

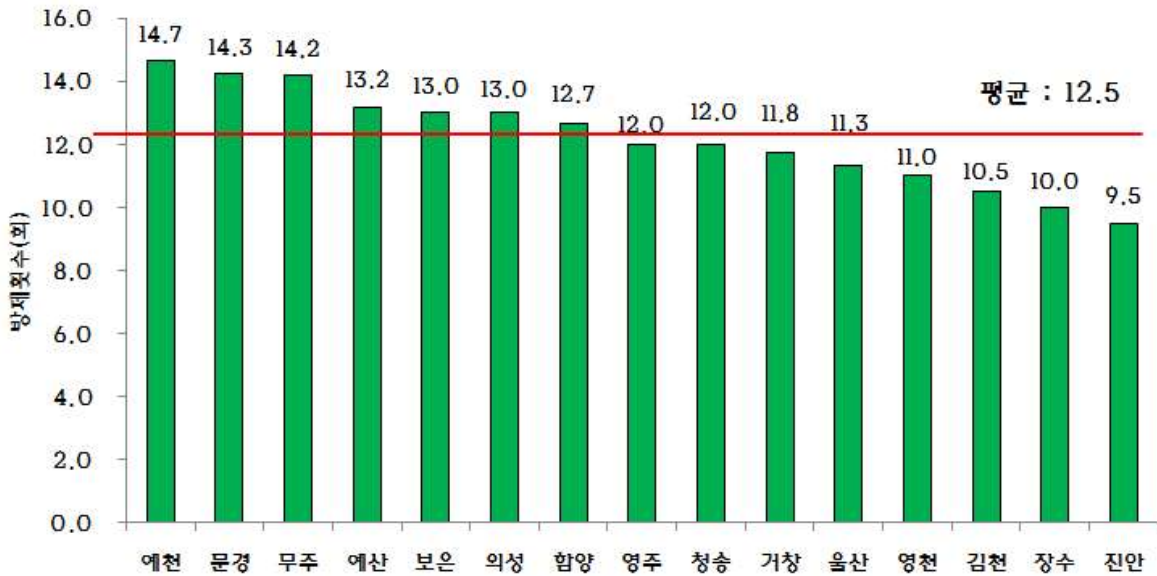


그림 133. 지역별 살충제 평균 방제횟수 비교 (2016. 한국과수병해충예찰연구센터)

- 살충제 살포횟수는 전년보다 0.1회 증가한 것으로 확인되었음.

(다) 살충제



그림 134. 지역별 살비제 평균 방제횟수 비교 (2016. 한국과수병해충예찰연구센터)

- 살비제는 전년도에 비해 0.5회 증가하였음.
- 올 해 기상조건과 연계하여, 건조한 날씨가 지속되어, 응애들이 번식하는 간격이 줄어들어 발생 증가의 원인이 된 것으로 사료됨.
- 또한 약제 살포 후 이전의 밀도로 회복되어, 재살포가 이뤄지는 농가가 많았으며 방제시기를 놓친 농가의 경우, 거듭된 살포에도 불구하고, 응애의 밀도가 떨어지지 않아, 만족할 만한 방제효과를 보지 못하였음.
- 금년은 기계유유제를 사용한 초기 방제가 매우 중요하였으며, 기상조건과 연계하여 방제의 횟수를 조절하는 것이 요구됨.

3. 2협동과제: 초고속 광단층촬영 소프트웨어를 적용한 현장 진단용 OCT 개발
 가. 1차년도: 실시간 검출형 광단층 촬영 시스템 시제품 개발

(1) 초고속 스펙트럼 영역 광 단층시스템 개발

- 시스템 설계에 기반이 되는 4가지 필수 고려 요소를 선정하여 개발에 착수함.
- ① 이동성 : 현장 중심적 검사에 초점을 맞춘 시스템
- ② 고성능 : 실시간 검사가 가능한 시스템
- ③ 안정성 : 다양한 환경적 영향을 고려한 시스템
- ④ 검사편리성 : 검사자의 검사 상황을 고려한 시스템

(2) 과원의 제한된 공간을 고려한 광학 설계

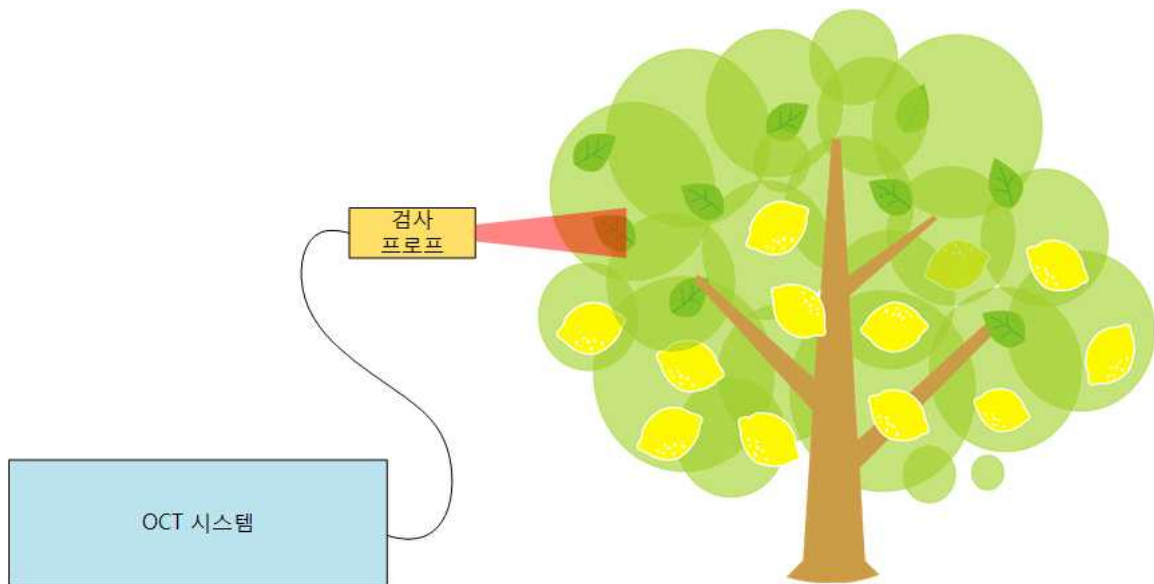


그림 135. 샘플의 검사에 대한 모식도

- OCT 시스템은 광학계 및 데이터 처리 시스템 일체형으로 하여 시스템의 이동성을 확보함.
- 검사 프로브의 자유도 향상시키기 위해 OCT 시스템에서 프로브를 독립적으로 구성하여 검사자의 편의성 향상
- 샘플 채집 과정이 생략되므로 샘플을 지속적으로 관찰 할 수 있는 장점을 확보
- 검사 현장에서 병변 유무를 단층 영상을 촬영하여 실시간으로 검사할 수 있는 고성능 시스템을 일체형 시스템에 고려
- 중심 파장이 1250 nm이고 대역폭이 50 nm 이상인 Superluminescence Diode 광원과 싱글모드 광섬유로 이루어진 간섭계를 구성

Parameter	Symbol	Cond.	Min	Typ	Max	Unit
Operating Current	I_{op}				500	mA
Power in SMF	P_o	$I_{op, max}$	10	15		mW
Center Wavelength	λ_c	$I_{op, max}$	1280	1300	1320	nm
Bandwidth FWHM		$I_{op, max}$	60	70		nm
Spectral ripple [RB=0.1nm]		$I_{op, max}$		0.1	0.3	dB
Monitor PD Current*	I_{MPD}	$I_{op, max}$	0.1			mA
Monitor PD bias voltage			0		-12	V

그림 136. 광원의 주요 사양

- 광원의 온도를 자체적으로 제어할 수 있는 열전소자 (TEC, Thermo Electric Cooler)와 광원이 일체형으로 구성된 Butterfly 방식의 광원소자를 이용하여 시스템의 안정성을 향상시킴.
- Butterfly 광원은 SMF(Single Mode Fiber)를 이용한 광출력 단을 이용하므로 광섬유를 기반으로 한 시스템 구성에 효과적임.

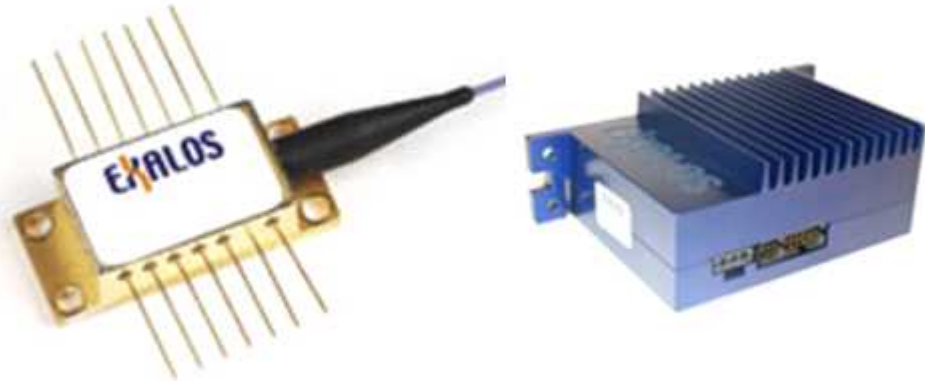


그림 137. EXALOS사 EXS210046-02 및 금속 케이스형 광원 구동 드라이브

- 광원 구동 보드는 안정성을 높이기 위해 광원소자와 구동보드를 밀폐형으로 구성하고 광원 및 내부의 보호를 위해 금속 케이스형 광원 드라이브 도입
- 본 시스템 광원에 대한 파장 범위에 최적인 SMF-28e+ Fiber를 기반으로 한 싱글모드 광섬유 기반 간섭계를 구성함.
- OCT 시스템에 적합한 여러 종류의 간섭계가 있지만 본 연구에서는 공통적으로 가장 많이 사용하는 표준 광섬유 마이켈슨(Michelson Interferometer) 간섭계를 사용

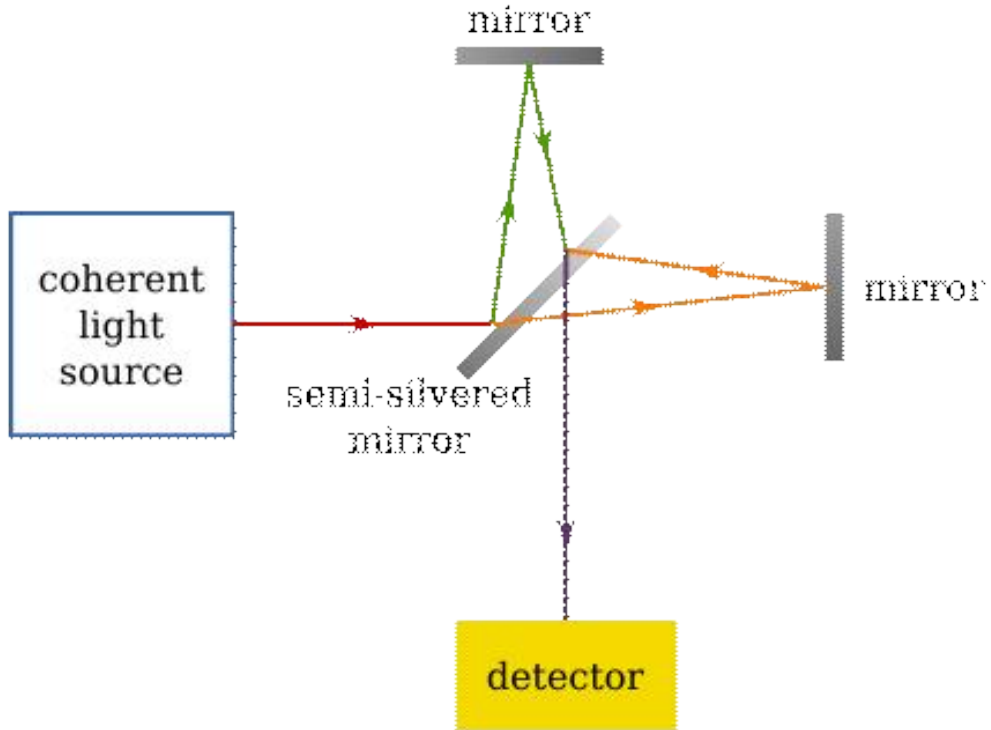


그림 138. 마이켈슨 간섭계의 구조

- 광원에서 나온 빛은 단일모드 광섬유를 통해 광섬유 결합기로 빛의 세기의 절반이 시료에 전달되고 다른 절반은 기준거울에 전달됨.
- 시료와 기준거울에서 반사된 빛은 결합기에서 결합하여 간섭무늬를 생성
- 광섬유 결합기는 간섭계 구성의 기본이 되는 광학 시스템의 가장 기본적인 소자 중 하나이고 신호의 전송 선로 역할을 함.
- OCT 시스템 설계에 있어 자유공간 간섭계보다 광섬유 결합기를 사용하므로 편리하게 간섭계를 구현할 수 있음

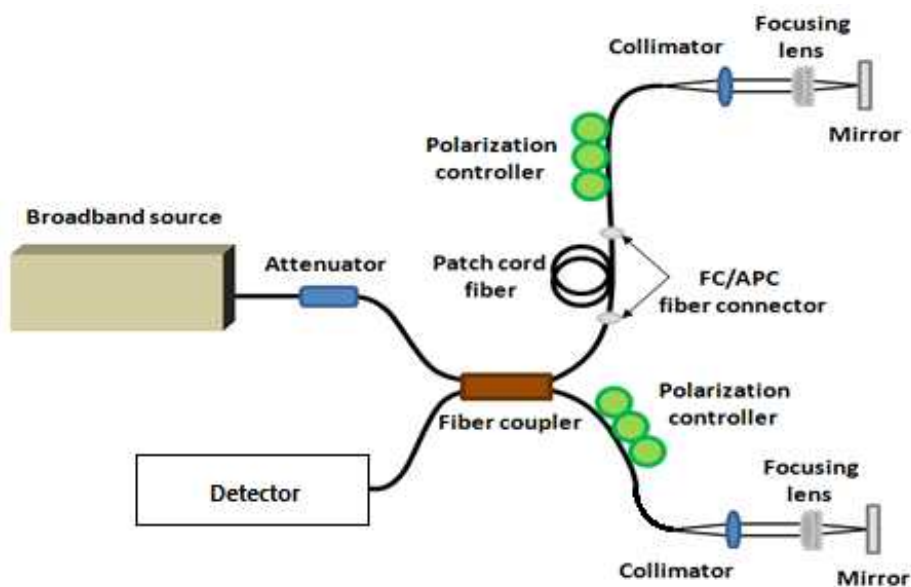


그림 139. 광섬유 기반 마이켈슨 간섭계의 구조

- 렌즈나 거울을 사용하는 bulk optics에서 빔 분리기(Beam splitter) 역할을 하는 것이 광섬유 결합기임.

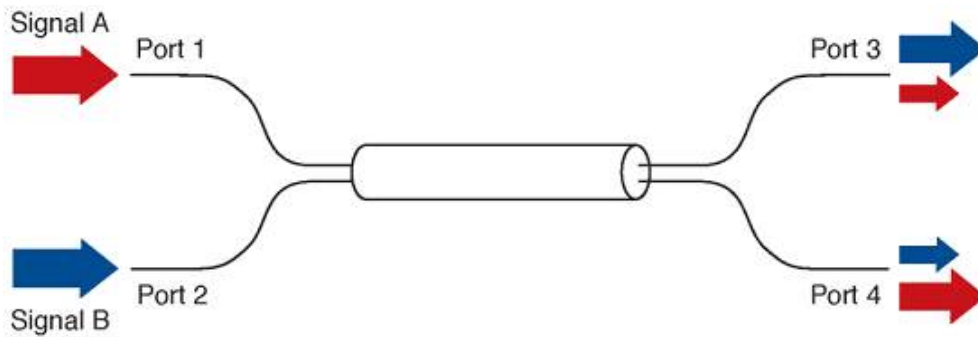


그림 140. 광섬유 커플러를 활용한 광의 분리

- 광섬유 결합기의 경우 이러한 소산장을 이용하여 한쪽의 광섬유 코어로 진행되는 광출력을 다른 쪽 광섬유의 코어로 일정 비율 나누어주는 소자임.
- 본 연구에서는 Thorlabs 사의 결합기를 사용하여 간섭계를 설계하였음.
- 측정은 광대역 광원을 광섬유 결합기의 입력단에 연결하고 광섬유 결합기의 출력단을 광검출기에 연결하여 측정한 결과임.

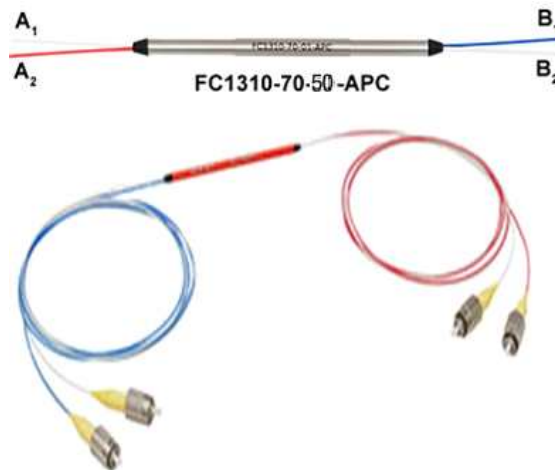


그림 141. 2x2 Courpler FC1310-70-50-APC

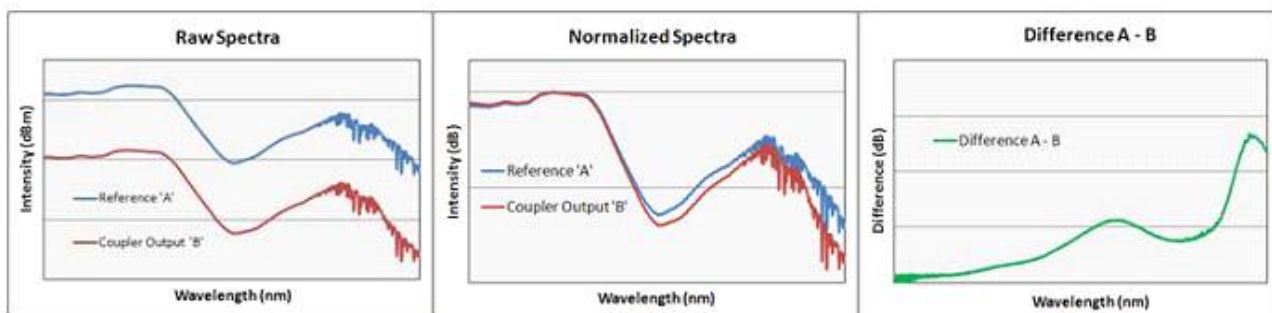


그림 142. 커플러 출력 그래프

- OCT 시스템이 이동될 때 동반되는 진동과 검사 현장의 습도 및 먼지 등이 내부 광학계에

직접적인 악영향을 끼쳐 시스템의 안정성을 저하되거나 광학계에 광 전달 방법을 광섬유로 하여 안정성을 극대화 됨.

(3) 다중 기준단 설계 및 개발

- 앞의 표피와 앞의 내부에 샘플단 렌즈의 초점을 위치시킬 때 광거리의 차이가 발생하며 이 거리 차이를 효과적으로 보상할 수 있는 다중 위치 기준단을 설계
 - 기준단의 반사체의 위치를 선형 스테이지를 통해 이동시켜 샘플단과 기준단의 광경로를 일치시키고 전자 스테이지를 이용하여 광경로를 정밀하게 조정
 - 전자 스테이지는 초음파 모터를 활용하여 콜리메이터를 이동시켜 경로를 조정함
 - 거리 변화에 따라 광 반사량이 변화할 수 있으므로 Retroreflector를 이용하여 기준단을 구성함
-
- 축 방향 해상도는 5 um, 횡 방향 해상도는 10 um로 입력 광원, 광학계, 컴퓨터 및 주변 장치들을 이동 가능한 소형기기로 구현
 - 소형 고속 프레임 그레이버를 이용하여 분광 신호 획득에 사용될 고속 라인 카메라의 데이터를 수집
 - 샘플단과 기준단에서 반사되어 온 광이 분광기를 통해서 카메라 화소에 결상이 되어 전자적 신호로 전환되면 그 결과를 획득하여 컴퓨터로 전송
 - 출력된 신호는 전기 신호로 광생체 단층 촬영 영상을 출력하며 고속으로 데이터를 전송할 때 높은 Data 전송 속도를 요구하므로 카메라 링크 인터페이스 라인 카메라와 그에 따른 PCIe 데이터버스 인터페이스를 기반으로 하는 프레임 그레이버 사용



그림 143. Mini 형 프레임 그레이버

① Camera link Interface의 PCIe mini 타입의 프레임그레이버

Performance (Supports the camera's maximum):	Horizontal Resolution.
	Vertical Resolution.
	Frame Rate.
	Bit Depth.
Signal Input & Output:	EIA RS-644 (LVDS) Drivers & Receivers support
Data Transfers:	Supports cameras with data output rates up to Burst data rates to Mini PCIe bus at 2.5 gigabits 64 bit memory addressing.
Bus Requirement:	Mini PCI Express Card slot..
Connectors:	One 26 pin 3M SDR camera link connector for 10 pin header for Trigger, Frame Enable, Strobe,
Power Requirements:	3.3 volts at 150 milliamps.
	12 volts at 200 milliamps.
Dimensions:	50.95 mm long by 30.00 mm wide.
	2.006 inches long by 1.181 inches wide.
Certifications:	CE Compliant.
	ROHS Compliant.

Signal Name	Pin Number
X0-	25
X0+	12
X1-	24
X1+	11
X2-	23
X2+	10
XCLK-	22
XCLK+	9
X3-	21
X3+	8
SerTC+	20
SerTC-	7
SerTFG-	19
SerTFG+	6
CC1-	18
CC1+	5
CC2-	4
CC2+	17
CC3-	16
CC3+	3
CC4-	2
CC4+	15
Inner Shield	1
Inner Shield	14

그림 145. 핀 커넥터 구성

⑦ P4의 경우 장치 케이스 내부 혹은 외부에서의 시그널을 받아들일 수 있음.

Signal Name	IN/OUT	Pin Number	Pin Number	IN/OUT	Signal Name
OUT2	O	10	9	I	IN1
OUT1	O	8	7	I	IN2
FENOUT	O	6	5	I	FENIN
STR	O	4	3	I	TRG
+3.3 VDC (0.75 Amp max)		2	1	Ground	

그림 146. 10Pin 헤더의 P4 시그널 리스트

⑧ 본 PCIe-mini 프레임 그레이버의 경우 원본 영상의 해상도 그대로 컴퓨터 메모리에 저장하는 것이 가능함. 따라서 버스트 레이트의 경우 초당 250 메가바이트, 지속적인 이미지 전송의 경우 초당 204 메가바이트 이하의 전송 대역에서 데이터 전송이 가능함. 그리고 메인보드의 Mini PCIe 슬롯에 따라 퍼포먼스 특성이 달라지므로 확인이 필요함. PCI 사양에 따라 CPU와 통신 가능한 Lane의 폭이 달라지기 때문에 데이터 전송 속도에 차이가 발생.

Approximate Throughput (Gbits per Second)			
Lane Width	Payload size (bytes)		
	16	128	256
x1	1.7	1.7	2.0
x4	6.8	7.0	7.8
x8	13.7	14.0	15.7
x16	27.4	28.0	31.4

그림 147. PCI 사양에 따른 데이터 전송 속도의 차이

⑨ 일부 운영체제의 경우 버퍼 메모리를 강제 할당할 필요가 있음. 그러한 경우, 운영 체제 상에서 레지스트리에 PIXCI를 지정하여 메모리 사이즈를 지정해야 함. 이러한 할당의 경우, 지정된 사이즈를 파티션 또는 블록에 형성하여 메모리 구성이 이루어지기 때문에, 단일 블록에서 사용 가능한 사이즈에 비해 더 많은 양을 받는 것이 가능해진다. 각각의 프레임 버퍼의 경우 파티션을 포함해야 하며, 32비트 시스템에서 256개까지의 파티션을 할당하는 것이 가능하다.

File System	Max # of Files	Max File Size (bytes)
Windows FAT16	512 per folder	$2^{32}-1$
Windows FAT16 w. DOS, Win 95/98/ME	512 per folder	$2^{31}-1$
Windows FAT32	65534 per folder	$2^{32}-1$
Windows NTFS	$2^{32}-1$ per volume	$2^{44} - 64*1024$

그림 148. 운영체제에서 사용가능한 파티션 형식 및 디스크 용량의 볼륨, 디렉토리, 파일 공유 형식.

- ⑩ 초고해상도 이미지를 전송하는 경우에는 굉장히 큰 프레임 버퍼를 사용하기 때문에, 파티션 사이즈를 정하는 데 있어 자세히 고려해야 함. 사용하지 않는 메모리를 해제함으로써 각각의 파티션 끝에서 프레임 버퍼보다 작은 용량의 메모리를 할당할 필요가 있음. 문제가 있을 경우, 요청된 메모리보다 작은 용량의 프레임 버퍼가 운영체제에 의해서 제공되며, 이러한 경우 프레임 그레이버의 사용이 불가능 함.
- ⑪ 만일 프레임 버퍼 메모리가 제대로 할당되지 않는 경우, EPIXXCW6.SYS의 별도 프로그램을 이용하여 메모리 할당을 지정해 줄 필요가 있음. 운영체제가 시작할 때는 장치 전체 메모리 크기에 비해 굉장히 작은 크기의 메모리만을 할당받아 시작하기 때문에, 프

레이미 그레이버가 필요한 만큼의 메모리 할당이 불가능 한 경우가 발생함.

- ⑫ XCAP의 경우, 프레임 그레이버를 이용한 이미지 전송, 디스플레이 및 테스트가 가능하기 때문에 이러한 기능을 기반으로 프레임 그레이버의 작동을 확인 가능함.
- ⑬ C 혹은 C++ 기반의 프로그램을 사용할 경우, XCLIB C/C++ 라이브러리를 사용하여 프레임 그레이버의 사용이 가능함. 이러한 라이브러리는 DLL의 함수를 콜하는 것으로 개발 환경에서 접근 가능함. 따라서 이러한 라이브러리를 기반으로 유저 어플리케이션에서 호출하는 것이 가능하며, 사전에 지정된 제한적인 변경 사항 내에서 어플리케이션 템플릿 내에서 사용 가능함.
- ⑭ XCLIB 라이브러리는 두 가지의 기능으로 구성되어 있음. 심플 C 함수 (SCF)의 경우, 대부분의 어플리케이션 프로그램에서 충분한 기능을 제공하며, 라이브러리에 사전에 할당되어 있음. 프레임 버퍼는 카메라의 해상도에 의존적이며, 프레임 버퍼를 위해 총 메모리 사이즈가 지정되어 있음. raw Bayer 아웃풋을 사용하는 카메라의 경우, 자동으로 RGB 픽셀 값을 처리함. 그리고 멀티 탭 카메라의 경우 XCLIB 라이브러리에서 정확한 순서대로 픽셀 값을 자동으로 정리해서 보냄.
- ⑮ XCLIB 라이브러리를 사용하는 중, 반환 값이 0 이하가 될 경우 자동으로 에러 디텍션 기능이 존재함. 따라서 운영체제 시스템에 따라 에러 메시지 팝업 기능이 사용 가능함.
- ⑯ 3.3Volts를 운용할 경우 150mA, 1.5 Volts를 운용할 경우 200mA를 소모하며 총 0.795W의 전력을 소모하기 때문에 소형 시스템을 만들기에 적합함.
- ⑰ 트리거 컨트롤과 PRIN 딜레이를 위한 카운트를 위한 PRINC 기능을 사용하여 픽셀 클럭을 컨트롤 할 수 있음.

9,8,7=111 selects Pixel Clock divide by 512.
9,8,7=110 selects Pixel Clock divide by 256.
9,8,7=101 selects Pixel Clock divide by 128.
9,8,7=100 selects Pixel Clock divide by 64.
9,8,7=011 selects Pixel Clock divide by 32.
9,8,7=010 selects Pixel Clock divide by 16.
9,8,7=001 selects Pixel Clock divide by 8.
9,8,7=000 selects Pixel Clock divide by 4.

그림 149. EPCD의 9-7비트의 노출 픽셀 클럭 구분도

- ⑱ OCT카메라에서부터 CPU와 Hard disk를 거치지 않는 하드웨어 가속 장치로의 직접적인 데이터 전송을 통한 Data cable의 Maximum Bandwidth 사용량의 최적화를 통해 전체 시스템의 효율성의 증대

- OCT 시스템을 구동하기 위한 기본 사양을 결정하고 이를 기반으로 초소형 컴퓨터 시스템을 결정하여 시스템 제작에 반영함
- ① 초소형 시스템을 구현과 사용 전력을 최소화 할 수 있는 저전력형 시스템 반영함
- ② multi core processor를 기반
- ③ mini PCIe interface
- ④ mSata slot
- ⑤ Barebone형 메인보드



그림 150. 미니 PC - NUC Kits

- ⑥ 광단층시스템 프로그램을 사용하기 위한 적합한 성능 (4세대 코어™ i3-4010U, HD 그래픽 4400)
- ⑦ 이동성이 추가된 시스템을 위한 소형 PC 사용 (크기 : 116.6mm x 112mm x 51.5mm)
- ⑧ 초고화질 지원 미니 DisplayPort*1 1.2 1개 지원
- ⑨ 4K 디스플레이 및 다양한 모니터 기능
- ⑩ 미니 HDMI* 1.4a 포트 1개 지원
- ⑪ 초고속 USB 3.0 포트 4개(후면 패널 포트 2개 및 전면 패널 포트 2개)
- ⑫ 데이터 처리 속도를 향상시키기 위한 MSATA-SSD 부착
- ⑬ LabVIEW 2010을 작동하기 위한 2 코어, 4 스레드 그리고 1.7 GHz 구성
- ⑭ 제어 장비 구동 신호를 출력하는 ADC 및 시스템 제어 및 주변 장치의 제어를 위한 TTL 신호 입출력 장치
- ⑮ 광의 스캐닝을 위한 갈바노미러를 구동하기 위해 컴퓨터 시스템에서 계산한 전기적 신호를 900KS/s의 고속으로 전기적 신호로 변환이 가능함

- 소형 PC로 인한 USB 타입의 DAQ(Data Acquisition) 사용



그림 151. DAQ, NI-6212

- 최상의 이동성을 위한 버스 전원 공급되는 USB
- 스캔을 위한 아날로그 신호 출력(16비트, 250 kS/s) 및 카메라와 스캐너의 SYNC를 맞추기 위한 아날로그 입력 구성(16비트, 400 kS/s), 32개의 디지털 I/O, 2개의 32비트 카운터
- OCT 시스템의 이동성과 안정성을 고려하여 가벼운 금속 소재를 이용하여 완전 밀폐형 OCT 케이스를 설계

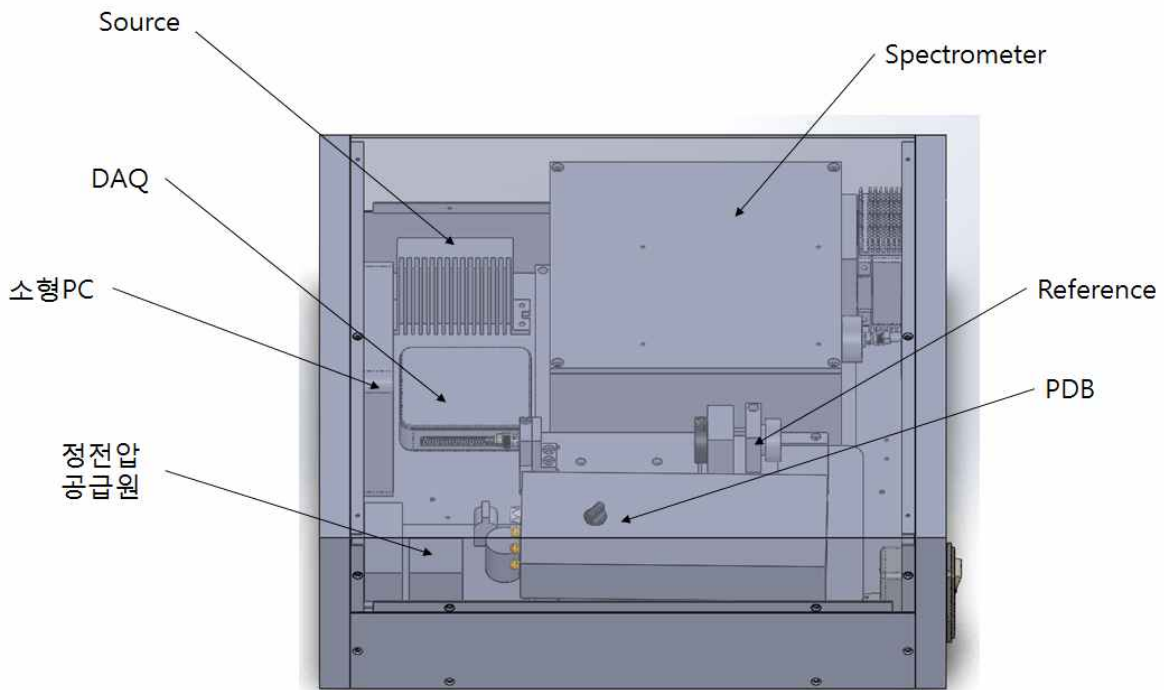


그림 152. 소형기기 구현을 위한 OCT 시스템의 시제품 3차원 설계



그림 153. 개발된 시제품 본체(좌) 휴대용 카트형(중간) 손잡이형 프루브(우)

- 방진 및 방습을 위한 완전 밀폐형 설계
- 내부 각각 주요 모듈에서 발생하는 발열을 전도성이 높은 금속 케이스로 컨트롤

(4) 고효율 분광계시스템 설계

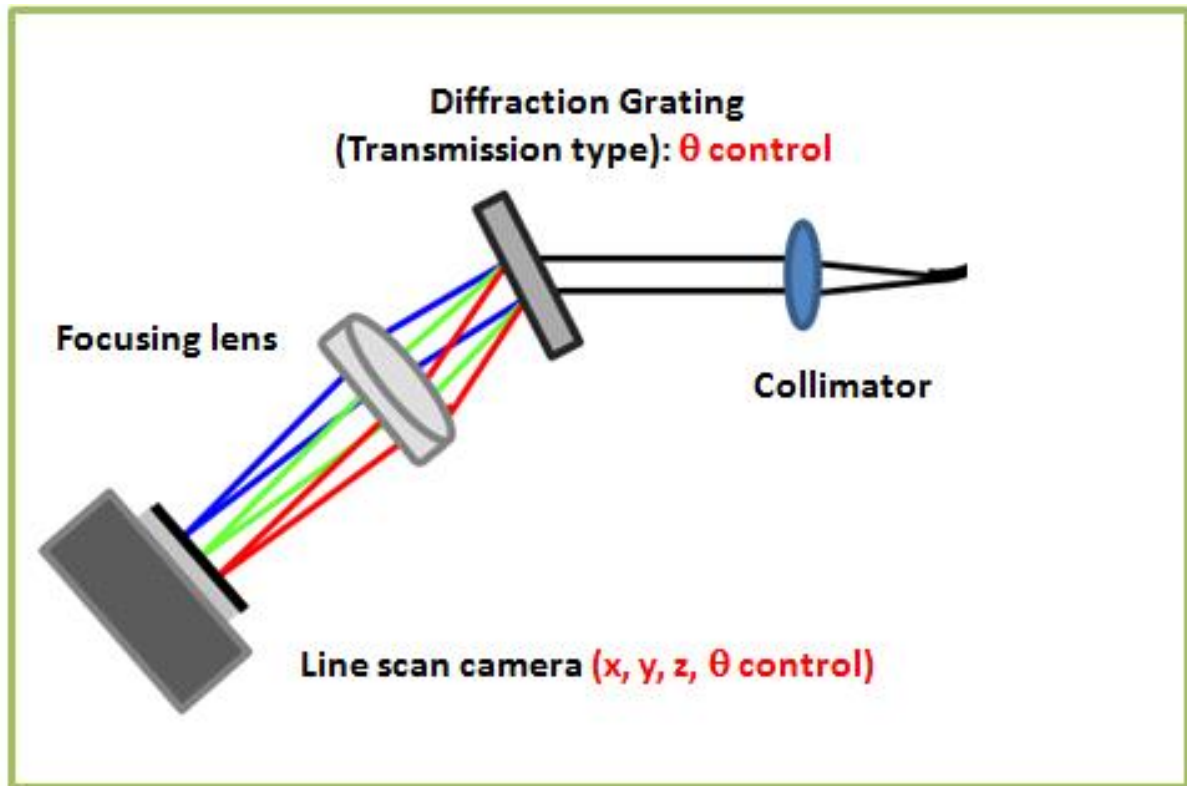


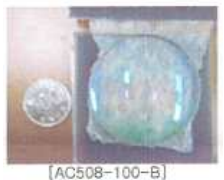


그림 154. 투과형 분광기의 구성도

- 광수신기(Photo Detector)를 이용하여 모든 파장 대역의 OCT 정보를 동시에 수집하는 대신에 본 연구에서는 고속의 라인 스캔 카메라를 이용하여 분광기(Spectrometer)를 개발함.
- 분광기를 이용하여 각 파장별의 OCT 신호를 수집 가능함.
- 분광기 설계 시 카메라에 대한 컨트롤 가능하게 설계
- 회절격자(Diffraction Grating)의 경우 회절 가능하게 설계하여 최대 파워 효율이 나오게 잡아 줘야함.
- 제작 과정에서 카메라의 수광 센서가 $10 \mu\text{m} \times 10 \mu\text{m}$ 의 크기 정도로 작기 때문에, 대물렌즈와 회절격자 그리고 콜리메이터의 정렬 작업이 분광기의 성능을 좌우함.
- 수광센서에 입사되는 빔의 사이즈를 최소 $10 \mu\text{m}$ 로 맞추는 작업이 SD-OCT의 해상도를 결정함.
- 수광센서에 입사되는 빔의 사이즈를 최소로 만들기 위하여, 회절격자에 입사되는 빔의 직경이 클수록 유리하며, 대물렌즈의 초점 거리가 짧을수록 유리함.

표 93. 분광기(Spectrometer) 구성 부품 목록

부품 목록	부품 이미지	부품 사양	부품 역할	제조사
고속 라인 스캔 카메라 (GL2048L)		2048L InGaAs Linescan Camera	분광기의 핵심 부품으로써 회절격자로 들어온 신호를 카메라 라인 픽셀별로 수집하는 역할	Sensors Unlimited (USA)
회절격자 (Diffraction Grating)		1145 lpmm @ 1310 nm Physical size 2" Round on B270 Glass, AR coated	콜리메이터에서 들어온 빛을 회절 시켜서 라인 스캔 카메라로 보내주는 역할	Wasatch Photonics
대물렌즈 (Objective Lens)		Physical; size 2" Wavelength 1300 nm, 75mm	회절격자에서 회절 된 빛을 라인 스캔 카메라의 픽셀에 집속 시키는 역할	Thorlabs

- 마이켈슨 간섭계를 이루는 광학부와 간섭신호를 받아 들여서 이미지화 시키는 디스플레이부로 구성 되어 있다. 광학부는 광대역 광원, 광신호 전달을 위한 2 x 2 커플러, 기준단, 샘플단, 검출단으로 다시 세분화가 가능함. 이미지화를 위한 디스플레이부에서는 LabVIEW를 이용하여, 이미지화 시켰음.
- 한쪽의 경로는 샘플의 깊이 정보를 측정하는데 사용되는 샘플단이며, 다른 한쪽은 샘플단의 신호에 맞추어 간섭신호를 만드는데 사용되는 기준단임. 이러한 두 단에서 보내어진 광신호는 기준단의 반사거울과 보고자 하는 샘플의 각 부분에서 반사되어 다시 2 x 2 광섬유 커플러로 보내어지게 되고 검출단에서 재결합하여 간섭신호를 만들게 됨.
- 생성된 간섭신호는 라인 스캔 카메라, 회절격자로 구성된 분광기로 들어오게 됨.
- 분광기로 들어온 신호는 콜리메이터를 거쳐서 입사하여, 회절격자를 거치면서 파장 별로 회절 되게 됨. 회절된 빛은 라인 스캔 카메라의 라인 픽셀 센서에 들어가게 됨

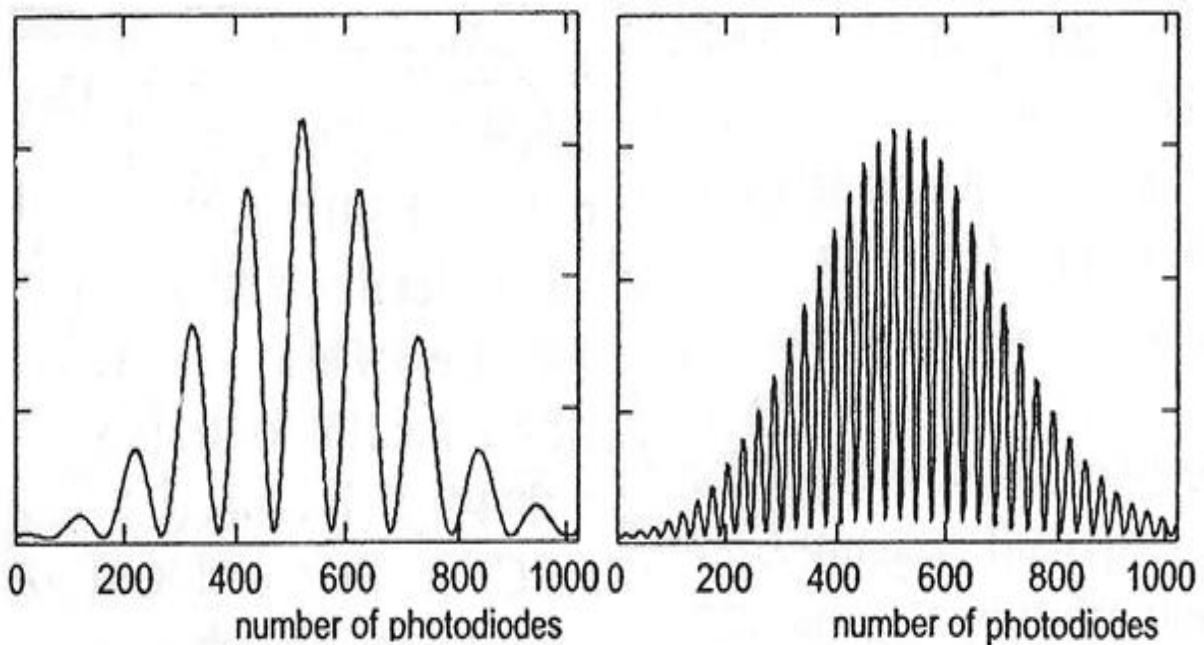


그림 155. 라인 카메라 화소에 집광된 분광 신호

- 분광기를 통해서 들어온 간섭 신호는 파장 대 별로 나누어진 간섭 신호를 생성하게 됨.
- 사용된 광원에 적합한 파장 대역을 반영한 분광시스템을 설계
- 2 x 2 광섬유 커플러를 이용하여 마이켈슨 간섭계를 구성하였으며, 분광기는 Sensors Unlimited 사의 InGaAs 라인 스캔 카메라 GL2048L을 사용하였음. 회절격자는 Wasatch photonics사의 1145 I/mm Grating을 이용함.

(5) 렌즈 설계 및 라인 스캔 카메라의 초점 렌즈 개발

- 그레이팅을 투과해 분광된 빛이 라인스캔 카메라로 전달되는 빛의 특성 및 결상되는 렌즈 설계를 위한 ZEMAX 연구 진행

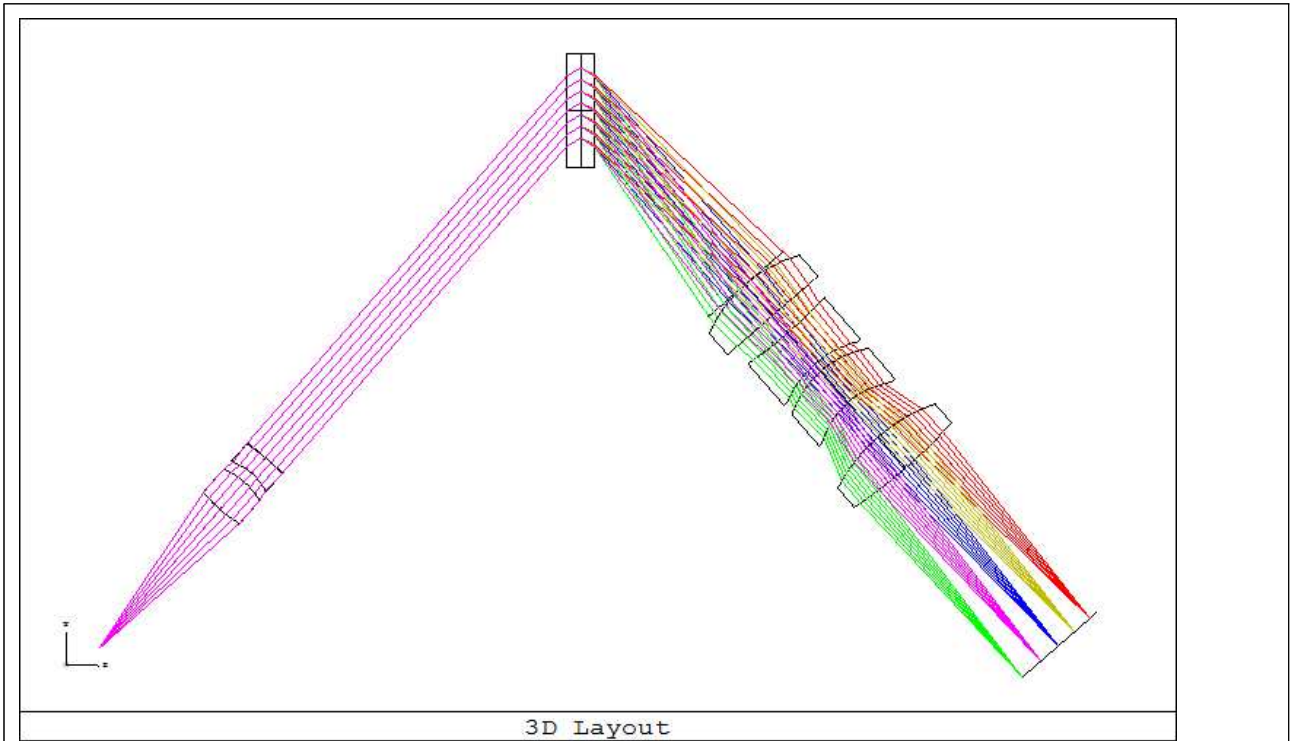


그림 156. 투과형 그레이팅에 기반을 둔 분광기의 광학적 분석

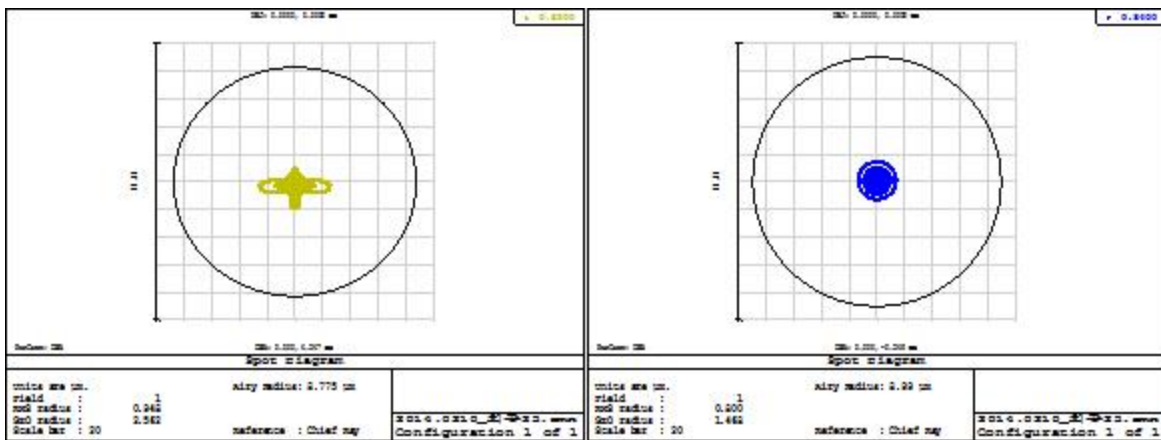


그림 157. 라인스캔 카메라에 결상되는 스팟의 형상 분석결과

- 분광기의 광경로를 이론적으로 분석하여 렌즈 사양을 유추함
- 계산상 최적의 렌즈를 구성으로 소형 분광기를 제작하기에는 여러 장의 렌즈군을 구성해야 하는 문제가 발생함
- Shortwave IR 대역 광원에 적합한 단색광 렌즈를 이용하여 광대역 파장에 대해 발생하는 수차를 보정한 렌즈를 도입하여 소형 분광기 제작에 이용하여 설계

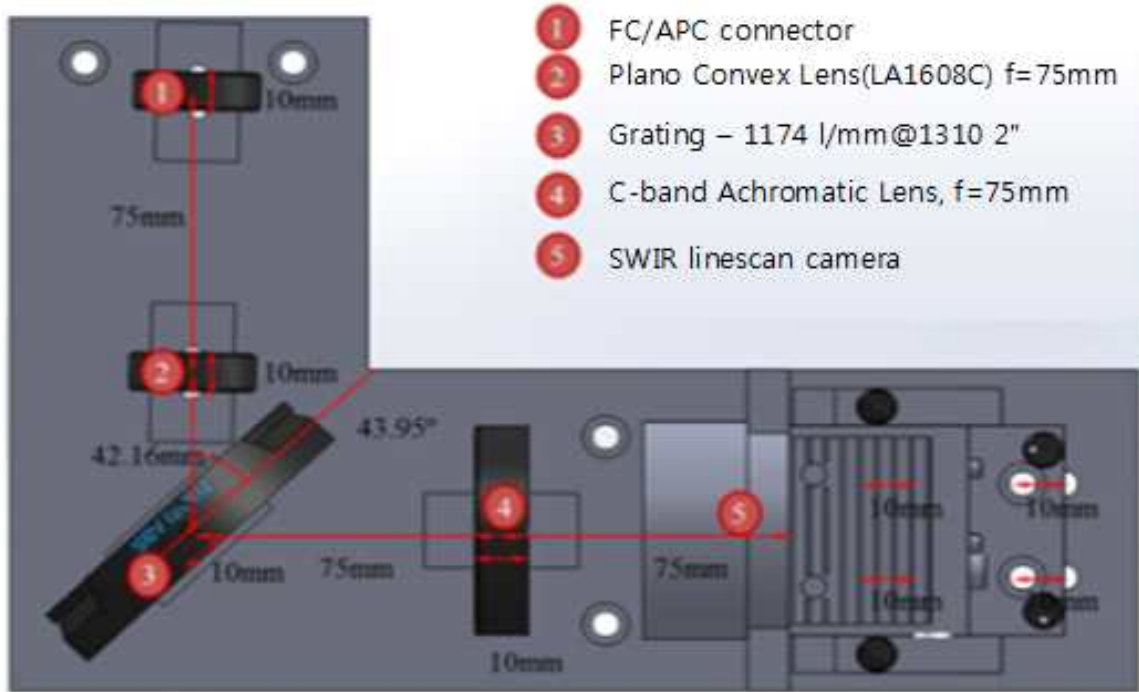


그림 158. 투과형 그레이팅의 Mode 2에 기반을 둔 실험용 소형 분광기의 구조도

(6) 2-D galvanometer 스캐너 샘플단 개발

- 샘플단 2D 스캐닝 방법에 대해서 연구를 진행. 1-D 샘플단에 스캐너 거울을 설치할 하여서 2-D 스캔이 가능한 방법에 연구를 진행
- 3-D 이미지 획득을 고려해서 스캐닝 거울을 두 개로 구현. 스캐닝 거울을 하나 더 설치함으로써 3차원 스캐닝 정보를 획득 가능한 샘플단이 됨. 2-D 측정 시에는 하나의 스캐닝 거울만 움직여 이미지 획득
- 2개의 스캐닝 거울을 사용함으로써 빔의 경로 설정에 어려움을 겪었으며, 경로의 복잡성을 충분히 고려하여 제작
- 표 33은 개발된 2D 샘플단 부품 목록

표 94. 1-D 샘플단 부품 목록표

부품 목록	부품 이미지	사양	부품역할	제조사
알루미늄 몸통 (Aluminum cage)	 KCB05	30 mm 큐브	제품 내 최적 광 경로 설정, 렌즈 및 광 부품에 먼지 방지 이동성 향상을 통한 선택적 실험 가능	Thorlabs

작은 대물렌즈(Smal l Objective lens)		직경=12.7mm 초점거리= 19.0mm	알루미늄 내 빛의 경로 유지 및 직진성 향상	Thorlabs
거울(Mirror)		직경=25.4mm	알루미늄 내 빛의 경로 변경	Thorlabs
큰 대물렌즈 (large Objective Lens)		직경=25.4mm 초점거리 35.0mm	샘플(관)에 직접 빛을 포커싱 시켜서 파워를 모으는 역할	Thorlabs
콜리메이터 (Collimator)		중심 파장 1380nm 개구수 0.50 FC/APC 겸용	결합기를 거쳐 오는 빛을 샘플에 직선으로 이동하게 만드는 역할. 샘플에서 맞고 나온 빛을 다시 결합기로 보내는 역할	Thorlabs
Galvanometer Mirror스캐너		각 이동 40° 인가전압 ±24V 최대코일온도 110°	샘플단의 광 경로를 변화시킴. 샘플단을 2 차원 3차원 이미지 스캐닝을 하기 위한 장치	Thorlabs

○ 본 연구에서 제작된 샘플단의 스캔 범위는 스캐닝 거울의 성능과 대물렌즈에 따라서 성능이 좌우가 된다. 최대 스캔 범위는 3.5cm로 측정

나. 근적외선 영역 (850 nm)대 광대역 분광기 개발

(1) 중심파장이 850 nm이고 대역폭이 50nm 이상인 Superluminescence diode를 사용

○ 개발 시스템의 주요 사양

- ① 중심 파장: 850 nm
- ② 초고속 라인카메라의 pixel 수: 2048
- ③ 데이터 획득 속도: 140 KHz

- ④ 이미지 셀 크기: 10 um x 10 um
- ⑤ 분광 대응 면적: 20.48 mm x 20 um

○ 1800개의 line per groove 특성을 가지는 투과형 분광기타입으로 개발

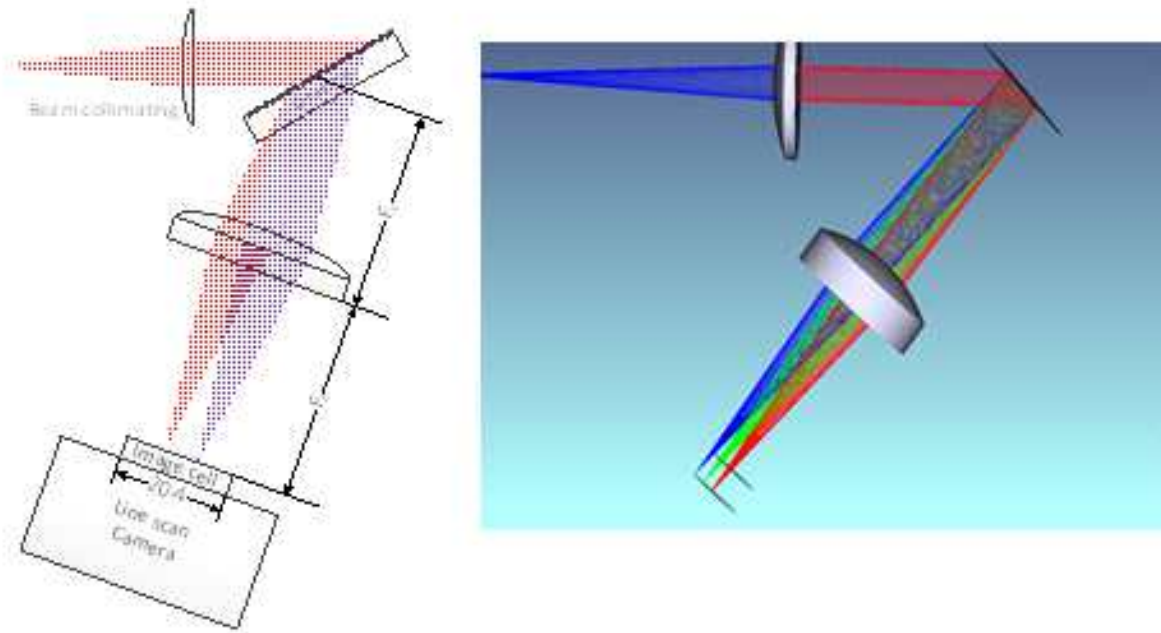
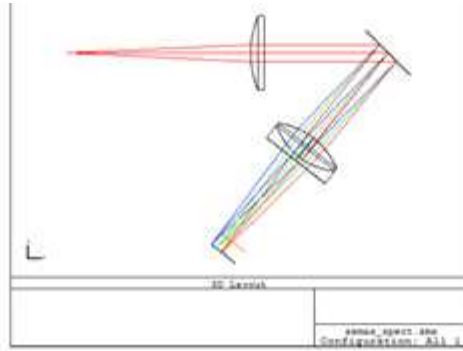


그림 159. ZEMAX 프로그램을 이용한 초고속 분광기의 개념도와 수학적 설계

- 1800개의 line per groove 특성을 가지는 투과형 분광기타입으로 개발
- 광학 설계 프로그램인 ZEMAX를 사용하여 광대역 초고속 광단층 영상 검사기에 사용되는 분광기에 대한 광학 설계 결과를 보여주고 있음
- 왼쪽 상단부분으로 광섬유를 통한 입사광이 전달되게 되고 렌즈를 사용하여 평행광을 형성함
- 평행광은 투과성 회절적자를 통과하면서 파장에 따라 서로 다른 각도로 회절하게 됨
- 회절 되는 각각의 빛을 doublet lens를 사용하여 Linear array detector에 주사하도록 설계됨
- ZEMAX 프로그램의 수학적 모델 기법을 기반으로 분광기의 광학 부품 사양을 파악하고 해당 제품을 조사하여 분광기의 최적 모델을 아래와 같이 선정



Surf. # (mm)	Line/mm	Diffract. Order	Surf. # (mm)
	0.000	0.000	-45.000
	1.700	0.500	
	0.000	-3.000	-7.000

Surf. #	Type	Comment	Radius	Thickness	Glass	Semi-Diameter
0B0	Standard		Infinity	74.213		0.500
1*	Standard	LA1743	99.430	4.930	N-BK7	19.000
2*	Standard		Infinity	50.000		19.000
3	Coaxial			0.000	-	0.000
4	Diffraction		Infinity	-45.634		12.700
5	Coaxial			0.000	-	0.000
6*	Standard	AC300-050-B	-30.740	-5.500	B-SAF10	19.000
7*	Standard		27.640	-2.000	N-SF6MT	19.000
8*	Standard		Infinity	-41.640		19.000
ST0	Standard		Infinity	-4.000	V	4.143
IDA	Standard		Infinity	-		4.124

그림 160. 분광기 부품사양

- 광섬유 기반의 커넥터 방식 도입: FC-APC 커넥터
- 광의 역반사에 의한 간섭을 고려하기 위해 Patch cord의 커넥터를 FC-APC 로 하고 비구면 LENS의 고정 초점을 이용하여 평행광을 생성
- 폭 10 mm 이상 평행광 생성 렌즈: 초점거리 75 mm 이상, B 밴드
- Fiber End에서 출력되어 확산되는 빛을 비구면 렌즈의 초점 위치로 위치하여 평행광을 생성
- 확산 시작점에서 확산되는 방향의 각도와 평행광 생성 LENS의 초점 거리를 삼각함수 법으로 예측하여 적정 초점거리를 산출함
- 카메라 전단 LENS: 초점거리 50 mm 이상, B 밴드
- 회절격자의 생성은 투과형 Grating을 반영하였으며 확산된 분광 평행광과 분광각도를 고려하여 LENS를 조정하여 각 모든 분광 평행광을 렌즈를 이용하여 라인 스캔카메라의 각각 촬상소자에 수직으로 초점이 맞도록 설계

(2) 스펙트로미터 제작

- 설계된 스펙트로미터 성능 확인을 위한 제작
- 계산·설계된 광학 부품들로 스펙트로미터를 구성하여 성능을 확인
- 실험용 부품들을 이용하여 구성

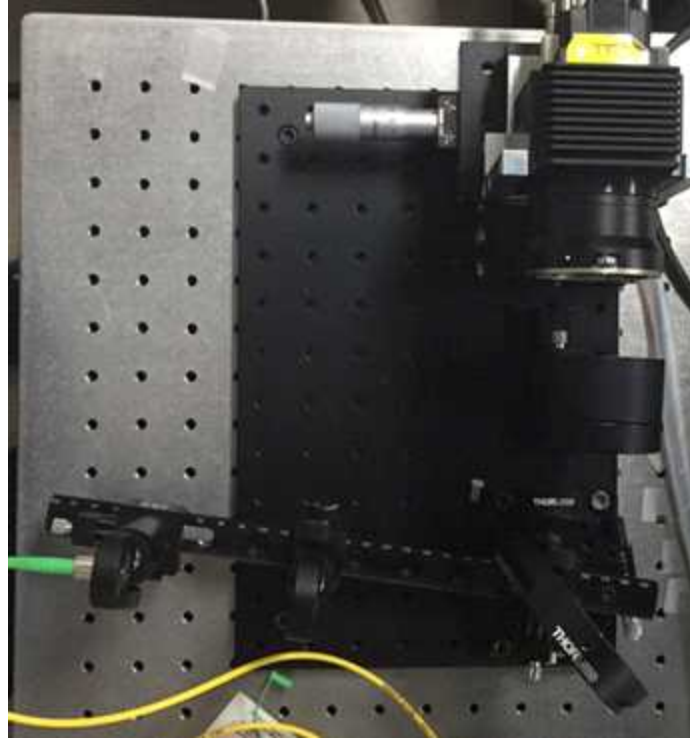


그림 161. 제작된 스펙트로미터

- 성능확인을 위해 적외선 형광 카드(IR Card)를 제작된 스펙트로미터로 측정

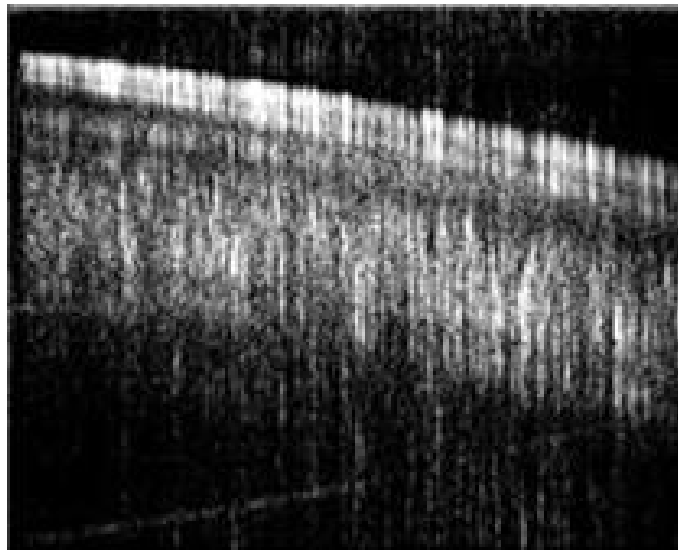


그림 162. 측정된 적외선 형광카드

(3) K영역 선형화 기술 개발

- 라인 카메라의 화소에 따른 파장 길이 측정 방법 개발
- 광원의 전체 파장과 라인 카메라에 대응하는 관계를 규명하는 장비로서 영상의 정확한 계산을 위해 단파장 레이저를 이용하여 라인스캔 카메라에 대응하는 위치를 이용하여 분광기의 비선형성을 예측함.

- 스펙트로미터에 단파장을 순차적으로 입력하여 스펙트로미터 화소와 연관시켜 K 비선형성을 측정
- K의 비선형도를 측정 및 Re-scale을 이용한 보정 기술
- 라인 스캔 카메라에서 수광된 분광의 값들은 3차항 이상의 다차원 수식으로 표현은 가능하나 실제와 이론적으로 유추하는 것이므로 실측하는 방법이 가장 최선임.

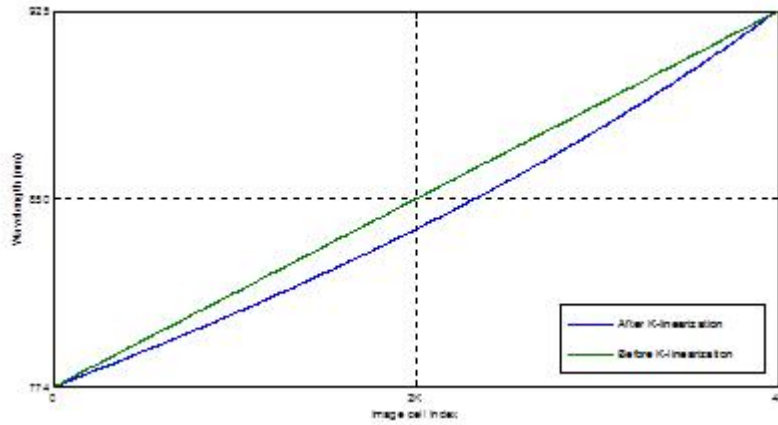


그림 163. 파장대별 라인스캔 카메라 화소간의 관계를 통한 K 선형성 측정 결과 (녹색: 선형성의 보정성, 파랑: 실제 K-비선형성)

- 선형도 보정을 위한 어긋남 정도를 측정하기 위해 K domain의 Δk 의 선형성을 기반으로 하여 촬상소자의 위치 인덱스 값을 조사
- Δk 는 Optical Spectrum Analyser를 이용하여 측정하여 보정의 기준으로 사용

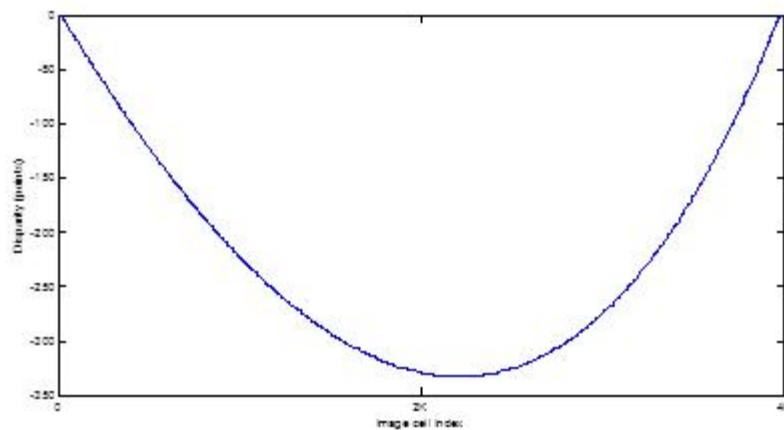


그림 164. 카메라 화소의 인덱스와 K domain의 선형성의 어긋남

- 최소 0에서 최대 300 point까지의 어긋남이 계측됨.
- 선형성의 어긋남은 분광기의 고유한 특성이므로 크게 변하지 않음.
- 단 이 특성은 광원 및 분광계의 광학계 조정 및 배열 작업에 의존적이므로 주변의 진동성 환경에 영향이 크며 분광계의 외부 임펄스 충격에 의해 내부 광학 구조가 변형이 되면 보정작업 재시행이 필수

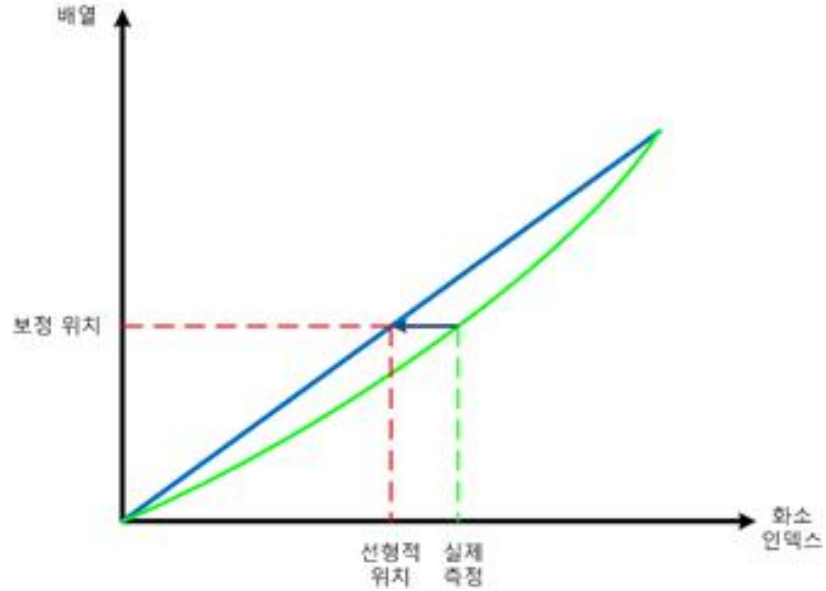


그림 165. 배열 인덱스 매칭을 이용한 k 선형성 보정 방법

- 이미지 셀과 K-domain의 Δk 의 비선형의 정도를 인덱스의 어긋남 가정하여 라인카메라에 수광된 분광의 크기를 보정된 인덱스의 위치로 재배열하여 K 선형성을 보정
- 4,069개의 배열을 할당하고 각 배열의 인덱스에 해당하는 분광 값을 라인카메라에서 측정된 이미지 셀의 인덱스와 매칭하여 로드

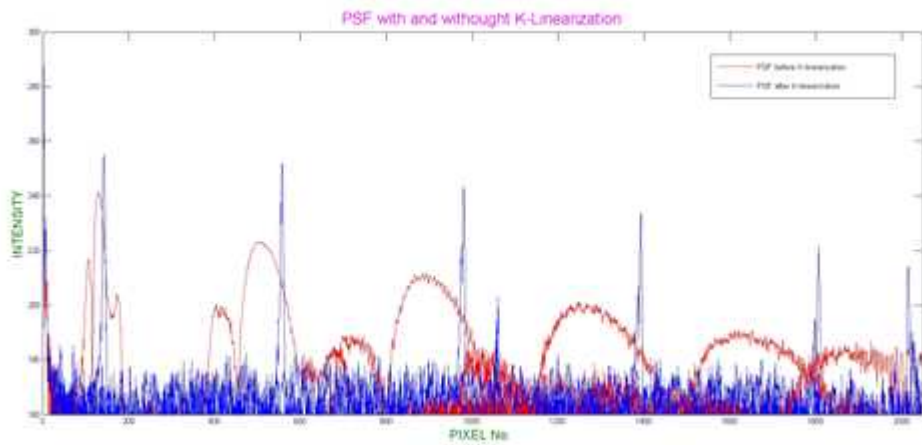


그림 166. 선형화 보정 전후 Point spread function 비교

- K 선형화 보정 전후의 point spread function 비교
- 거울을 샘플단과 기준단에 배치하고 간섭계의 광 경로 길이를 200 um 씩 이탈 시켜 간섭 신호를 측정하고 FT를 수행
- K 영역의 비선형성으로 인해 거울의 반사면의 정보가 경로가 길어지면 길어질수록 공간상에서 퍼지는 현상이 발생하나 k 영역의 선형성의 보정으로 반사면정보가 변하지 않고 유지되는 것을 확인함.

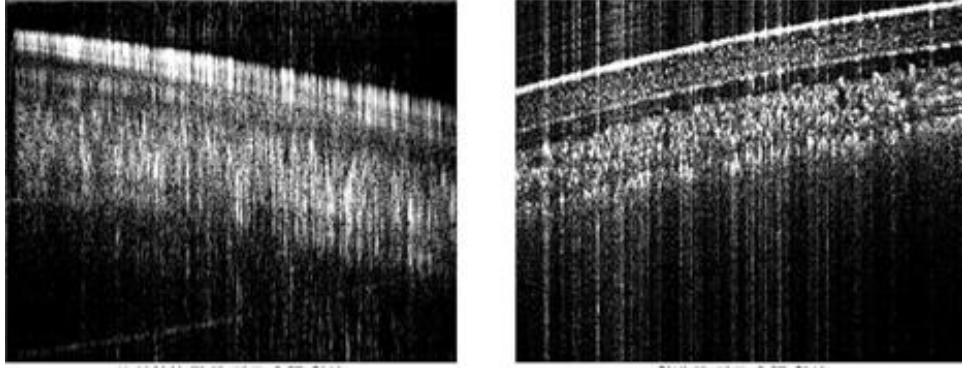


그림 167. 적외선 형광카드를 이용한 OCT의 영상화에서 K 선형성의 보정 전후의 비교

- 0 dB에서 광 경로 길이가 길어질수록 퍼져가는 현상이 보정을 통해 보정되어 영상의 오류 현상이 보정되는 것을 확인
- 스펙트로미터의 안정성을 위한 항진동 구조 설계
- 각 광학 부품에 대한 전용 마운트를 제작하고 2T의 알루미늄 베이스에 광 진행방향으로 각각 마운트가 전후 이동 가능한 조절부를 반영하여 제작
- 광학 관련 부품 및 케이스는 아노다이징하여 절연 및 온도에 의한 변형이 미연에 대처함.
- 진동에 취약한 광학계를 최적 설계를 통해 외력 및 진동에 대응 하도록 한 밀폐형 설계
- 이동 및 충격에 의한 물리적 힘에 의한 변형을 방지하기 위하여 스펙트로미터의 구조를 파악하고 그 구조를 반영

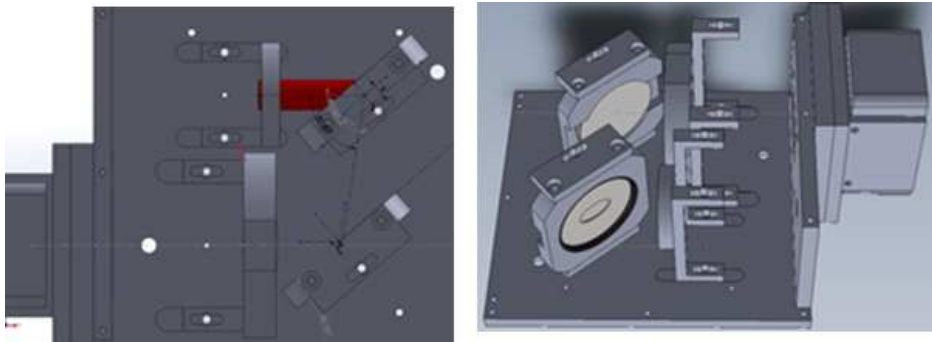


그림 168. 제작된 스펙트로미터 3차원 설계



그림 169. 제작된 스펙트로미터

- 스펙트로미터의 소형화
- 실험결과를 이용하여 스펙트로미터의 광 경로를 최소화 하여 설계
- 광학 관련 부품 및 케이스는 아노다이징하여 절연 및 온도에 의한 변형이 미연에 대처함
- 진동에 취약한 광학계를 최적 설계를 통해 외력 및 진동에 대응 하도록 한 밀폐형 설계
- 이동 및 충격에 의한 물리적 힘에 의한 변형을 방지하기 위하여 스펙트로미터의 구조를 파악하고 그 구조를 반영

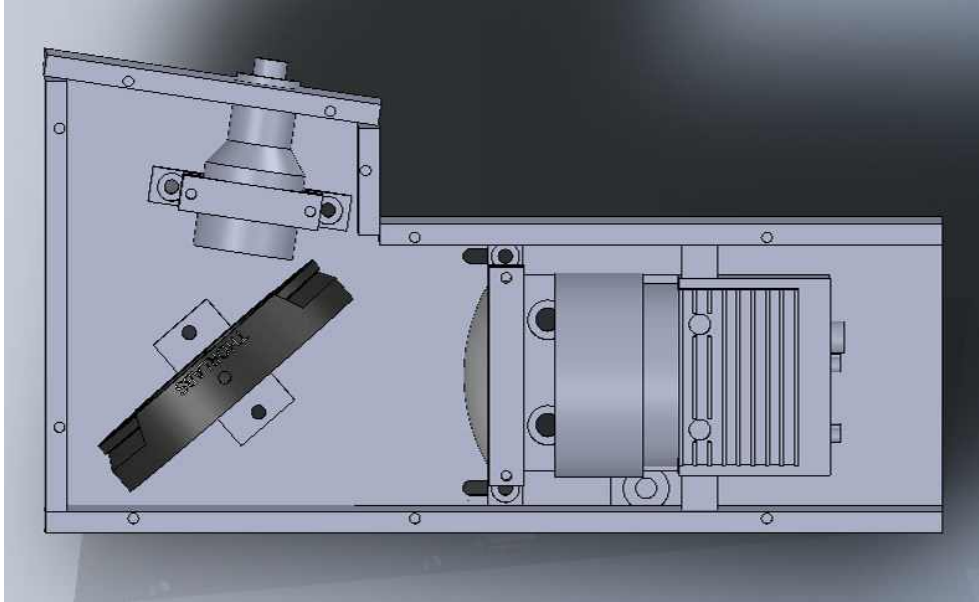


그림 170. 제작된 소형화 스펙트로미터의 3차원 설계

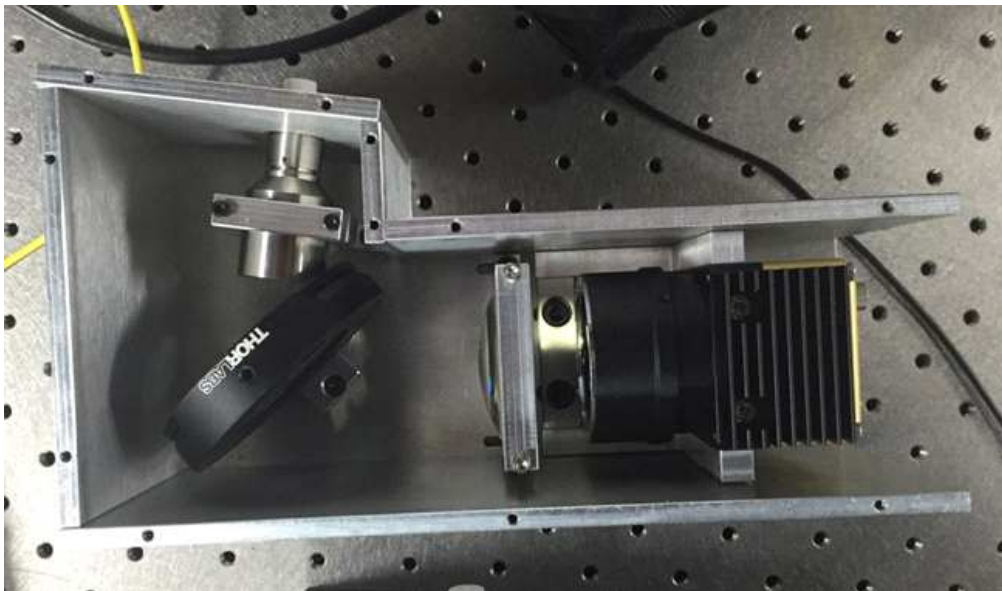


그림 171. 제작된 스펙트로미터

- 스펙트로미터의 안정화 및 최종 결과
- 2번의 제작을 기반으로 최종적으로 항온, 항습, 항진이 유지되는 밀폐형 원바디 형태의 스펙트로미터를 설계

- 광학 관련 부품 및 케이스는 아노다이징하여 절연 및 온도에 의한 변형이 미연에 대처함.
- 진동에 취약한 광학계를 최적 설계를 통해 외력 및 진동에 대응 하도록 한 밀폐형 설계
- 이동 및 충격에 의한 물리적 힘에 의한 변형을 방지하기 위하여 스펙트로미터의 구조를 파악하고 그 구조를 반영

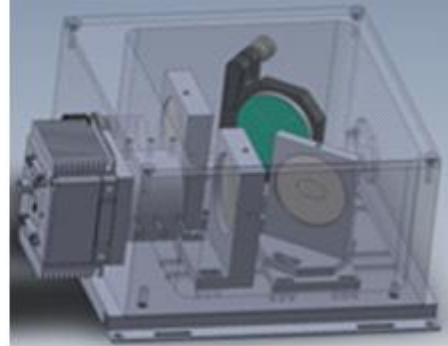
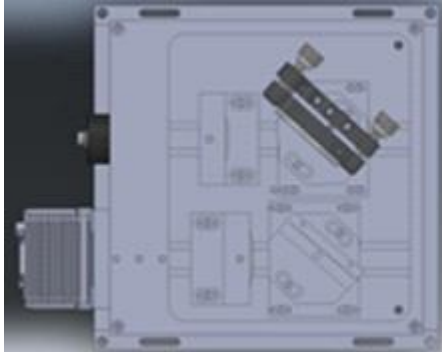


그림 172. 제작된 최종 스펙트로미터의 3차원 설계



그림 173. 제작된 최종 스펙트로미터

- 최종 스펙트로미터의 사양
 - ① 중심 파장 : 840 nm
 - ② 초고속 라인카메라 2K or 4K - 데이터 획득 속도 140 KHz
 - ③ 분광 대응 면적 : 20.48 mm x 20 μ m
 - ④ 투과형 분광기 (=1800 lpi)

(4) 스펙트로미터의 내구성 실험

- 스펙트로미터의 항온 실험
- 냉동 챔버에 스펙트로미터를 수납한 후 24시간이 지나고 다시 꺼내어 해동시킴
- 완전히 해동 된 후 스펙트로미터의 성능을 확인



그림 174. 아이스 챔버에서 꺼낸 직후의 스펙트로미터



그림 175. 약 2시간이 지난 후 스펙트로미터



그림 176. 완전히 해동된 스펙트로미터

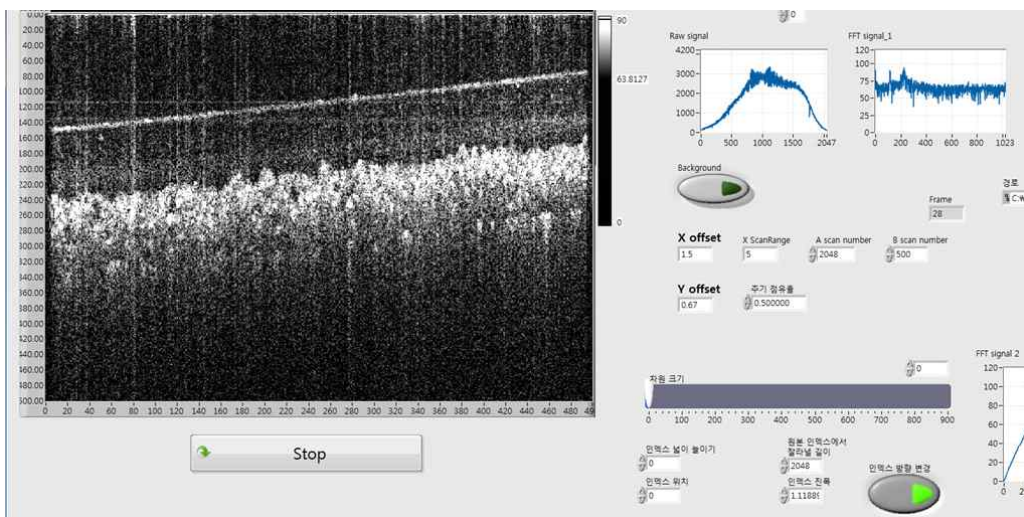


그림 177. 냉동 전 스펙트로미터의 파형과 IR카드 이미지

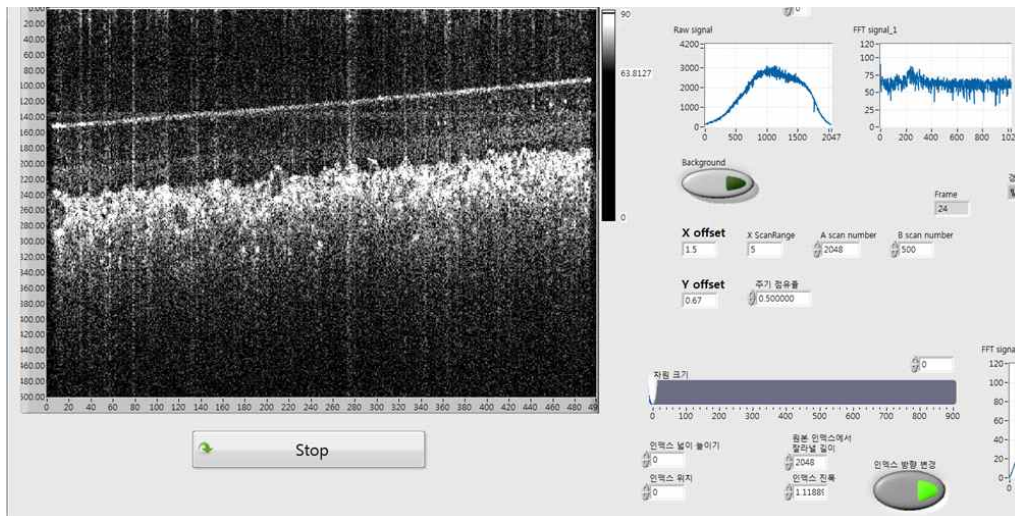


그림 178. 해동 후 스펙트로미터의 파형과 IR카드 이미지

(5) 1차년도 개발 기술의 상용화 검토

(가) 제품 생산 단가

- 개발 단계의 부품 단가를 기준으로 개발 시스템의 부품에 대한 제조 단가는 약 4천만원 선으로 산정되며 제조 인건비 및 추가 비용을 고려하면 해당 가격이 1억 원 안팎으로 예상됨.
- 개발 수준이 초고사양을 기반으로 수행되므로 보급형을 고려한 개발프로세서를 병행하고 주요 부품의 구매 단가 및 제조 단가의 절감 프로세서가 필요할 것으로 사료됨.
- 상용화를 대비한 공장 제조 라인 구축 및 대량 생산을 고려하면 판매 단가를 5천만 원으로 절감할 것으로 예상함.

(나) 제품의 상용화

- 당해 연도 개발 시제품의 현장 적용 정도를 판단하였을 때 개발 기술에 기반을 둔 영상화 장비로는 차년도 하반기에는 상용화가 가능함.
- 다음 연도 개발될 각과수의 해당 질병 판별 유무 알고리즘을 탑재한 시스템은 3차년도 중반 (2017년 4월)에는 제품 출시가 가능할 것으로 예상함.

다. 2차년도: Full range k-domain 선형화 기법 개발 및 병렬처리 신호처리를 이용한 실시간 초고속 광 단층촬영 소프트웨어 개발

(1) Full range k-domain 비선형 측정 기법 개발 및 선형화 소프트웨어 개발

(가) 깊이 방향으로의 이미지 왜곡과 이미지 속도를 향상시키기 위한 스펙트럼 보정 기법 개발

- 깊이 방향으로 이미지 왜곡이 생기는 이유는 k-domain의 비선형성 때문인데, 빛을 분광시키는 역할인 grating은 빛을 결상시킬 때, 결상되는 공간적 간격이 파장 λ 에 선형성을 가지도록 결상이 되며, k(wavenumber)와 λ 관계는 서로 역수 관계 $k=2\pi/\lambda$ 이므로, k-domain에서 비선형성이 발생

- K-domain의 비선형성을 보정하는 방법은 λ 값을 정확히 파악하여, 관계식 $k=2\pi/\lambda$, 으로 계산하여 k 값으로 변환한 뒤, k 값이 등간격이 되도록 샘플링을 재배치하는 방법임.
- Line scan camera가 2048또는 4096 등의 디지털화된 픽셀로 이루어져있기 때문에, 각 픽셀에 들어가는 파장을 OSA로 측정하여 정확하게 알 수 있다면 쉽게 해결 할 수 있음.

(나) 파장 변경과 이미지 향상을 위한 스펙트로미터 개발

- 능가 보급을 위해 단가가 비싼 1300nm 파장 대 광원에서 보다 저렴한 800nm 파장 대 광원을 사용할 수 있도록 스펙트로미터 개발
- 기존 스펙트로미터에서 쓰던 1300nm 파장 대 광학 컴포넌트를 800nm 파장 대에 맞는 광학 컴포넌트로 변경

표 95. 스펙트로미터를 구성하는 광학 컴포넌트

부품 목록	부품 이미지	사양	부품 역할	제조사
콜리메이터 (Collimator)		중심 파장 842nm, NA=0.25, FC/APC 타입	결합기를 거쳐 오는 빛을 샘플에 직선으로 이동하게 만들고, 샘플에서 맞고 나온 빛을 다시 결합기로 보내는 역할	Thorlabs
골드 미러 (Gold mirror)		직경= 50.8mm, 반사율 : > 96%	콜리메이터에서 나온 빛을 카메라 픽셀에 넣기 위해 경로를 변화시켜주기 위한 장치	Thorlabs
키네매틱 미러 마운트 (Kinematic mirror mount)		2축 컨트롤 가능, 각도 범위 = $\pm 3^\circ$	미러를 미세하게 컨트롤 하기 위한 장치	Thorlabs

그레팅 (Grating)		중심파장 =840nm, Grooves=1 800 1/mm	카메라 픽셀별로 다른 파장의 빛을 넣기 위해 빛을 파장별로 쪼개기 위한 장치	Wasatch Photonics
포커싱 렌즈 (Focusing lens)		직경= 50.8mm, 초점거리=1 00mm	빛을 포커싱 시켜서 파워를 모으는 역할	Thorlabs
라인 스캔 카메라 (Line scan camera)		해상도= 2048px, 속도= 140kHz	쪼개진 빛의 정보를 받아서 이미지를 만들어 주기 위한 장치	Basler

- 빛이 콜리메이터에서 라인 스캔 카메라까지 도달하는 과정을 Zemax 프로그램으로 시뮬레이션 진행
- 미리 시뮬레이션을 해봄으로써 스펙트럼미터를 제작하는데 있어서 시행착오를 줄임, 적절한 광학 컴포넌트를 선택하는 것에도 도움이 됨

	Surf>Type	Comment	Radius	Thickness	Material	Coating	Semi-Diameter	Conic	TCE x 1E-6	Par 1(unused)
0	OBJECT	Standard ▾	Infinity	0.1			0.0	0.0	0.0	
1	STOP	Standard ▾	Infinity	0.0			0.0	0.0	0.0	
2		Standard ▾	Infinity	17.0			0.0	0.0	0.0	
3	(aper)	Standard ▾	Infinity	2.2	D-ZK3M	THORB	3.3 U	0.0	-	
4	(aper)	Even Asphere ▾	-10.7	80.0		THORB	3.3 U	-0.7	0.0	0.0
5		Standard ▾	Infinity	0.0			7.2	0.0	0.0	
6		Coordinate Break ▾		0.0	-		0.0		-	0.0
7	(aper)	Standard ▾	Infinity	0.0	MIRROR		12.7 U	0.0	0.0	
8		Coordinate Break ▾		0.0	-		0.0		-	0.0
9		Standard ▾	Infinity	50.0			7.5	0.0	0.0	
10		Coordinate Break ▾		0.0	-		0.0		-	0.0
11	(aper)	Diffraction Grating ▾	Grating	Infinity	3.0	BK7	25.4 U	0.0	-	1.8
12	(aper)	Standard ▾	Infinity	3.0			25.4 U	0.0	0.0	
13		Coordinate Break ▾		0.0	-		0.0		-	0.0
14		Standard ▾	Infinity	30.0			7.5	0.0	0.0	
15	(aper)	Standard ▾	AC508-100-B	65.8	13.0	N-LAK...	THORB	25.4 U	0.0	-
16	(aper)	Standard ▾		-56.0	2.0	N-SF6...		25.4 U	0.0	-
17	(aper)	Standard ▾		-280.5	0.0		THORBSLA...	25.4 U	0.0	0.0

그림 179. Zemax 프로그래밍 설계 코드

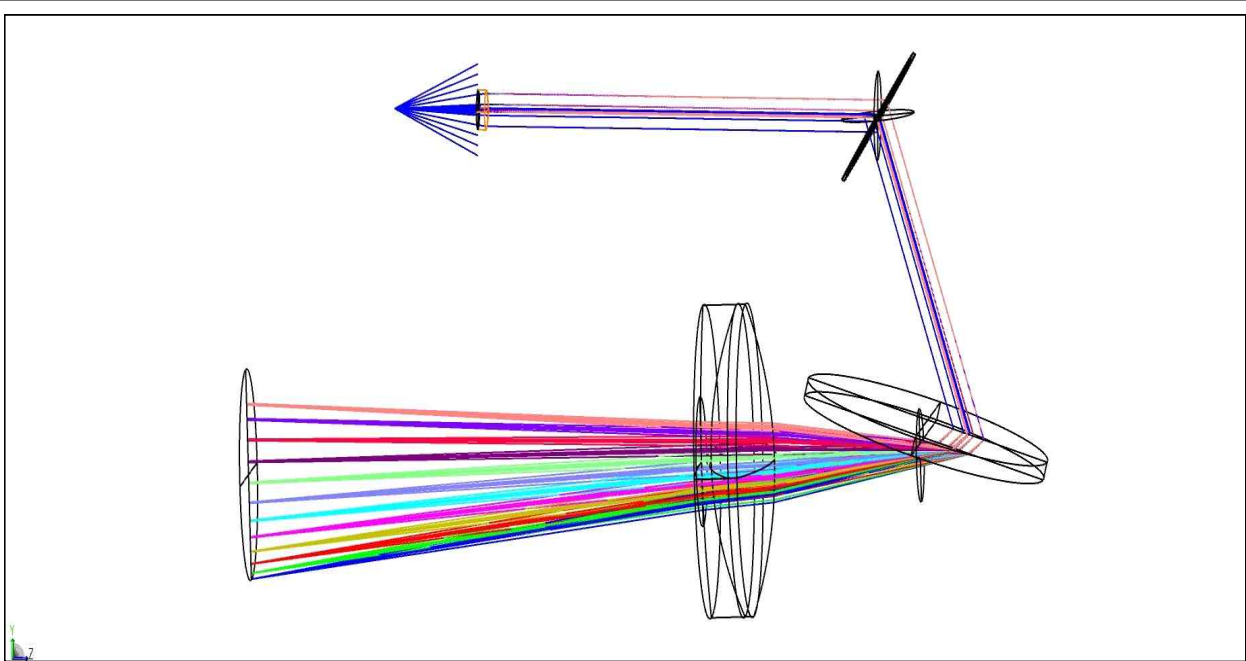


그림 180. Zemax 3D viewer를 통한 빛 진행 방향 확인

- 그레팅 각도에 따라 분광되는 정도를 시뮬레이션으로 미리 파악함
- 계산상 최적의 거리를 찾아내어 실제 시스템을 만드는데 참고하고 적용함

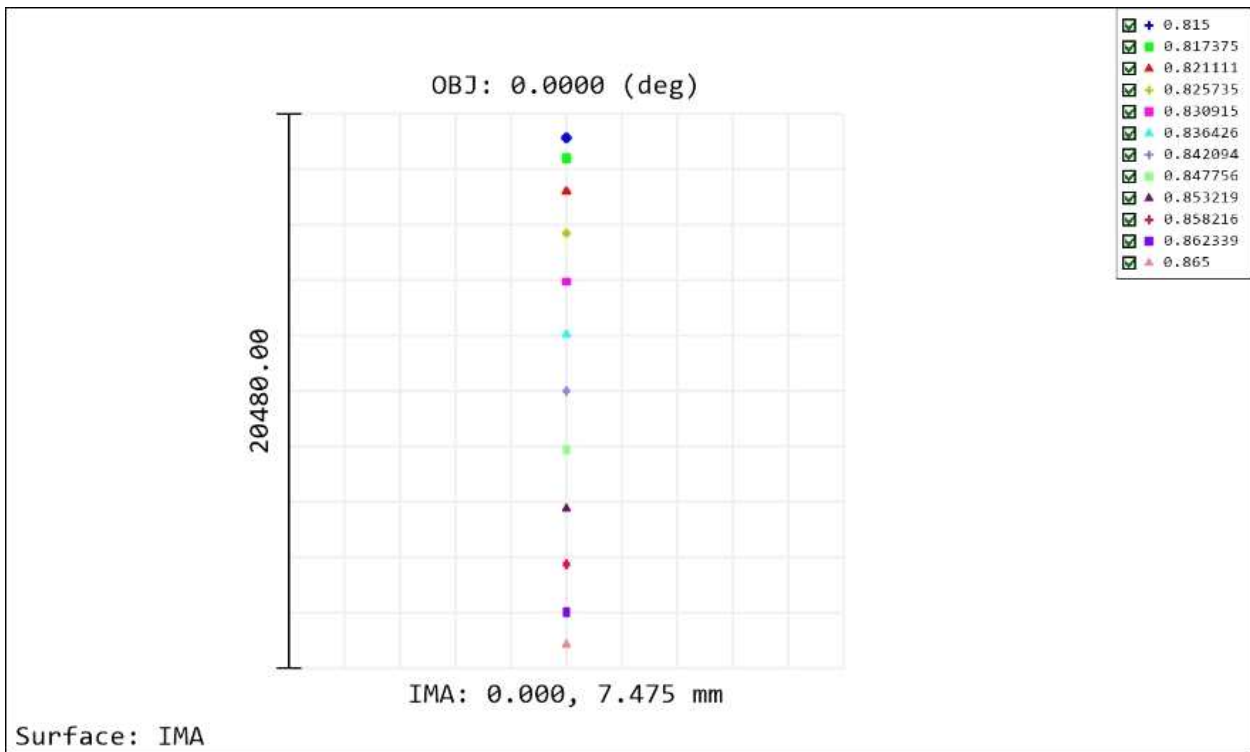


그림 181. Spot diagram을 통해 그레팅을 통해 나간 빛이 렌즈를 통해 포커스 되어 적절히 퍼진 것을 확인

- 마운트를 자체적으로 맞춤형 설계를 함으로써 보급성을 높일 수 있는 효과가 있음

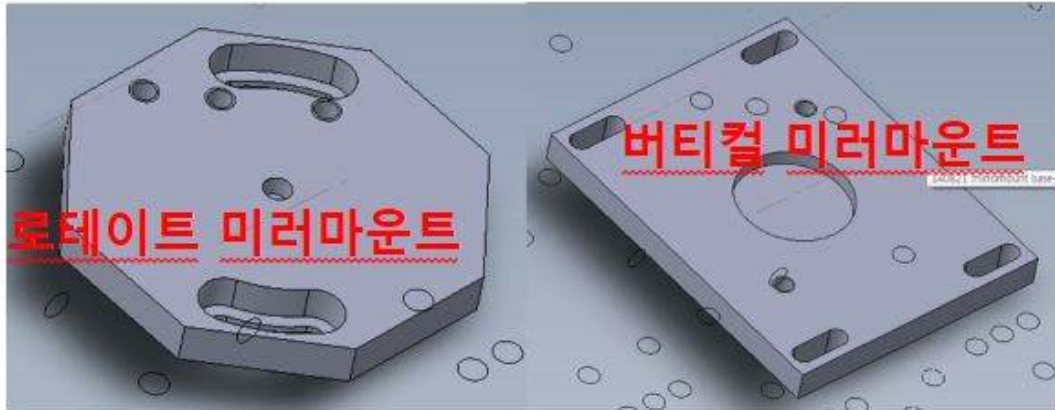


그림 182. 미러와 그레팅을 컨트롤하기 위한 마운트

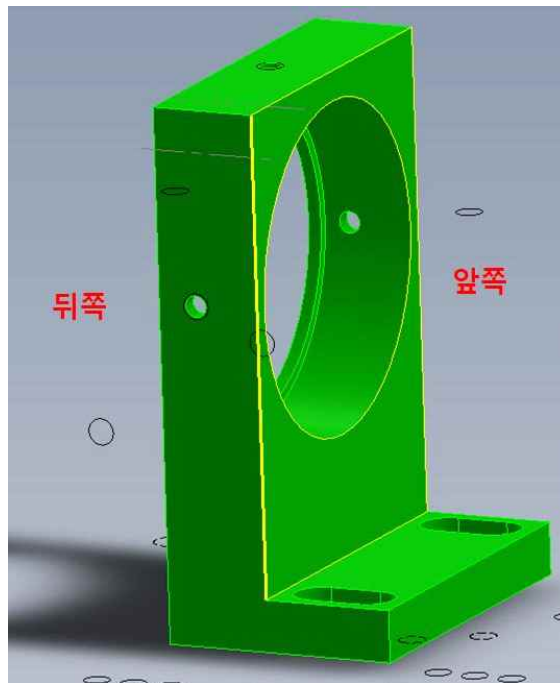


그림 183. 렌즈를 컨트롤하기 위한 마운트



그림 184. 카메라의 위치를 적절하게 컨트롤 할 수 있도록 해주는 마운트

- 알루미늄 베이스로 제작, 광 진행 방향으로 각각 마운트가 이동 가능하도록 조절부를 반영하여 제작함
- 아노다이징을 함으로써 절연 및 온도에 의한 변형을 최소화시킴
- 광학계는 미세한 움직임에도 변형될 수 있기 때문에 외력과 진동에 대응하도록 밀폐형으로 설계함.

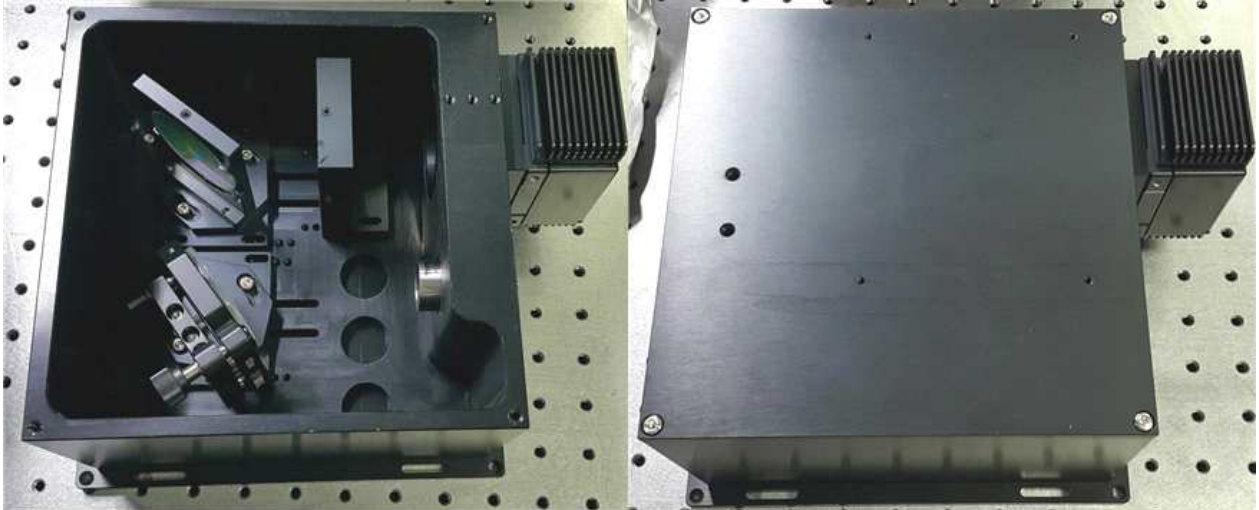


그림 185. 840nm 파장 대 광학 컴포넌트와 자체 제작한 구조물을 결합한 스펙트로미터

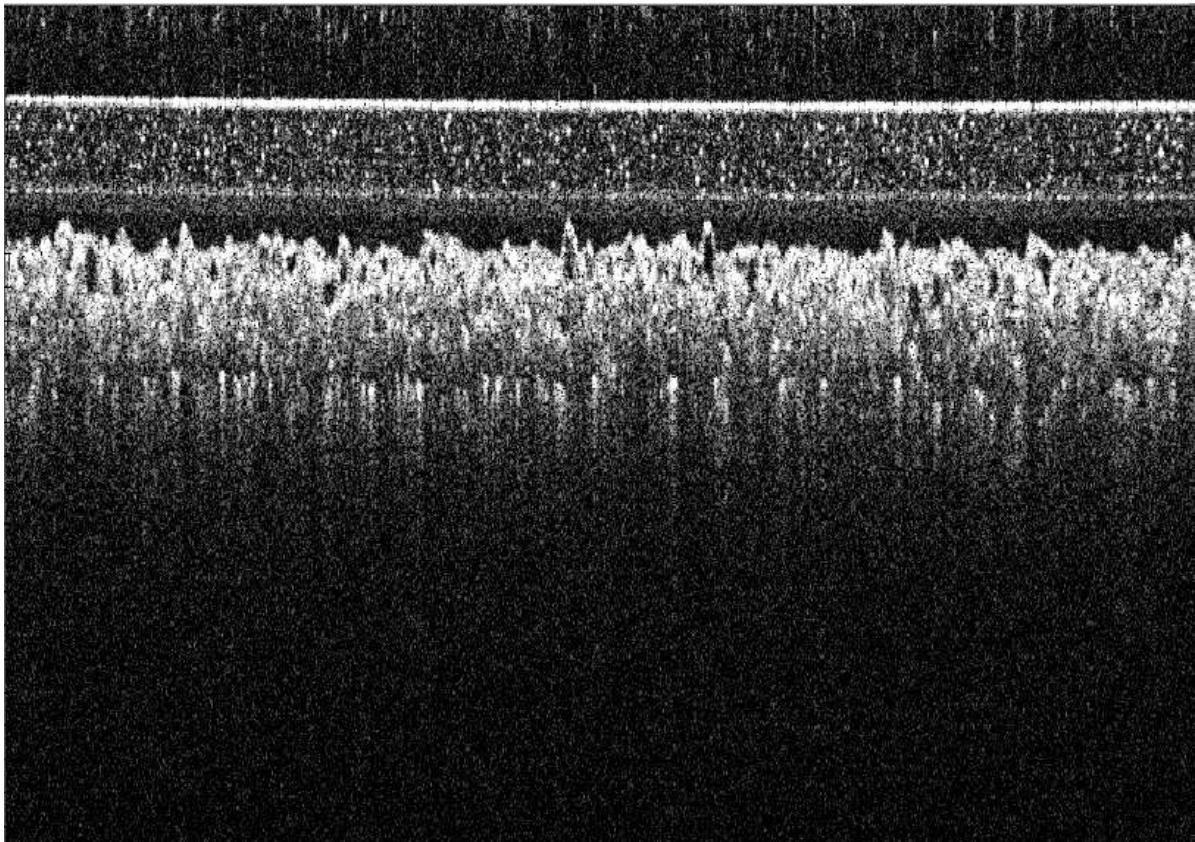


그림 186. 스펙트로미터 완성 후 IR카드 이미지 확인

(다) 파장 스캐닝 필터를 사용하여 입력 광원에 대한 파장별 픽셀 정보를 위한 자동화 시스템 구현

- 콜리메이터, 회절격자, 슬릿을 사용하여 파장 스캐닝 필터를 구현하여, 고정된 단파장의 빛을 파장을 조금씩 변화해가면서 각 픽셀에 들어가는 파장을 측정하여 k-space linearization을 할 수 있음.

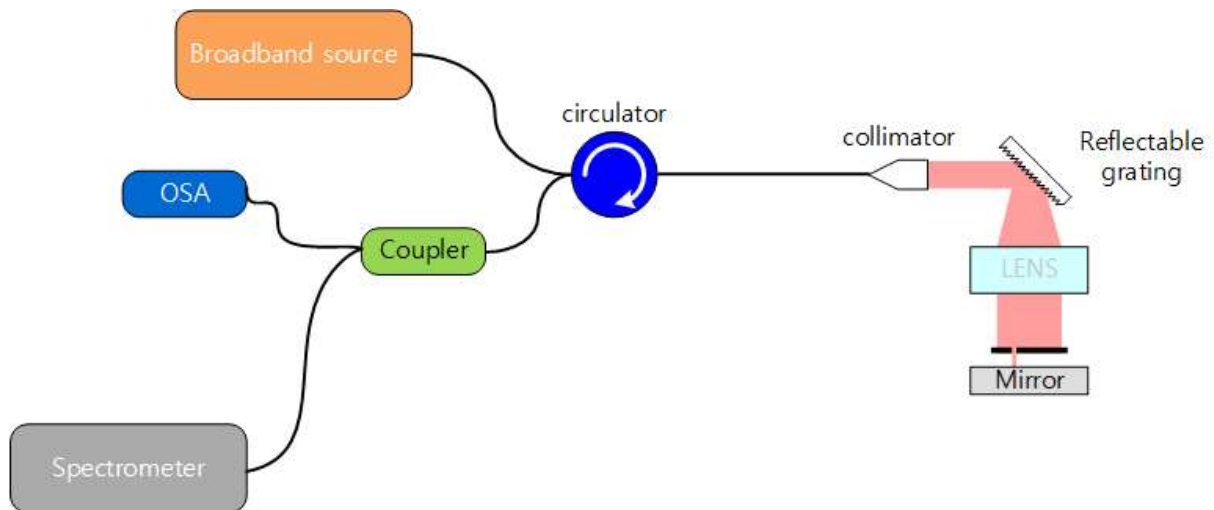


그림 187. Full range k-domain 선형화 시스템 개념도

- 자동화 시스템을 구현하기 위해 slit을 모터로 조절하는데 slit 위에 위치한 grating에 의해서 다른 파장이 공간상으로 분광되므로, slit을 이동시켜 OSA와 line scan camera로 입사되는 빛의 파장을 변환 시킬 수 있음.

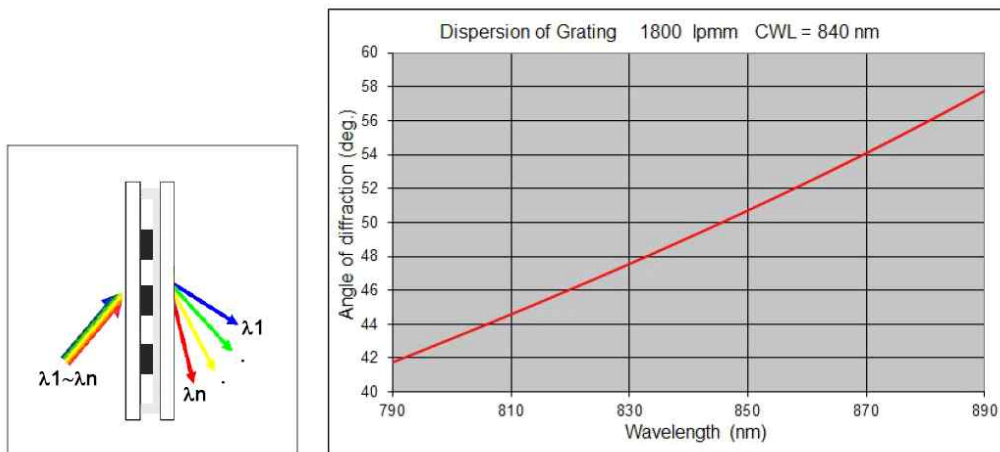


그림 188. Grating

- Line scan camera로 입사된 빛은 거의 단파장에 가까운 빛이기 때문에 line 별로 입력되는 신호는 wavelength에 해당하는 peak의 형태로 데이터가 획득됨.
- 획득된 신호의 center 부분과 OSA에 해당되는 wavelength를 1:1로 매칭시켜 50 pixel마다 wavelength에 관한 정보를 읽고 나머지는 interpolation 시켜 계산하도록 함.

- Motor를 통해 slit의 위치가 변화하면 라인카메라로 입사되는 파장이 변화하고 파장에 따라 특정한 픽셀로 입사되는 데이터를 얻을 수 있고, 일부의 빛을 광 커플러를 통해 OSA로 입사시켜 파장을 정확하게 측정하여 카메라의 픽셀에 대응되는 파장의 정보를 자동으로 얻을 수 있을 것으로 예상
- 현재 사용하고 있는 Wasatch photonics의 840 nm optics grating으로 시뮬레이션을 해보았을 때 840 nm 중심파장을 갖고 3 dB bandwidth 가 50 nm 일 경우, 815 nm~865 nm의 파장이 14 mm인 line scan camera로 입사되는데, 이 때 angle of incidence가 48.6°일 때를 기준으로 3 dB bandwidth를 가지는 파장의 각도가 10° 정도로 분광된다. 이 때 focal length가 40 mm 인 focusing lens로 빛을 집광시켜 line scan camera로 입사시킴.
- 본 Full range k-domain 선형화 시스템을 통해 SD-OCT에서 스펙트로미터 마다 서로 다른 k-linear 보정 값을 갖고 복잡한 광 교정을 통해야만 제품으로 출시 될 수 있는 단점을 보완하여 대량 생산 및 상업성을 높일 수 있을 것으로 예상

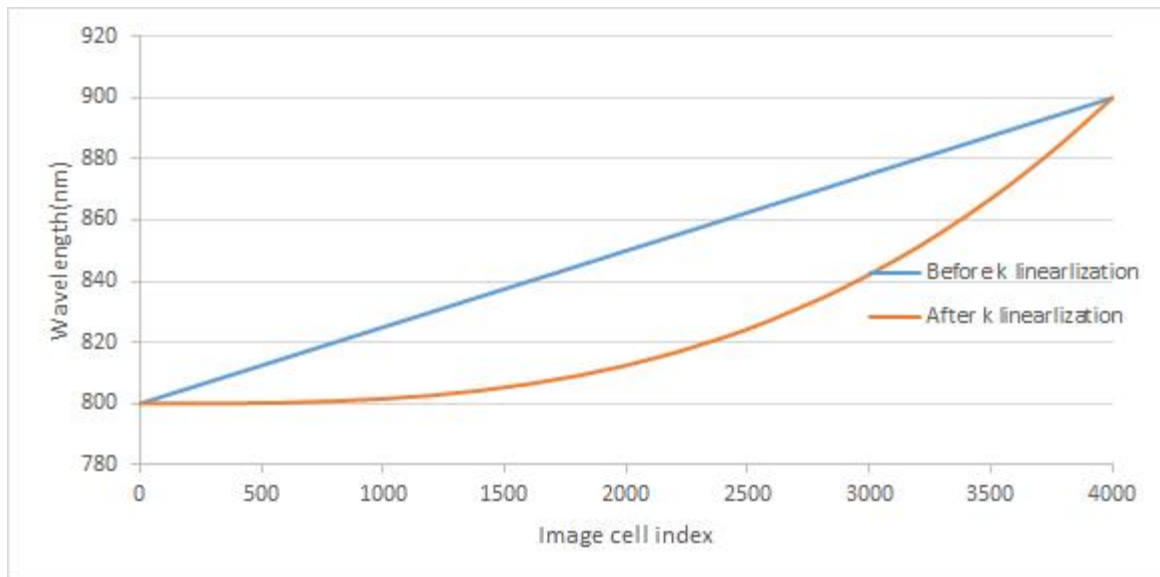


그림 189. 파장대별 라인스캔 카메라 화소간의 관계를 통한 K 선형성 측정 결과(녹색: 선형성의 보정성, 파랑: 실제 K-비선형성)

- 선형도 보정을 위한 어긋남 정도를 측정하기 위해 K domain의 Δk 의 선형성을 기반으로 하여 촬상소자의 위치 인덱스 값을 조사
- Δk 는 Optical Spectrum Analyser를 이용하여 측정하여 보정의 기준으로 사용
- 최소 0에서 최대 300 point까지의 어긋남이 계측됨
- 선형성의 어긋남은 분광기의 고유한 특성이므로 크게 변하지 않음
- 단 이 특성은 광원 및 분광계의 광학계 조정 및 배열 작업에 의존적이므로 주변의 진동성 환경에 영향이 크며 분광계의 외부 임펄스 충격에 의해 내부 광학 구조가 변형이 되면 보정작업 재시행이 필수

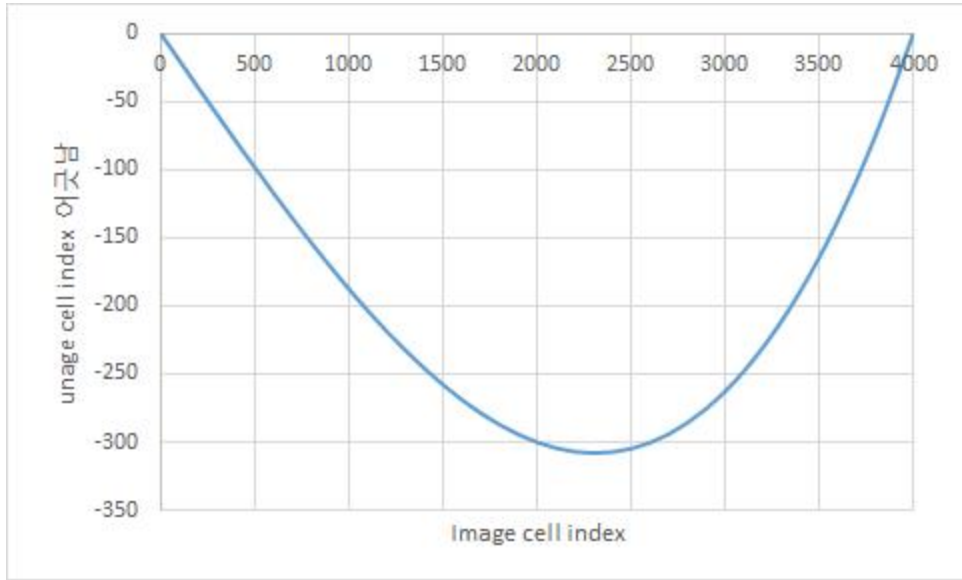


그림 190. 카메라 화소의 인덱스와 K domain의 선형성의 어긋남

(라) 파장 스캔 필터를 통해 획득된 비선형적인 파장 정보 대 픽셀 정보를 선형화하기 위한 소프트웨어 개발

- 파장 스캔 필터를 통해 획득된 비선형적인 파장 정보 대 픽셀 정보를 이용해, 파장에 선형으로 측정되는 OCT signal을 k domain에 선형하게 re-sampling하는 다양한 spline 알고리즘 및 소프트웨어의 개발과 구현
- k domain 선형화 알고리즘 구현 후 적용 이전과 이후의 PSF 및 영상 품질을 비교하여 알고리즘의 성능을 평가함

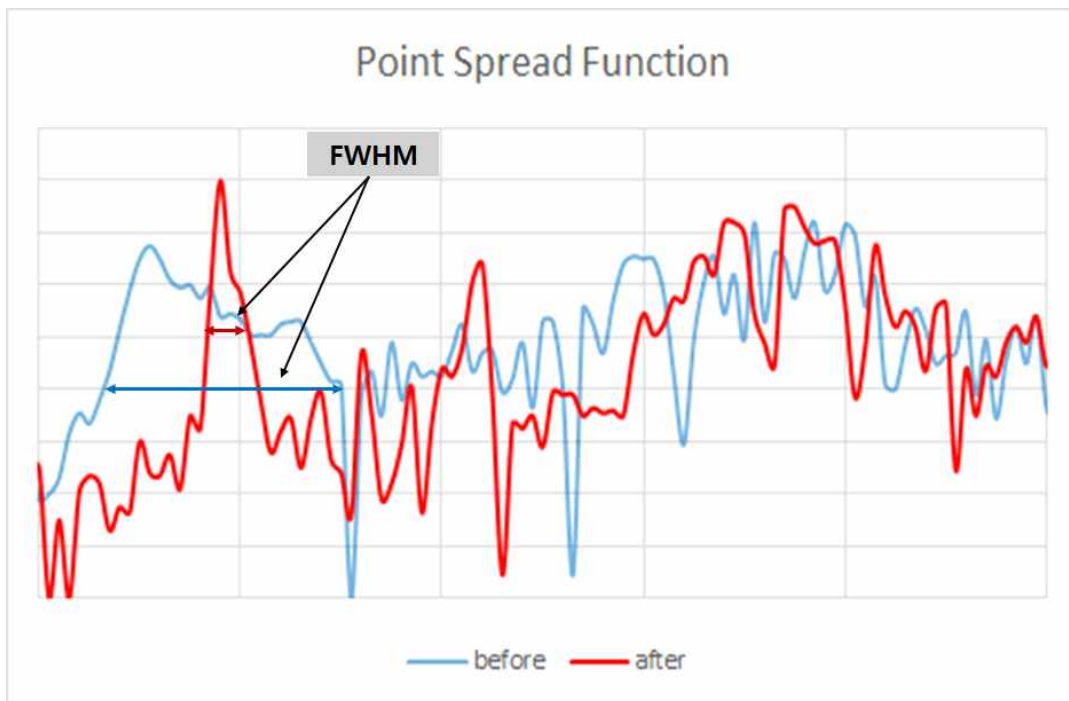


그림 191. 선형화 보정 전후 Point spread function 비교

- K 선형화 보정 전후의 point spread function 비교. 적색 라인이 k 도메인 선형화 이전의 결과, 파란색라인이 k domain 선형화 이후의 결과를 나타냄. PSF의 신호의 위치가 뚜렷해지며 신호 대 노이즈의 구분이 뚜렷해짐을 보임.

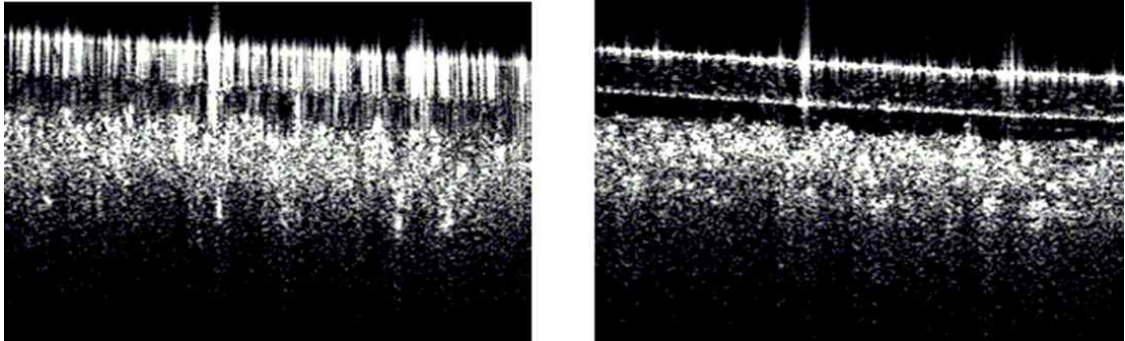


그림 192. 적외선 형광카드를 이용한 OCT의 영상화에서 K 선형성의 보정 전후의 비교

- 적외선 형광카드를 이용한 OCT의 영상화를 통해서 0 dB에서 광 경로 길이가 길어질수록 퍼져가는 현상을 k 선형성의 보정을 통해 영상의 오류현상이 보정되는 것을 확인함

(2) 2차원 단층 영상의 실시간 출력을 위한 고속의 신호처리 알고리즘 개발

- (가) 데이터 획득 간 시간 최소화를 위한 Multi-Thread 기반 파이프라인 병렬화 알고리즘 개발

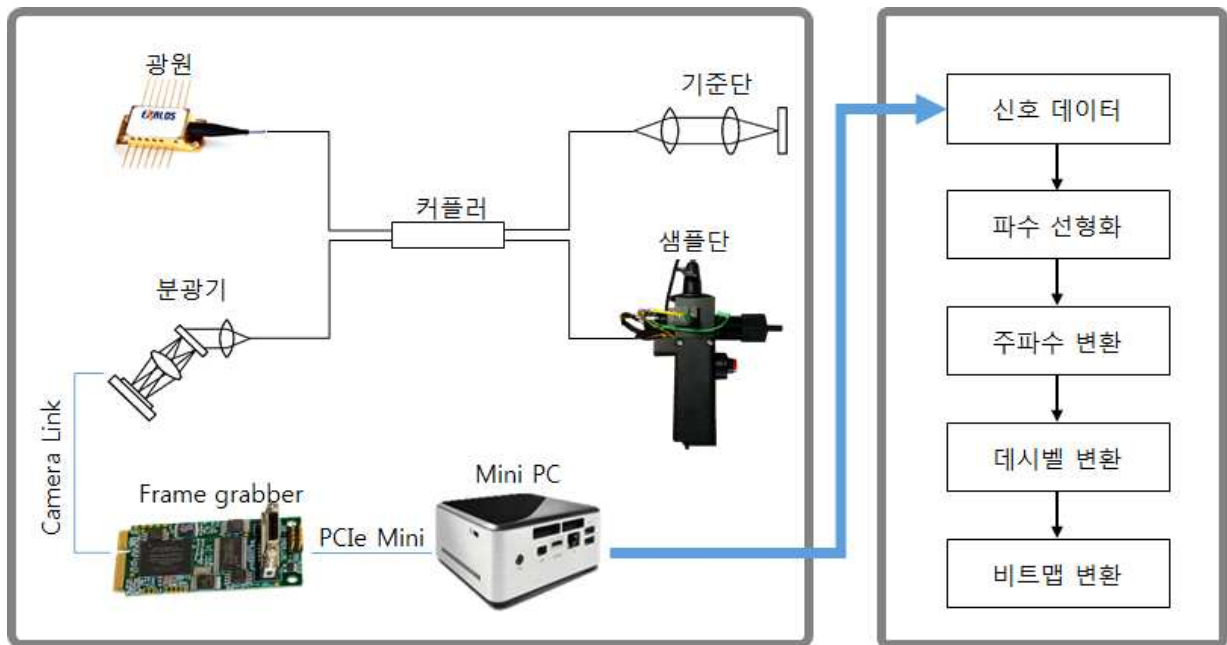


그림 193. OCT 신호 획득 및 신호처리 구조

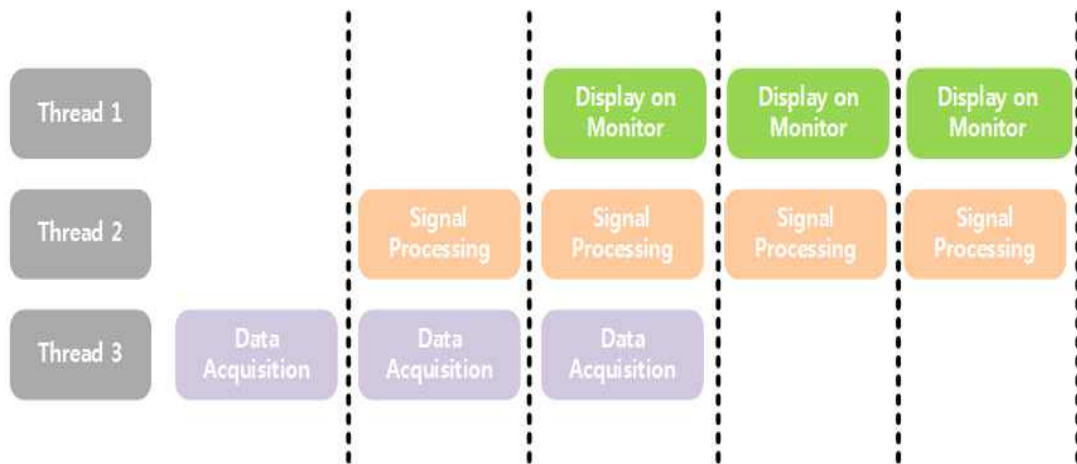


그림 194. Multi-thread processing을 통한 Pipeline parallelism의 개념도

- OCT 단층 영상을 획득 소프트웨어는 크게 데이터 획득부와 OCT 영상화를 위한 신호처리, OCT 단층영상 출력 3가지로 나눌 수 있다.
- 데이터 획득부, 신호처리부, 영상출력 부를 각각의 Thread 로 생성하여 데이터 획득 후 신호처리 과정 중에 멈추지 않고, 새로운 데이터 획득을 수행하도록 하여 데이터 획득 간 발생할 수 있는 시간 손실을 최소화 할 수 있다.
- Multi-Thread 로 구현 시 데이터 획득 시간 보다 신호처리 시간이나 디스플레이 시간이 짧아야 데이터 획득이 딜레이 되거나 데이터 손실 등의 병목 현상이 발생 하지 않는다.
- 데이터 획득은 1차년도와 동일한 CameraLink 인터페이스에 PCIe mini type의 프레임 그래버를 사용했다.

(나) 실시간 영상 출력을 위한 Multi-Processing 기반 고속 신호처리 알고리즘 개발

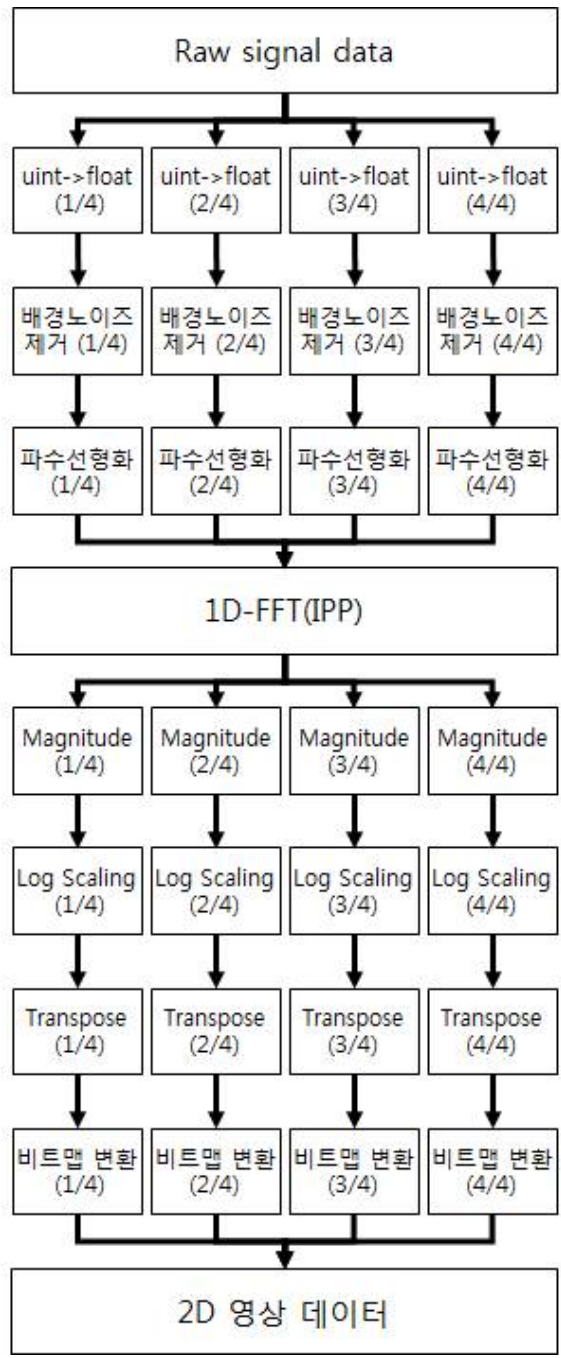


그림 195. Multi-Processing 기반 고속 신호처리 구조

- 신호처리 함에 있어 CPU에 존재하는 4개의 코어를 활용할 수 있도록 OpenMP(Open Multi Processing)을 사용하여 데이터를 각각의 코어에 분할하여 처리함으로써 코어 수인 약 4배의 속도 향상 효과를 얻음.

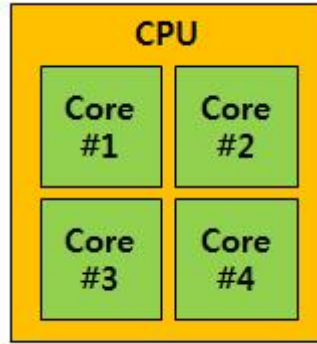


그림 196. Multi-Core CPU

- ① OpenMP 는 Intel, AMD, NVIDIA, IBM 등 주요 하드웨어/소프트웨어관련 기업들이 함께 정의한 멀티코어 시스템과 공유메모리 환경에서 쉽게 사용할 수 있는 병렬처리 API이다.
- ② OpenMP 기법을 사용하여 공유 메모리 다중 처리 API를 적용하며, 병렬 프로그래밍을 지원해 고속 시그널 처리 환경 하에서 안정적인 시스템을 구축함

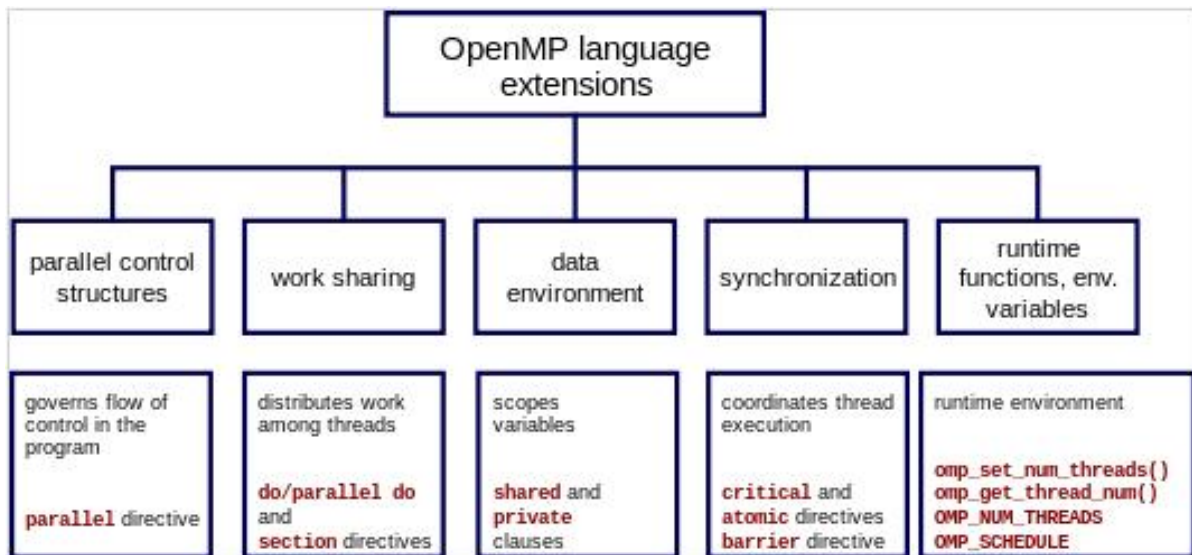


그림 197. OpenMP의 구조도 예시

- ③ OpenMP는 프로그램의 병렬화를 통한 퍼포먼스 향상을 실현 가능하게 하며, 따라서 멀티 코어 CPU를 사용하는 시스템에 있어서 병렬화가 가능한 부분의 프로그램 코드에 있어서 코어 수가 늘어남에 따라 성능적 이점을 얻을 수 있는 방향으로 시스템 구축이 가능

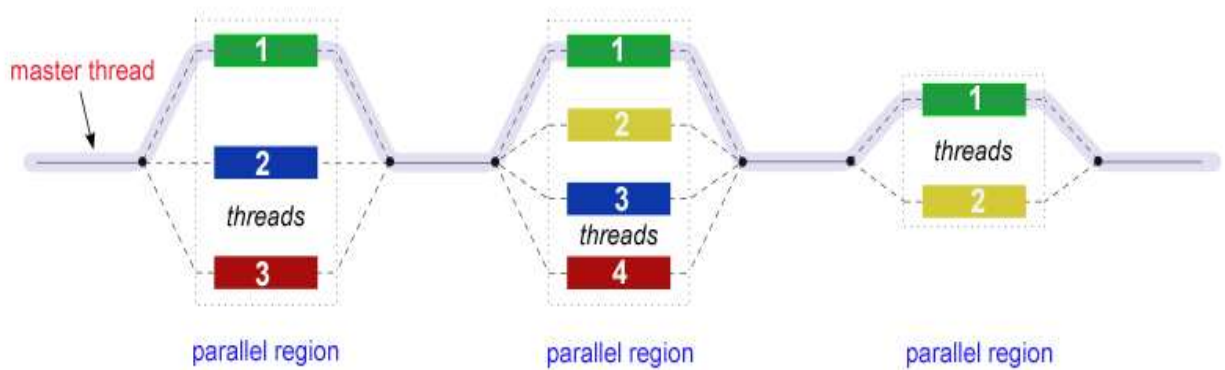


그림 198. 프로그램의 병렬화가 가능한 부분의 성능 향상 개념도

④ 프로그램의 병렬화에 있어서 문제시 되는 부분 중 하나는 데이터의 메모리 처리 과정에서의 코어간 공유에서 이슈가 발생함. 따라서 이러한 문제를 해결하는 방법에 대해, OpenMP의 Uniform/Non-Uniform Memory Access 방식을 통해 시스템의 메모리 공유 안정성과 퍼포먼스 향상을 기대할 수 있음

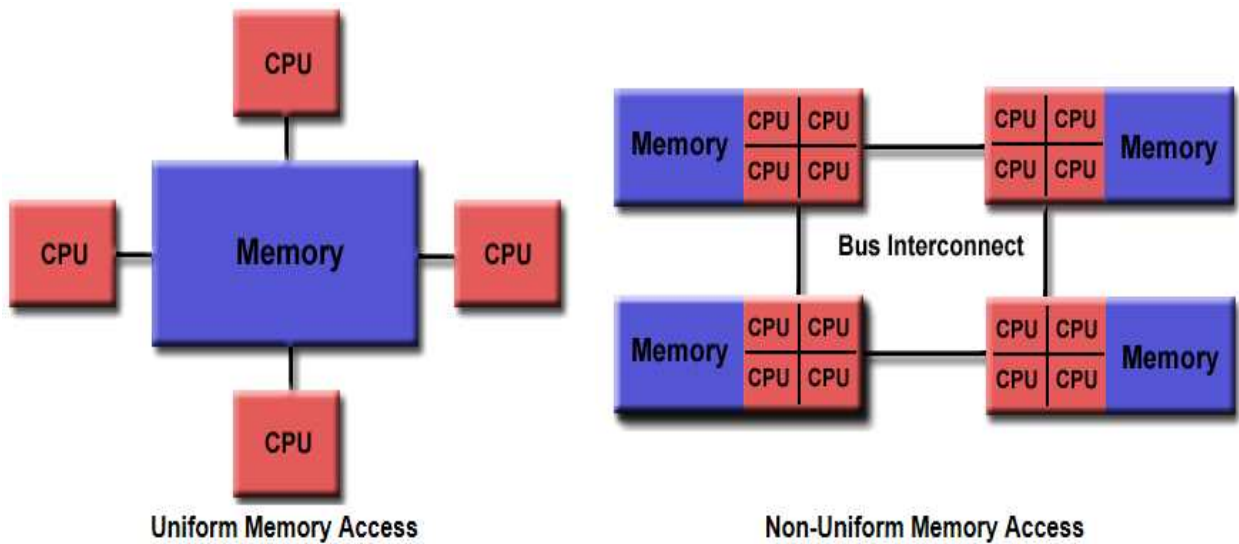


그림 199. Uniform/Non-Uniform Memory Access 방식의 개념도

⑤ OpenMP의 기능들 중 함수의 병렬화를 명시해서 사용가능한 경우, 프로그램 구문을 지정해서 병렬화를 명시할 수 있는 경우, 반복 계산을 지정하는 경우 등이 나누어져 있음. 프로그래밍 과정에서 이러한 병렬화가 이루어질 수 있는 지점을 명시함으로써 인해, 좀 더 효율적인 퍼포먼스 향상을 얻을 수 있음.

Clause	Directive					
	PARALLEL	DO/for	SECTIONS	SINGLE	PARALLEL DO/for	PARALLEL SECTIONS
IF	●				●	●
PRIVATE	●	●	●	●	●	●
SHARED	●	●			●	●
DEFAULT	●				●	●
FIRSTPRIVATE	●	●	●	●	●	●
LASTPRIVATE		●	●		●	●
REDUCTION	●	●	●		●	●
COPYIN	●				●	●
COPYPRIVATE				●		
SCHEDULE		●			●	
ORDERED		●			●	
NOWAIT		●	●	●		

그림 200. 각 OpenMP 기능들과 병렬 기능의 사용 가능 여부

- ⑥ OpenMP 는 대부분의 C/C++/Fortran 컴파일러에서 지원하며 현재 소프트웨어 개발환경인 Visual studio 에서도 2008 이 후 버전부터 OpenMP 2.0을 지원하고 있으며, 사용시 /openmp 컴파일 옵션 활성화만으로 사용이 가능하다.
- ⑦ OpenMP 는 몇 개의 지시어만으로도 구현이 가능하며, 주로 반복문에 적용하기 쉬우며, 동일한 작업이 아닌 서로 다른 작업이라도 Multi-Task 환경으로 구축하여 수행이 가능하다.

표 96. OpenMP 지시어

지시어	내용
#pragma omp parallel	지정된 Thread 수 만큼 Thread 를 생성한다.
#pragma omp for	다음 for() 구문을 생성된 Thread 로 배분하여 수행한다.
#pragma omp parallel for	지정된 Thread 수 만큼 생성 후 다음 for() 구문을 배분 수행한다.
#pragma omp critical	Critical Section 을 설정한다.

#pragma omp barrier	모든 Thread에서 barrier 이전 구문 종료 후 다음 구문이 수행된다.
#pragma omp master	master Thread 만 수행된다. (※ 주로 생성된 Thread 수 확인 등의 용도)
#pragma omp atomic	다음 구문을 atomic operation 으로 수행한다. (※ sum++ 시 누락X)
#pragma omp section	하나의 Thread 가 수행할 section 을 지정합니다.

- ⑧ OpenMP 는 공유메모리 환경을 기반으로 하기 때문에 사용 시 경우에 맞는 Data의 공유속성을 설정해줘야 된다. Thread 간 공유되는 Data 의 경우 Shared 속성을 선언해야 되며, loop 문의 loop index 변수처럼 공유되지 않는 변수의 경우 private 속성을 선언해줘야 한다.
- ⑨ 일반적으로 Sumation 이나 Averaging 기능처럼 사용 시에는 loop 반복 중 스레드간 상호 업데이트가 되는 경우이기 때문에 반드시 reduction 공유속성을 선언해줘야 한다. 선언하지 않았을 경우에는 상호 업데이트가 제대로 이루어지지 않아 결과 값이 다르게 발생할 수 있다.

표 97. OpenMP 데이터 속성

Attribute	내용
default	(shared none) 설정을 할 수 있다.
shared(var1,var2...)	Thread 간 공유속성을 가지는 변수를 설정한다.
private(var1,var2...)	각 Thread 마다 다른 값을 갖는 공유되지 않는 변수를 설정한다.
reduction(op1:var1,...)	op(8 연산자=+,-,*,&, ,^,&&,) 의 반복계산 수행 시 사용 e.g.)지시어: #pragma omp parallel for reduction(+:sum)

- ⑩ OpenMP 의 지시어는 별다른 헤더 없이 사용이 가능하지만, OpenMP 에 대한 설정은 omp.h 헤더가 필요하다. omp.h 에는 Multi-Processing 시 생성되는 Thread 수 설정이나 생성된 Thread 수 확인, 임계영역 설정 해제 등의 몇가지 기능 함수들을 사용할 수 있다.

표 98. omp.h 함수

함수	내용
omp_set_dynamic(TRUE)	생성되는 Thread 수의 동적/지정
intomp_get_dynamic()	Thread수 동적 지정 설정 값을 가져온다.

omp_set_num_threads(num)	생성할 Thread 수를 설정한다.
int omp_get_num_threads()	생성할 Thread 수 설정 값을 가져온다.
int omp_get_dynamic()	Thread수 동적 지정 설정 값을 가져온다.
omp_init_lock(&omp_lock_t)	lock 객체를 초기화 한다.
omp_set_lock(&omp_lock_t)	해당 lock 객체의 블록에 임계 영역으로 설정을 한다.
omp_unset_lock(&omp_lock_t)	해당 lock 객체의 블록에 임계 영역을 해제한다.

⑪ 자체 병렬화 수행을 하여 OpenMP 병렬화 효과가 없는 FFT(Fast Fourier Transform) 연산을 제외한 전처리 부분인 형변환, 배경노이즈 제거, 과수선형화와 영상화를 위한 후처리인 테시별 영상 획득을 위한 Magnitude와 Log scaling 연산, 영상의 세로축을 깊이로 보기 위한 보기 위한 전치 연산, 8bit Gray 비트맵 변환 모든 과정에서 OpenMP를 사용하여 속도 향상 효과를 얻을 수 있었다.

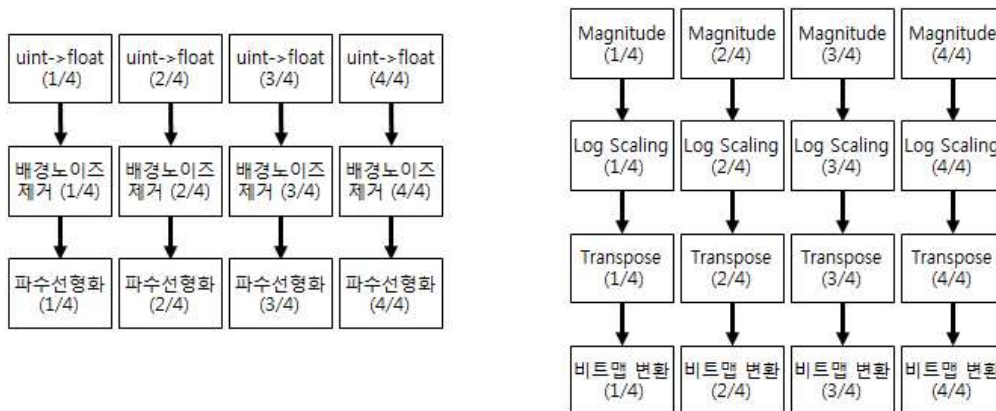


그림 201. 신호처리 중 OpenMP 가 사용된 연산

(다) 정의된 고속 신호처리 라이브러리 IPP(Integrated Performance Primitives)를 활용한 고속 신호처리 알고리즘 개발

- ① 출력된 신호를 Signal Processing 하는데 있어서, Intel IPP 방식을 사용함.
- ② IPP는 CPU를 활용한 고속 연산 라이브러리로 Intel社에서 영상 및 신호, 비전, 스토리지, 보안등 다양한 분야에서 사용되는 최적화된 고성능 함수를 제공한다.
- ③ IPP는 각각의 명령어 단위, 복수의 데이터 단위를 CPU에 내장되어 있는 MMX 기술과 스트리밍 SIMD(Single Instruction Multiple Data) 확장 명령어를 사용하여 명령어의 병렬화를 실현시켜 주어, 단위 시간당 연산 처리 개수를 늘릴 수 있는 기술임. 따라서 대용량의 데이터를 짧은 시간에 처리해야 하는 경우, 단일 스레드에서의 일반적인 CPU 연산 작업에 비해 더 많은 데이터를 처리 가능하기 때문에 안정적인 시스템의 구성이 가능함

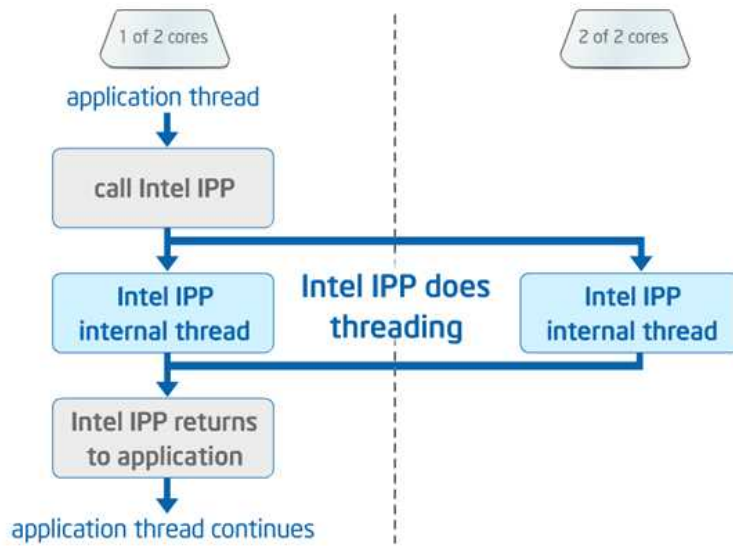


그림 202. Inter IPP의 데이터 흐름 개념도

④ SIMD란 한번의 명령어 로드를 통해 여러 개의 데이터를 처리하는 것을 말하며, 여기에는 CPU 에 mmx, xmm, ymm 등의 레지스터가 있어야 사용가능한 기능으로 각 CPU 사양으로 기록되어 있다.

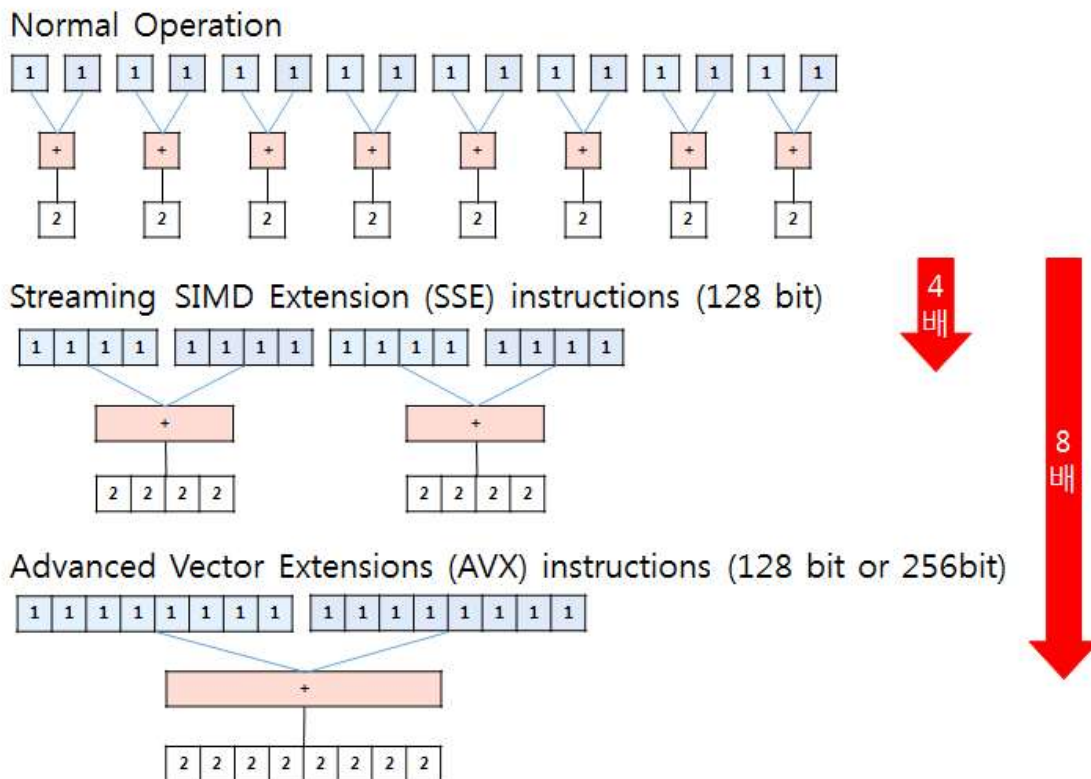


그림 203. SIMD 개념

⑤ Intel IPP의 경우 다중 코어와 멀티 스레드 시스템에 최적화 되어 있기 때문에, 이러한 하드웨어 및 소프트웨어 사양에 맞추어서 프로그램 작성 및 시그널 프로세싱을 실현할 경우, 더 높은 퍼포먼스의 향상이 가능함

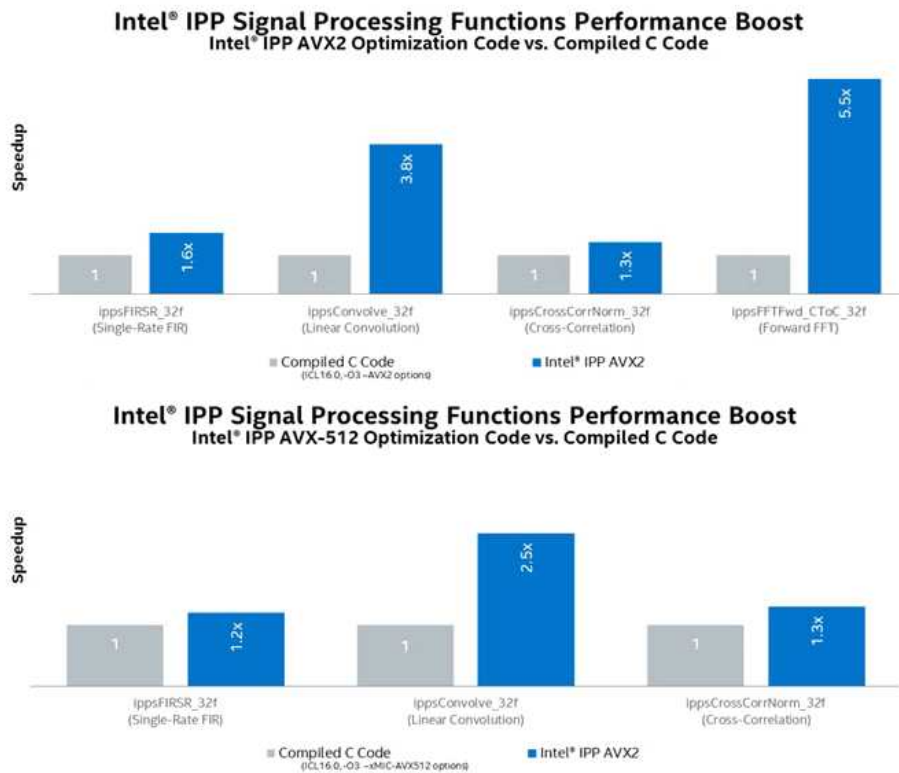


그림 204. Intel IPP를 사용할 경우의 퍼포먼스 향상 정도 벤치마크 예시

⑥ 효율적인 데이터 관리를 위해 IPP에서는 독자적인 데이터 형식 구조를 가지고 있다. 그로 인해 병렬화 처리에 필요한 헤더 구조 및 비트 레이아웃 구조를 가지고, 벡터 계산의 효율성 향상을 꾀할 수 있음

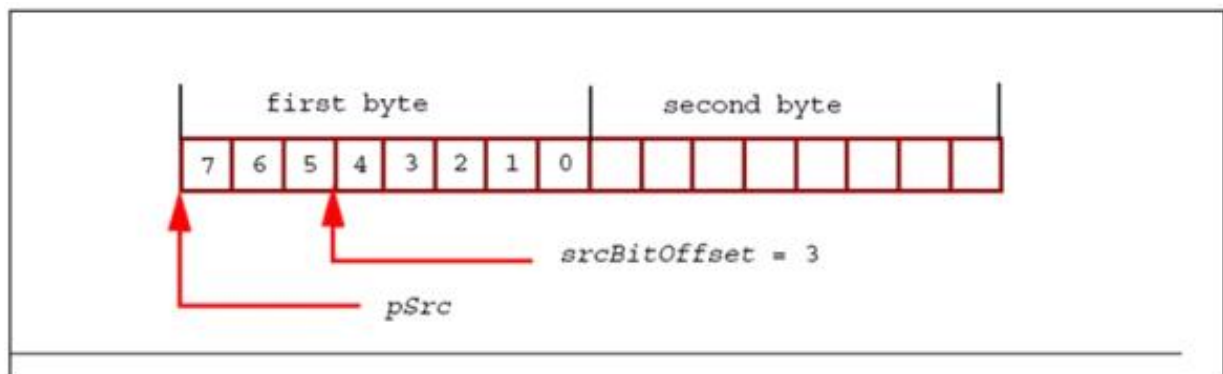


그림 205. IppsCop_1u의 비트 레이아웃 함수 구조 예시

Type	Usual C Type	Intel IPP Type
8u	unsigned char	Ipp8u
8s	signed char	Ipp8s
16u	unsigned short	Ipp16u
16s	signed short	Ipp16s
16sc	complex short	Ipp16sc
32u	unsigned int	Ipp32u
32s	signed int	Ipp32s
32f	float	Ipp32f
32fc	complex float	Ipp32fc
64s	__int64 (Windows*) or long long (Linux*)	Ipp64s
64f	double	Ipp64f
64fc	complex double	Ipp64fc

그림 206. IPP의 독자적 데이터 형태와 C 언어의 일반적 데이터 형태의 비교 예시

- ⑦ IPP를 이용한 병렬화를 실시할 경우, 전체의 데이터는 각각의 스레드에서 접근하는 것으로 인해 비효율성이 발생함. 이러한 점으로 인해 프로세싱 파이프라인에서의 독립성이 요구된다. 따라서 메모리에서 잘못된 데이터를 전송하거나, 재입력이 요구되는 경우가 발생하는 등 시스템의 성능 저하가 발생함. 이러한 점을 극복하기 위해 더 낮은 레벨에서 더 빠른 캐시 메모리를 사용하는 하드웨어적인 방법 외에, 캐시 최적화를 통한 퍼포먼스 상승을 기대 가능함. 이러한 캐시 최적화 방법에는 로컬 데이터를 각 연산 처리 단계에 따라 연합하는 것으로 달성 가능함. 이러한 방식으로 인해 IPP의 메모리 사용의 효율성을 증대시킴
- ⑧ IPP에 존재하는 각종 필터들을 통해 Signal Processing 과정에서 데이터 필터링에 필요한 요소에 적용할 수 있는 가능성이 있음. 이러한 필터들의 경우, IPP에서 사용가능한 버퍼 메모리를 사용하여 필터링의 효율성 증대를 꾀할 수 있음.
- ⑨ IPP의 경우 Thread를 활용한 병렬처리보다 SIMD 개념의 최적화 함수가 많기 때문에 OpenMP Multi-Processing 과 함께 사용했을 때 그 효과가 배가된다.
- ⑩ 1D/2D 데이터 처리를 할 수 있는 대부분의 연산관련 함수가 정의 되어 있기 때문에 신호처리 과정에서 필요한 대부분의 연산을 IPP의 Signal Processing 함수와 Image Processing 함수를 사용하여 수행함.
- ⑪ unsigned short int 형태의 원 신호를 float 으로 변환하는 형변환 과정과 배경 노이즈 제거, FFT, Magnitude, Log scaling, Transpose 연산을 IPP 연산으로 구현함.
- ⑫ IPP를 사용한 FFT 연산의 경우 OpenMP 내에서 사용했을 경우 공유 메모리 충돌되는 부분이 있어, FFT 연산을 수행부의 경우 OpenMP Critical Section을 설정하여 수행함.

```

// FFT
#pragma omp critical
{
    ippsFFTInv_CToC_32f( );
}

```

그림 207. FFT 수행을 위한 OpenMP Critical Section

(라) OCT 영상화를 위한 신호처리 알고리즘 개발

- ① 스펙트럼 영역 OCT의 간섭신호 데이터는 분광기에서 받을 수 있음.
- ② 분광기에 의해 파장단위로 분광된 신호를 파수 축으로 봤을 때 생기는 주파수 성분이 깊이정보를 나타내게 됨. 하지만 분광기에 디텍터로 사용되는 라인스캔 카메라의 센서 픽셀에는 그레이팅에 의해 분광 회절 되는 빛이 수광되기 때문에 파수에 선형한 데이터를 얻을 수 없음.

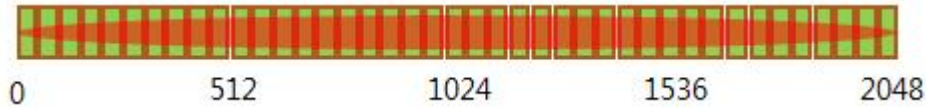


그림 208. 라인스캔 카메라의 센서

- ③ 올바른 깊이 정보를 얻기 위해서는 파수선형화를 위한 보정 알고리즘이 필요함.
- ④ Full range k-domain 선형화 시스템에서 완성된 스펙트로 미터의 파수에 비선형성 정도를 측정하고, 이 데이터를 기반으로 라인스캔 카메라 픽셀들이 파수에 선형화 되기 위한 Shift 인덱스를 얻을 수 있음.

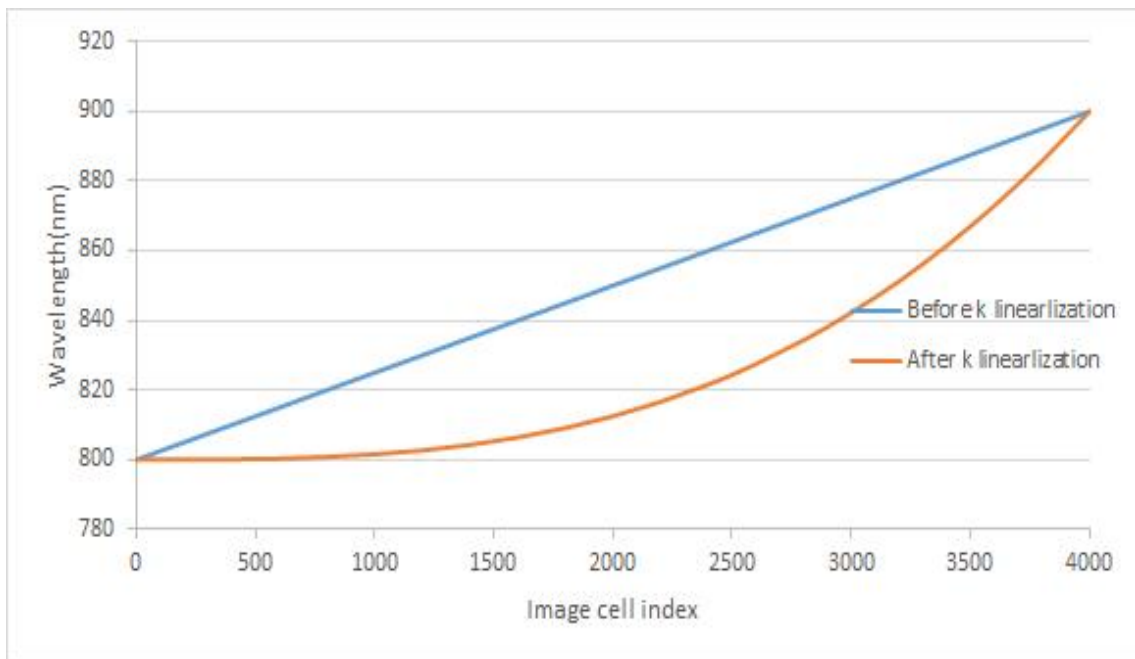


그림 209. Full range k-domain 선형화 시스템에서 측정된 비선형성 측정 결과(녹색: 선형성의 보정성, 파랑: 실제 K-비선형성)

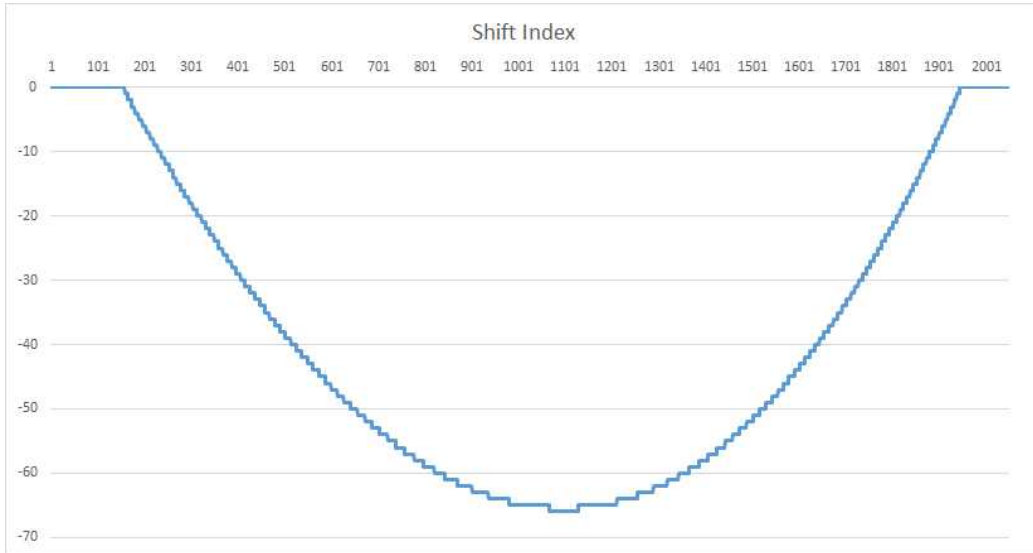


그림 210. Full range k-domain 선형화 시스템에서 획득한 파수보정 Shift 인덱스

- ⑤ 파수보정 Shift 인덱스를 기반으로 획득한 원 신호에 보간하면 파수에 선형화된 데이터를 얻을 수 있다. 선형 보간법, 스플라인 보간법등 다양한 보간법들이 많지만, 고속의 시스템을 위해서 비교적 연산이 간단하면서 좋은 결과를 얻을 수 있는 선형 보간법을 사용할 수 있다.
- ⑥ 선형보간 법은 아래 그림과 같이 알고 있는 2 빨간점 사이에 파란색 점의 값을 예측하는 것으로 빨간점 2개를 선형으로 연결하여 그렸을 때의 그 중간에 위치한 값을 예측하는 것을 말하며, 하기와 같은 정규식을 갖는다.

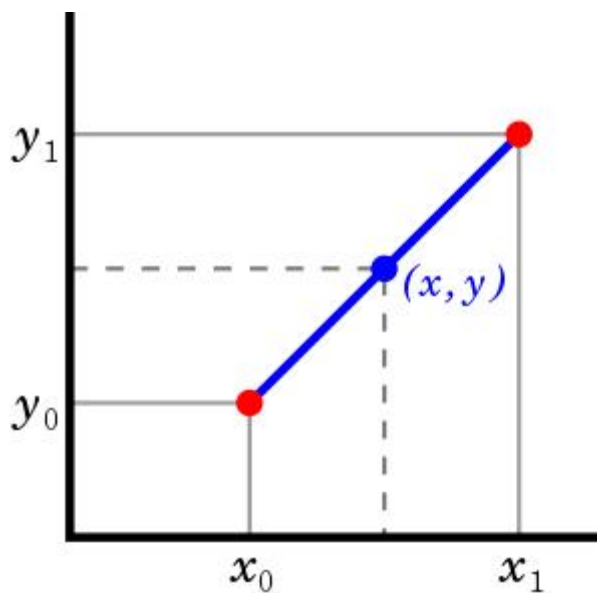


그림 211. 선형보간법의 예시

$$f(p) = d_2 f(p_1) + d_1 f(p_2)$$

그림 212. 선형보간법
정규식

⑦ 파수선형화된 데이터에서 깊이 정보는 주파수성 특징을 띤다. 따라서 깊이 정보를 얻기 위해서는 주파수 변환 처리가 필요하다. 주파수 변환은 FFT(Fast Fourier Transform)를 사용하여 할 수 있다. FFT는 DFT(Discrete Fourier Transform)를 빠르게 수행할 수 있도록 만든 효율적인 알고리즘이다.

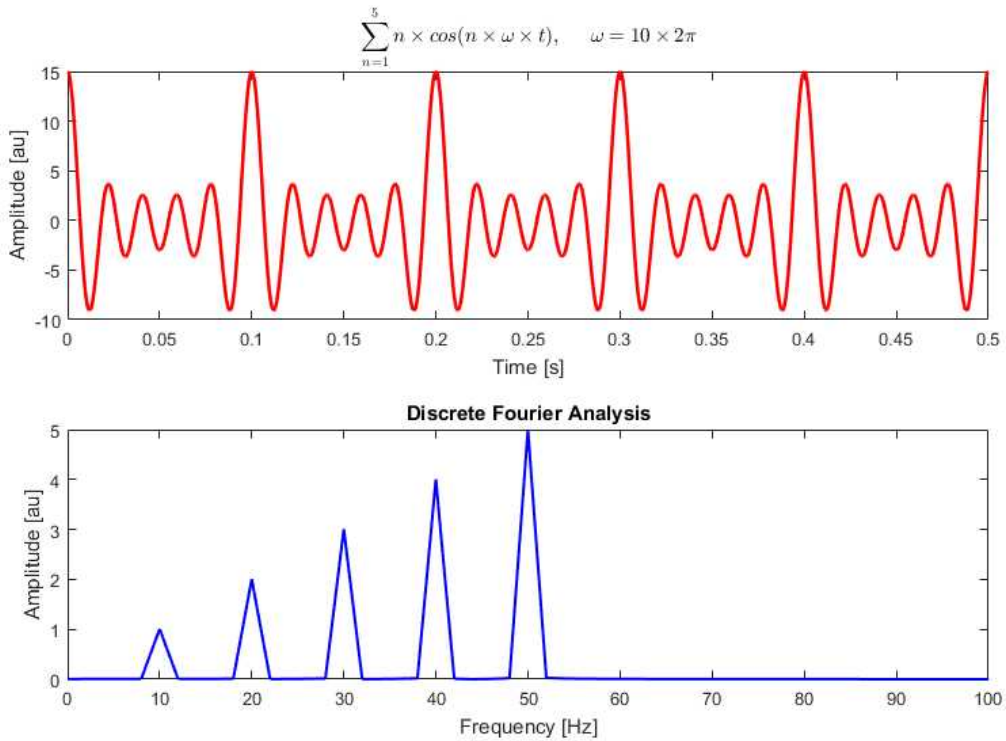


그림 213. 주파수 변환

⑧ 파수선형화된 간섭신호에 주파수 성분은 아래 그림과 같이 저주파 성분의 경우 깊이 정보가 얇고, 고주파로 갈수록 깊이 정보가 더 깊게 나타난다. 이러한 깊이 정보 특성을 이용하여 대상의 단층 영상을 획득할 수 있다.

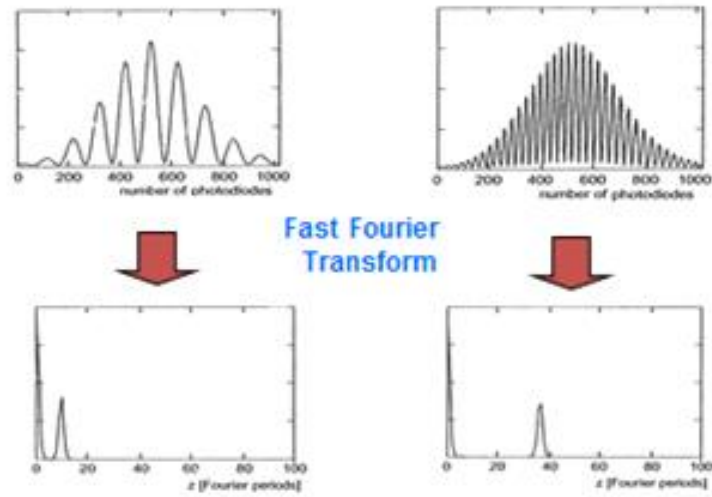


그림 214. OCT 간섭신호의 주파수 성분과 깊이 정보와의 관계

- ⑨ 주파수 변환을 하게 되면 아래 그림과 같이 제로 주파수 영역에 고정적인 큰 신호가 나오는데 이 신호는 찍는 대상에 관계 없이 발생하는 DC 노이즈 신호 이다.
- ⑩ DC 노이즈의 경우 OCT 광학계 샘플단에 대상이 없는 상태의 신호를 미리 저장해 두었다가 측정하고자 하는 대상이 있을 때 신호에 제거하는 배경 노이즈 제거 방식을 사용하여 DC 노이즈를 제거

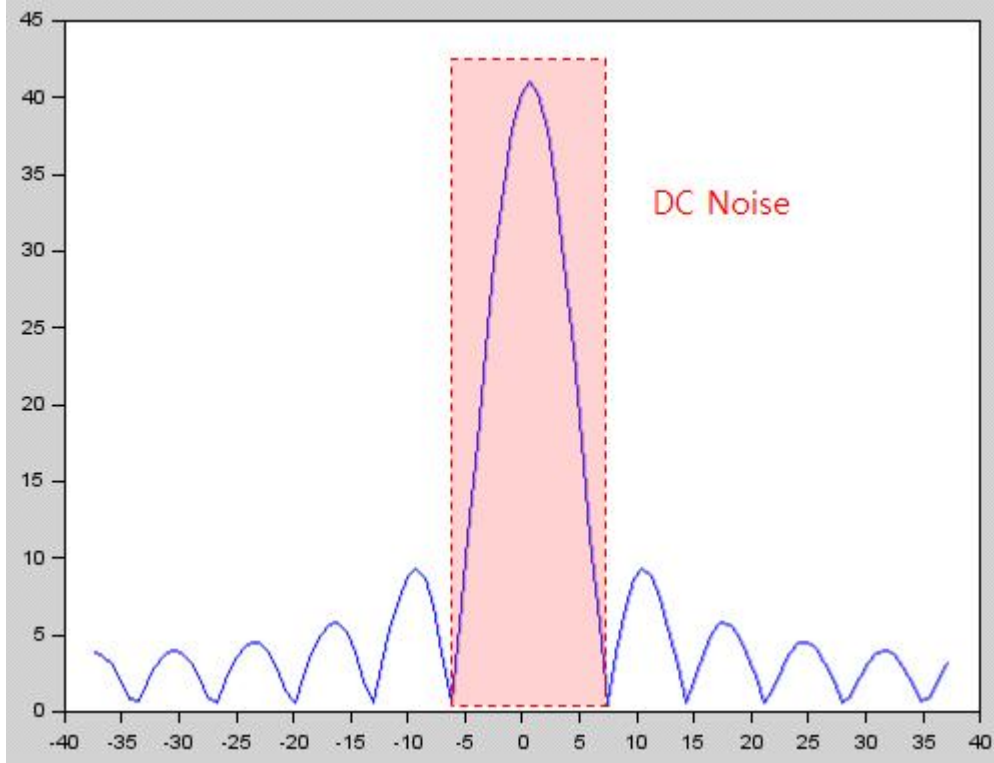


그림 215. 주파수 변환 시 나타나는 DC Noise

- ⑪ 주파수 변환을 완료하면 깊이 정보를 가진 데이터 이지만 주파수에 대한 상대적인 데이터를 보기 위해서는 Linear scale 보다 Log scale 인 데시벨로의 변환이 필요하다. 또, 주파수 변환결과가 복소수 형태로 변환하기 때문에 Magnitude를 구한 뒤 데시벨 변환을 수행해야한다.

$$|z| = \sqrt{a^2 + b^2}$$

그림 216. Magnitude

$$I = 20\log_{10}(\sqrt{\alpha^2 + \beta^2})dB$$

그림 217. OCT 영상 신호 수식

- ⑫ 데시벨 변환된 OCT 영상 신호는 0 ~ 255 의 회색조를 가지는 Gray 8bit 영상으로 변환 하여 영상을 획득한다.

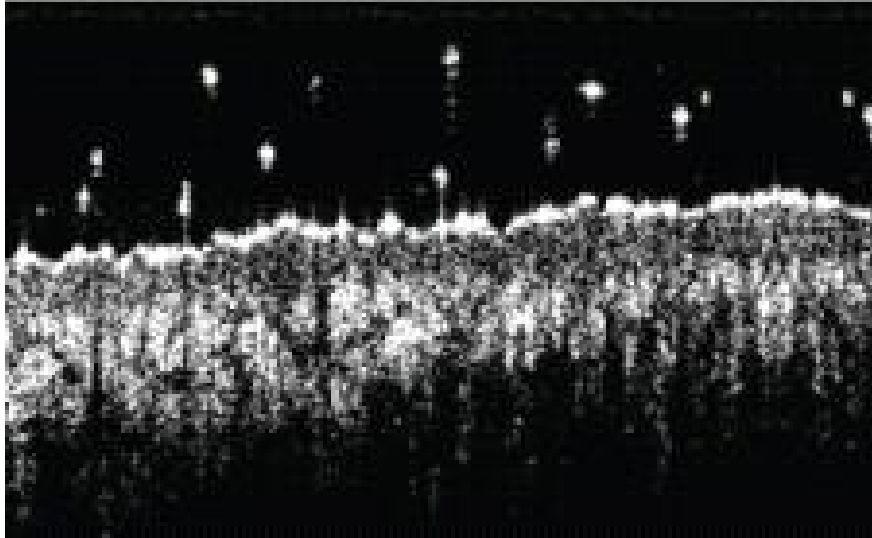


그림 218. 8bit Gray로 표시 되는 OCT 영상

(3) 과수 샘플에 대한 Database 구축 및 자동 classification 알고리즘 개발

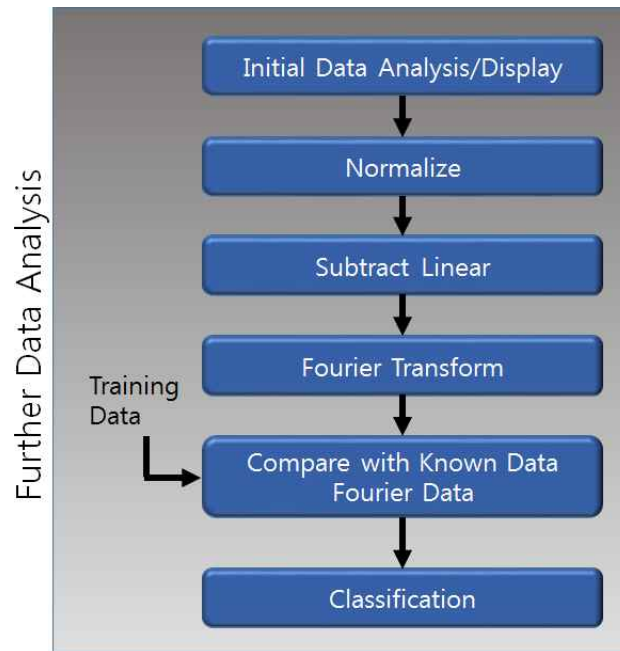


그림 219. 식물 내 병원균 감염 자동 판독 알고리즘

(가) Data 획득 및 Classification을 위한 알고리즘을 아래 Flow chart와 같이 개발

- 자동 판독 알고리즘의 경우, Training Data를 통한 트레이닝 타임 동안의 다수의 피드백을 통해, 데이터 Analysis 파라미터의 향상으로 인하여 정확한 검사의 성공률 향상을 기대 가능
- 초기에는 Training Data의 부족으로 인해 검출 능력이 높지 않더라도, 검사 횟수를 늘려감에 따라 Negative Feedback을 통해 검출 능력의 안정성이 기대 가능
- 사용자의 경험에 따른 Classification에 도달하는 횟수가 늘어갈수록 검출 능력의 향상이

기대됨.

- Multi-Thread Processing에 대비하여, Flow chart 내의 알고리즘 사이의 흐름에 대한 연결이 병렬 처리에 적합하도록 Parallelizable한 연산으로 수정 및 대체 할 수 있다면, 병렬 프로세싱을 통한 더욱 신속한 분할 검사 처리가 기대됨.

(나) 초기 데이터 값을 시료의 Thickness, Intensity, Attenuation 등의 단위로 일반화

- 일반화 과정을 거친 이후, 서로 다른 샘플들 사이로부터 측정되는 OCT signal의 결과 값을 비교 및 분석함을 통하여, 추후에 각기 다른 검사체들 사이의 특성과 차이점 비교가 가능하게 함.
- 시료의 다양한 단위를 하나의 SI 유닛으로 일반화를 함으로써, 하나 이상의 여러 검출 기준을 통한 검사 과실들의 병원체 감염 여부 판단이 가능 할 것으로 기대.
- 다양한 단위에 대한 통계적인 확률 분포를 조정함으로써, 피사체에서 측정되는 데이터의 프로세싱을 보다 쉽게 처리를 할 수 있으며, 다수의 Data 집합을 다루는 데 있어 필수적인 역할을 함

(다) 일반화된 데이터를 선형화 Fitting 시킴

- 일반화 된 데이터를 선형적으로 Fitting 시키면서, 깊이와 Intensity, 기타 다양한 단위 사이의 전체적인 데이터를 획득
- 다수의 샘플을 비교할 경우, 선형화를 통해 샘플끼리의 비교가 용이하게 되어, 대량의 데이터 집합을 통한 검출 능력 향상에 기여 가능하고, 선형화 Fitting 이외의 다른 방법의 Fitting이 더 적합하다고 판단되면, Fitting 방법의 조정도 가능
- 샘플링 방법의 향상이 있다면, 선형화 Fitting 과정 이후의 결과가 실제에 더 가깝게 나올 수 있으리라 기대됨.

(라) 선형화된 데이터들을 Fourier Transform 시켜서 기존에 조사된 데이터들의 Fourier 데이터와 비교하여 Classification을 시킴

- 감염 나무와 건전 나무의 선형 데이터를 Fourier Transform 시킨 이후, highest peak와 lowest peak, 그리고 peak와 peak 사이의 gap intensity에 주목하여, 각 샘플을 대표하는 값을 계산
- 많은 수의 샘플을 동일한 방법으로 측정한 이후, 감염 나무와 건전 나무의 peak 값, PP-SP gap intensity, 그 외 각 샘플을 대표하는 측정값들을 분류해서, 대량의 데이터 집합을 작성
- 이러한 대량의 데이터 집합을 기반으로 감염 및 건전 나무 각각의 Training Data 집합으로 Classification을 행한 이후, 향후 검사하는 샘플의 감염 여부를 판단 가능

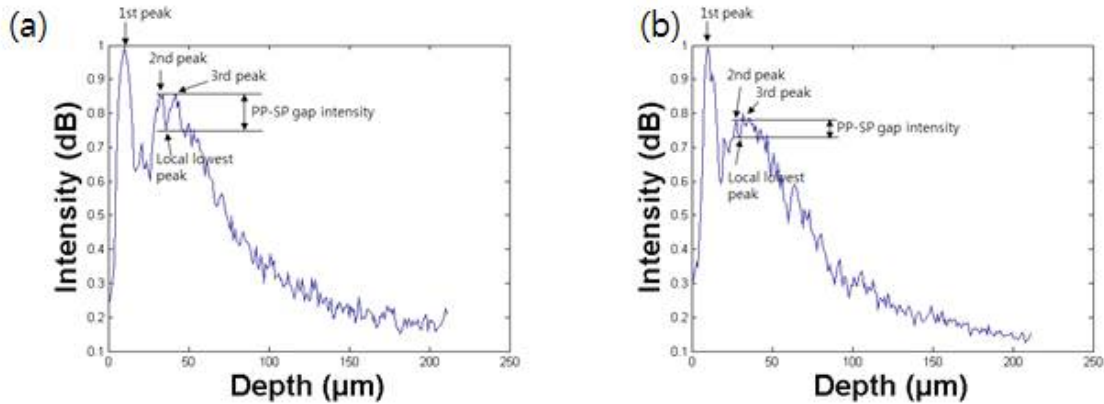


그림 220. OCT로 촬영한 사과 갈색무늬병 감염주의 건전 잎과 건전주의 건전 잎 분석 결과.(a) 감염 나무의 건전 잎,(b) 건전 나무의 건전 잎, PP; Palisade parenchyma, SP; Spongy parenchyma

- 감염 나무와 건전 나무의 highest peak 값은 크게 다르지 않지만, 2번째 highest peak 이후, highest peak 사이의 국소적 lowest peak 값의 차이가 관측 가능
- Highest peak와 lowest peak값을 검출한 이후, PP-SP gap intensity를 측정함에 따라, 감염 나무와 건전 나무의 차이를 발견할 수 있을 것이라 기대됨.
- 검사 횟수가 늘어나면 늘어날수록, 새롭게 얻어진 샘플 데이터가 Training Data 집합에 추가되어, 검사의 신뢰성 향상을 기대 가능

(마) PSF에서 자동으로 피크를 찾아 감염 여부를 판단하기 위한 알고리즘 연구 개발

- 신뢰성 높은 LAMP 분석법을 기준으로 감염/건전 샘플 분류
- OCT 촬영(+KNU 육안검사법): KNU(경북대)에서 잎을 OCT로 촬영한 후, A-Scan Line 그래프에서 육안으로 피크를 탐색
- OCT 촬영(+Oz-tec 자동검사법): KNU에서 촬영한 것과 동일한 영상을 이용해서, 자동으로 피크를 찾은 후, 발병 유무를 판별

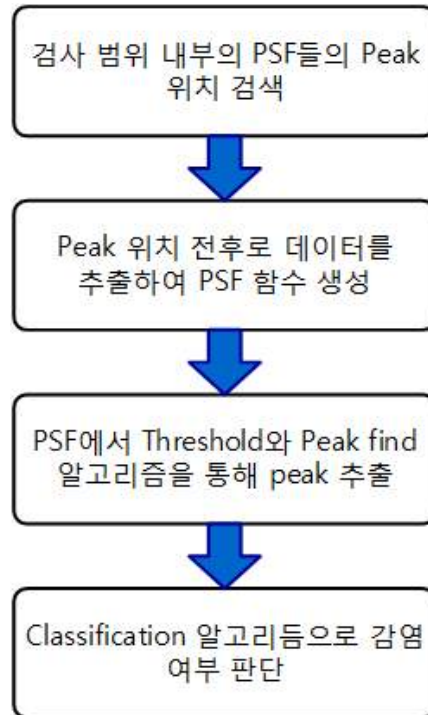


그림 221. 자동 감염검사 알고리즘의 구성도

- 그래프의 높이차를 계산하여, 일정 높이 이상의 피크를 자동으로 탐색함. 그 후, 룬테일에 존재하는 피크를 제외함. 이미지 데이터베이스를 러닝을 통해 유효한 피크를 선택하는 기준을 알고리즘에 학습시킴.



그림 222. 유효 피크수 자동 판별 예시

- 유효 피크 수 3개 이상: Healthy, 2개 이하: Diseased로 판별함.

샘플 종류	전체 샘플 수	LAMP 분석 결과	OCT 분석 결과 (KNU)		OCT 분석 결과 (Oz-tec)		일치율 (LAMP vs KNU)	일치율 (LAMP vs Oz-tec)
사과	125	Diseased 49	Diseased	45	Diseased	41	91.8%	83.7% (KNU 대비 91.1%)
			Healthy	4	Healthy	8		
		Healthy 76	Diseased	55	Diseased	52	72.4%	68.4% (KNU 대비 94.5%)
			Healthy	21	Healthy	24		

그림 223. 사과 샘플로 테스트한 자동화 알고리즘의 정확도 테스트

- Oz-tec 자동화 알고리즘이 KNU 수동 알고리즘과 비교했을 때 감염 샘플에서 91.1%, 건전 샘플에서 94.5%의 동일 결과를 보여줌, 육안 검사는 검사자나 검사자의 조건에 따라 매번 결과가 바뀔 수 있는 것을 감안했을 때 수동 검사와 충분한 일치율을 보이는 것으로 판단됨.
- LAMP대비 일치율이 떨어지는 이유는 가는 잎맥이 OCT영상에 영향을 주기 때문인 것으로 예상됨, 가는 잎맥 부분은 OCT영상에서 라인이 뚫개져 나옴.

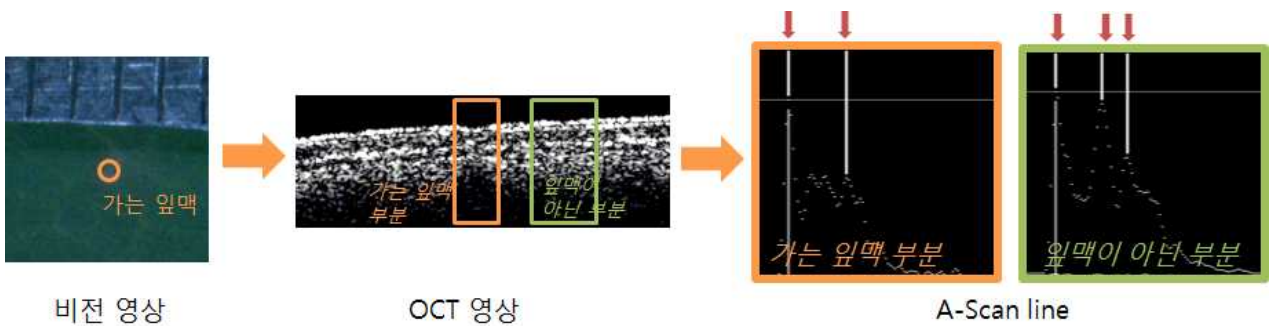


그림 224. 가는 잎맥부분은 OCT 영상에서 라인이 뚫개져서 나오기 때문에, 피크가 사라져버림

(4) 소형 디스플레이를 위한 GUI 소프트웨어 개발

(가) GUI 소프트웨어의 UI 관리 방법

- WPF(Windows Presentation Foundation)를 사용한 Rendering 기반 GUI 구현
 - ① WPF는 시각적으로 뛰어난 사용자 환경에서 Windows 클라이언트 응용 프로그램을 만들 수 있는 차세대 프레젠테이션 시스템으로 그래픽 하드웨어를 활용하여 해상도 독립적인 벡터 기반 렌더링 GUI를 구현할 수 있음.
 - ② 기존의 MFC등에서 사용되는 GDI(Graphic Device Interface) 대신 DirectX를 사용하며, UI 디자인에 XML 기반의 언어인 XAML을 이용하여 쉽게 디자인이 가능함.

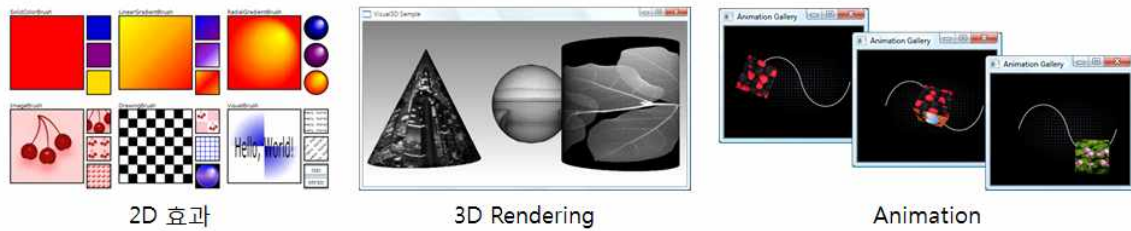


그림 225. WPF 예시

(나) MVVM(Model-View-ViewModel) 패턴을 사용한 UI 컨트롤

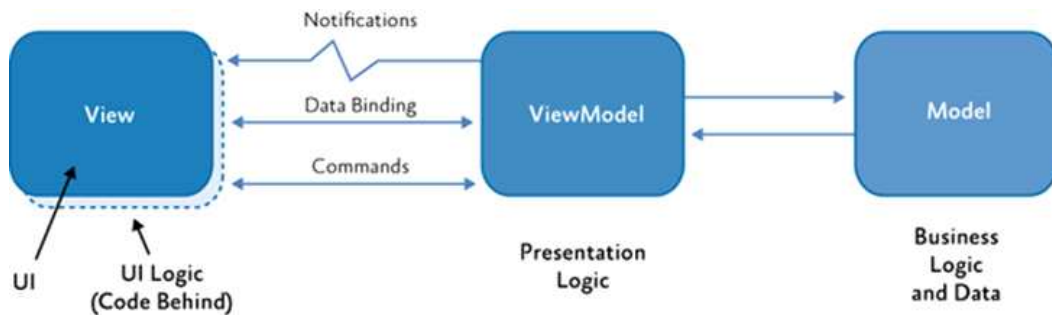


그림 226. MVVM 패턴 구조

- ① MVVM 패턴은 UI가 디자인되어 있는 View와 View에서 발생하는 명령이나 UI 변경 이벤트를 Code Behind에서 수행하지 않고, ViewModel를 통해서 수행되거나 알림을 받게 되어 디자인과 UI 컨트롤 부분이 분리된 구조를 갖는다.
- ② ViewModel은 데이터를 가진 Model 과 짝을 이루어 구성되는 구조.
- ③ ViewModel에서 UI 객체와 Binding 되어져있는 Model 이 변경됐을 경우 UI에 Binding Properties 에 변경 알림만 수행하면 Properties에 관계된 UI 변경만 발생되게 된다.

(다) 실시간으로 생성되는 OCT 단층 영상의 이미지 생성 결과를 유저가 Interaction

하며 확인할 수 있게 하기 위한 GUI(Graphical User interface) 디자인과 구현

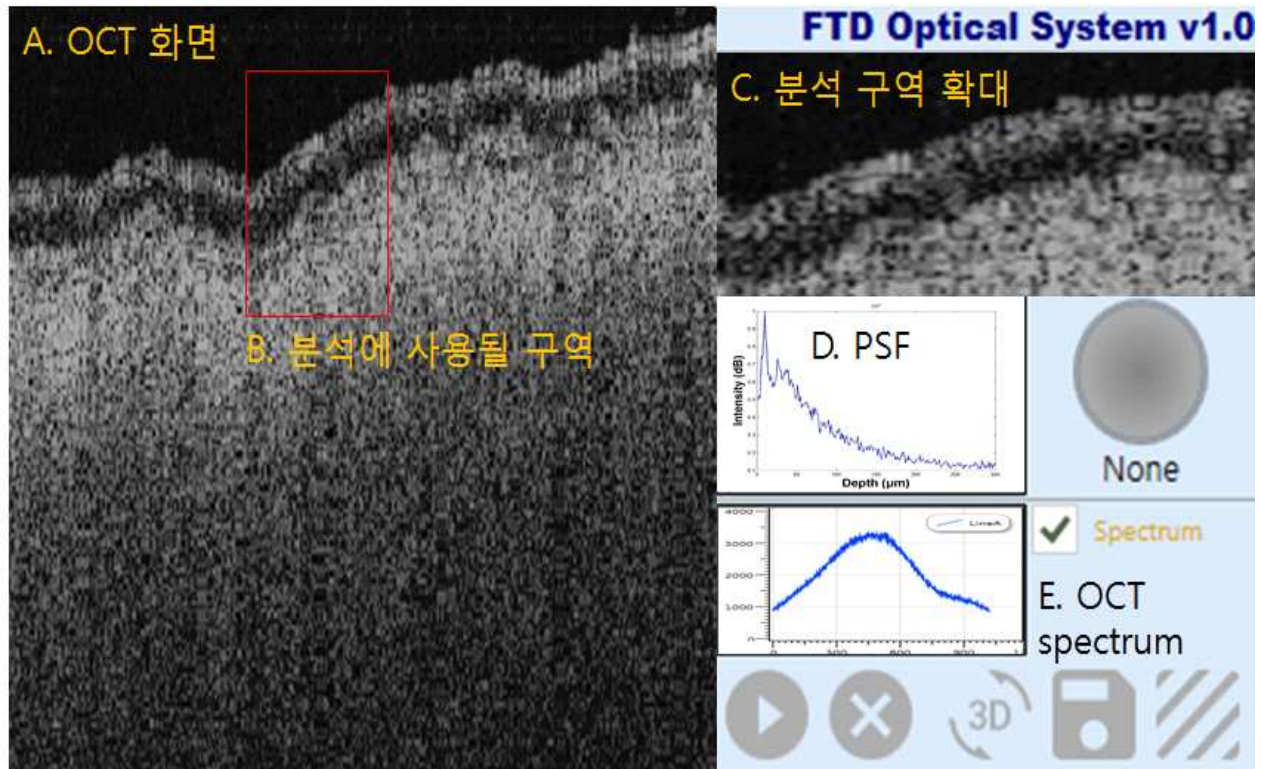


그림 227. 실제 프로그램에 사용된 GUI

① GUI의 A 구역에 OCT 단층 영상의 이미지가 실시간으로 표시되며, 전체 이미지 중 어느 영역을 병변 검사에 사용했는지 유저에게 표시해주며 그 부분을 C구역에 확대에서 볼 수 있게 해줌. 또한 검사 알고리즘에서 사용하는 PSF를 유저에게도 육안으로 확인할 수 있게 해주며, OCT시스템이 정상적으로 가동되고 있는지 확인을 위해 spectrum을 표시해줌.

(5) 과수병해 맞춤형 OCT 제작, 기기의 소형화 및 휴대용 기기 제작

(가) 영상 진단의 안전성과 고해상도의 장점을 갖는 초고속 스펙트럼 영역 광단층 시스템 개발

(가) 시스템 설계에 기반이 되는 4가지 필수 고려 요소를 선정

- ① 이동성 : 현장 중심적 검사에 초점을 맞춘 시스템
- ② 고성능 : 실시간 검사가 가능한 시스템
- ③ 안정성 : 다양한 환경적 영향을 고려한 시스템
- ④ 검사편리성 : 검사자의 검사 상황을 고려한 시스템

(나) 과원의 제한된 공간을 고려해 이동성이 있는 광 단층촬영 시스템 구현을 위한 광학계 설계

○ 광학계 및 데이터 처리 시스템을 일체형으로 구성하여 OCT 시스템의 이동성을 확보

- 검사 프로브의 자유도 향상시키기 위해 OCT 시스템에서 프로브를 독립적으로 구성하여 검사자의 편의성을 향상시킴

표 99. -> 프로브를 구성하는 광학 컴포넌트

부품 목록	부품 이미지	사양	부품 역할	제조사
콜리메이터 (Collimator)		중심 파장 780nm, NA=0.16, FC/APC 타입	결합기를 거쳐 오는 빛을 샘플에 직선으로 이동하게 만들고, 샘플에서 맞고 나온 빛을 다시 결합기로 보내는 역할	Thorlabs
2D 갈바노미터 스캐너 (2D Galvanometer scanner)		각 이동 40°, 인가전압 ±24V, 최대코일온 도 110°	샘플단의 광 경로를 변화시킴, 2차원 3차원 이미지 스캐닝을 하기 위한 장치	Thorlabs
대물렌즈 (Objective lens)		직경=25.4 mm, 초점거리 50.0mm	샘플에 빛을 포커싱 시켜서 파워를 모으는 역할	Thorlabs

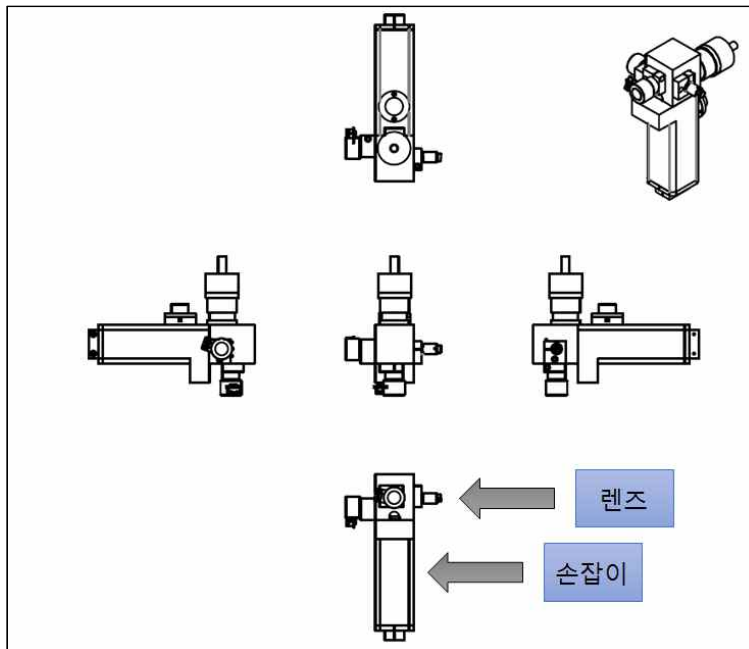


그림 228. OCT 소형화 프로브 개발 도면

- 샘플 채집을 하지 않고 실시간으로 샘플을 촬영하고 지속적으로 관찰 할 수 있는 장점을

확보

- 검사 현장에서 병변 유무를 단층 영상을 촬영하여 실시간으로 검사할 수 있도록 고성능 시스템 구축



그림 229. 사용자가 손으로 OCT 프로브를 잡은 모습. LCD로 OCT이미지를 보며, 빨간 버튼을 통해 손쉽게 이미지 촬영 가능

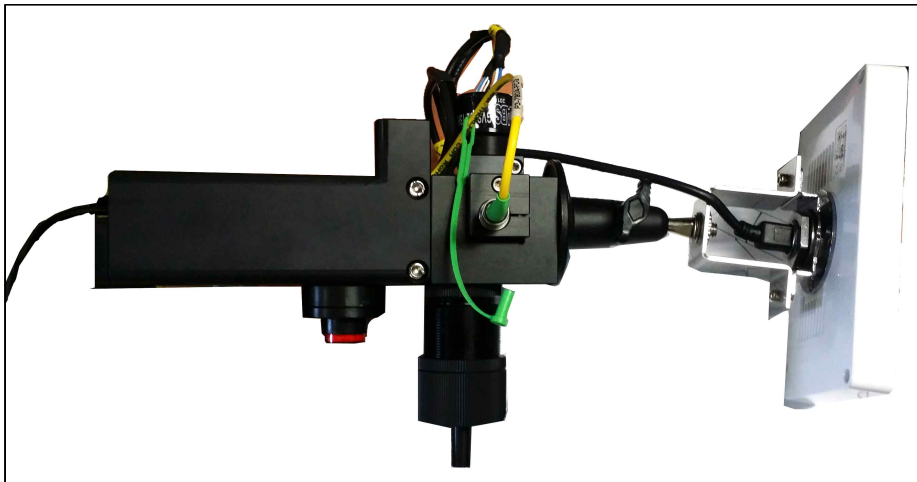


그림 230. OCT 프로브 옆 모습

- 샘플단의 크기를 최소화 시켜서 가볍게 만듦으로 검사자의 사용 편의성을 향상시킴
- 2차 년도 시제품을 제작이 용이한 갈바노미터 스캐너로 제작하여 구동 테스트
- 3차 년도에 소형화를 위해 MEMS를 이용한 촬영 시스템 구성 예정



그림 231. OCT 프로브의 다른 측면의 모습

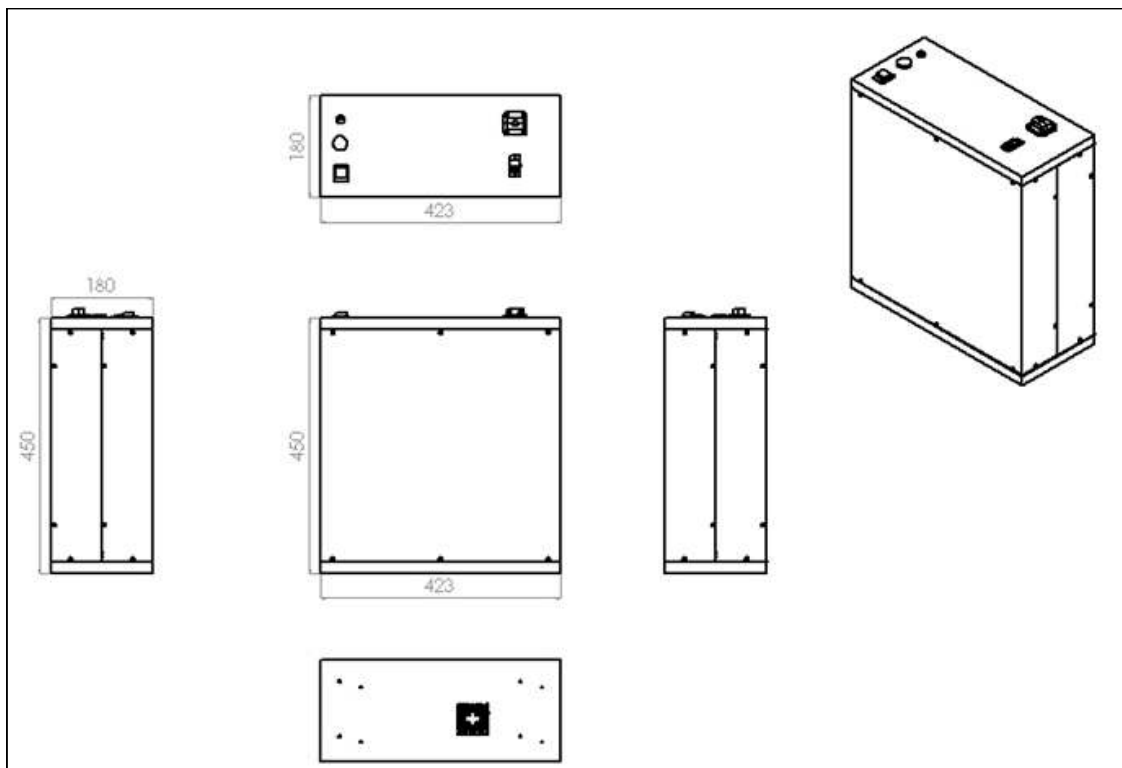


그림 232. OCT 본체 제품 도면 450mm x 423mm x 180 mm

○ OCT 시스템을 백팩형으로 포터블하게 개발하여 농가에서 휴대하며 촬영 가능하도록 제작함.

- 3차년도 최종 개발 목표치가 500 x 400 x 300 mm이었으나, 2차 년도까지 개발된 시제품 크기가 450 x 423 x 180 mm³ 로 x 및 z 축의 크기는 목표보다 더 작게 만드는 것에 성공하였으며 y축 크기도 목표크기보다 약 5%가량 큰 정도로 소형화함. 추후 개발로 y축을 5% 가량만 소형화하면 최종목표치에 달성 가능할 것으로 예상

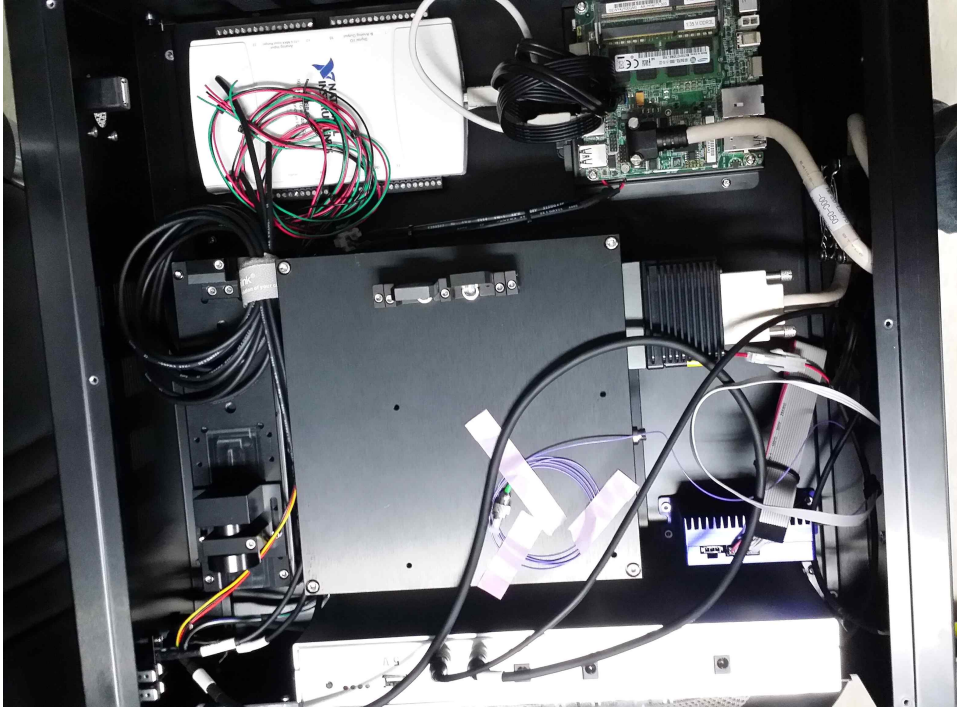


그림 233. OCT 본체 내부의 모습

- OCT 본체는 840nm 파장대 빛을 만들어내는 광원, 빛을 쪼개주는 커플러, 샘플로부터 반사된 빛과 간섭을 일으키는 역할을 하는 기준단, 간섭된 신호를 받아서 스펙트럼을 측정하고 신호를 받아들이는 스펙트로미터, 광섬유를 통해 나오는 빛의 polarization 상태를 바꿔주는 컨트롤러, OCT 시스템의 신호 데이터를 컨트롤 할 수 있게 해주는 DAQ 시스템, 각 시스템들에 전원을 공급해주는 전원공급기와 배터리, 프로그램을 작동시키고 시스템을 제어해주는 미니 PC 등으로 구성되어 있음

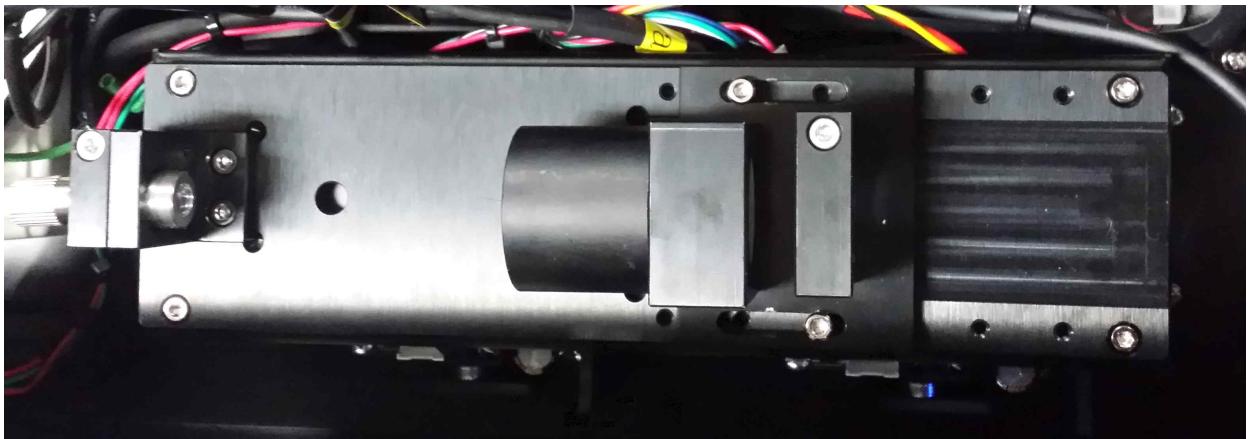


그림 234. 샘플로부터 반사된 빛과 간섭을 일으키는 역할을 하는 기준단

- 샘플로부터 돌아오는 거리와 기준단과의 거리를 맞추는 것이 중요하므로 거리 조절이 용이하도록 설계함.

표 100. 기준단을 구성하는 광학 컴포넌트

부품 목록	부품 이미지	사양	부품 역할	제조사
콜리메이터 (Collimator)		중심 파장 780nm, NA=0.16, FC/APC 타입	결합기를 거쳐 오는 빛을 샘플에 직선으로 이동하게 만들고, 샘플에서 맞고 나온 빛을 다시 결합기로 보내는 역할	Thorlabs
포커싱 렌즈 (Focusing lens)		직경= 25.4mm, 초점거리 50.0mm	샘플에 빛을 포커싱 시켜서 파워를 모으는 역할	Thorlabs
실버 미러 (Silver mirror)		직경= 25.4mm	포커스 된 빛을 반사시켜서 빛이 다시 되돌아가도록 하는 역할	Thorlabs

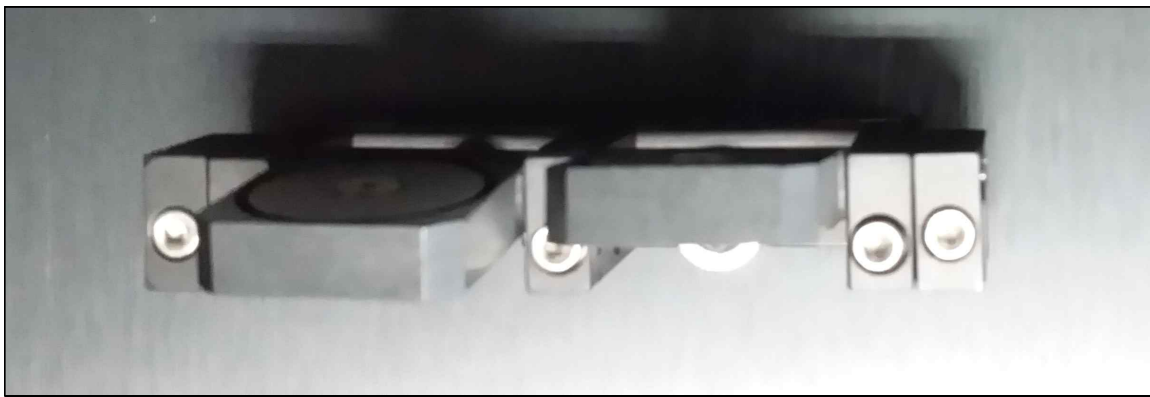


그림 235. 광섬유를 통해 나오는 빛의 polarization 상태를 바꿔주는 컨트롤러

- Polarization 컨트롤러는 광섬유를 밴딩 시켜줌으로 나오는 빛의 polarization 상태를 바꿔주는 역할을 함, polarization의 상태가 최적일 때 이미지의 퀄리티가 가장 좋아짐.

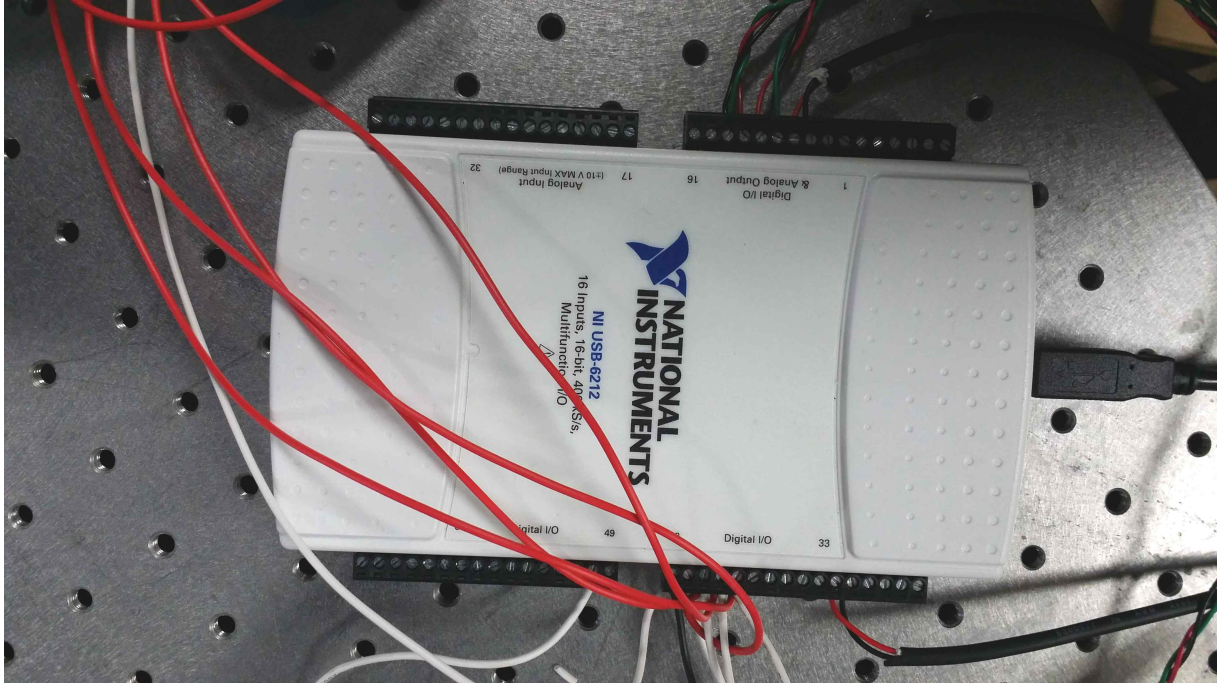


그림 236. OCT 시스템의 신호 데이터를 컴퓨터로 컨트롤 할 수 있도록 해주는 DAQ 시스템

○ DAQ 시스템을 사용하면 컴퓨터로 OCT 시스템을 제어할 수 있음.

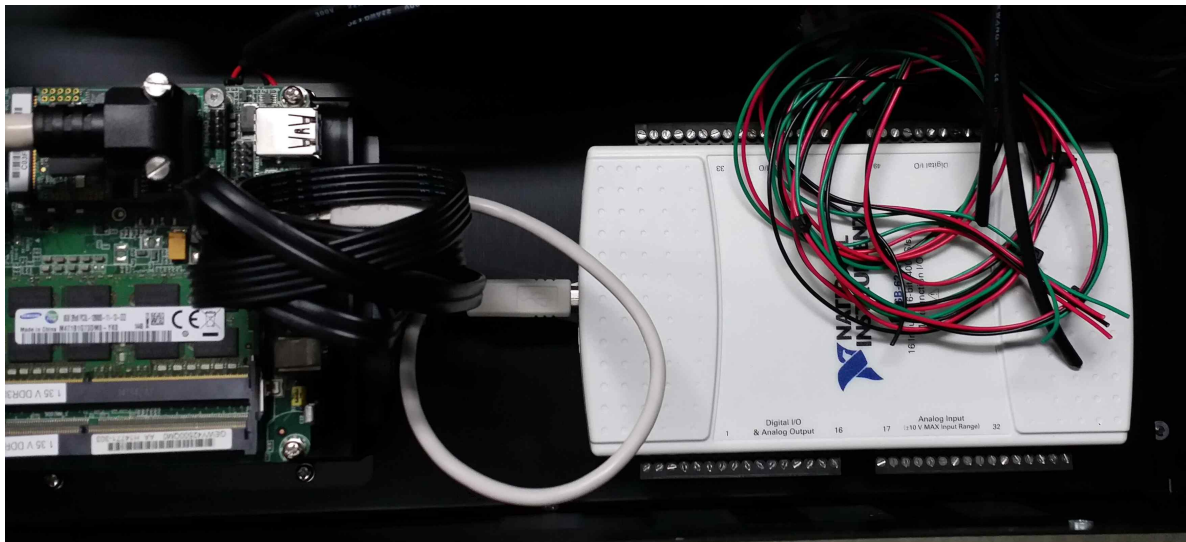


그림 237. PC와 연결되어 있는 DAQ의 모습

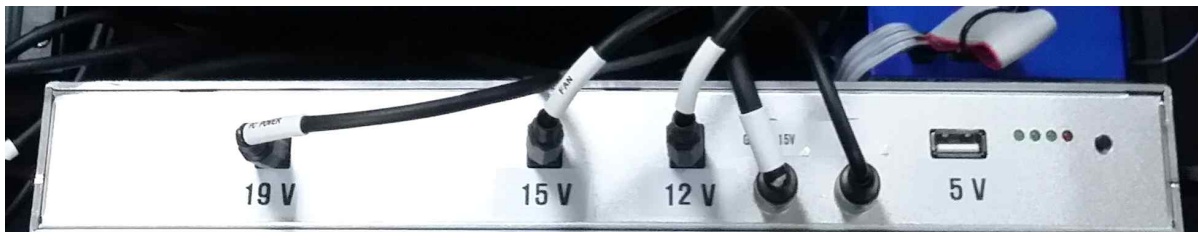


그림 238. 내부 시스템에 전원을 공급해주는 배터리 형태의 전원공급기

- 포터블 형태로 휴대하면서 샘플을 측정할 수 있게 하기 위해서 배터리 형태의 전원공급기를 사용함.

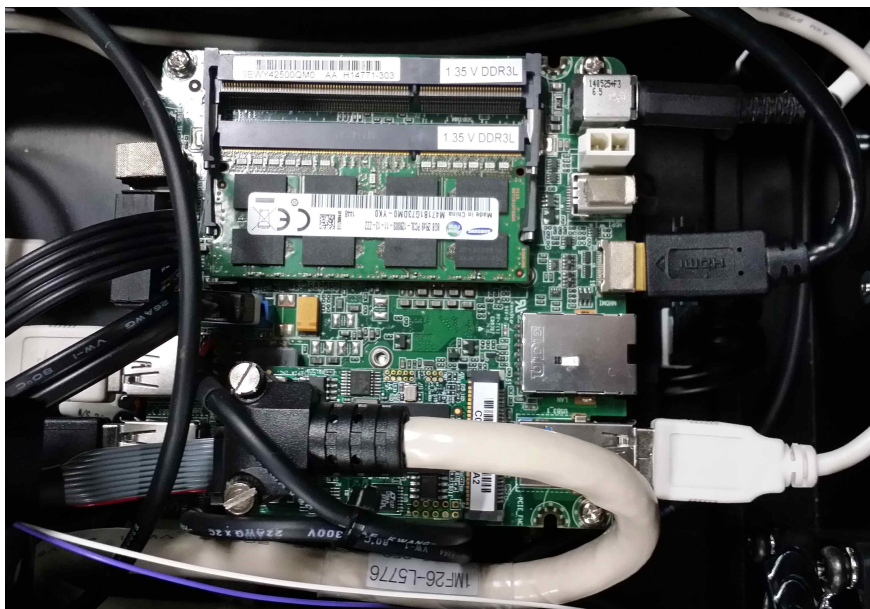


그림 239. 프로그램을 작동시키고 시스템을 제어해주는 미니 PC

- 무게와 크기를 고려하여 휴대성을 높이기 위해서 일반적인 PC를 별도로 사용하지 않고, 미니 PC를 사용하여 OCT 본체 내부에 부착시킴.



그림 240. OCT 본체 전원 스위치와 미니 PC 전원 버튼 및 배터리 충전 단자

- OCT 시스템과 미니 PC를 키고 끌 수 있도록 케이스 외부에 전원 스위치와 버튼을 만들었고, 배터리를 충전할 수 있도록 충전 단자도 함께 만들었음.



그림 241. 내부의 열이 빠져나갈 수 있게 해주는 쿨러

- 내부의 열로 인해 시스템이 문제가 생기지 않도록 쿨러를 부착시킴



그림 242. OCT 본체 시스템을 휴대하면서 샘플을 측정할 수 있도록 백팩 형태로 제작, OCT 시스템이 떨어지지 않도록 안전장치 제작

○ OCT 시스템이 단단히 고정되도록 안전장치를 만들어서 백팩 형태로 들고 다닐 수 있도록 제작함



그림 243. OCT 본체를 부착한 백팩의 모습



그림 244. 프로브를 별도로 거치할 수 있도록 만들고, 사용하지 않을 때는 프로브를 넣어놓을 수 있도록 작은 가방을 달아 놓음.

- 최대한 사용자가 프로브를 편리하게 사용하고 거치하고 보관할 수 있도록 거치대와 별도의 가방을 달아 놓았음.



그림 245. 백팩형 OCT 착용한 모습, 등에 백팩형 OCT를 장착하고 오른손에 프로브를 이용하여 타겟을 촬영함

- 자유도 높게 원하는 타겟을 촬영하려면 배터리가 필요함
- 배터리로 작동하는 시스템을 구성하여 전원이 없는 곳에서도 충전되어 있는 배터리를 사용하여 동작가능 하도록 제작함.



그림 246. 충전중인 OCT 시스템, 우측 Charge 위치에 충전기가 꼽혀있을 경우 위쪽에 Power에 파란 불이 들어오는 것을 볼 수 있음.

라. 3차년도: 과수병해 맞춤형 SD-OCT 기기의 소형화 및 3차원 광단층 영상 실시간 출력 및 진단 최적화

(1) 3차년도 연구 개발 전략

- 3차년도에 개발되는 시제품은 사업화를 위하여 다음 6가지 평가 항목 휴대성, 내구성, 편의성, 처리성능, 데이터처리량 및 제조단가를 고려하여 연구 개발
- 2차년도 시제품의 개발 사양을 평가 항목을 기준으로 조사하고 제품에 반영하기 위해 시제품을 실제 현장 적용한 결과를 토대로 다음과 같이 농가 적용 개발 목표 사양을 결정하여 연구 개발과 제품 개발에 반영

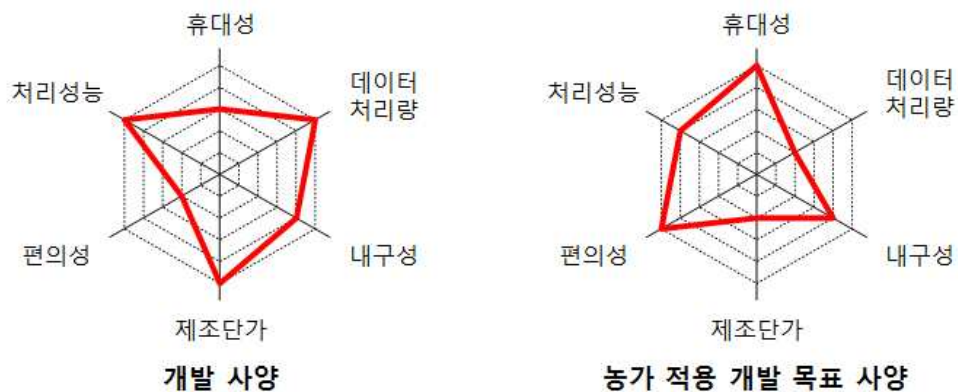


그림 247. 개발 전략

- 평가 6개 항목 중 검사자가 현장에서 최우선적으로 직면하는 항목인 휴대성과 편의성을 조사하기 위하여 현장에서 직접 실험을 수행한 연구원들을 통하여 2차년도 개발 시스템의 디버깅과 더불어 검사기의 현장 적용 시 발생하는 문제점과 개선사항 및 추가 검토할 부분을 조사하여 기술 개발 기술 사양에 반영함

Trouble shooting the FTD Optical system

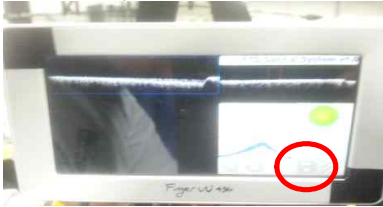
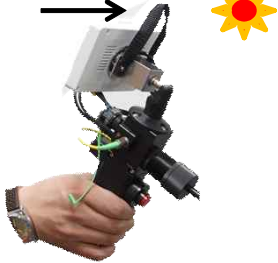
Freq. Problem	Probable Causes	Preferable Solution
1. Sudden shut down of LCD	<ul style="list-style-type: none"> ➤ LCD connection problem ➤ Battery power problem ➤ Internal connection problem 	<ul style="list-style-type: none"> -Robust LCD connection -Increasing battery power
2. Sudden system malfunction	<ul style="list-style-type: none"> ➤ (Most probably) lack of battery power ➤ High electricity consumption of OCT ➤ Internal CPU malfunction 	<ul style="list-style-type: none"> - Battery power - Changing a low power line scan camera - Removing all the unnecessary electricity consuming devices ex: fans..etc
3. Saving button and system malfunction	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Image saving time ➤ Difficulty to save ➤ Save button problem (touch screen indication) 	<ul style="list-style-type: none"> - Additional image saving press button - Other user friendly image saving method (maximizing the icon size..etc)
4. Less image visibility with sun light	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Image visibility of the LCD degrades with high sun light 	<ul style="list-style-type: none"> - A shade to the LCD 
5. System battery	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Voltage reduces from 16.87 V (max voltage) ~ 14.25 V. ➤ System functions slowly ➤ Image saving speed decreases ➤ System turns off times > 10 times 	<ul style="list-style-type: none"> - More powerful battery - Portable charging method (transformer based car charging method) - Battery changing method - Externally connectable battery
6. Fix contrast of images	<ul style="list-style-type: none"> ➤ OCT image can be varied according to contrast 	<ul style="list-style-type: none"> - Adjustable contrast method - Contrast should not be matched for IR card

그림 248. 현장 정보 확보를 위해 사용한 테이블의 예

(가) 시스템의 무게 및 재질 문제

- 현장 작업자에 대한 개선 요청 사항 및 시스템 피드백에서 가장 큰 문제점으로 검토되는 사항으로서 개발 시스템이 광학 구조를 다수 보유하여 광학 구조물의 보호를 위해 금속 재료를 다량으로 사용하여 무게가 20 Kg에 육박하여 재검사자가 현장에서 직접 착용하여 검사를 수행할 때 육체적 피로도가 급격이 상승함



그림 249. 시스템 중 중량이 큰 부분의 예

(나) 시스템 발열 관리

- 고성능 데이터 획득 장비와 솔레노이드 계열의 갈바노미터의 작동하면 발열 관리를 위하여 관리용 파트가 시스템에 반영되어 있으나 현장에는 직사광선 등 태양열이 시스템을 케이스를 직접 가열 할 수 있는 대낮에 장비가 운영될 경우 시스템 온도가 극도로 상승하여 시스템의 오작동 뿐 아니라 전자기기 및 광학 구조의 변형 등 시스템에 치명적 손상이 야기될 우려가 큼

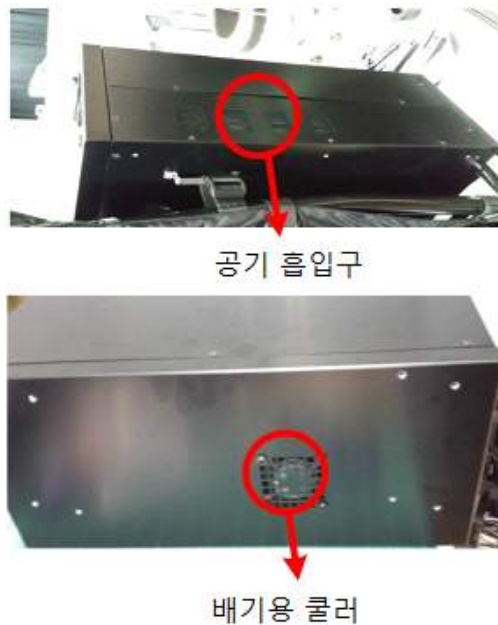


그림 250. 시스템 발열 관리를 위한 공기 흡입구 및 배기용 쿨러

(다) 침수 및 분진 문제

- 과수 농가인 경우 스프링쿨러가 장치되어 있고 검사 시 비가 올 경우 시스템 발열 관리를 위한 통풍구 등으로 수분이 침수의 우려가 높고 대부분 과수원이 야외이고 황사 등에 의해 미세 먼지가 시스템으로 유입되어 시스템 내부의 광학 구조와 컴퓨터 시스템의 치명적 손상이 야기될 수 있으므로 제품화 개발에 방진 방수의 시 반드시 고려되어야 함.



그림 251. 스프링쿨러가 작동중인 과수원 현장 (출처 : <http://blog.daum.net/jyh103211/15711212>)



그림 252. 황사가 발생한 과수원 현장 (출처 : KMTV 표준방송)

(라) 작동의 복잡성

- 전문 검사자가 아닌 농가 과수 작업자 등이 시스템을 사용할 때 사용 방법이 난해하여 반드시 장비를 이용한 검사 교육이 필수적이고, 프로브에 장착된 버튼으로 저장 등 제어가 가능하지만 대부분 시스템의 제어 및 구동이 LCD 터치 모니터에 장착되어 무게가 무거운 프로브를 한 손으로 든 상태에서 다른 손으로 터치하여 제어하는 것이 최종 사용자의 입장에서 어려움.

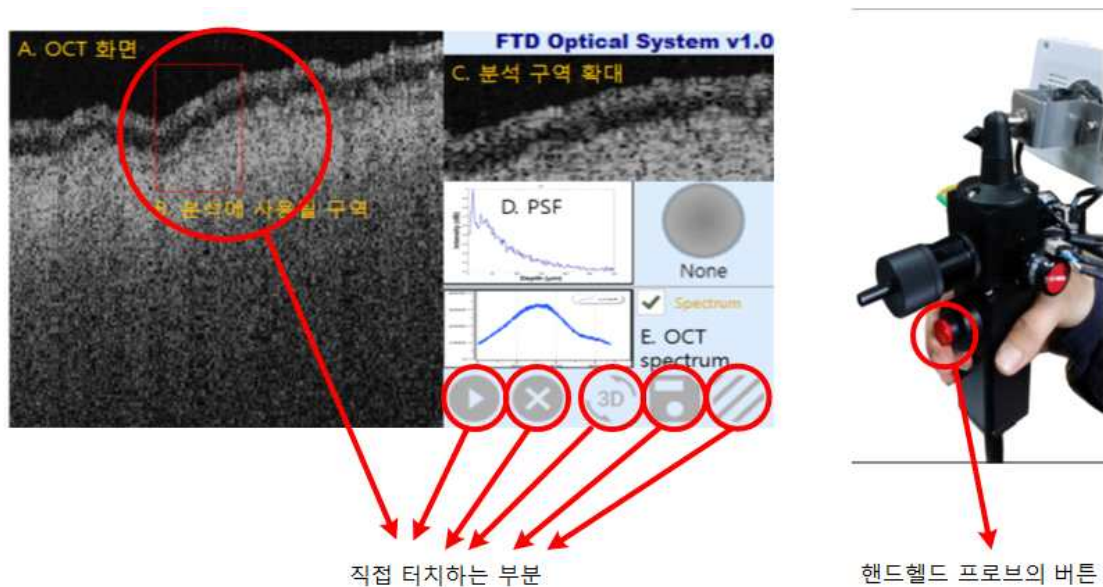


그림 253. 개발 시스템의 제어

(마) 프로브의 문제

- 정오 등 조도가 높은 시간에 시스템을 가동하면 태양별에 의해 터치 모니터의 화면이 보이지 않아 시스템의 질병 진단 결과 확인이 어려울 수 있고 손잡이 등 그림과 프로브 광출력 끝단 재질이 금속이므로 샘플 손상을 야기함
- 현장 적용 결과에 대한 문제점을 검토하여 다음 항목을 당해 연도 시제품 설계 제작에 반영
(가) 시스템 중량의 최소화

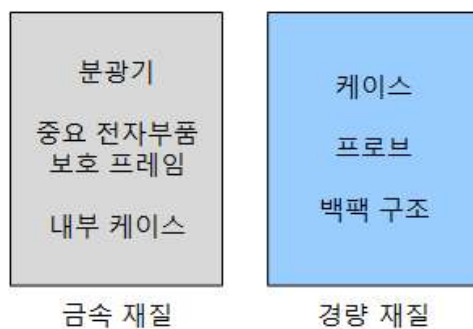


그림 254. 시스템 구조의 재료 계획

- 금속 재질의 사용을 최소화하기 위하여 주요 정밀 광학 구조물에만 적용하며 특히 분광기의 무게가 크므로 시스템의 전체적인 무게가 상승하였으므로 분광 광학계를 최적화하여 구조를 최대한 축소하여 구조의 부피를 최소화하고 전자 부품 등을 보호하는 내부 케이스를 판금 및 프레임 단위로 설계하여 금속 재료의 사용을 최소화하고, 케이스, 프로브 및 백팩 구조에 대해서는 경량 재질을 도입하여 무게를 최소화시킴.

- 기존 금속 케이스를 이용한 배터리는 폴리머 계열의 케이스를 사용하고 배터리 교환이 가능하게 하여 현장에서 가동시간을 확연하게 연장함.

(바) 방진 방수 및 시스템 발열 관리

- 시스템의 내부 구조를 최소화하여 주요 모듈을 내부 구조물 및 케이스 부착하고 발포 폴리머 계열의 시트와 방수 재질의 섬유 원단을 이용하여 외부 충격을 완화시키면서 내부 구조를 밀폐시켜 침수와 먼지 유입을 방지하면서 장비 하부에 배기 팬을 장착하여 내부에서 상승한 열을 케이스 밖으로 방출시킴.

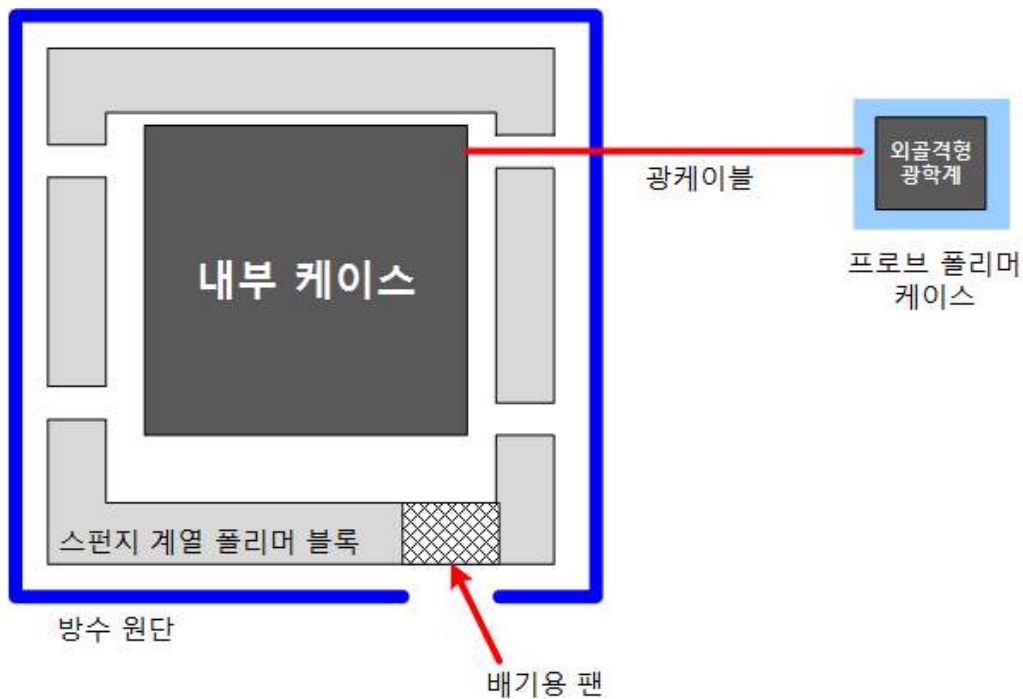


그림 255. 시스템 재질에 대한 모식도

(사) 작동의 단순화

- 시스템의 작동의 단순화를 위해 모니터는 시스템에 선택적으로 장착 및 탈착이 가능하도록 설계하였으며 진단 결과는 프로브에 3색 LED를 이용하여 건전 시 녹색, 감염 시 적색으로 점등하여 검사자에게 전달함. 검사자의 검사의 편의성을 극대화하기 위하여 적색 가이드 빔을 광출력단으로 출력하여 검사자가 현재 검사하는 샘플의 위치를 직관적으로 파악 가능하게 하며 사운드를 이용하여 검사 위치가 적합한 지 검사자가 즉각적으로 확인 가능하도록 실시간으로 모니터링 함. 전문 검사자인 경우 모니터를 장착하여 2차년도에 개발된 소프트웨어 GUI를 활용할 수 있도록 하여 시스템의 활용성을 향상시킴.

(아) 프로브 재설계

- 프로브는 다음의 구조로 모듈화 하여 설계하고 광학 구조물은 외골격 구조를 도입하여 밀폐성과 안정성을 향상함.

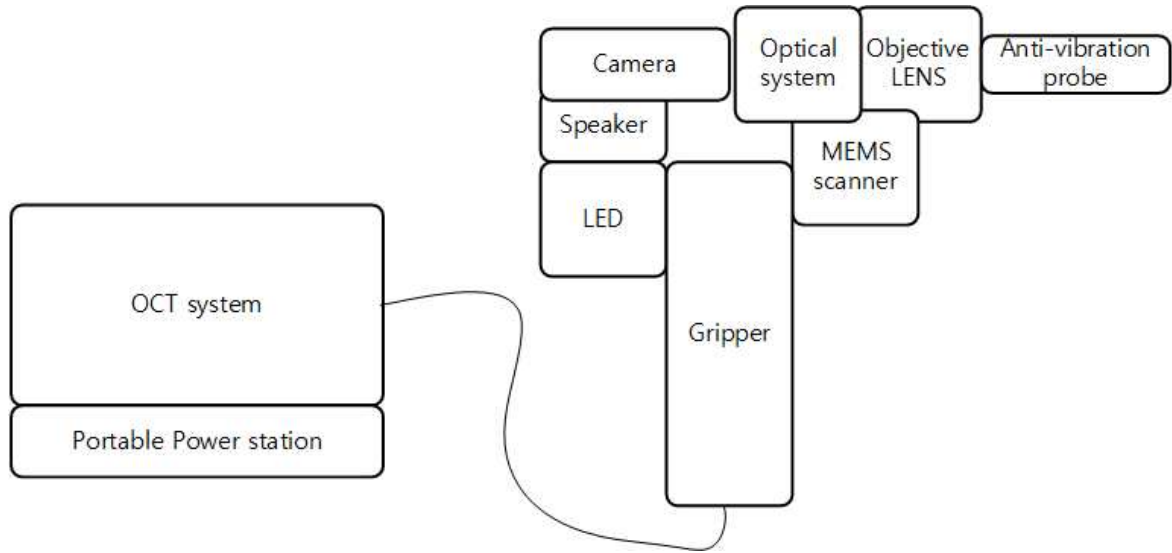


그림 256. 3차년도에 개발할 프로브 모듈의 모식도

- 프로브의 외부 케이스는 폴리머 계열로 인공학적 설계를 반영하여 심미적으로 제작하고 충격과 방수 방진을 위해 1 mm 이상의 두께로 제작함.

(자) Probe의 소형화 및 심미적 디자인 개선

- 1, 2차 년도에서 개발한 OCT는 기능적으로는 3차년도의 결과물과 비슷하지만 전반적으로 probe 사이즈가 크고 중량이 높아, 오랜 시간 필드에서 들고 다니기가 불편하고, 모서리각이 많은 구조는 소형 광학계를 설계하여 초소형화 시키는 외골격형 내부 광학 구조를 설계하였으며 내부 광학 구조를 기반으로 심미적 케이스를 설계함.

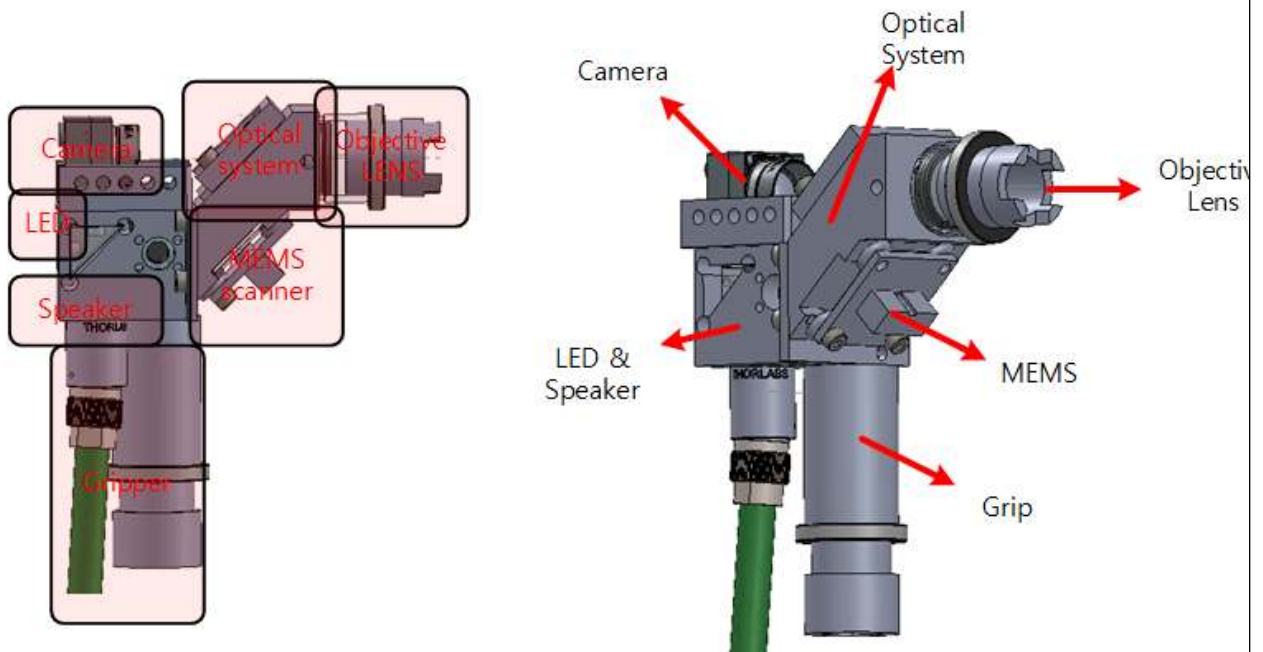


그림 257. 3차년도에 개발된 프로브 광학계의 3차원 설계도면

(차) 2D MEMS 스캐너 모듈의 설계 및 제작

- 빔을 스캔하기 위해 probe에 기존에는 2D galvanometer를 이용하여 스캔을 하였으나, galvanometer가 차지하는 부피로 인하여 소형화가 불가능하였으나, 납작한 판 형태인 MEMS scanner를 사용하여 광 경로의 방향을 90로 전환 시키고 right angle mirror 광학 부품을 설계에 반영하여 스캐닝을 할 수 있도록 설계하였으며 MEMS는 갈바노미터 스캐너에 비해 크기가 매우 작아 시스템을 소형화하기에 유리함.



그림 258. MEMS 이미지

① MEMS 스캐너 스펙

Device ID : S6285
Actuator Type : 4-Quadrant (Two-Axis, Bidirectional)
Mirror Coating : Aluminum
Maximum Angle - X Axis [degrees] : 5.0756
Maximum Angle - Y Axis [degrees] : 5.0352
Maximum Voltage - X Axis [V] : 159
Maximum Voltage - Y Axis [V] : 159
Bias Voltage [V] : 80
Maximum Angle - Coupled Axes [degrees] : 6.1121
Resonant Frequency - X Axis [Hz] : 525
Resonant Frequency - Y Axis [Hz] : 525
Quality Factor- X Axis : 18
Quality Factor - Y Axis : 18
Recommended LPF Cutoff Frequency (6th Order Bessel) : 220

그림 259. MEMS 스캐너 스펙

- ① MEMS 스캐너 주문 맞춤형으로 제작이 가능함.
- ② 현 프로브의 구조 설계를 통하여 조건이 맞는 MEMS 제작
- ③ X,Y 조절 각도 $\pm 5^\circ$, 스캐닝 속도 등 고려

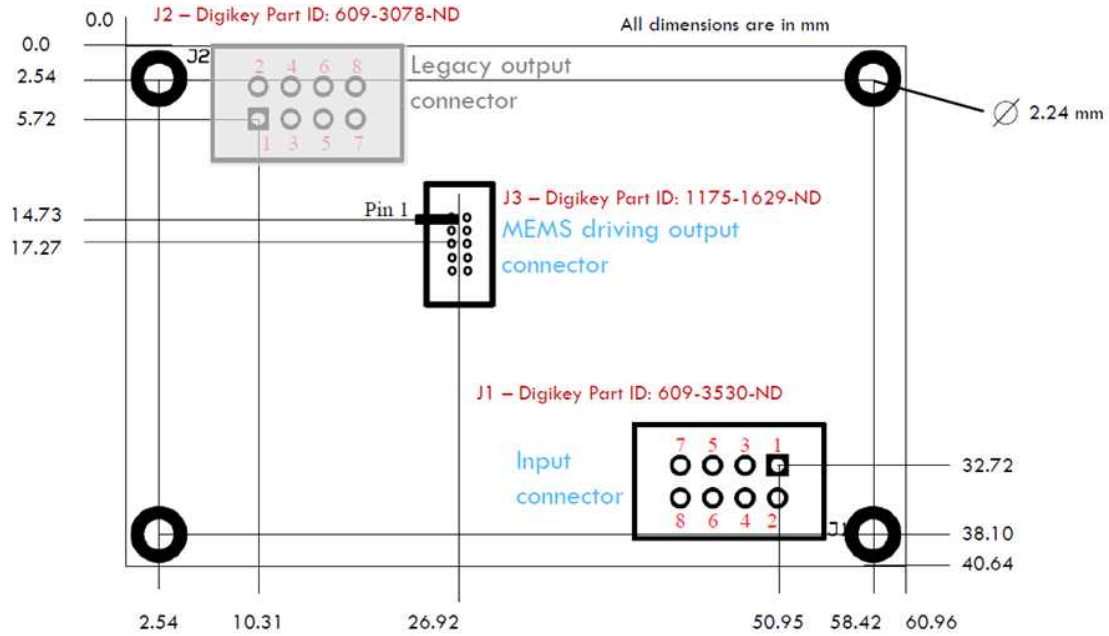


그림 260. MEMS 스캐너 드라이버

Input: 8 - Pin Header		
J1-Pin	Name	Description
1	EN	MEMS Driver Output Enable
2	FCLK	Filter Clock (60x filter cut-off)
3	GND	Ground
4	XIN	Analog Input X (XIN)
5	GND	Ground (<i>same connection as pin 3</i>)
6	YIN	Analog Input Y (YIN)
7	+5V	VDD (+ 5VDC)
8	+5V	VDD (+ 5VDC) (<i>same connection as pin 7</i>)

그림 261. MEMS 드라이버 입력포트

- MEMS 스캐너를 구동위하여 Input 5개, Output 4개 사용
- ② 입력 포트

- ㉔ En - MEMS 드라이버 On/Off 기능
- ㉕ FCLK(Filter Clock) - MEMS 하드웨어 안정성을 위한 필터
- ㉖ XIN - X축 신호 입력
- ㉗ YIN - Y축 신호 입력
- ㉘ +5V - MEMS 스캐너 및 드라이버 전원

(카) 출력 포트

Output: 10 - Pin Header		
J3-Pin	Name	Description
1	HV_A (X+)	MEMS Channel X+
2	GND	Ground
3	HV_B (X-)	MEMS Channel X-
4	GND	Ground
5	HV_C (Y-)	MEMS Channel Y-
6	GND	Ground
7	HV_D (Y+)	MEMS Channel Y+
8	GND	Ground
9	N/C	No Connection
10	N/C	No Connection

그림 262. MEMS 드라이버 출력포트

○ MEMS 드라이버와 MEMS 스캐너는 flexible ribbon 케이블을 이용하여 연결

(타) MEMS 성능 테스트

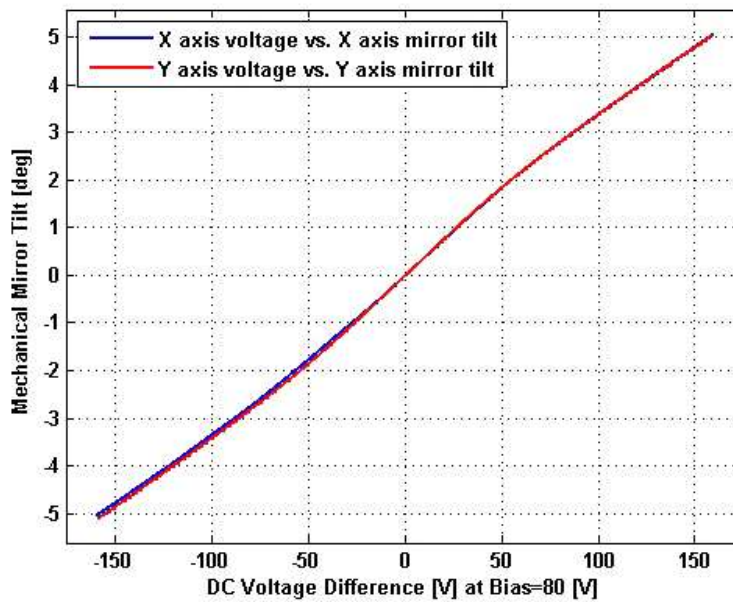


그림 263. 전압에 따른 MEMS X, Y축 각도

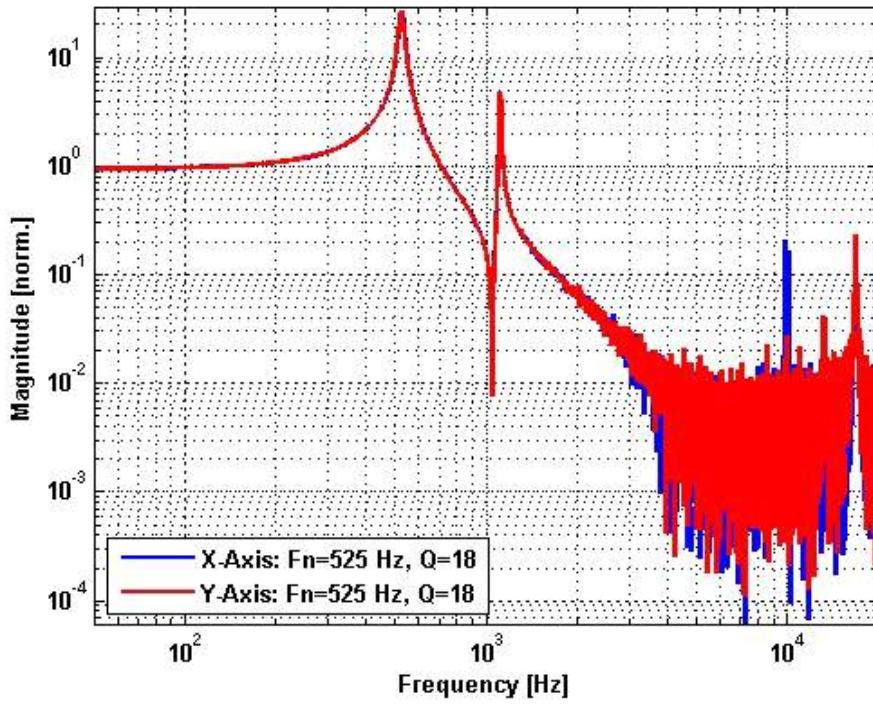


그림 264. 입력 신호 주파수에 따른 크기 반응

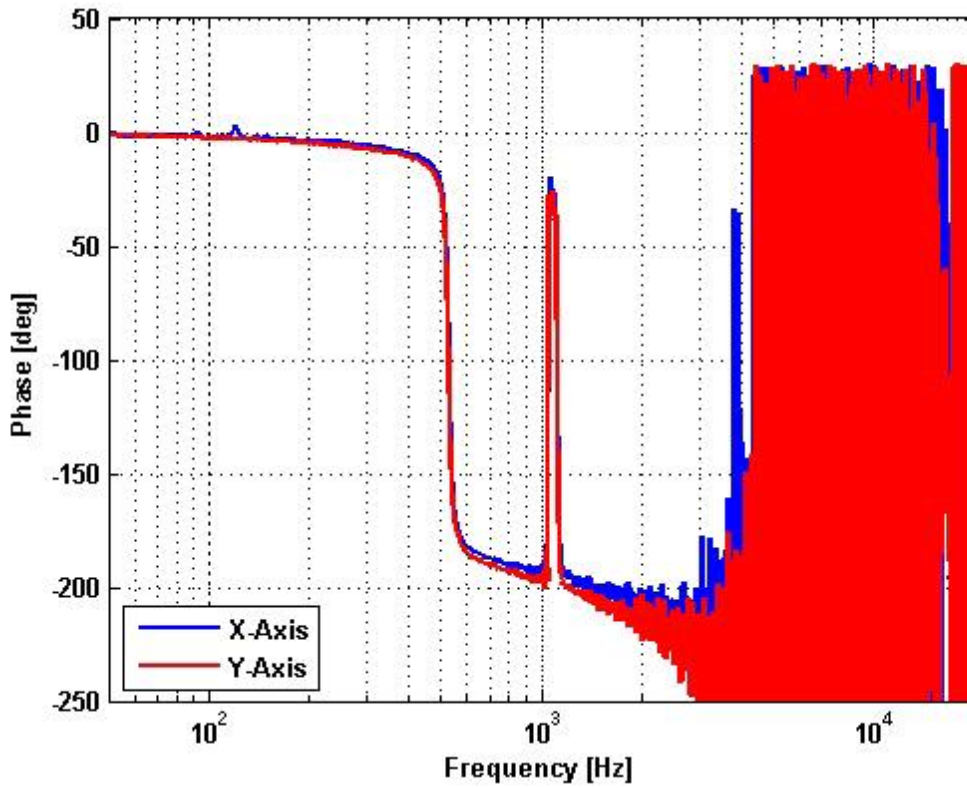


그림 265. 입력 신호 주파수에 따른 상 반응

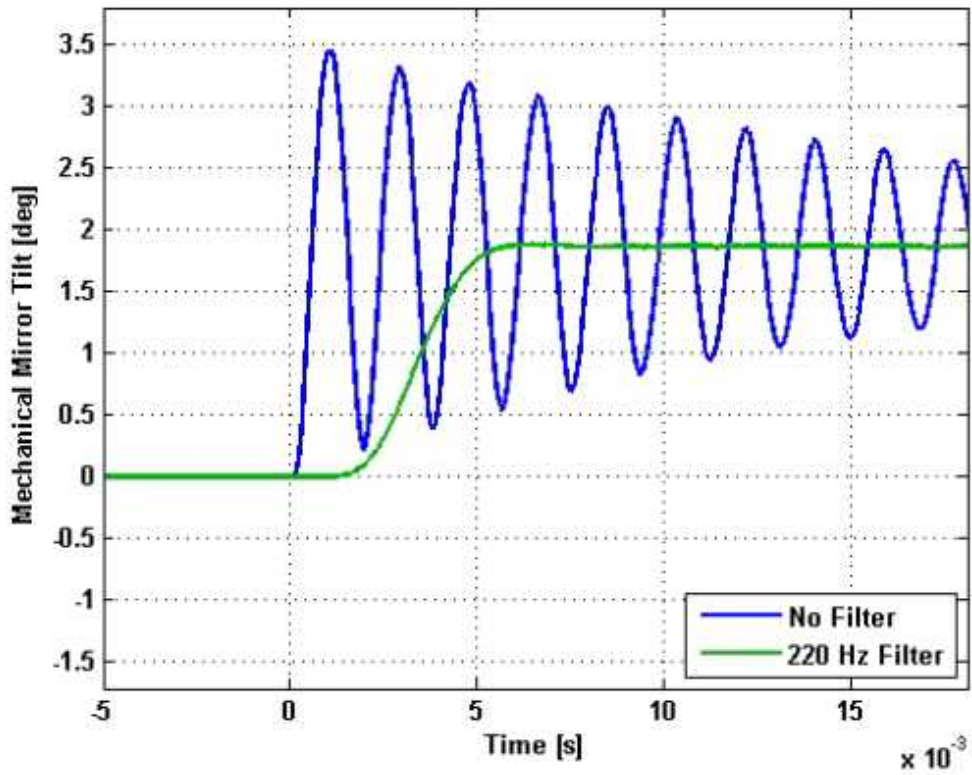


그림 266. 필터 유무에 따른 시간 대비 X축 각도

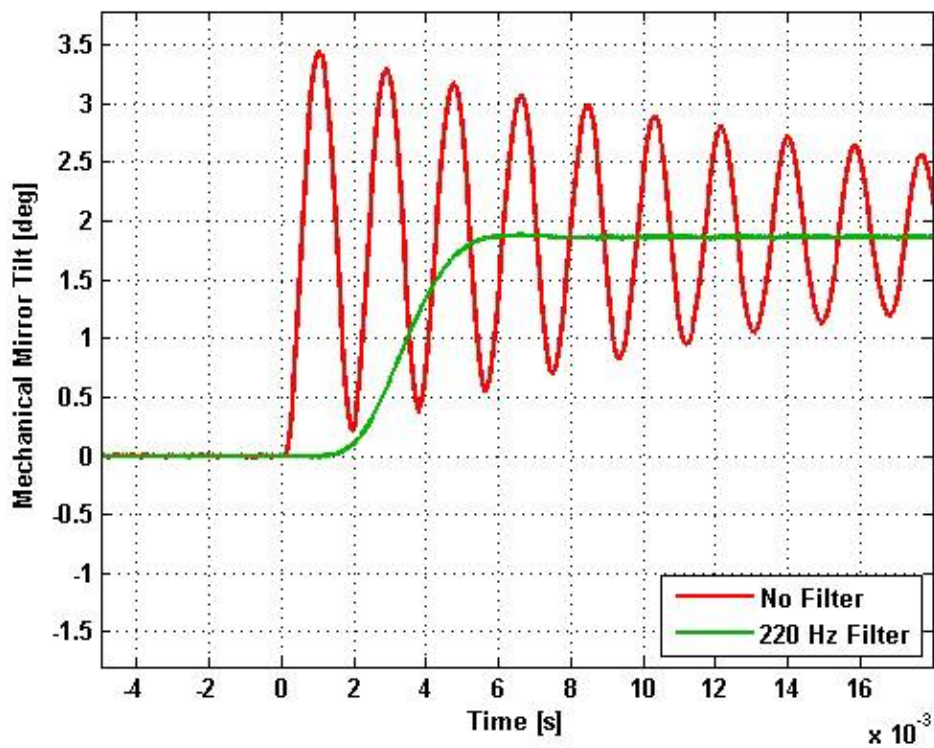


그림 267. 필터 유무에 따른 시간 대비 Y축 각도

- ① MEMS 스캐너 성능 평가를 시간과 전압에 따른 X,Y 축 각도 확인
- ② Bessel low pass 필터를 사용 유무에 따라 X,Y축 각도 및 반응 확인

(과) MEMS 구동 및 제어를 위한 Data Acquisition(DAQ) 회로설계와 보드제작 및 제어 알고리즘 설계

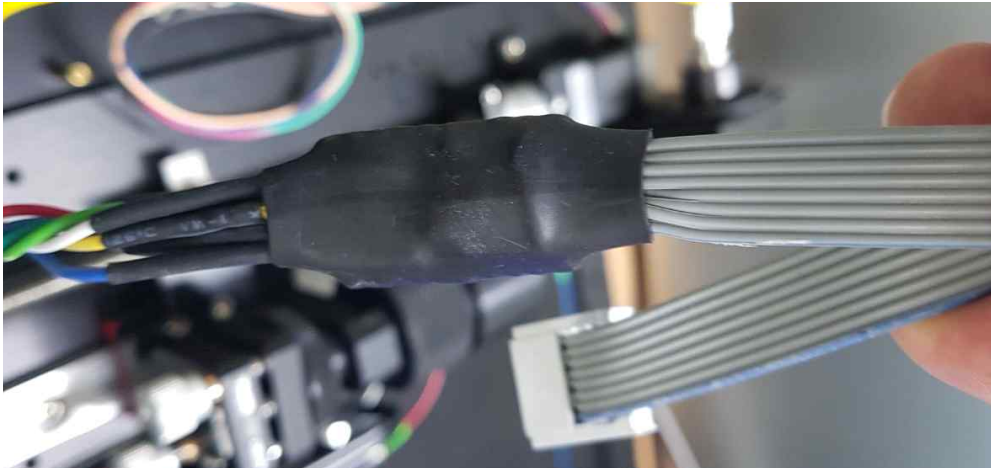


그림 268. MEMS 구동을 위해 설계한 보드

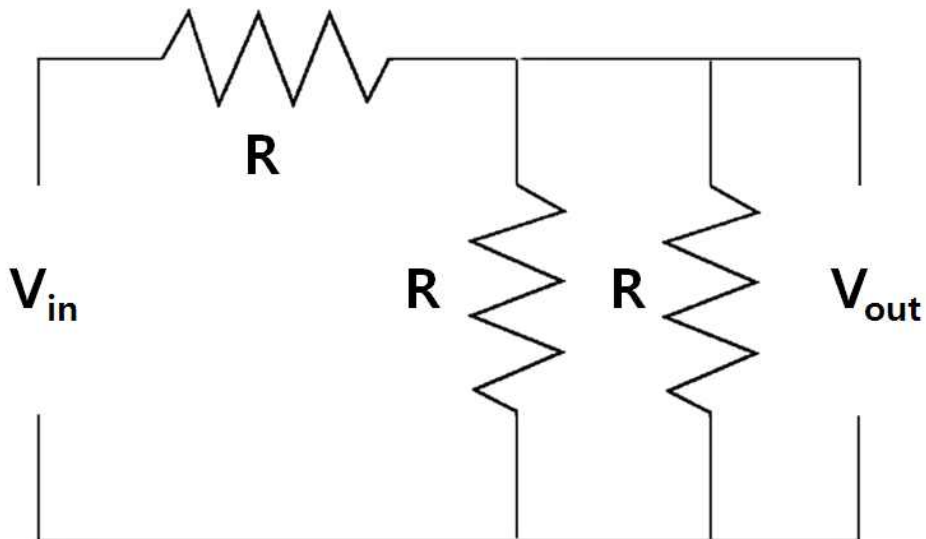
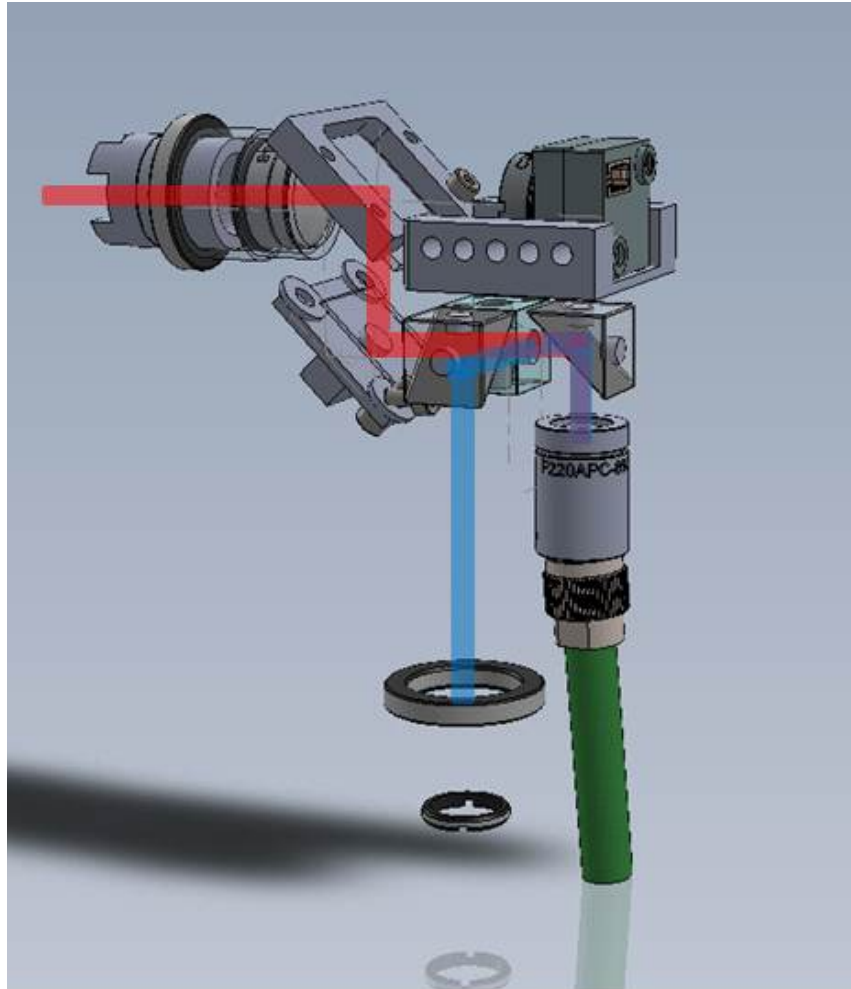


그림 269. MEMS Filter 설계도

- ① 기존 갈바노미터 스캐너에서 MEMS로 변경이 되었기 때문에 새롭게 제어 알고리즘을 설계함.
- ② DAQ에서 나오는 신호 $V_{in} = 5\text{ V}$, MEMS 드라이버 에 입력 값은 3.3 V 필요하여 위와 같이 설계함.

(2) 과수 진단 환경에 맞는 프로브 최적화 및 편광 개선 광학 시스템 설계 제작

- 과수 각종 부위의 미세 구조 변화 측정을 위하여 간섭신호의 안정화가 필수이나 프로브가 광섬유 기반으로 제작되어 과수 부위의 촬영할 때 프로브의 움직임에 의해 편광 변화가 생겨 간섭신호의 불안성이 발생함.
- 광섬유를 사용하여 간섭계 구성 시 발생하는 움직임 오류의 원인인 Polarization의 안정성 확보를 위하여 프로브의 간섭계를 벌크로 구성함.





 : Reference beam path
 : Sample beam path

그림 270. 프로브 광경로 모식도

- ① 빨간색은 샘플 단으로 가는 광경로이고, 파란색은 레퍼런스 미러로 가는 광경로이며 개방형 광학계로 구성하여 편광 변화의 영향을 최소화 함.
- ② 그림 117과 같이 OCT 본체에서 출발한 광원이 광섬유를 통해서 프로브로 전달된 빛을 콜리메이터를 이용하여 평행한 빔으로 만들어주고, 빔 스플리터를 통해 광 경로를 두 개로 나누어주는 일련의 광경로를 좁고 짧게 만들어 Probe main module의 부피를 축소시킴.

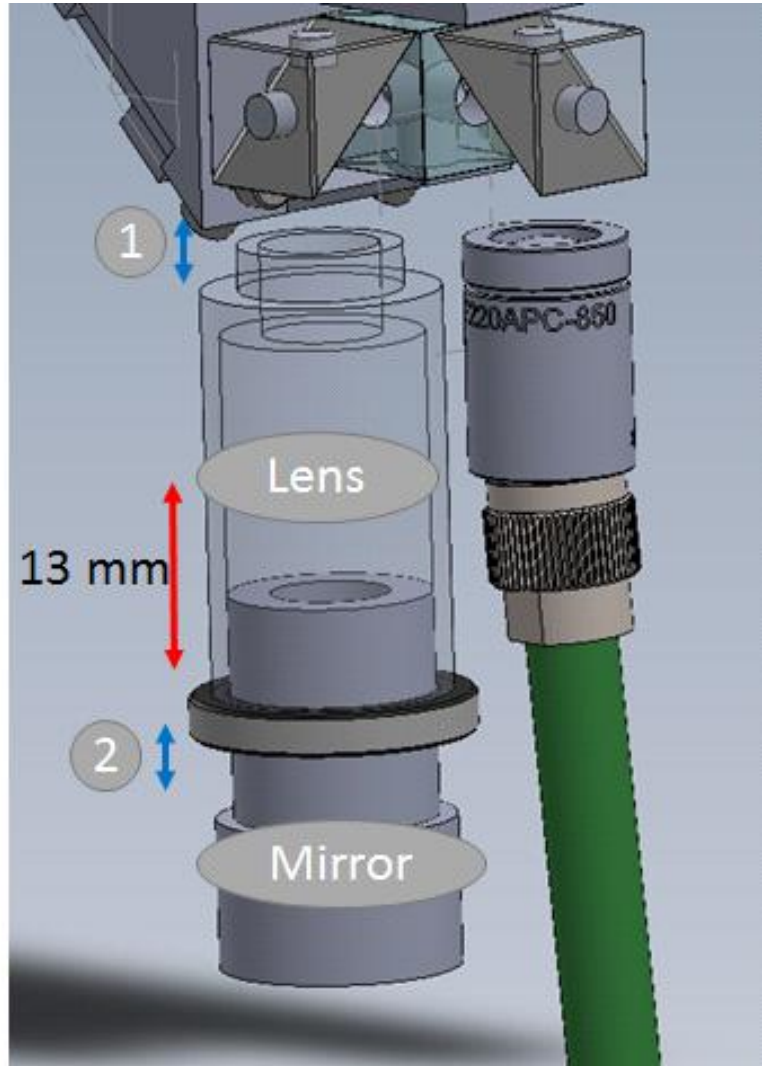


그림 271. 조절 가능한 레퍼런스 모식도

- ④ 샘플단과의 Path Length 맞추기 위해 lens와 튜브 밖과의 거리를 13mm로 설정
- ⑤ LENS 상부의 결합 부를 조절하여 Path length 를 맞춤.
- ⑥ 반사 거울은 미러 구조물을 이용하여 반사광 크기를 조절함.

(가) 비디오 이미지와 광단층 이미지를 동시에 제공하기 위한 광학적 경로 설계 및 구현 방법 개발

- ① 샘플의 백색광 영역의 정보를 확보하기 위하여 24 bit color 정보를 영역 카메라를 통하여 확보하도록 광학계를 설계함.
- ② OCT 광은 파장이 IR이므로 파장이 visible 범위와 분리하기 위하여 다이크로익 거울을 이용하여 IR은 반사하고 visible 광은 투과시킨 후 투과된 광을 카메라로 집속하여 2차원 영역 영상을 획득함.
- ③ Objective 렌즈의 포컬은 30 mm 이며 카메라는 고정 조점 18 mm 렌즈를 이용하여 검사 영역인 직경 4 mm의 영역으로 설정함.

④ 프로브에 사용된 모든 광학 컴포넌트는 B band anti reflection coating과 B band 파장을 기반으로 설계되었으며 영역 카메라의 장착이 가능하도록 Hot mirror와 M12 규격의 카메라 렌즈를 도입함.

표 101. 프로브에 사용된 광학 부품

품목	모델명
Collimator	F220APC-850 (Thorlabs)
Right Angle	MRA10-P01 (Thorlabs)
Beam Splitter	BS011 (Thorlabs)
LENS	AC127-025-B (Thorlabs)
Mirror	PF05-030-P01 (Thorlabs)
MEMS	4 Quadrant MEMS (Miracle MEMS)
Hot Mirror	#62-628 (Thorlabs)
Camera (Optional)	MU9PC (Ximea)

○ 판 형태의 MEMS 스캐너가 부착된 정도에 따라서 tilt가 정확하지 않아서 MEMS scanner의 0도 부분이 실제 probe의 0도 부분과 일치하지 않아서 calibration이 되지 않았으나, 그림과 같이 부착지점에 고무링을 넣어서 나사로 조이는 strain에 의해 2축의 기울기를 calibration 할 수 있도록 설계함.

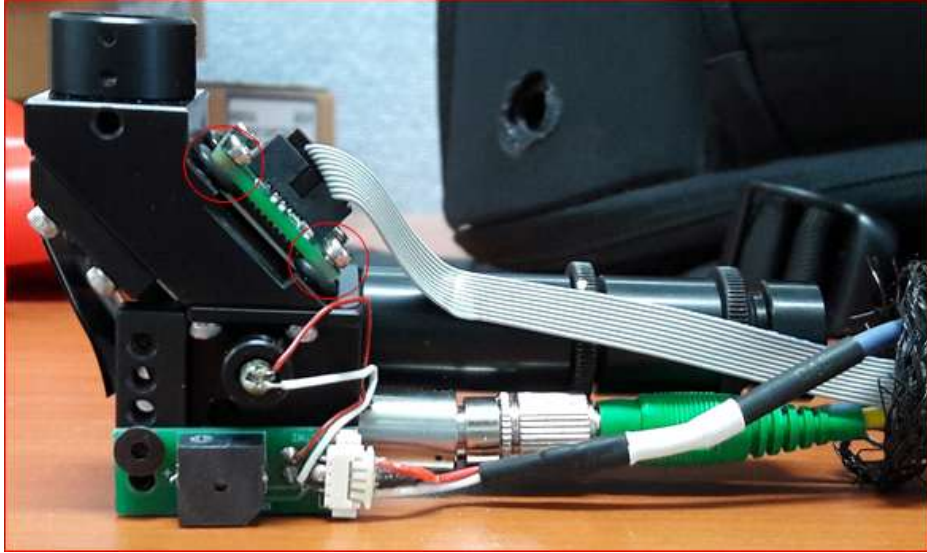


그림 272. MEMS Mirror 스캐너 각도 calibration 나사

○ 개발 프로브는 소형화 작업을 통하여 부피가 4배 이상 축소됨.



그림 273. 프로브 제작된 프로브 및 크기

표 102. 완성된 프로브 크기

프로브 가로 크기	프로브 세로 크기	프로브 높이 크기
28.10 mm	56.75 mm	101.82 mm

○ 프로브의 케이스는 일반적으로 실생활에서 많이 사용하는 핸드헬드 프로브와 오즈텍에서 개발한 다양한 핸드헬드 프로브에 반영된 인체공학적 설계 기법을 적용하여 설계함.



그림 274. 3차 년도 새로운 프로브에 대한 구상

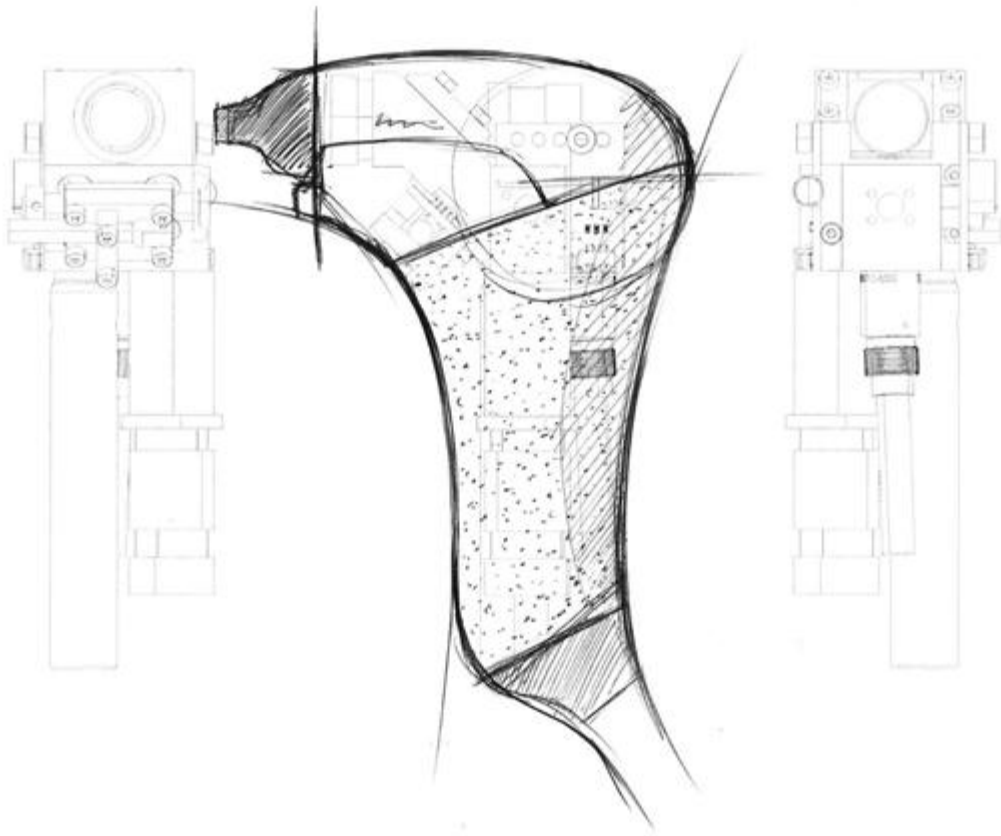


그림 275. 새로운 프로브에 대한 스케치



그림 276. 디자인한 프로브의 모습

- 그림 123은 probe의 소형화와 심미적인 디자인을 진행하기 위해 probe의 전반적인 설계를 모두 개선함, 특히 프로브의 외관을 곡선 형태로 손잡이 부분을 한국인의 손 크기에 맞게 적당한 그립감을 줄 수 있도록 더 작고 유선형의 형태로 프로브의 크기가 100*100*150 (mm*mm*mm) 이하로 가볍게 손에 들고 촬영 가능하도록 개발함.
- 프로브 끝단은 시료와 직접 접촉하면서 Aiming beam으로 검사되는 영역의 확인이 필요하므로 프로브 끝단을 투명한 폴리머 재질을 이용하고, 샘플의 훼손을 방지하기 위하여 접촉부를 넓게 설계하고 나사선 구조물로 분리하여 샘플과의 거리를 수동적으로 조정할 수 있도록 설계 및 제작함. 이동 거리는 중심을 기준으로 전 후 3 mm로 설정하여 다양한 샘플과 혹 있을 굴곡진 샘플까지 검사할 수 있도록 함.

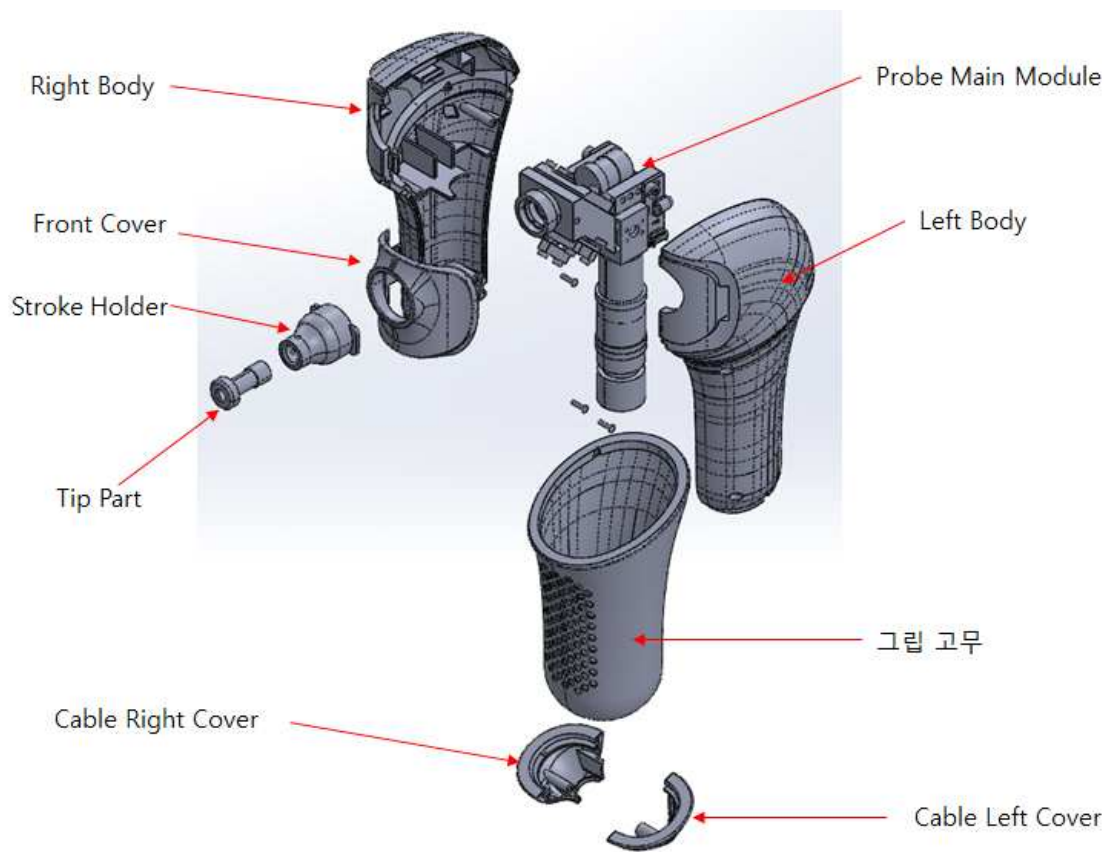


그림 277. 프로브 구성도

- 샘플과 프로브의 거리 조정 방법은 해당 과제를 통해 출원한 특허에 청구되어 있는 기술을 반영하여 제작하였으며 고정은 무두 볼트를 이용하여 제어함.

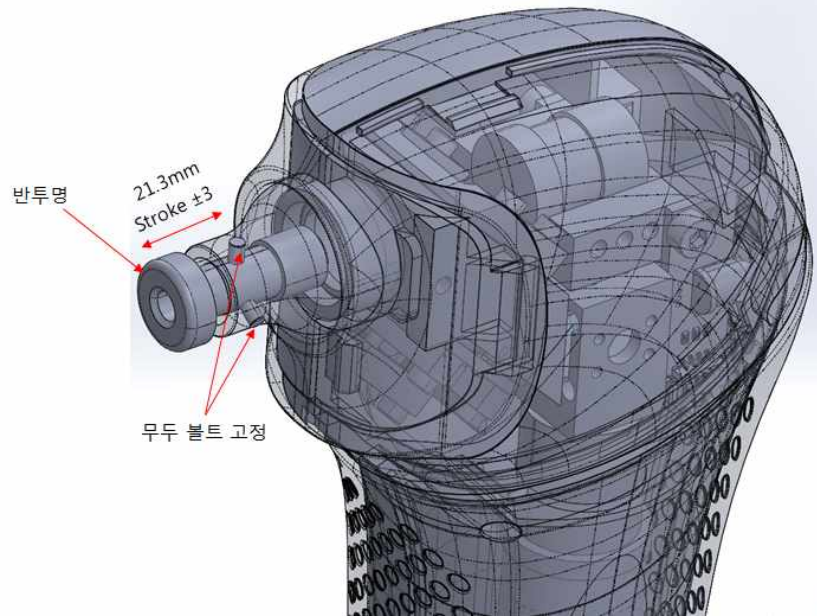


그림 278. 프로브 팁



그림 279. 내부 구조물이 들어가 있는 프로브의 모습



그림 280. 프로브 팁 디자인



그림 281. 그립감에 도움을 주는 손잡이 부분

- 그립 부분은 고무 계열의 재질로 그립 부분을 제작하여 땀 등에 의한 미끄럼과 더불어 손에서 전달되는 열을 차단하도록 설계하였으며 그립 부분을 프로브 그립 부분을 완전히 감싸는 형태를 도입하여 내부 광학계를 고정시키는 프로브 케이스를 완전히 밀착하여 구조 결속을 강화함.
- 질병 질환의 결과는 실시간으로 확보한 단층 영상을 검출 알고리즘이 분석하고 그 결과를 GPIO를 통해 프로브 측면에 장착한 그림 112의 LED 제어 보드로 즉시 전달하여 LED의 색을 감염은 붉은 색, 건전은 파란색으로 결정하고 점등하여 검사자가 즉시 확인할 수 있도록 제작함.



그림 282. 케이싱하여 완성된 프로브의 모습

(나) 스펙트로미터의 소형화

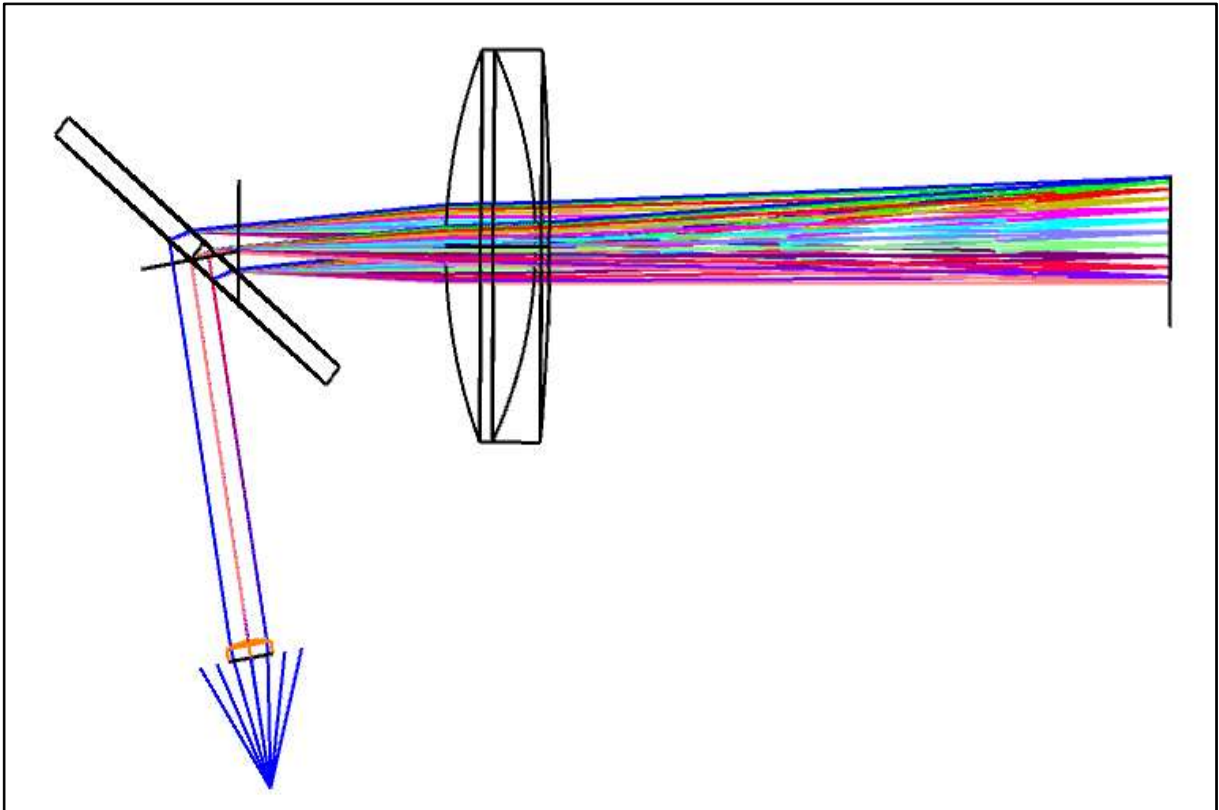


그림 283. 광 경로 설계

- 기존의 스펙트로미터의 광 경로를 축소하기 위하여 적용 카메라 영상 셀의 크기가 2차년도에 사용한 영상 셀보다 1/2 작은 영상 셀을 이용하였으며 그로 인하여 전체 광학계의 경로가 기존보다 단축시킴.
- 간섭 신호 처리에 필요한 데이터 량을 최소화 하였으며 그로인해 데이터 크기가 기존보다 50% 감소하였으며 50 KHz의 획득 속도로 구현하였을 경우 GigE 데이터 인터페이스로 충분히 구현이 가능하므로 데이터 획득 구조가 단순화 되어 시스템을 최대한 소형화 시킴.
- 기존의 스펙트로미터 구조는 정밀 조정을 위하여 콜리미터와 그레이팅 사이에 미러를 위치시키고 키네틱 구조물을 이용하였으나 당해 연도에 콜리미터와 키네틱 구조를 직접 결합하도록 개발하여 광학 구조물의 크기를 기존 보다 1/4배 축소시킴.

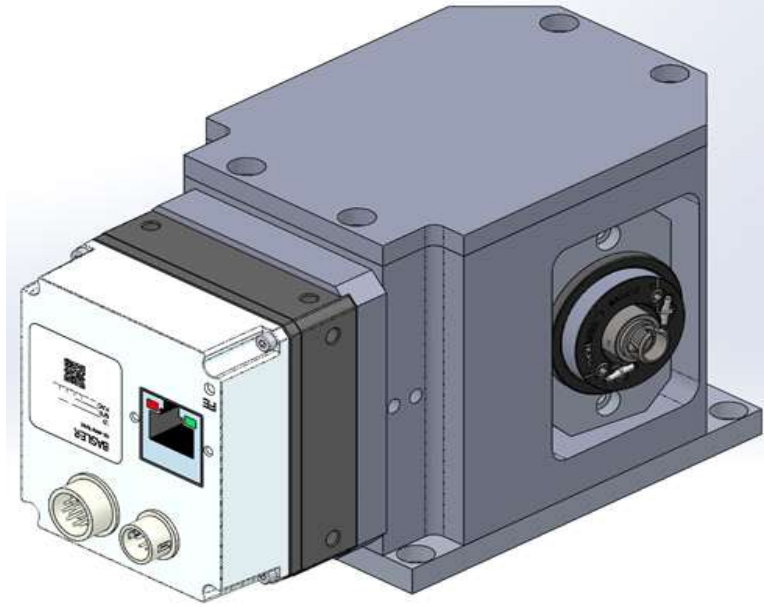


그림 284. 컴팩트 스펙트로미터 그림

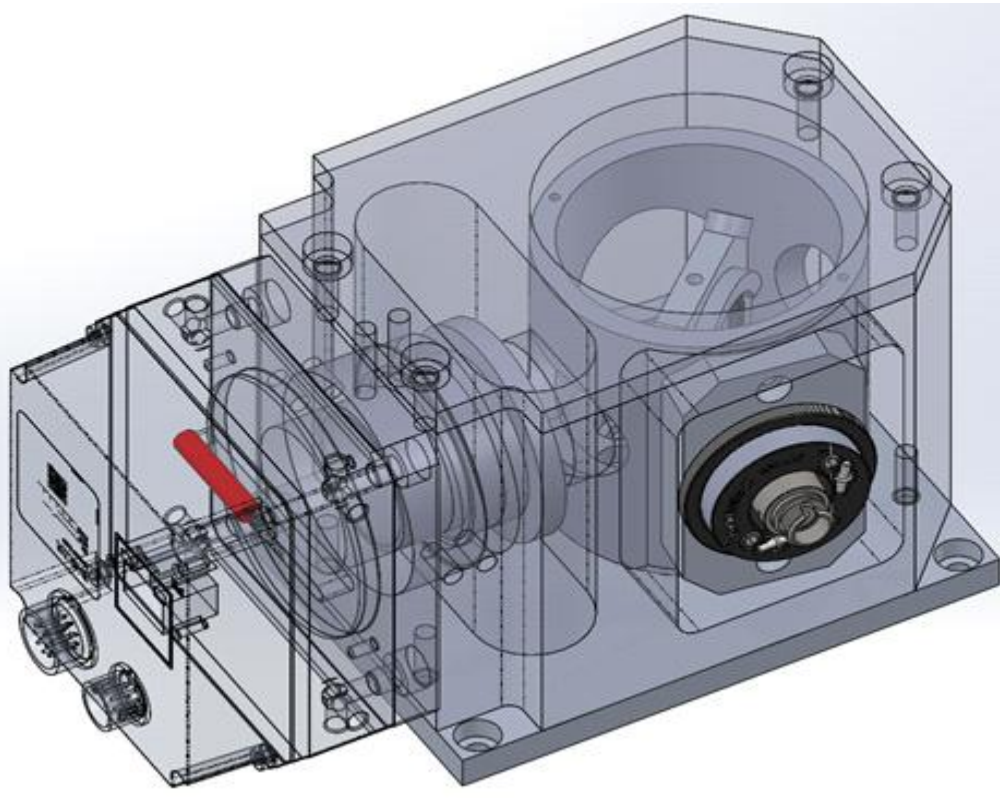


그림 285. 컴팩트 스펙트로미터 내부 구조

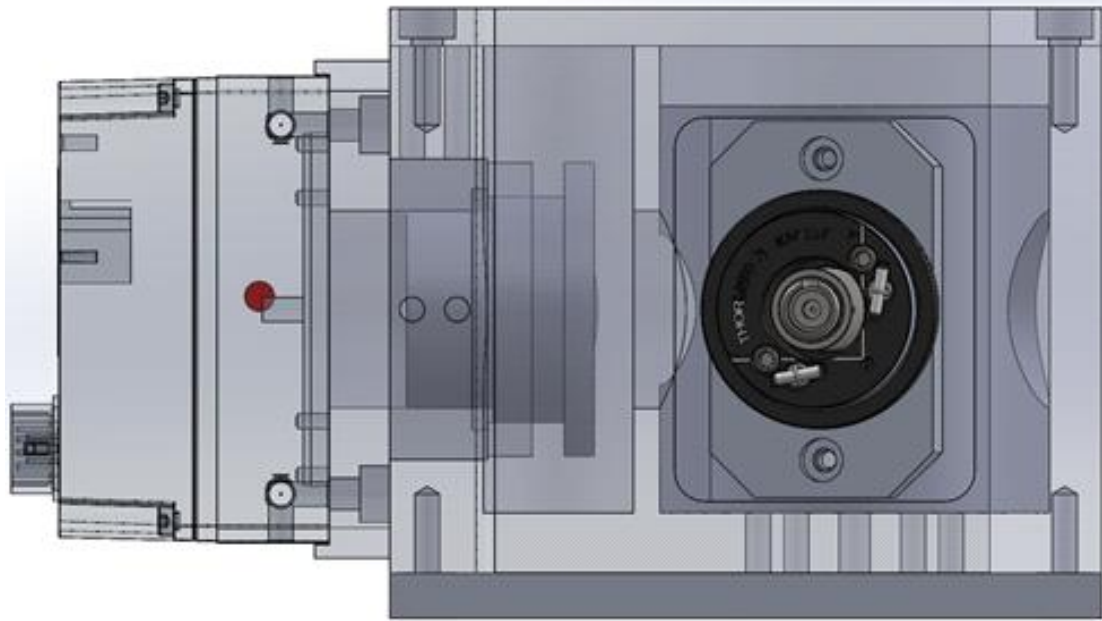


그림 286. 콤팩트 스펙트로미터 측면

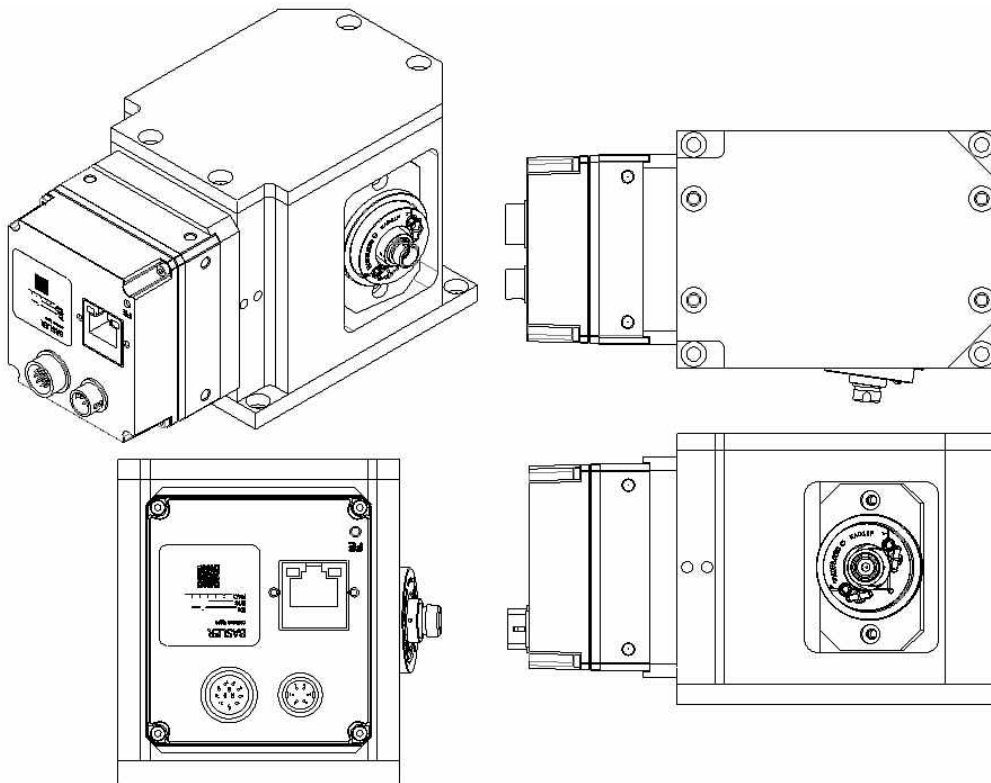


그림 287. 콤팩트 스펙트로미터 디자인



그림 288. Kinematic Adapter

○ 콜리메이터 결합형 Kinematic adapter는 실험을 통하여 효과적으로 광학적 조정이 가능한 것을 확인함.

표 103. GigaE 카메라를 사용한 스펙트로미터 부품 목록

부품 목록	부품 이미지	사양	부품 역할	제조사
콜리메이터 (Collimator)		중심 파장 850nm, NA=0.15, FC/APC 타입	결합기를 거쳐 오는 빛을 샘플에 직선으로 이동하게 만들고, 샘플에서 맞고 나온 빛을 다시 결합기로 보내는 역할	Thorlabs

<p>그레팅 (Grating)</p>		<p>직경= 25.4mm, 반사율 : > 96%</p>	<p>카메라 픽셀별로 다른 과장의 빛을 넣기 위해 빛을 과장별로 쪼개기 위한 장치</p>	<p>Wasatch Photonic s</p>
<p>키네매틱 콜리메이터 어댑터 (Kinematic collimator adapter)</p>		<p>2축 컨트롤 가능, 각도 범위 =±6°</p>	<p>콜리메이터를 미세하게 컨트롤하기 위한 장치</p>	<p>Thorlabs</p>
<p>포커싱 렌즈 (Focusing lens)</p>		<p>직경= 25.4mm, 초점거리= 40mm</p>	<p>빛을 포커싱 시켜서 파워를 모으는 역할</p>	<p>Thorlabs</p>
<p>라인 스캔 카메라 (Line scan camera)</p>		<p>해상도= 2048px, 속도= 51kHz</p>	<p>쪼개진 빛의 정보를 받아서 이미지를 만들어 주기 위한 장치</p>	<p>Basler</p>

○ 스펙트로미터 얼라인 후에는 에폭시로 고정하여 틀어지지 않도록 함.



그림 289. 제작한 콤팩트 스펙트로미터

○ 분광 신호 획득을 위한 카메라



그림 290. GigE 카메라 앞부분



그림 291. GigE 카메라 뒷부분

- ① 앞부분에는 신호를 받는 카메라 셀이 있음.
- ② 뒷부분에는 전원 입력과 트리거신호 입력, 데이터 통신을 하는 포트가 있음.

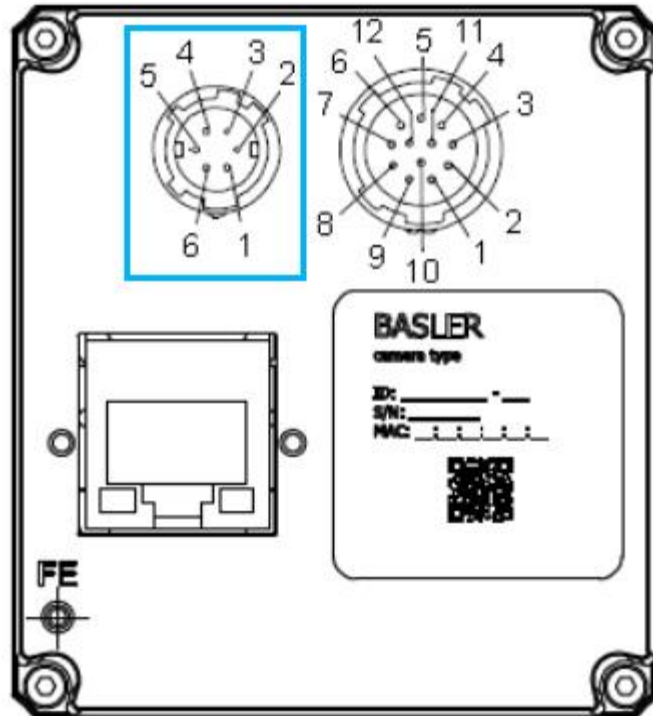


그림 292. 카메라 전원 공급 포트

- ③ 카메라 전원 공급에 필요한 전압은 +12V 임

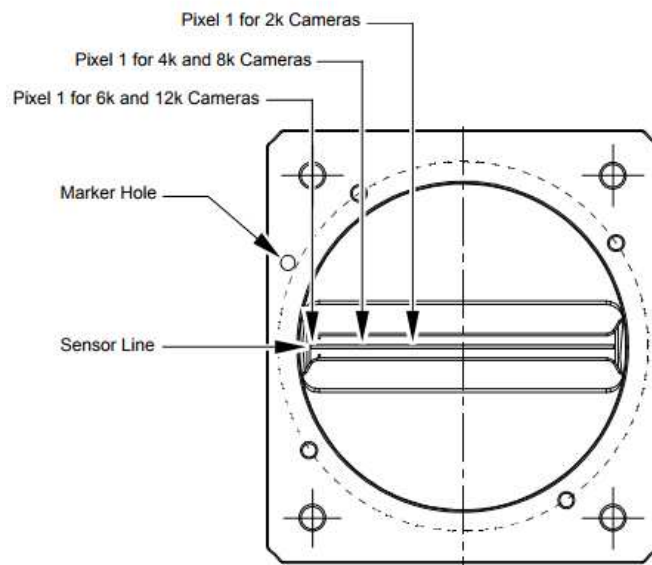


그림 293. 카메라 센서 라인 위치

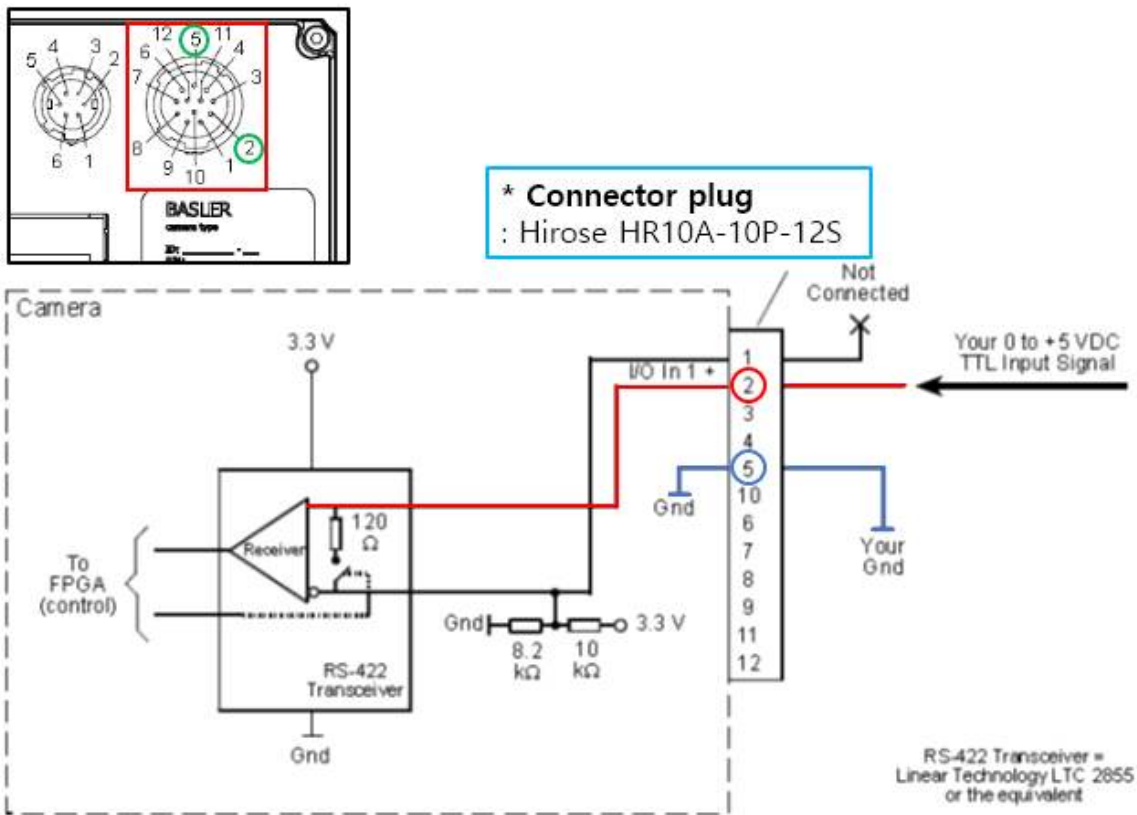
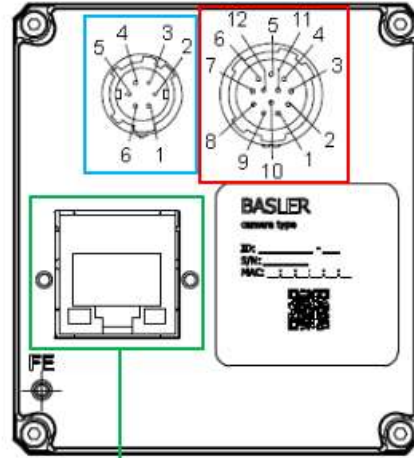


그림 294. GigE 카메라 트리거 정보



RJ-45 LAN 케이블 (Cat 6, 7)
EMI 영향을 줄이기 위해
STP 실드 된 케이블 사용 권장

그림 295. GigE 카메라 뒷부분

- ④ GigE 타입 카메라를 사용할 때는 12-Pin connector를 통해 DAQ와 연결하여 트리거 신호를 줌으로써 스캔 동기화가 가능함
- ⑤ 시스템 오류를 줄이기 위해 STP 실드된 케이블을 사용하여 연결함



그림 296. Cat.7 STP 케이블

Code	Condition	Meaning
0	No Error	The camera has not detected any errors since the last time that the error memory was cleared.
1	Overtrigger	An overtrigger has occurred. The user has applied an acquisition start trigger to the camera when the camera was not in a waiting for acquisition start condition. Or, the user has applied a frame start trigger to the camera when the camera was not in a waiting for frame start condition.
2	User Set Load	An error occurred when attempting to load a user set. Typically, this means that the user set contains an invalid value. Try loading a different user set.
3	Invalid Parameter	A parameter is set out of range or in an otherwise invalid manner.
4	Over Temperature	The camera has stopped image acquisition due to overheating. Provide adequate cooling to the camera.

그림 297. Error Code

⑥ 카메라에 오류가 발생하면 LED표시기에 노란색 및 녹색 LED를 깜박이고, Error Code를 설정함.

⑦ GigE 카메라의 Specification은 다음과 같음.

Specification	GigE Camera
Resolution	2048 pixels
Sensor Type	Monochrome Linear CMOS
Pixel Size	7 um * 7 um
Max Line Rate	51kHz
Mono/Color	Mono
Data Output	Fast Ethernet or Gigabit Ethernet
ADC Bit Depth	12bit
Exposure Time Control	Programmable via the camera API
Camera Power Requirements	+12 VDC (-10%) to +24 VDC (+5%) < 1 % ripple Supplied via the camera's 6-pin connector
I/O Lines	3 input lines and 2 output lines

그림 298. Camera Specification

⑧ 아래의 그래프는 GigE 카메라의 quantum efficiency curve를 나타냄

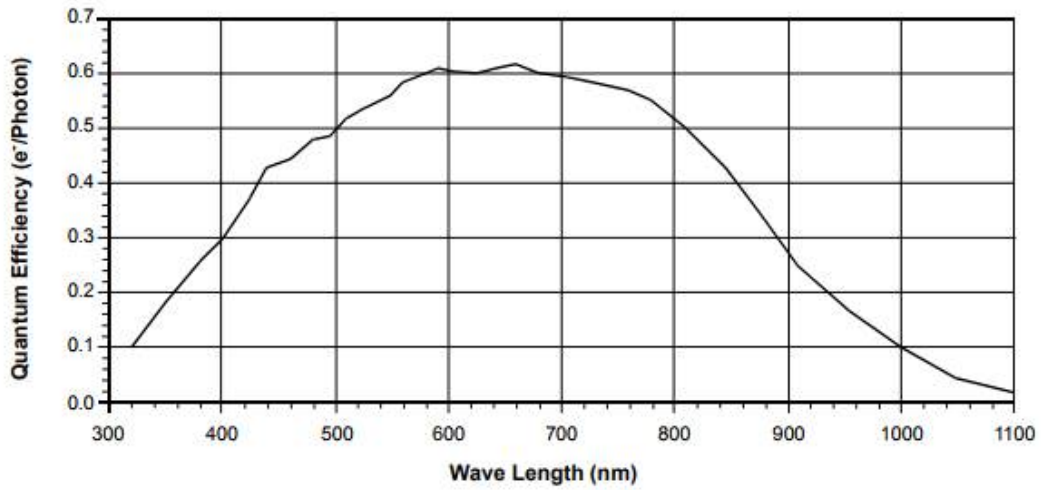


그림 299. Quantum Efficiency of the Monochrome Sensor in 12BIT Depth Mode

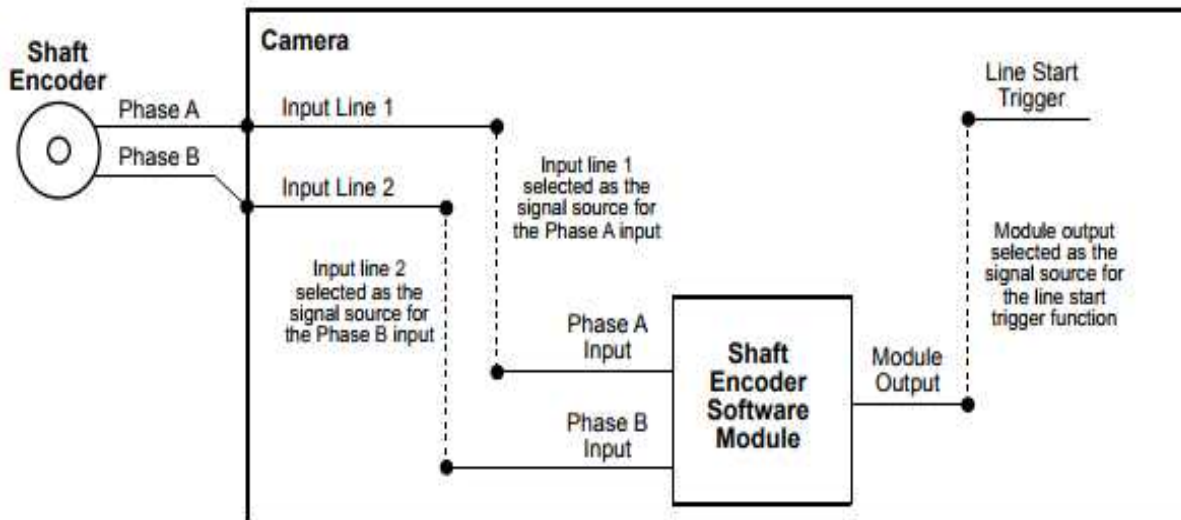


그림 300. Typical Shaft Encoder Module Implementation

⑨ 카메라에는 Shaft Encoder Software 모듈이 장착되어 있으며 2채널 Shaft Encoder 모듈은 사용할 수 있는 신호를 출력함

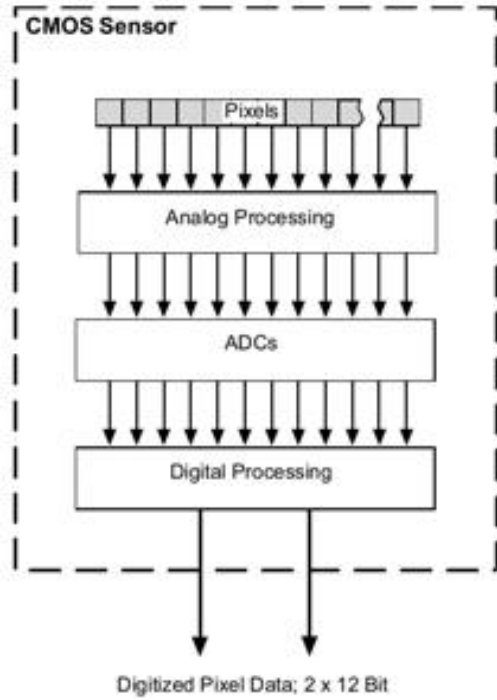


그림 301. CMOS Sensor Architecture

- ⑩ 카메라는 단색 이미징을 위해 설계된 단일 라인 COMS 센서 R칩을 사용함.
- ⑪ 카메라의 이미지 획득은 외부에서 생성된 트리거 신호를 통해 제어할 수 있음.

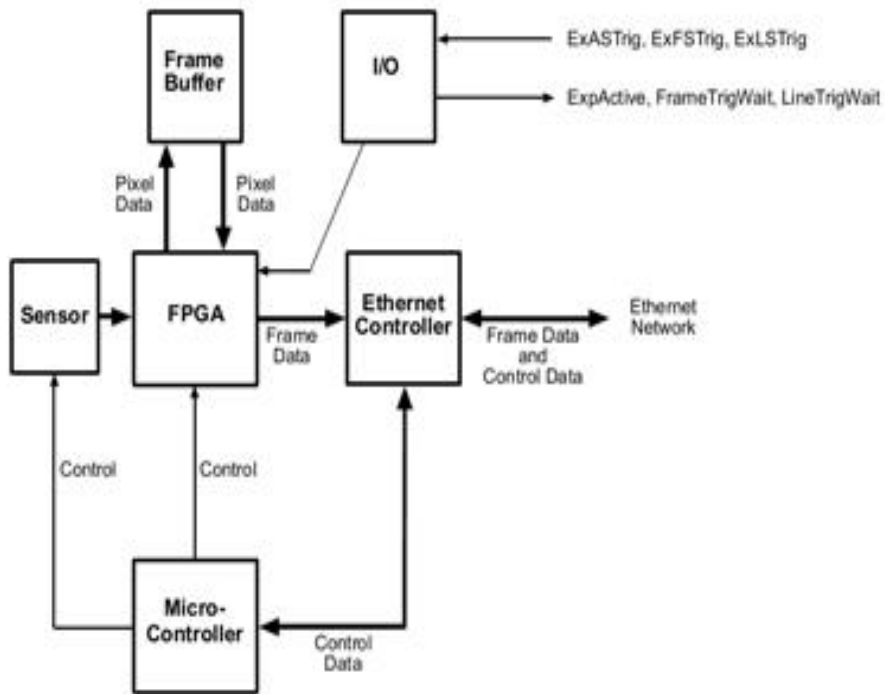


그림 302. Camera Block Diagram

- ⑫ Gray값은 센서의 색선을 통과하여 digital processing 후 FPGA를 통해 이미지 버퍼로 전달됨.

- 이미지 버퍼에서 FPGA를 통해 data packets로 Ethernet Controller로 전달
- Packets은 Ethernet Controller를 통해 컴퓨터의 네트워크 어댑터로 전송됨.

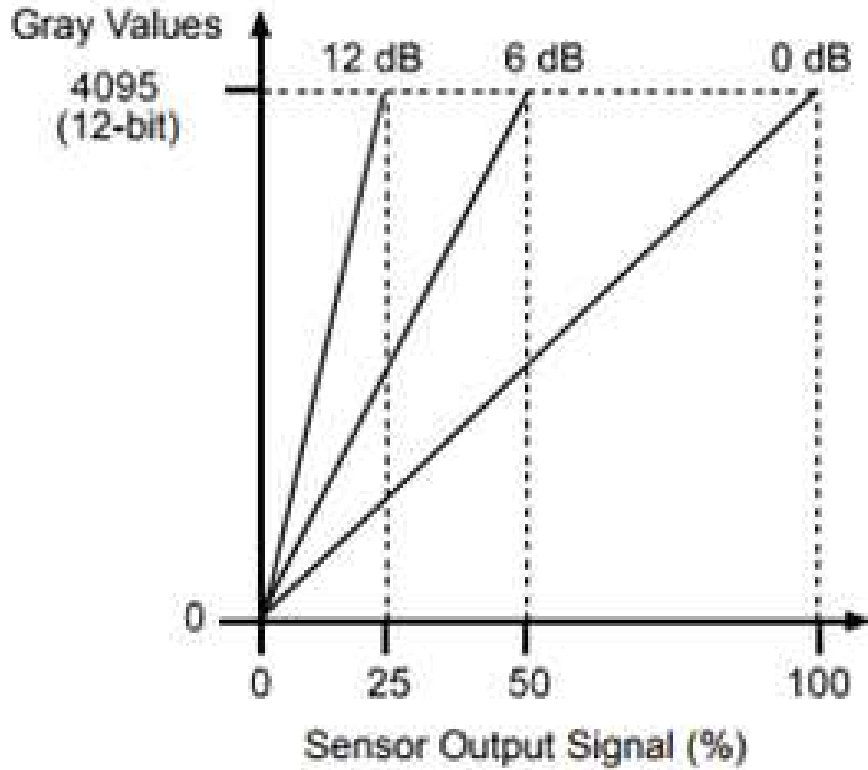


그림 303. Gain in dB

- ⑬ 카메라 Gain은 조정 가능함.
- 값을 증가시키면 카메라 출력의 Gray 값이 증가함.

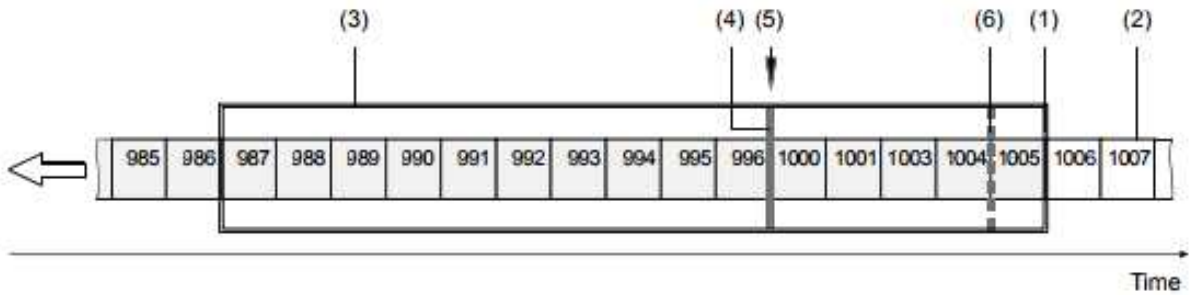
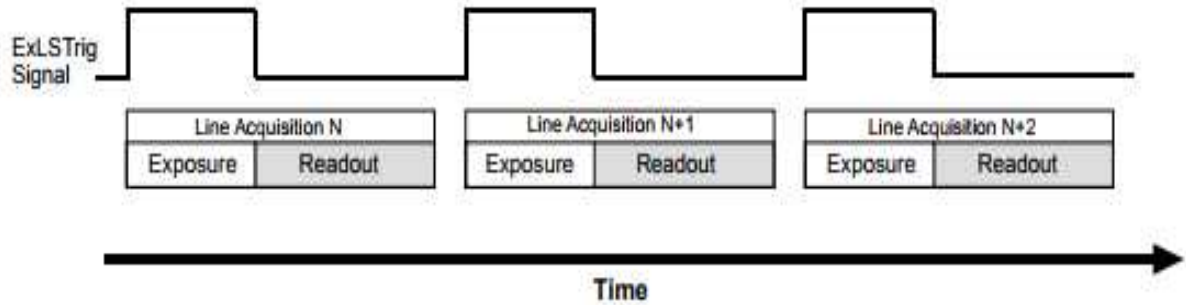


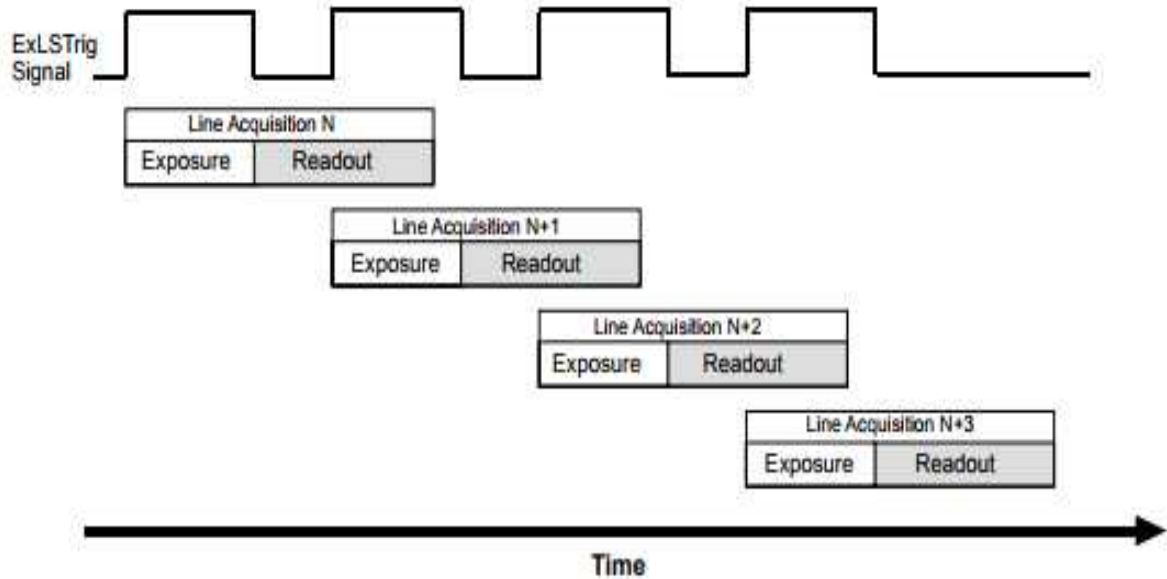
그림 304. packet 재전송 예시

- ⑭ 패킷 재전송 메커니즘을 활성화 할 수 있음.
- ⑮ 패킷 재전송 메커니즘을 false로 설정하면 누락된 패킷을 확인하지 않음.
- 누락된 패킷이 감지된 끝
- 회색은 패킷이 입력된 상태, 흰색은 확인되지 않은 상태

- 성능 드라이버의 수신
- 재전송 요청 송신 임계 값
- 각 패킷 997, 998, 999에 대해 재전송 요청이 전송됨
- 일괄 처리 재전송 요청의 임계 값



Non-overlapped Exposure and Readout



Overlapped Exposure and Readout

그림 305. Line acquisition process

⑩ Line acquisition process에는 non-overlapped와 overlapped 두 가지가 있음

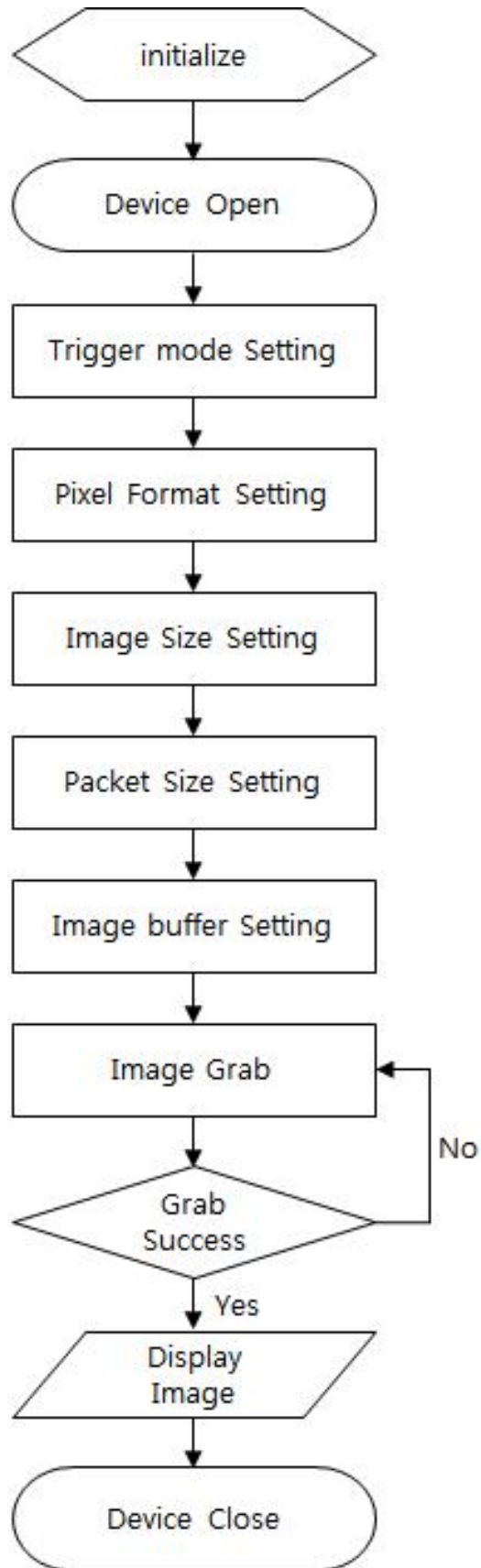


그림 306. 카메라 운영 순서도

⑰ 카메라는 위와 같은 순서대로 처리함

⑱ Trigger Mode Setting

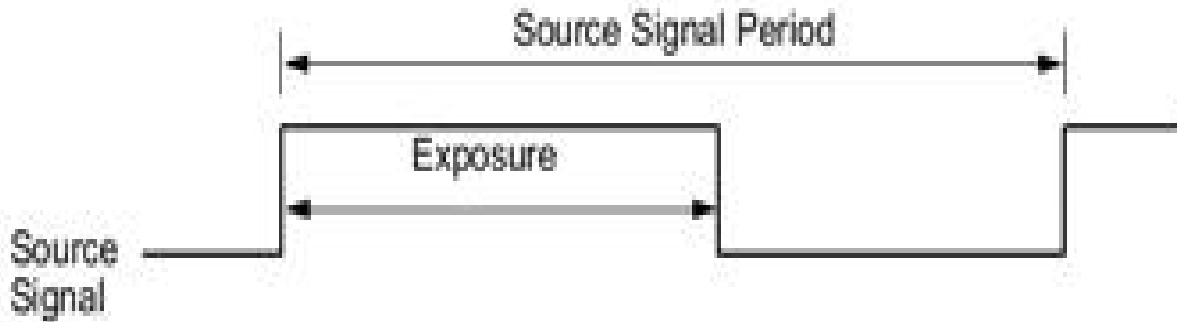


그림 307. RisingEdge에서의 Line Start Triggering

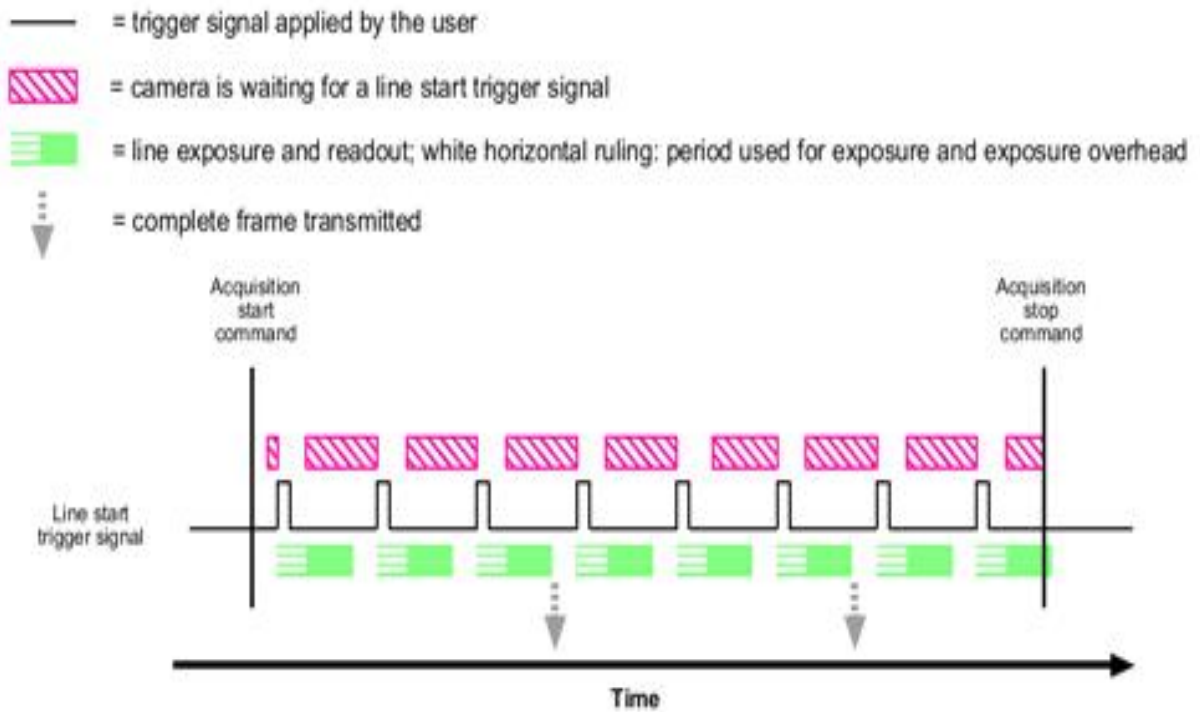


그림 308. Line Start Triggering

- Line Start Trigger = On, TriggerActivation = RisingEdge 로 사용함.
- 신호가 오를 때 Exposure Time이 시작됨.
- Exposure Start Delay는 1.5us이고, End Delay는 1.2us임.

①9 Pixel Format Setting

This Data Value (Hexadecimal)	Indicates This Signal Level (Decimal)
0x0FFF	4095
0x0FFE	4094
•	•
•	•
•	•
0x0001	1
0x0000	0

그림 309. Unsigned 12bit data 값 범위

- Pixel Format은 Mono12 Packed로 설정
- 12bit에 픽셀당 밝기 데이터, 3바이트에 2픽셀의 데이터를 포함함
- unsigned type 12bit 데이터임

Byte	Pixel - Data Bits
B ₀	P ₀ 11 ... 4
B ₁	P ₁ 3 ... 0 P ₀ 3 ... 0
B ₂	P ₁ 11 ... 4
B ₃	P ₂ 11 ... 4
B ₄	P ₃ 3 ... 0 P ₂ 3 ... 0
B ₅	P ₃ 11 ... 4
B ₆	P ₄ 11 ... 4
B ₇	P ₅ 3 ... 0 P ₄ 3 ... 0
B ₈	P ₅ 11 ... 4
B ₉	P ₆ 11 ... 4
B ₁₀	P ₇ 3 ... 0 P ₆ 3 ... 0
B ₁₁	P ₇ 1 ... 4
•	•
•	• •
•	•
B _{m-5}	P _{n-3} 11 ... 4
B _{m-4}	P _{n-2} 3 ... 0 P _{n-3} 3 ... 0
B _{m-3}	P _{n-2} 11 ... 4
B _{m-2}	P _{n-1} 11 ... 4
B _{m-1}	P _n 3 ... 0 P _{n-1} 3 ... 0
B _m	P _n 11 ... 4

그림 310. Mono 12 Packed Format

⑩ Image Size Setting

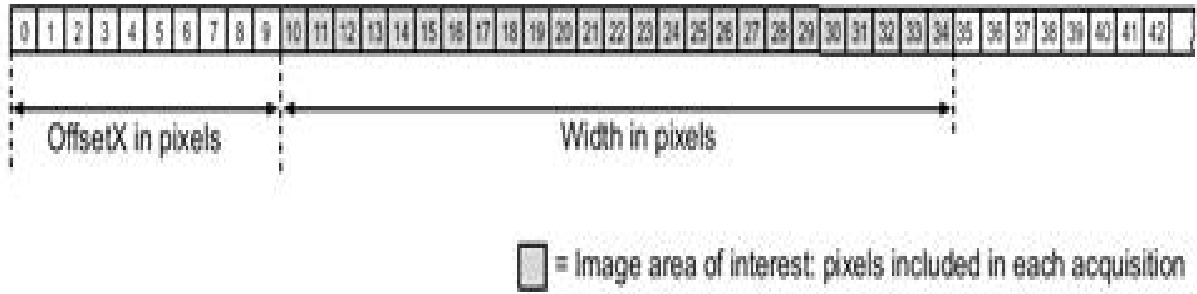


그림 311. Image Area Setting

- 수집된 line을 버퍼에 축적하고 이를 frame으로 assemble함
- OffsetX, Width, Height를 Setting하여 frame을 구성함
- 센서의 픽셀 번호는 0부터 시작함
- 영상 센서 픽셀의 실질적 크기 : $7 \mu\text{m} \times 7 \mu\text{m}$

(3) 현장진단 실증시험 및 사과/배 품종에 따른 진단시스템 알고리즘 개발

(가) 샘플 기울어짐을 보정하기 위한 Flattening 알고리즘 적용

- Threshold filter 적용을 통해 각 품종에 대한 layer 분석력 향상

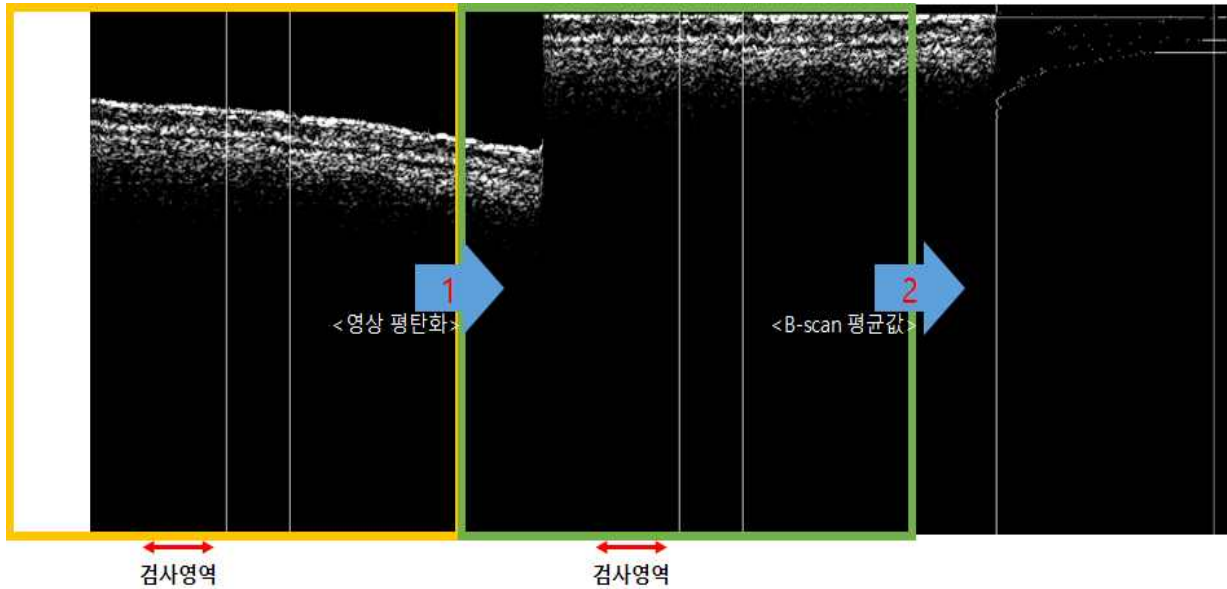


그림 312. 영상 평탄화 작업과 B-scan 평균값 계산

- 각 A-scan 라인에서 Maximum intensity 값을 찾아서, 영상을 평탄하게 보정.
- 검사영역 내의 각 B-scan 라인의 Intensity 평균값을 계산함.

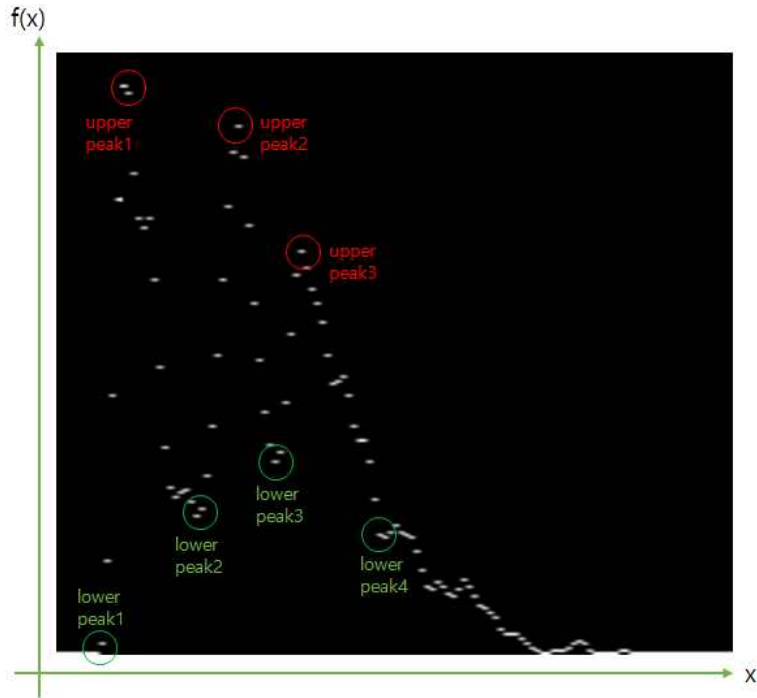


그림 313. Upper peak와 lower peak

(나) 진단의 정확성을 높이기 위해 Threshold value 설정, Upper peak값과 lower peak값을 자동으로 검출하기 위한 알고리즘 개발

- Upper peak 와 lower peak 사이의 높이를 peak 높이로 정의한 후 peak 높이가 지정한 Threshold 값보다 큰 경우 유효한 피크로 정의함.
- 유효한 피크의 개수가 2개 이하면 Diseased, 유효한 피크의 개수가 3개 이상이면 healthy로 판단

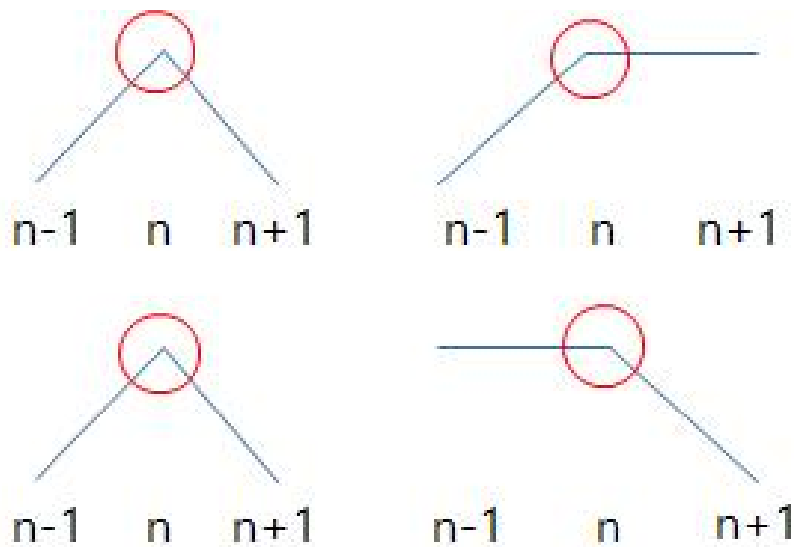


그림 314. Upper peak에 대한 알고리즘

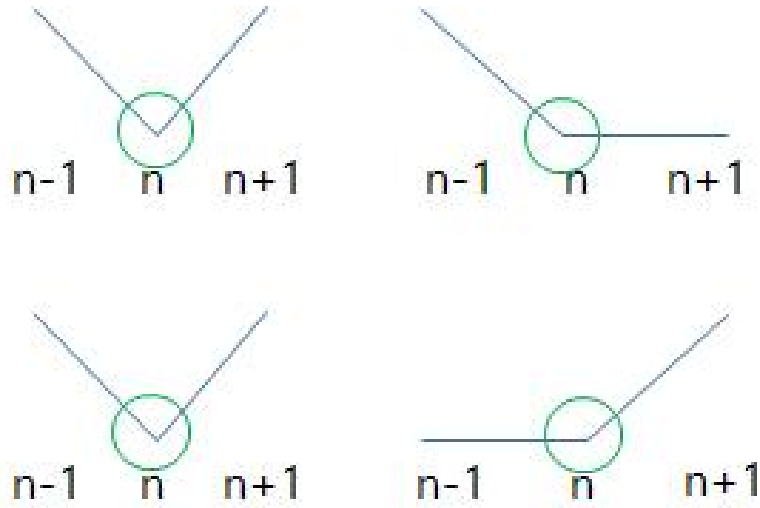


그림 315. Lower peak에 대한 알고리즘

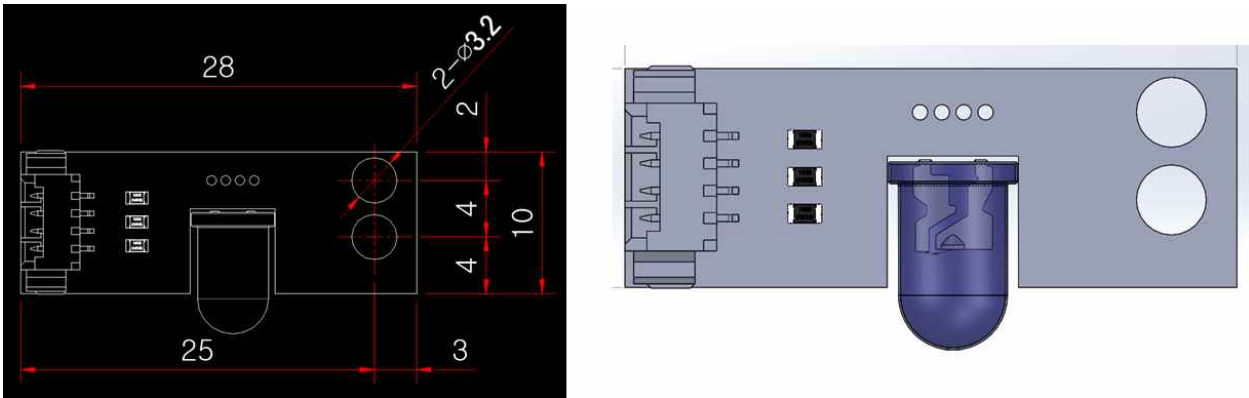


그림 316. LED 설계도면

(다) LED의 제원

- ① Connector : 53261-0471(1EA) [Molex]
- ② LED : 3 Color LED (1EA)
- ③ Resistor : Chip SMD Resistor 1608 Size (3EA)



그림 317. 검출 알림용 LED

(4) 과수병해 맞춤형 OCT 제작, 기기의 소형화 및 휴대용 기기 제작

○ 2차 년도까지는 알루미늄 및 철재로 된 케이스에 맬 수 있는 가방 끈을 단 형식의 본체를 만들었으나, 무게가 무겁고, 각진 금속 케이스로 되어 있어서 실제 농가에서 노동을 하시는 연령대의 노동자 분들 장시간 들고 다니기에 너무 무겁고, 각진 금속으로 인해 다칠 수 있을 수 있기 때문에, 본체를 천으로 되어있는 가볍고 작은 시스템으로 개선하려고 함.



그림 318. 시스템에 사용되는 Backpack



그림 319. 배터리와 프로브를 휴대하기 위한 구조로 되어 있는 Backpack



그림 320. 가방을 착용한 모습

- 본 연구 시스템에 적용할 기기의 크기는 이동이 수월하도록 400*300*500 (mm*mm*mm) 이하로 개발함. 또한 가방의 재질은 실제 농가에서 작업하는 환경에 내구성이 있을 수 있도록 방수 방진 처리 된 천 재질의 형태로 된 가방을 선택함.



그림 321. 본체 크기 측정

표 104. 본체 크기 측정

본체 가로 크기	본체 세로 크기	본체 높이 크기
353 mm	170 mm	497 mm

- 그림 322처럼 본체 내부에 들어갈 컴포넌트는 대부분 플라스틱 및 알루미늄 케이스로 되어있는 모듈이 대부분이나, 본체 케이스는 천으로 구성됨. 방수 원단에 모듈을 직접적으로 연결하기엔 고정이 제대로 되지 않아 이동 중에 서로 부딪혀 망가질 수 있기 때문에 등받이 쪽에 철제 판에 볼트와 너트를 이용하여 여러 층으로 컴포넌트를 연결하여 조립하였고, 그 이후에 천가방의 등판에 메인 철판을 유연한 실을 이용하여 연결함.

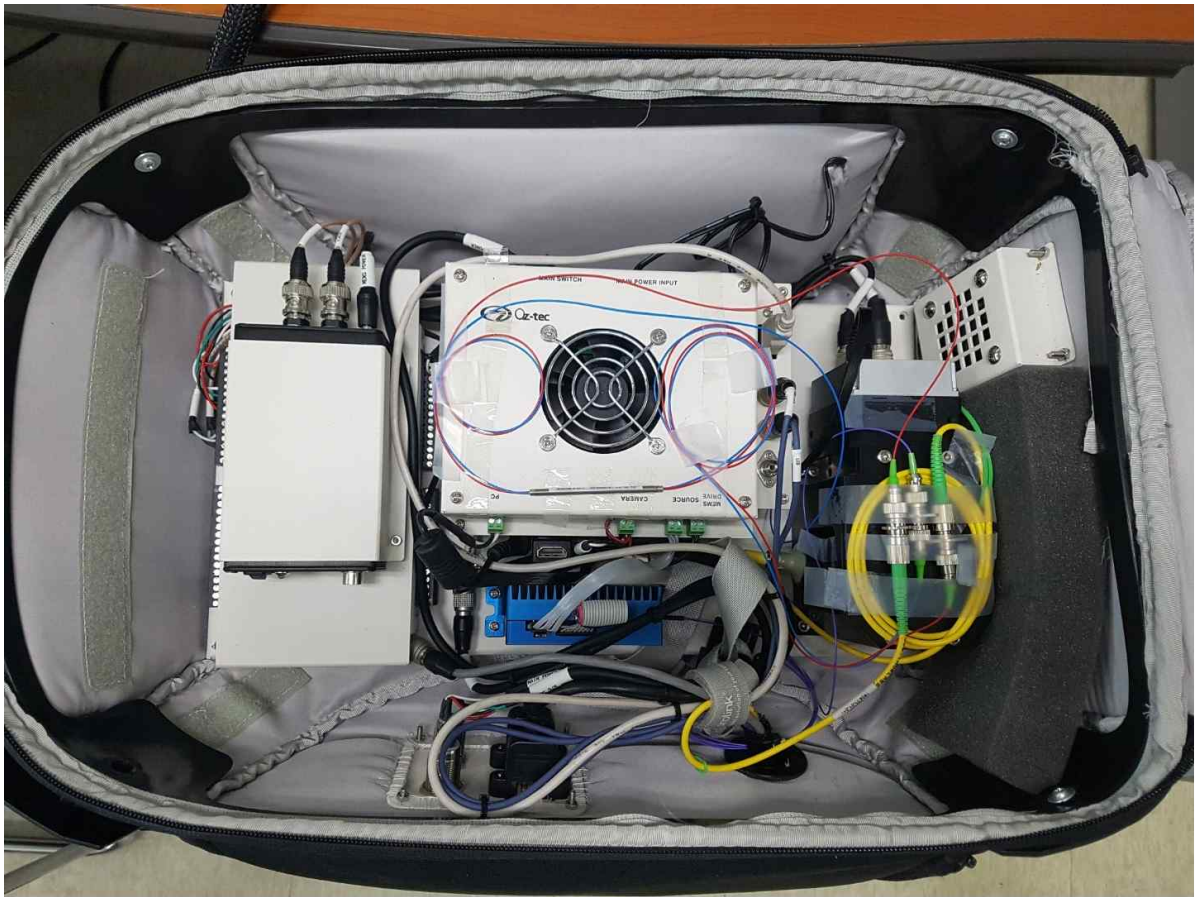


그림 322. 본체 내부의 모습

- PC와 OCT 시스템을 최대한 소형화시켜 백팩 안에 장착시킴.
- OCT 하드웨어를 구동할 수 있는 컴퓨팅 시스템으로 저 전력의 소형 PC를 장착시킨 후 제작된 소형 스펙트로메터를 제작하여 고정시킴.
- 간섭무늬를 일으키는 간섭계가 파이버일 경우, 파이버의 휨에 의해 polarization이 변하고, 이미지가 달라질 가능성이 있었기 때문에, 간섭계 역할을 하는 커플러 대신 probe 내부에 beamsplitter를 사용하여 간섭계를 설계하였고, 본체 내부에 보이는 커플러는 단순히 빛의 파워를 나누어 경로를 변경해주는 역할을 하는 간섭계로 광원의 인풋과 간섭

무늬를 만들었던 빛이 스펙트로메터로 향하게 하는 단수 path 역할만을 하도록 설계함.

- 기존의 DAQ 나 신호 생성을 위하여 사용하였던 PXI나 DAQ card를 데스크톱형태의 마더보드를 사용하지 않았기 때문에, 사용할 수 없고, usb 타입의 DAQ terminal block을 적용하였고, usb 타입의 terminal block은 자칫 항시 on되어있으면 수명이 짧아 질 수 있는 고가의 카메라나 광원을 보호하고, 아날로그 시그널을 만들어 줄 수 있는 역할에 사용됨.
- 천으로만 이루어진 형태의 가방은 내부의 철판과 결합된 부분이 계속 처짐이 발생할 것을 예비하여 그림 105처럼 바깥부분에 X자 형태로 플라스틱형태의 모형을 잡아주어 모양을 유지하여 유저가 가방을 메고 움직일 때 계속 처지는 느낌이 아니라 고정된 느낌을 받을 수 있도록 디자인된 가방을 선택함.



그림 323. 본체 측면

- OCT를 작동중일 때 본체 내부에 온도가 올라가는 것을 방지하기 위하여, 그림 106과 같이 쿨러를 달아서 온도 상승을 최소화하려고 함.



그림 324. 본체 하부, 내부의 열을 빼내는 쿨러가 있음

- 본체 측면 부에 스위치와 프로브 연결케이블을 빼두고 우천 시나 먼지에 의해 케이블이나 스위치가 오염되는 것을 방지하기 위하여 지퍼를 달아 보존할 수 있도록 설계함.

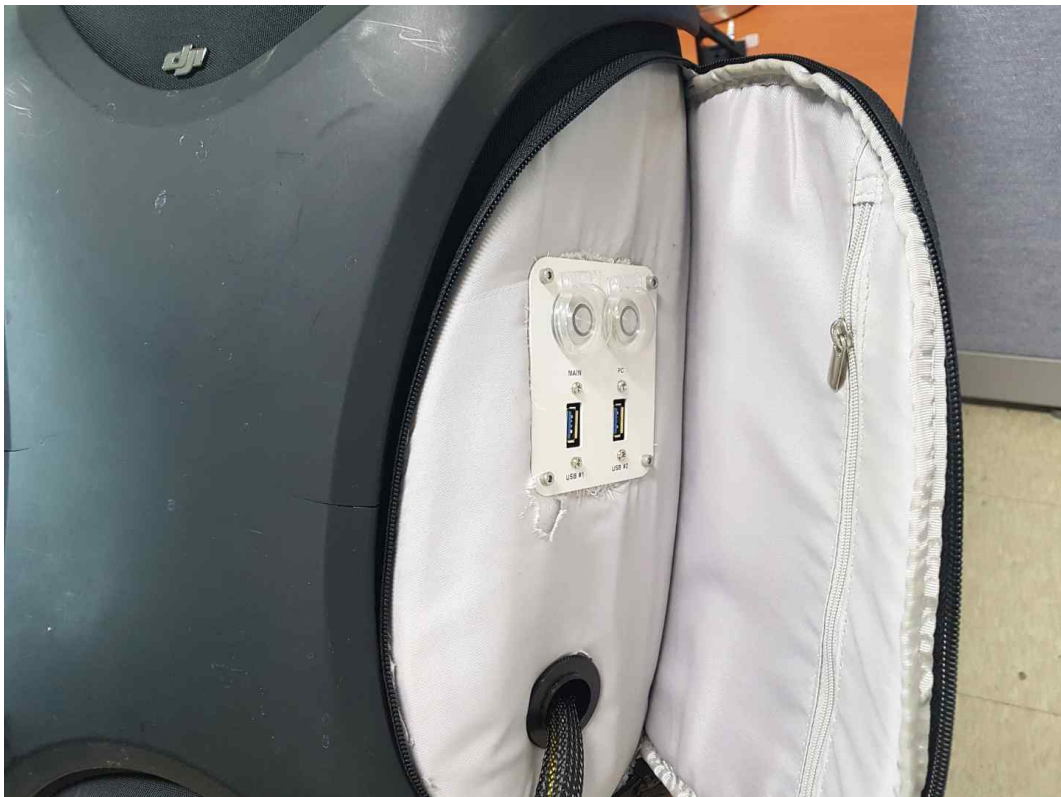


그림 325. 본체 측면 부, 전원 스위치와 USB 단자가 있음.

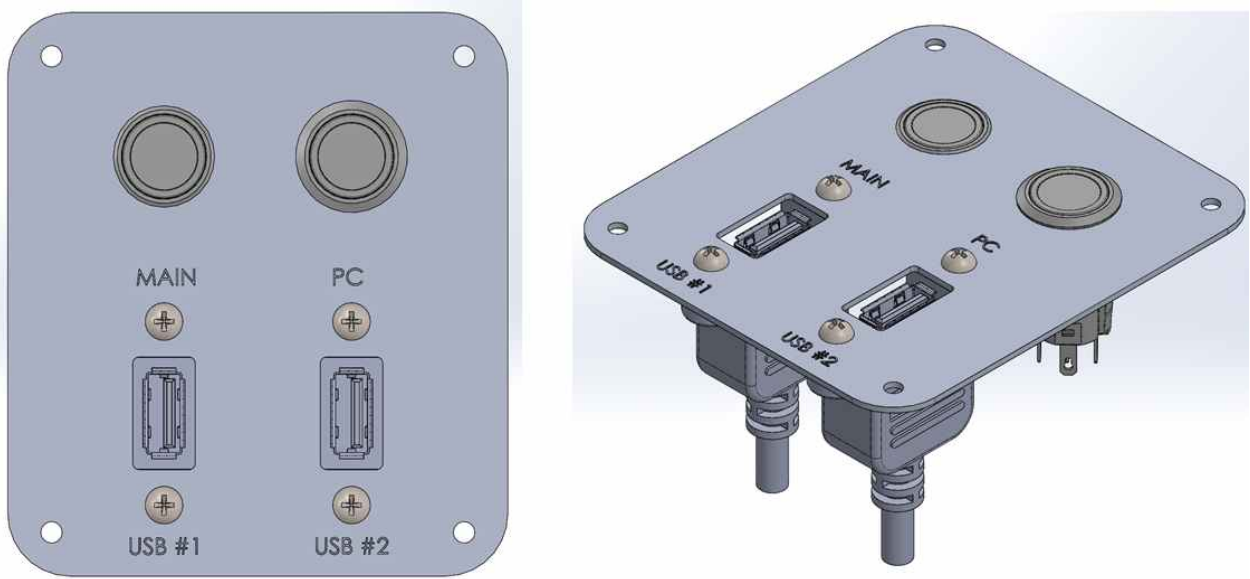


그림 326. 전원 스위치와 USB 단자부

- 또 다른 측면부에는 전원을 OCT 본체의 작동을 위한 배터리가 들어있는데, 배터리의 탈부착 및 교환이 용이 하도록 내부가 아닌 측면에 소켓을 쉽게 교체할 수 있게 만들
- 시스템을 구성하는 모듈을 구동하기 위해 필요한 전력은 2차년도와 동일하게 배터리를 공급되도록 제작함.
- 2차 년도는 직접 제조한 배터리를 사용하였으며 3차 년도에는 기성 배터리로 교체하여 시스템에 적용함
- 교체 가능한 배터리는 시스템의 장기간 사용을 가능하게 하므로 현장 적용 시간을 무제한으로 확장할 수 있으며 기성 제품을 사용하여 쉽게 구매 및 확보하여 사용성을 높임.



그림 327. 시스템에 사용되는 배터리



그림 328. 현재 시스템에 사용되고 있는 배터리



그림 329. 본체 측면 부, 배터리를 거치하고 있음

- 기성 배터리를 사용하기 위하여 시스템 구동 전원 보드를 설계 제작하여 시스템에 장착하고 각 모듈에 전기를 공급
- 마이더스 배터리의 사양은 14.8 V, 11,600 mAh이고, DC-DC converter를 이용하여 15 V의 전압을 12 V 및 5 V로 변환하여 사용함.

표 105. 시스템의 소비전력 표

모델명	소비전력
camera	3W (12V)
광원 SLED module	5.5W (5V)
컴퓨터	15 W
팬	0.8W(12V)

○ DC-DC converter는 그림 2의 제원과 같고 ECH350R-2pin 과 3pin을 사용하여 그림 3와 같은 레이아웃으로 PCB를 만들어 각 전원부와 연결하여 사용하였음.

1. 주요 부품

- 1) Connector : ECH350R-2P (6EA) [DINKLE]
- 2) Connector : ECH350R-3P (1EA) [DINKLE]
- 3) DC/DC Converter : PS6-12-5 (1EA) [Power Plaza]
- 4) DC/DC Converter : PS10-12-12 (1EA) [Power Plaza]
- 5) DC/DC Converter : PS25-12-12 (1EA) [Power Plaza]

ECH350R

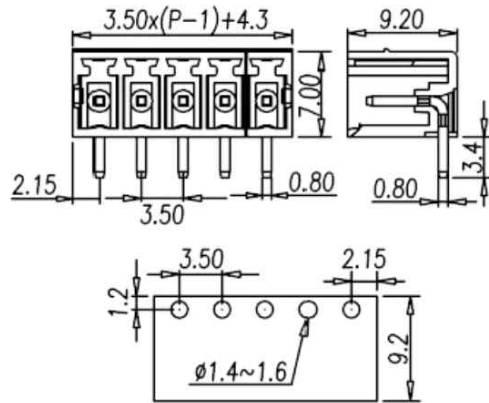
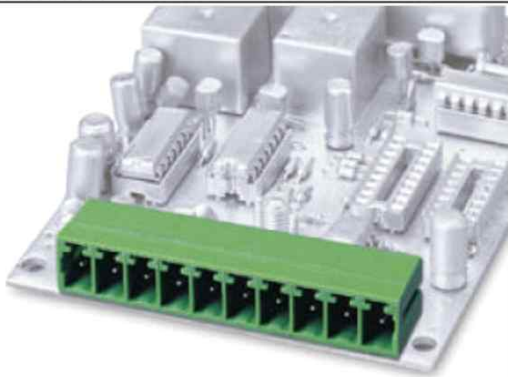


그림 330. 주요 부품에 대한 정보

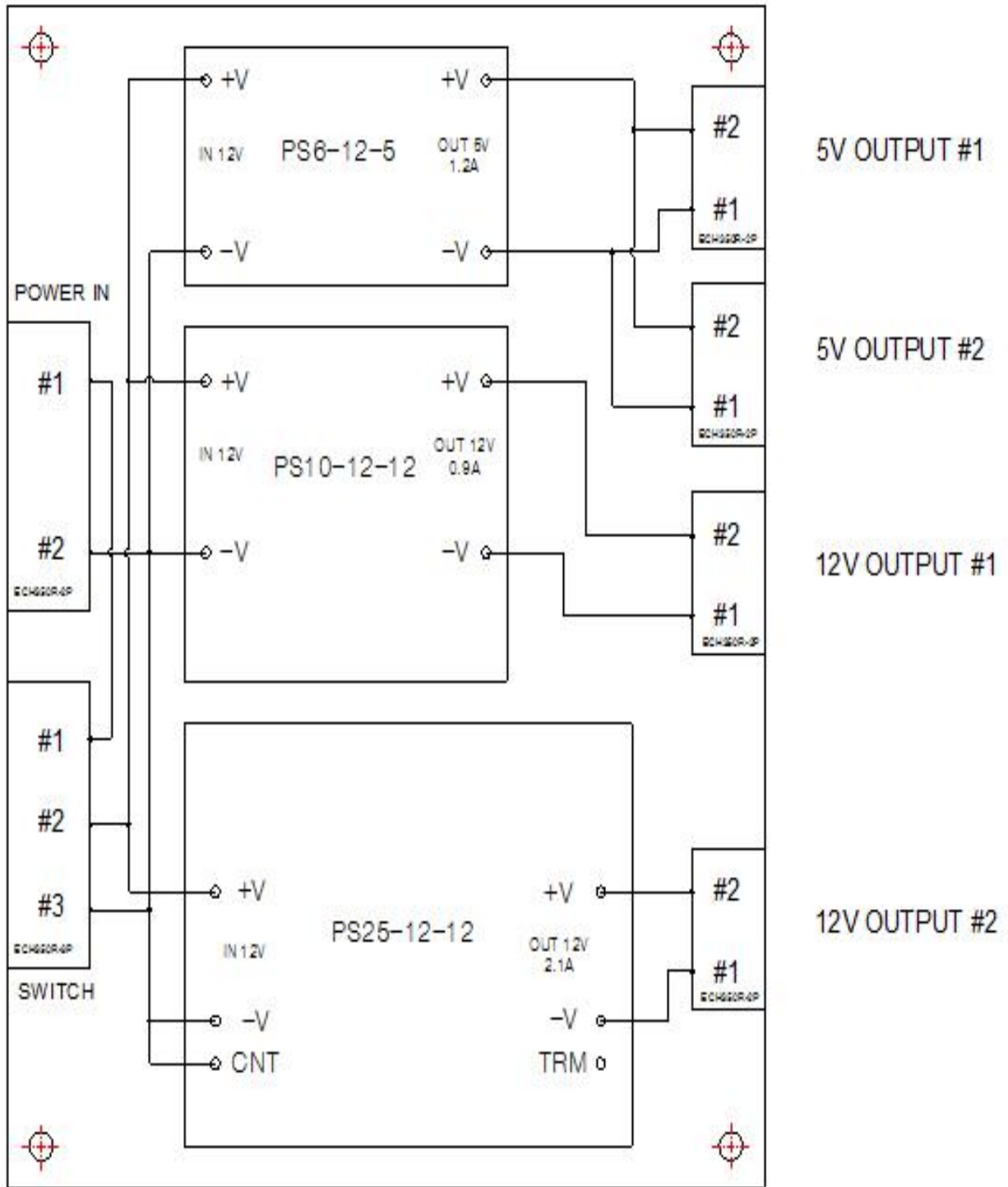


그림 331. 전력 공급장치 DC-DC converters 레이아웃

○ 미니 UBS 터치 모니터를 사용함으로써 휴대성과 사용자 편의성을 높임.

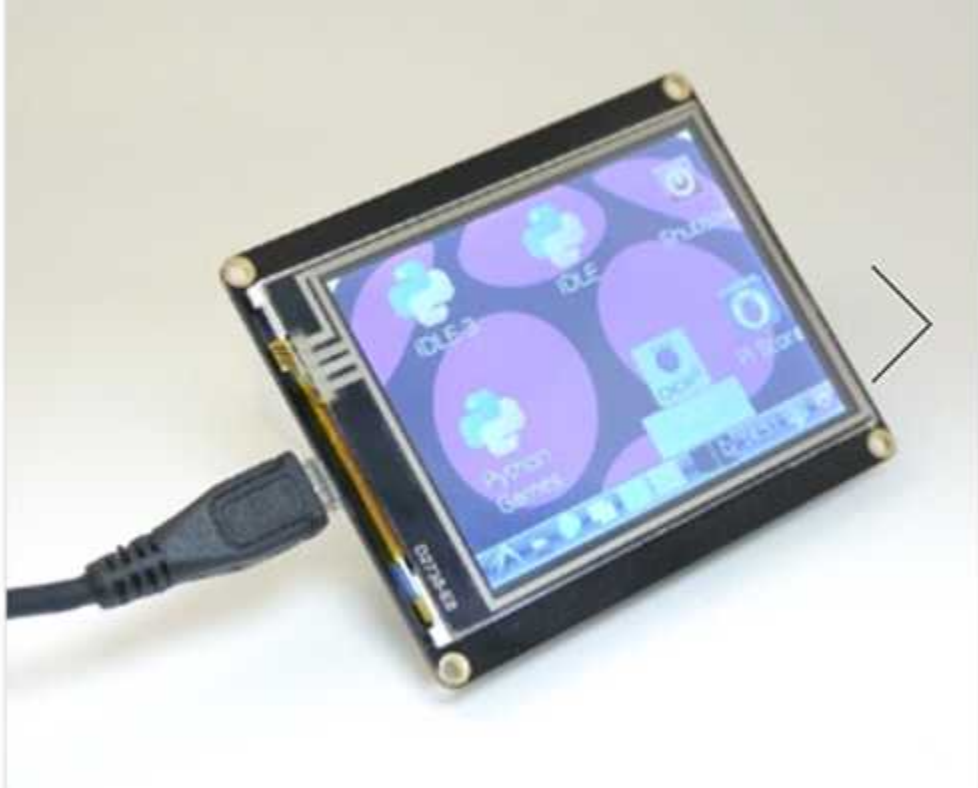


그림 332. 터치 LCD 모니터

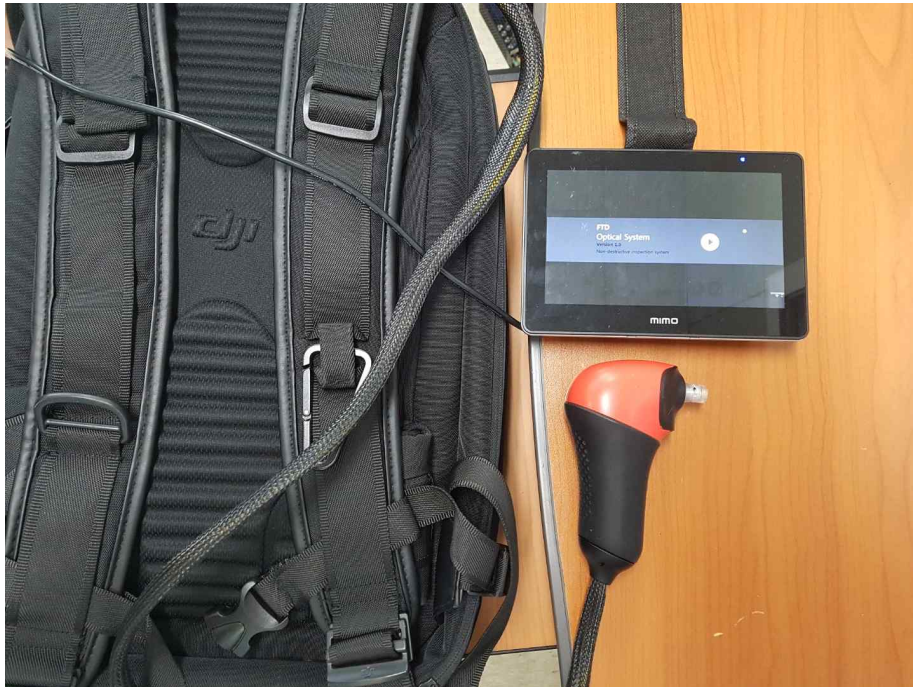


그림 333. 본체 & 미니 모니터 & 프로브

○ 촬영 부위에 대해 시각적으로 확인할 수 있도록 Aiming 빔은 샘플인 과수 엽의 색이 녹색이므로 시각적으로 구분이 용의한 보색인 적색 레이저를 이용하였으며 해당 광의 전달을 위해 내부 광학 구조물에 빔 스플리터를 추가하여 구현함.

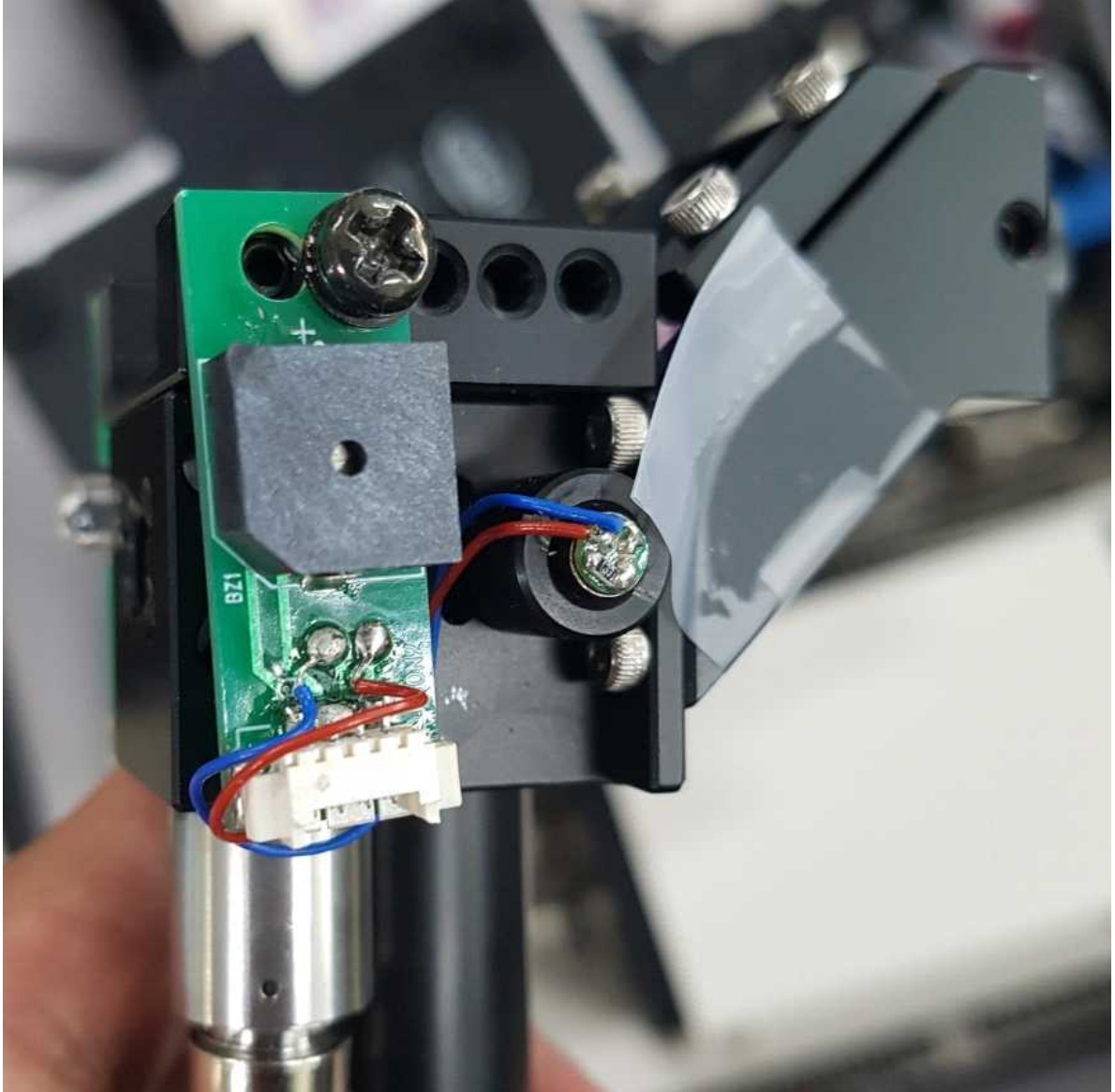


그림 334. 시스템 장착된 aiming 빔의 구동 보드

- 광단층 이미지를 촬영할 때 사용하는 광원은 840nm 대역 근적외선을 사용하기 때문에 IR 카드 등 특수한 수단을 사용하지 않으면 눈에 보이지 않는 반면 aiming beam은 시각적 인식이 용의함.
- 적색 레이저 구동 보드는 안전성 확보를 위하여 구동 보드를 제작하여 프로브에 장착하였으며 구동 소프트웨어의 제어가 가능하도록 DIO를 이용하여 On/Off 가 가능하도록 설계 제작함.
- 검사 상황은 샘플의 접근, 샘플 검사, 샘플 검사 결과로 구분하고 소리를 통하여 검사자에게 알려주도록 부저를 프로브에 장착함. 샘플이 가까워지면 단음의 간격이 점점 짧아지며, 검사 적정 거리가 되면 단음의 간격이 없어져 장음으로 바뀌고 샘플 검사가 시작한 후 검사가 종료되면 소리가 꺼지고 검사 결과는 LED를 통하여 표시됨.



그림 335. 눈에 보이는 적색 불빛을 가이드 빔으로 사용



그림 336. 비전영상으로 식물 있을 촬영한 모습

(5) 비디오 영상 획득을 위한 CCD Color 카메라 개발

(가) 비디오 영상 획득을 위한 USB type 카메라 모듈 개발

- 비전 영상을 획득하기 위하여, Ximea社의 USB2.0 MU0PC-MH Camera를 사용함.
- 본 카메라는 CMOS 센서를 사용하는 비전 카메라이며, RAW 픽셀 데이터 출력이 가능함. 기타 카메라에 비해 소형 USB 카메라이며 GenICam/GenTL 기능을 지원함. 또한 트리거를 사용가능하며, 산업기기에서 사용가능한 사양을 가지고 있음.

Sensor Technology	CMOS, rolling shutter with Global Reset Release
Acquisition Modes	Continuous, software trigger, hardware trigger
Partial Image Readout	ROI, Skipping and Binning modes supported
Image data formats	8, 10 or 12 bit RAW pixel data
Color image processing	Host based de-Bayering, sharpening, Gamma, color matrix, true color CMS
Hot/blemish pixels correction	On camera storage of up to 600 pixel coordinates, host assisted correction
Auto adjustments	Auto white balance, auto gain, auto exposure
Flat field corrections	Host assisted pixel level shading and lens corrections
Image Data and Control Interface	Micro connector with USB 2.0 High-speed and digital I/O
General Purpose I/O	4x I/O configurable as input or output
Synchronization	Hardware trigger input, software trigger, exposure active, frame active, trigger ready, exposure active pulse, busy
Housing and lens mount	Standard S-mount (M12). Two lens mount adapters available
Power requirements	Typ. 0.76 W, supplied via USB 2.0 interface
Environment	Operating +5°C to 60°C on housing, RH 80% non-condensing, -25°C to 70°C storage Ingress Protection: IP40
Operating systems	Windows 10 (x86 and x64), Windows 7 (x86 and x64), Linux Ubuntu, MacOS 10.8 and newer
Software support	xiAPI SDK, adapters and drivers for various image processing packages
USB standard compatible	USB 2.0, Universal Serial Bus Specification Revision 2.0, April 27, 2000

그림 337. Ximea Camera의 사양

- 본 카메라의 경우 실온 환경 하에서 사용이 가능함.

Description	Symbol	Value
Optimum ambient temperature operation	T_{opt}	+10 to +25 °C
Ambient temperature operation	T_{max}	-10 - +55 °C
Ambient temperature for storage and transportation	$T_{storage}$	-25 - +70 °C
Relative Humidity, non-condensing	RH	80 %

그림 338. Ximea Camera 구동 환경

- 본 카메라 센서의 경우 컬러 영상으로 2592 x 1944의 해상도로 영상 출력이 가능함. 또한 Binning/Skipping 기능을 사용하여 해상도 조절이 가능하며, 해상도 조절에 따라 영상 출력 속도를 변환 시킬 수 있음. 영상 해상도가 변함에 따라 영상 데이터 크기를 조절할 수 있기 때문에, 영상 데이터 처리 시간을 원하는 대역폭에 맞추어 알맞게 변환 시키는 것이 가능함. 따라서 하드웨어 사양에 따라 영상 처리 계산 능력에 맞추어 사용가능함.

Model		Resolution	Pixel size	ADC [bit]	DR	Optical size	Sensor diagonal	FPS
MU9PM-MH	b/w	2592 x 1944	2.2 μm	12	59 dB	1 / 2.5"	7.1 mm	4.46
MU9PC-MH	Color							

그림 339. Ximea Camera Sensor

Supported standard readout modes (*1)	Binning/skipping	pixels	fps	Bit/px
0	1x1	2592 x 1944	4.6	12
1	2x2 bin	1296 x 972	14.3	12
2	4x4 bin	648 x 486	31.6	12
3	2x2 skip	1296 x 972	18.3	12
4	4x4 skip	648 x 486	71.9	12
5	6x6 skip	430 x 324	142	12
6	7x7 skip	368 x 376	172	12
7	7x7 skip/clip	320 x 240	200	12

그림 340. Ximea Camera의 해상도 조건

feature	Note
Binning	Yes: 2x2 and 4x4
Skipping	Yes: 2x2, 4x4, 6x6, 7x7 and 7x7 skip/clip
ROI	Yes, 4 pixel granularity
HW Trigger	Trigger without overlap usable (see 4.3.2.3 Triggered mode)
Image formats	RAW, (RGB24, RGB32 – only color models)

그림 341. Ximea Camera의 영상 출력 조건

- 본 카메라의 Quantum efficiency curve 특성이 아래 그림과 같이 나타나 있음. RGB 픽셀 값에 대응 하는 효율 곡선에 대응하여 본 영상 처리의 구성을 대응 가능함.

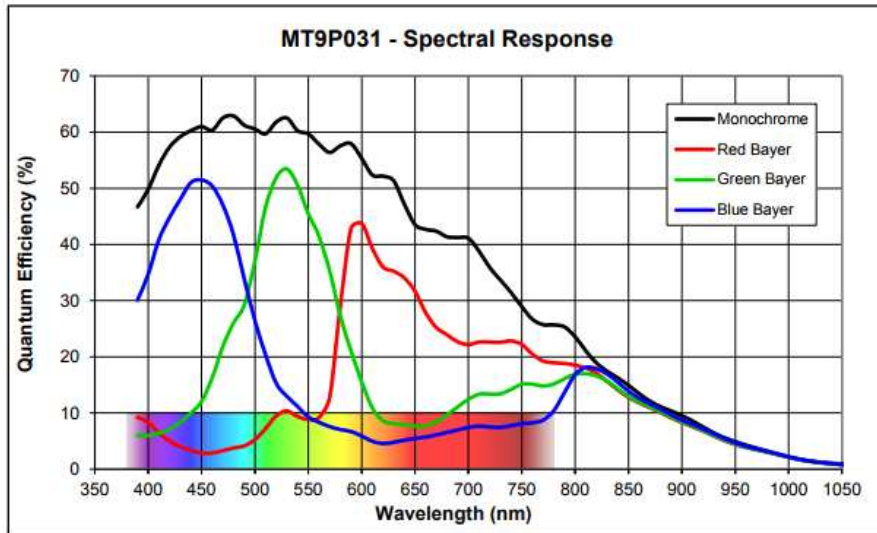


그림 342. Ximea Camera의 Quantum Efficiency Curve 특성

- Ximea Camera는 필요한 경우 Mount L 타입과 M 타입 선택이 가능함.

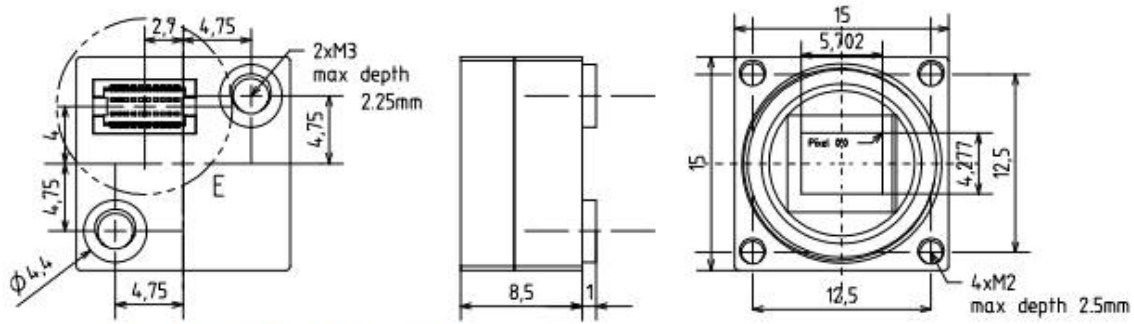


Figure 3-3, MU9Px-MH, mechanical drawing

그림 343. Ximea Camera 도면

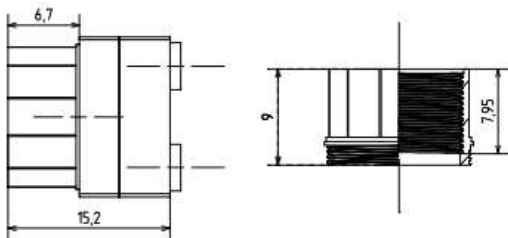
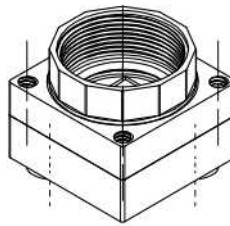
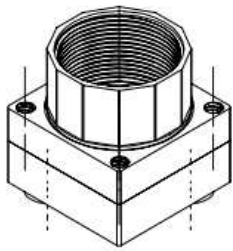


Figure 3-7, lens mount adapter ADAPT-L, mechanical drawing

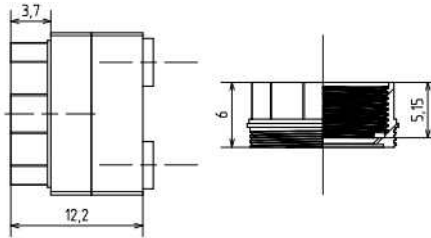


Figure 3-5, lens mount adapter ADAPT-M, mechanical drawing

그림 344 Ximea Camera Lens Mount L 타입 설계도 그림 345 Ximea Camera Lens Mount M 타입 설계도

- 본 카메라의 IO Port는 5pin을 커넥터를 제공되며 프로그래머블 IO 로 용도에 맞게 사용 가능함.
- 2개의 프로그램가능한 IO pin과 그라운드, TX, RX 시그널 커넥터를 갖고 있음.

Pin	Signal	Description
1	GX2	Programmable IO
2	GX1	Programmable IO
3	GND	Ground
4	TX	Programmable IO parallel function with GX3
5	RX	Programmable IO parallel function with GX4

그림 346. Ximea Camera의 통신 커넥터 사양

- 통신 커넥터는 USB 2.0 규격의 통신 케이블을 사용함.

Pin	Signal	Description
1	+5V	USB bus Power
2	USB-	USB data -
3	USB+	USB data +
4	GND	Ground

그림 347. Ximea Camera의 USB 통신 커넥터 사양

○ 본 카메라의 핀맵 구성 사양은 다음과 같음.

Pin	Signal	Description	Electrical type	Function
1	GX4	Programmable IO	IO	defined by user, default setting: OFF
2	USB_D_N	USB data -	IO	USB data wire
3	GX3	Programmable IO	IO	defined by user, default setting: OFF
4	USB_D_P	USB data +	IO	USB data wire
5	GX2	Programmable IO	IO	defined by user, default setting: exposure active (XI_GPO_EXPOSURE_ACTIVE)
6	SHLD	Camera Shield	Power	Chassis ground - Connected to GND via 1M/10nF
7	GX1	Programmable IO	IO	defined by user, default setting: trigger input (XI_GPI_TRIGGER)
8	+5V	USB bus Power	Power	Camera Power supply
9	GND	Ground	Power	Signal Ground
10	GND	Ground	Power	Signal Ground
11	GND	Ground	Power	Signal Ground
12	GND	Ground	Power	Signal Ground
13	XX2	Do not use	IO	defined by firmware, do not connect
14	GND	Ground	Power	Signal Ground
15	XX1	Do not use	IO	defined by firmware, do not connect
16	GND	Ground	Power	Signal Ground
17	TX	Programmable IO	IO	Shared functionality with GX3, only one could be connected
18	+3V3	Internal power rail +3V	Power	No external connection allowed, used for testing purposes only
19	RX	Programmable IO	IO	Shared functionality with GX4, only one could be connected.
20	+3V3	Internal power rail +3V	Power	No external connection allowed, used for testing purposes only

그림 348. Ximea Camera의 핀맵

○ 카메라를 사용하기 위한 전압구성은 아래와 같음.

Parameter	Symbol	Min	Nom	Max
Input voltage that indicates a Low logic level	[V] V_{IL}	-	-	0.8
Input voltage that indicates a High logic level	[V] V_{IH}	2.0	-	-
Input leakage current	[μ A] I_L	-10	-	+700
Input voltage extremes to avoid turning on I/O protection diodes	[V] V_{IN}	-0.5	-	3.8
Output voltage that indicates a Low logic level	[V] V_{OL}			0.4
Output voltage that indicates a High logic level	[V] V_{OH}	2.9		
Output current condition under which V_{OL} is tested	[mA] I_{OL}		0.4	
Output current condition under which V_{OH} is tested	[mA] I_{OH}		-1.0	

그림 349. Ximea Camera의 전압 구성

○ 본 카메라의 카메라 보드와의 인터페이스 연결은 다음과 같음. 인터페이스 연결은 mini B type USB 인터페이스를 사용하며, Camera Board 인터페이스와 Camera I/O 인터페이스를 연결함.

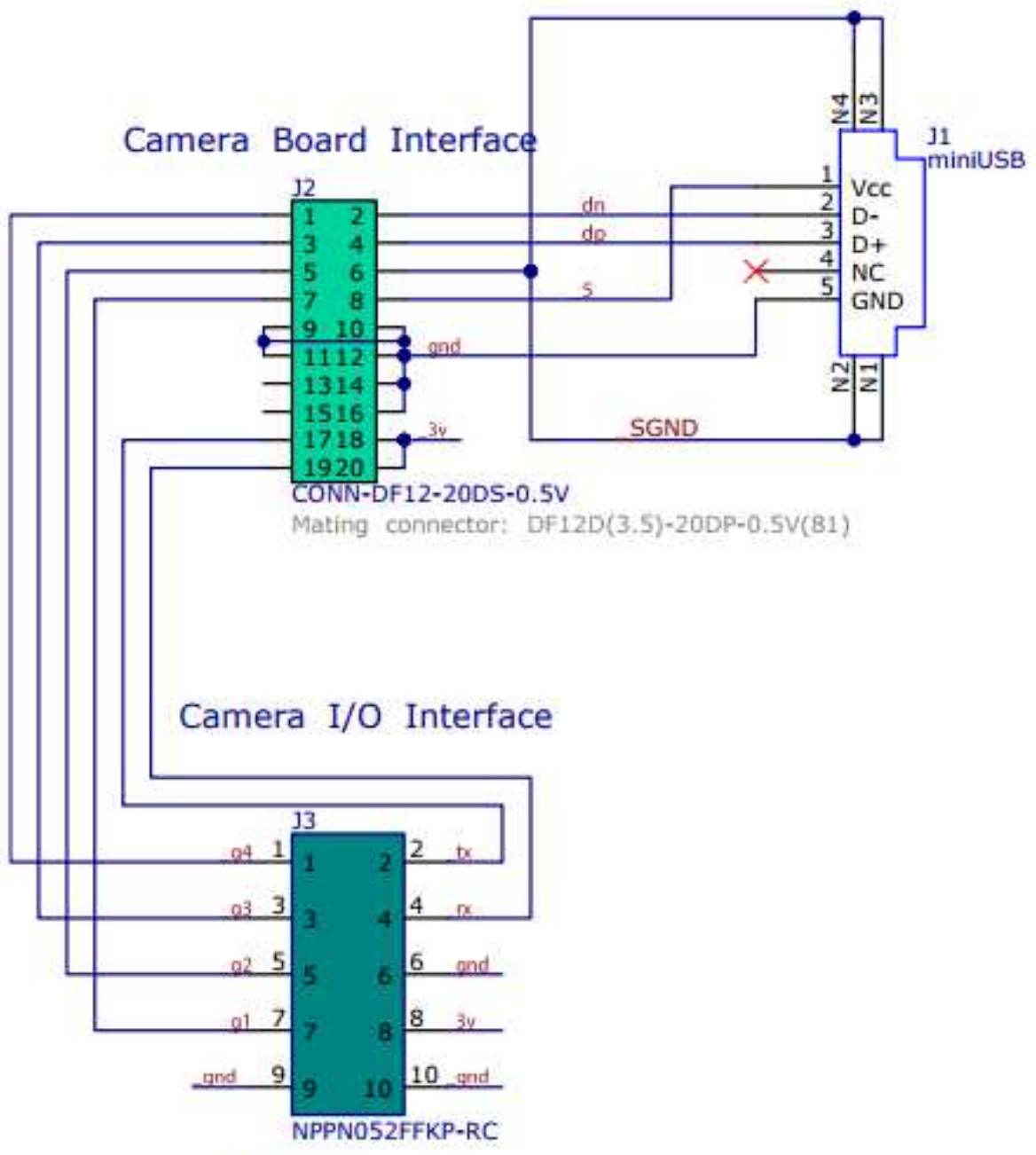


Figure 3-13, MINIUSB, connection diagram

그림 350. Ximea Camera 인터페이스 개략도

○ Ximea 카메라 구동을 위해 아래의 실행 순서를 갖는 소프트웨어를 구현.

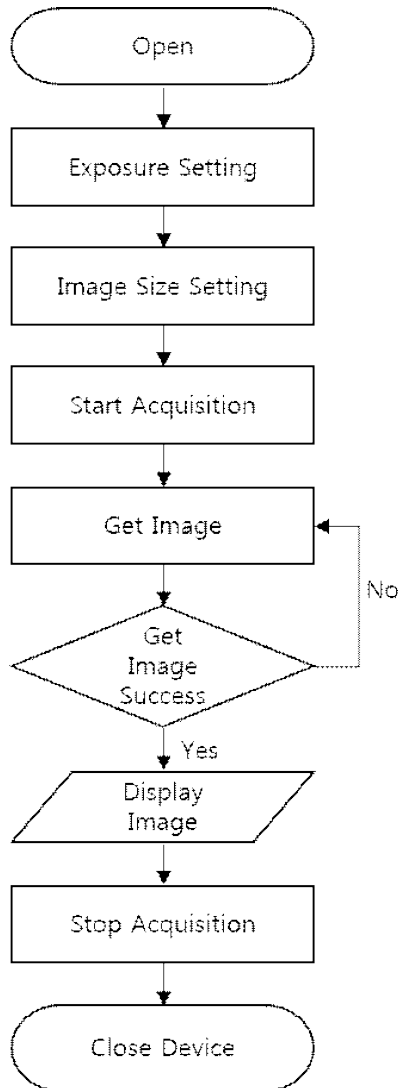


그림 351. Ximea Camera의 실행 블록 다이어그램

○ 컬러 모드를 사용할 경우, 다음과 같은 형식의 영상 출력이 가능함. 따라서 RGB 각 채널 값에서 출력 가능한 영상 데이터를 획득하여, 이미지 분석에 사용하는 것이 가능함.

Mode	Description
RGB24	RGB filtered output, 24 Bit per pixel, 3 channels Sequence: [Blue][Green][Red]
RGB32	RGBA filtered output, 32 Bit per pixel, 4 channels, Alpha channel equals 0. Sequence: [Blue][Green][Red][0]
RGB_PLANAR	RGB filtered output with planar-oriented channels. Format: [R][R]...[G][G]...[B][B]...

그림 352. Ximea Camera의 컬러 영상 출력 조건

Camera Model	DownS	t_{tr} [μ s]	t_{exp} [μ s]	t_{elo} [μ s]	t_{expo} [μ s]	t_{rd} [μ s]	Notes
MU9Px-MH	any		2	0.5	1.5		--

그림 353. Ximea Camera의 영상 획득에 필요한 시간 조건

- Ximea 카메라의 영상 획득은 free-run 모드, 트리거 모드 또는 셔터 모드를 사용하여 획득 가능함. 트리거를 사용할 경우, 하드웨어적 트리거 및 소프트웨어적 트리거를 모두 사용 가능함.

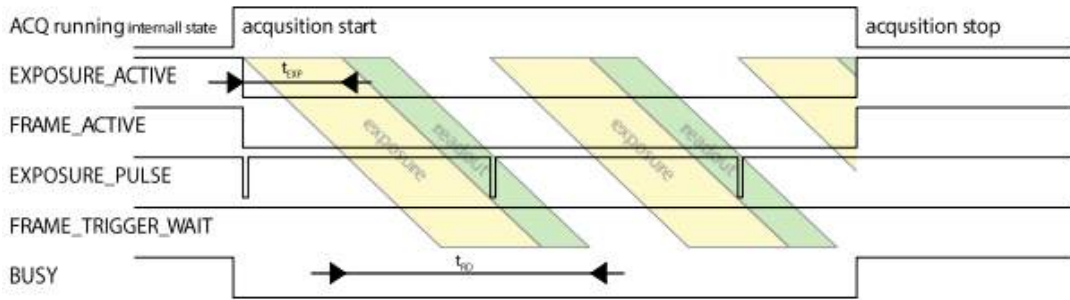


그림 354. Ximea Camera의 영상 획득 free run 모드

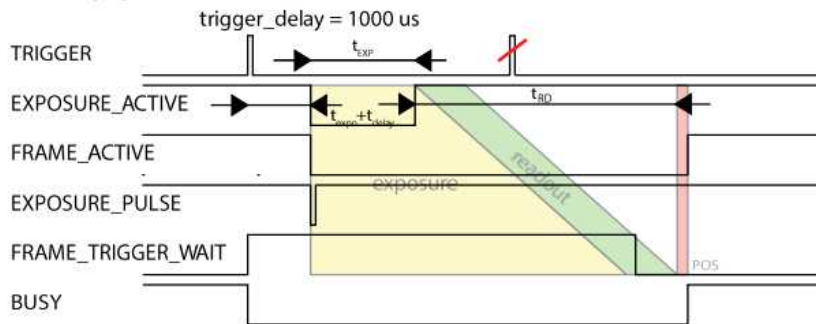


Figure 4-2, acquisition mode – triggered global reset release

그림 355. Ximea Camera의 영상 획득 triggered 모드

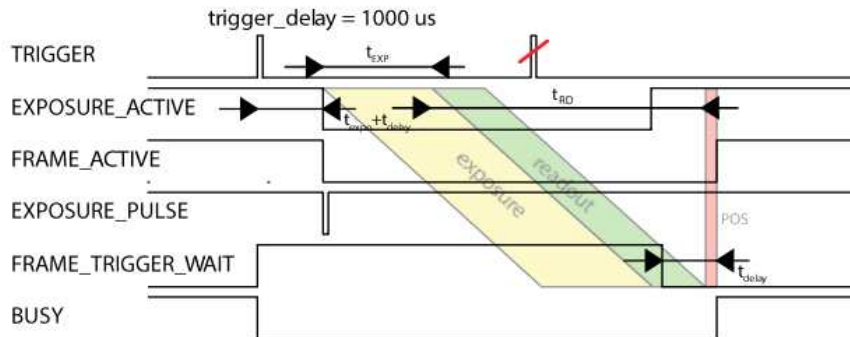


Figure 4-3, acquisition mode – triggered rolling shutter mode

그림 356. Ximea Camera의 영상 획득 triggered rolling shutter 모드

제 3 절 연구개발의 성과

1. 기술적 성과

가. OCT 광학계의 안정화 및 광학 기구부의 최적화 기술 확보

- OCT 기술은 발표된 이후로 의료 진단의 안과에 한정되어 발전하면서 병원에서 사용 가능하도록 stand alone 의 형태로 발전되어 왔음.
- 이와 같이 발전된 대표적 이유는 기본 간섭 광학계와 샘플단 및 기준단의 광학계가 광 진행 구조에 민감한 특성이므로 시스템의 이동이나 충격에 의해 구조가 쉽게 변형되어 광 경로가 변경되는 것이 이유임.
- 이에 간섭 현상이 발생하지 않고 광 경로가 변경되거나 광학 구조의 손상을 야기하여 안전성 확보를 위해 이동이 불가능 하도록 제작되었음.



그림 357. 기존에 의료분야에서 사용 중인 OCT 및 본 연구에서 개발된 휴대용 OCT

- 본 연구에서는 이동성을 가장 중요한 개발 목표로 하여 광학 구조의 최소화, 외골격형 구조를 도입, 외부 케이스 등을 적용하여 이동에 적합하고 충격에 모든 광학계와 구조가 동시에 영향 받아 영상 분석에 문제가 없도록 설계하여 이를 극복함.
- 또한 광학계의 단순화, 고성능 프로세서의 소형화를 통해 복잡한 OCT 연산을 단순화시키고 광학 구조부와 데이터 처리부를 효과적으로 소형화 및 융합하여 백팩에 탑재시키는데 성공하여 이동성을 극대화할 수 있는 기술을 확보함.

나. 현장에서 즉시 진단 가능한 병해 진단 기술의 개발

- 지금까지 과수에서 발생하는 주요병해인 사과 갈색무늬병, 배 검은별무늬병 및 감 등근무늬낙엽병에 대한 진단은 주로 육안진단이나 분자생물학적 진단법에 한정되어 있었음.
- 특히 본 연구에서 개발된 사과 갈색무늬병, 배 검은별무늬병 및 감 등근무늬낙엽병의 조기 진단법은 육안상 건전한 상태에서 감염여부를 진단을 할 수 있다는 것이 가장 큰 장점이므로, 다른 광학기반 진단법과 구분됨.
- 또한 이전까지 장비가 크고, 이동이 불가능 하여 기내에서만 진단 할 수 있었으나 본 연구에서 개발된 OCT 장비는 전 세계 최초로 back-pack형으로 제작되었으며, 이를 이용해 과원에서 쉽게 적용이 가능함.

다. 농업 병충해 진단 및 비파괴 분석법에 대한 원천 기술 확보

- 이전까지 광학 검사 장비를 이용한 병해 진단법은 ‘시료 채집-기내에 비치된 장비를 이용하여 분석 실시-감염여부 검정’의 순서대로 수행되었음. 본 연구에서는 축적된 데이터를 기반으로 하여, 자동화 검정 알고리즘을 개발하고 이를 개발된 휴대용 SD-OCT에 적용하여 검정을 수행하는 시료에 대한 감염여부를 즉시 판별 할 수 있음.
- 공간섭단층촬영장치(OCT)를 이용한 과수병해를 진단법과 자동화 진단 알고리즘은 그 원천기술을 모두 본 연구팀에서 확보하고 있고, 또한 위와 같은 기술의 적용은 농업분야에서는 최초로 적용된 것이므로, 차 후 해외 시장 개척이나 기술 이전 등의 추가적인 수익 창출이 가능할 것으로 사료됨.

라. 농업 병해 진단의 Computer Aided Diagnosis 분야 개척

- 본 연구에서 개발된 휴대용 OCT 장비는 농업분야에서 사용되고 있는 VISION, hyper-spectrophotometer 등과는 달리, computer based system이므로 장비의 효율성과 작업 수행능력이 매우 뛰어날 것으로 사료됨.
- 이는 장비의 업그레이드, 대상 작물 및 병해 진단법 추가도 용이하므로, 식물병을 진단할 수 있는 새로운 방법을 제시할 수 있음.

2. 경제적 성과

가. 과수 조기 진단 장비에 대한 시장 개척

- 유럽, 북미, 일본 등의 농산업 선진국에 기술이전 및 진단장치 수출

나. 과수 질병의 조기 관리로 인한 수확량 증진으로 농가의 수익 향상에 기여

- 조기진단을 방제적기 선정, 살균제 살포 경감을 통한 농가 생산비 절감
- 사과/배의 품질 향상 및 경쟁력 확보를 통한 재배농가 소득 창출

다. 현장 적용 가능 OCT 검사 시스템을 통한 농업 분야의 실시간 비파괴 검사 시장의 확대

- 광학시스템을 이용한 과수병해 진단기술은 비파괴적/비침습적인 방법으로 진단하므로 검사대상 식물체를 파괴하지 않음.
- 따라서, 유관속 국제성 세균 및 바이러스 병해 등 다양한 식물병원체로 확장이 가능하며, 국내 벤처회사, 생명공학 연계회사 등에 기술이전을 통한 시장성 확대가 기대됨.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야 기여도

		코드번호	D-06	
제 1 절 목표달성도				
구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차년도 (2014- 2015)	OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 및 배 검은별무늬병 조기 진단법 개발	OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 조기 진단법 적용 및 확대	100%	TD-OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 감염 시료의 분석
			100%	초고속 스펙트럼 영역 광 단층촬영 시스템을 이용한 사과 갈색무늬병 감염 유무 확인
			100%	등온증폭법을 이용한 사과 갈색무늬병의 감염유무 확인
		배 검은별무늬병 감염 잎 및 건전 잎에 대한 OCT 단층 이미지 확보	100%	초고속 스펙트럼 영역 광 단층촬영 시스템을 이용한 건전 및 배 검은별무늬병 감염 시료의 단층이미지 확보
			100%	A-scan 분석을 통해 획득된 건전 잎 및 이병잎의 신호강도 분석
			100%	배검은별무늬병균 특이적 분자마커 선별 및 진단용 primer 개발
		감 동근무늬낙엽병 감염 잎 및 건전 잎에 대한 OCT 단층 이미지 확보	100%	초고속 스펙트럼 영역 광 단층촬영 시스템을 이용한 건전 및 감 동근무늬낙엽병 감염 시료의 단층이미지 확보
			100%	A-scan 분석을 통해 획득된 건전 잎 및 이병잎의 신호강도 분석
			100%	광학현미경을 이용한 건전 잎 및 감염 잎의 내부형태 관찰
			100%	감동근무늬낙엽병균 특이적 분자마커 선별 및 진단용 primer 개발
	사과, 배 발생 주요병해 발생조사 및 과수병해 진단 기술 농가 적용	사과 및 배 재배지역에 발생하는 주요병해 조사	100%	3개도 8개 시 군 병해 발생 조사
		사과 및 배 이병시료 확보	100%	조기진단을 위한 이병시료확보
	초고속 광단층 촬영 소프트웨어를 적용한 현장 진단용 OCT 개발	실시간 검출형 광단층 촬영 시스템 시제품 개발	100%	초고속 스펙트럼영역 광 단층촬영 시스템 개발
			100%	중심 파장이 1250 nm이고 대역폭이 50 nm 이상인 Supereminecence diode 광원과 싱글모드 광섬유로 이루어진 간섭계 구성
			100%	이동성 광 단층촬영 시스템 구현

			100%	축 방향 해상도는 5 μm , 횡 방향 해상도는 10 μm 로 입력 광원, 광학계, 컴퓨터 및 주변 장치들을 이동 가능한 소형기기로 구현
			100%	근적외선 영역 (1300 nm) 초고속 광대역 라인 카메라와 투과형 회절 격자를 사용하여 고효율 분광계 시스템 설계
			100%	분광 시스템의 크기를 줄이고 축 방향 해상도 및 신호 대 잡음비를 개선하기 위한 빔 콜리메이션을 위한 렌즈 설계 및 라인 스캔 카메라의 초점 렌즈 개발
			100%	Image DB 구축
		근적외선 영역(850 nm)대 광대역 분광기 개발	100%	싱글모드 광섬유 기반 분광기
			100%	투과형 고효율 Grating을 사용한 분광기
			100%	초고속 CMOS형 라인 카메라 구성
2차년도 (2015-2016)	OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 및 배 검은별무늬병 조기 진단법 개발	OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 진단 기술 확대 적용	100%	경상북도 상주시 및 대구광역시 북구 소재 사과원에서 실험 수행
		LAMP법을 이용한 갈색무늬병 채집 시료의 진단	100%	SD-OCT 관찰이 끝난 시료를 대상으로 갈색무늬병 진단용 LAMP법으로 감염유무를 진단
		배 검은별무늬병 진단용 분자마커 선발 및 특이적 primer 제작	100%	선발된 종 특이적 유전자에서 종 특이적인 영역의 sequence를 선발하고, LAMP용 primer를 설계.
		OCT를 이용한 배 검은별무늬병 진단 기술 확립 및 적용	100%	휴대용 SD-OCT를 이용하여 '신고' 및 '원황' 품종 배를 대상으로 병징이 관찰되지 않는 시기에 배잎을 OCT로 관찰 후 데이터 획득
		휴대용 SD-OCT를 이용한 배 검은별무늬병의 진단법 확립	100%	OCT로 촬영한 잎들의 image는 A-scan 분석을 수행하고, 나타나는 peak 간의 거리로 감염유무를 검정
		SD-OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 및 배 검은별무늬	100%	1차년도 및 2차년도 결과를 이용하여 휴대용 SD-OCT를 이용하여

	병 진단용 매뉴얼 작성		사과 갈색무늬병 및 배 검은별무늬병 진단 매뉴얼을 작성
국내 사과 및 배 재배 지역에 발생하는 주요병해 조사 및 과수병해 진단기술 농가 적용	주요병해 조기진단 현장실증 조사농가 구성	100%	사과는 3개도 8개 시/군, 배는 1개도 2시군 지정하여 병해 조사 실시
	현장진단 기술을 활용을 위한 이병시료 채집체계 구축	100%	가장 재배가 많이 되고 있는 품종들에서 이병시료 채집체계를 구축
	IBT기술 활용 조기진단체계 적용을 위한 조사 기법연구	100%	조사 대상 과원에서 병해 발생의 표준이 되는 나무를 10주 선정하고 표식한 다음 열 간의 좌우로 사과 나무 한쪽 면을 조사함.
초고속 광단층 촬영 소프트웨어를 적용한 현장 진단용 OCT 개발	Full range k-domain 비선형 측정 기법 개발 및 선형화 소프트웨어 개발	100%	깊이 방향으로의 이미지 왜곡과 이미지 속도를 향상시키기 위한 스펙트럼 보정 기법 개발
		100%	과장 변경과 이미지 향상을 위한 스펙트로미터 개발
		100%	과장 스캐닝 필터를 사용하여 입력 광원에 대한 과장별 픽셀 정보를 획득을 위한 자동화 시스템 구현
		100%	과장 스캔 필터를 통해 획득된 비선형적인 과장 정보 대 픽셀 정보를 선형화하기 위한 소프트웨어 개발
	2차원 단층 영상의 실시간 출력을 위한 고속의 신호처리 알고리즘 개발	100%	데이터 획득 간 시간 최소화를 위한 Multi-Thread 기반 파이프라인 병렬화 알고리즘 개발
		100%	실시간 영상 출력을 위한 Multi-Processing 기반 고속 신호처리 알고리즘 개발
		100%	정의된 고속 신호처리 라이브러리 IPP(Integrated Performance Primitives)를 활용한 고속 신호처리 알고리즘 개발
	과수 샘플에 대한 Database 구축 및 자동 classification 알고리즘 개발	100%	Data 획득 및 Classification을 위한 알고리즘을 개발
100%		선형화된 데이터들을 Fourier Transform 시켜서 기존에 조사된 데이터들의 Fourier 데이터와 비교하여 Classification을 시킴	

			100%	PSF에서 자동으로 피크를 찾아 감염 여부를 판단하기 위한 알고리즘 연구 개발
		소형 디스플레이를 위한 GUI 소프트웨어 개발	100%	실시간으로 생성되는 OCT 단층 영상의 이미지 생성 결과를 유저가 Interaction하며 확인할 수 있게 하기 위한 GUI(Graphical User interface) 디자인과 구현
		과수병해 맞춤형 OCT 제작, 기기의 소형화 및 휴대용 기기 제작	100%	영상 진단의 안전성과 고해상도의 장점을 갖는 초고속 스펙트럼 영역 광단층 시스템 개발
			100%	과원의 제한된 공간을 고려해 이동성이 있는 광 단층촬영 시스템 구현을 위한 광학계 설계
3차년도 (2016- 2017)	OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 및 배 검은별무늬병 조기 진단법 개발	휴대용 SD-OCT를 이용한 사과 갈색무늬병 및 배 검은별무늬병 진단법 적용	100%	휴대용 SD-OCT를 이용하여 균위 소재 4개 과원 및 칠곡 소재 1개 과원에서 시험을 수행
		OCT를 이용한 감동근무늬낙엽병균 진단기술 및 분자생물학적 진단법 확립	100%	OCT를 이용하여 '상주동시' 품종의 감잎을 OCT로 관찰하고 데이터를 확보하고 A-scan 분석을 수행
			100%	Mating type gene에서 LAMP진단법 확립
		OCT를 이용한 사과 갈색무늬병, 배 검은별무늬병 및 감 동근무늬낙엽병 진단 방법에 대한 매뉴얼 작성 및 수정	100%	사과 갈색무늬병, 배 검은별무늬병, 감 동근무늬낙엽병 진단용 알고리즘을 탑재한 휴대용 SD-OCT의 진단용 매뉴얼 제작
	국내 사과 및 배 재배 지역에 발생하는 주요병해 조사 및 과수병해 진단기술 농가 적용	지역별 주요병해 조사	100%	사과는 3개도 8개 시군, 배는 1개도 2시군 지정하여 병해 조사 수행

	현장진단 기술을 활용을 위한 이병시료 채집체계 구축	100%	가장 재배가 많이 되고 있는 품종으로 경종방법에 의해 재배되고, 지력이 중(中) 정도이며, 관내 재배 상황과 비교하여 작황이 중 정도인 포장선정
	IBT기술 활용 조기진단체계 적용을 위한 조사기법연구	100%	조사 대상 과원에서 병해 발생의 표준이 되는 나무를 10주 선정하고 표식한 다음 열 간의 좌우로 사과 나무 한쪽 면을 조사
	휴대용 SD-OCT를 이용한 진단체계 농가 적용 및 홍보	100%	휴대용 SD-OCT를 실제 농가 현장에서 사용하는 모습을 농민에게 시연하고, 실제 적용 시 나타날 수 있는 장·단점에 대해 피드백을 받음.
초고속 광단층촬영 소프트웨어를 적용한 현장 진단용 OCT 개발	과수 진단 환경에 맞는 프로브 최적화 및 편광 개선 광학 시스템 설계 제작	100%	샘플 기울어짐을 보정하기 위한 Flattening 알고리즘 적용
		100%	진단의 정확성을 높이기 위해 Threshold value 설정, Upper peak 값과 lower peak 값을 자동으로 검출하기 위한 알고리즘 개발
	과수병해 맞춤형 OCT 제작, 기기의 소형화 및 휴대용 기기 제작	100%	영상 진단의 안전성과 고해상도의 장점을 갖는 초고속 스펙트럼 영역 광단층 시스템 개발
		100%	과원의 제한된 공간을 고려해 이동성이 있는 광 단층촬영 시스템 구현을 위한 광학계 설계
	비디오 영상 획득을 위한 CCD Color 카메라 개발	100%	비디오 영상 획득을 위한 USB type 카메라 모듈 개발

제 2 절 관련분야 기여도

1. 과수병해 진단에 적합한 광간섭단층촬영(Optical coherence tomography) 장비를 개발함으로써, 기술적 분야에서 아래와 같은 사항에 대해 기여함.

가. 2차원 단층 영상 실시간 출력속도의 향상

(1) 단층 영상 속도의 현재 국내 수준은 20 frame/sec이며 본 장비로 120 frame/sec에 달하는 속도를 구현

(1) 고속의 병변검출을 해낼 수 있으며, 다른 개발에 적용 가능

(2) 2차원 이미지를 고속 수집하여 3차원 이미지를 실시간으로 출력

나. 시스템의 규모의 소형화

(1) OCT의 전체 모듈 크기 소형화로 OCT의 적용 분야가 대폭 확대

(2) 시스템의 이동성 확보로 움직일 수 없는 고정된 대상에 대한 검사가 가능

(3) 전원이 공급되지 않는 낙후 지역 등 지역적 시간적 제한 없이 다양한 적용과 응용이 가능

다. Mirror 크기의 소형화 및 Scan 속도의 향상

(1) Mirror 크기의 감소로 프로브의 소형화가 가능하고 이를 토대로 시스템 규모를 소형화

(2) 프로브 소형화로 인하여 검사자의 검사 피로도가 최소한으로 절감되므로 안정적이고 효과적으로 진단 가능

라. 프로브 크기의 소형화

(1) 프로브의 크기는 기존 수준에서 10배 가량 축소됨

(2) 산이나 강 고정되지 않은 측정 위치나 좁은 곳의 측정 대상도 손쉽게 이 프로브를 이용하여 측정 가능

제 5 장 연구결과의 활용계획

코드번호

D-07

1. 연구 결과의 활용 가능성

- ① 광간섭 단층촬영 기법을 이용한 휴대용 진단장치는 검사대상을 비파괴적/비침습적인 방법으로 병원체를 진단하는 기술로 단시간 내에 병원체의 감염유무를 파악하는 것이 장점
- ② 국내 및 국외시장 분석결과 식물병원성 곰팡이를 진단할 수 있는 제품은 외국계 기업에서 일부 생산하고 있으며, 국내의 경우 전무한 실정임. 따라서 본 연구과제에서는 과수에 발생하는 곰팡이 병해를 현장에서 직접 진단할 수 있는 휴대용 진단기기 개발하는 방향으로 연구를 추진하여 진단개발 기술을 수립하여 국내 및 국외로 보급할 계획임.
- ③ 본 연구를 통해 개발된 휴대용 진단장치를 이용하여 과수병해 뿐만 아니라, 유관속 국재성 세균 및 바이러스 병해 등 다양한 식물병원체로 확장이 가능하고, 식물검역현장과 재배현장에서 병원체의 감염유무를 진단할 수 있음. 또한 국내 벤처회사, 생명공학 연계회사 등에 기술이전을 통한 시장성 확대가 기대됨.

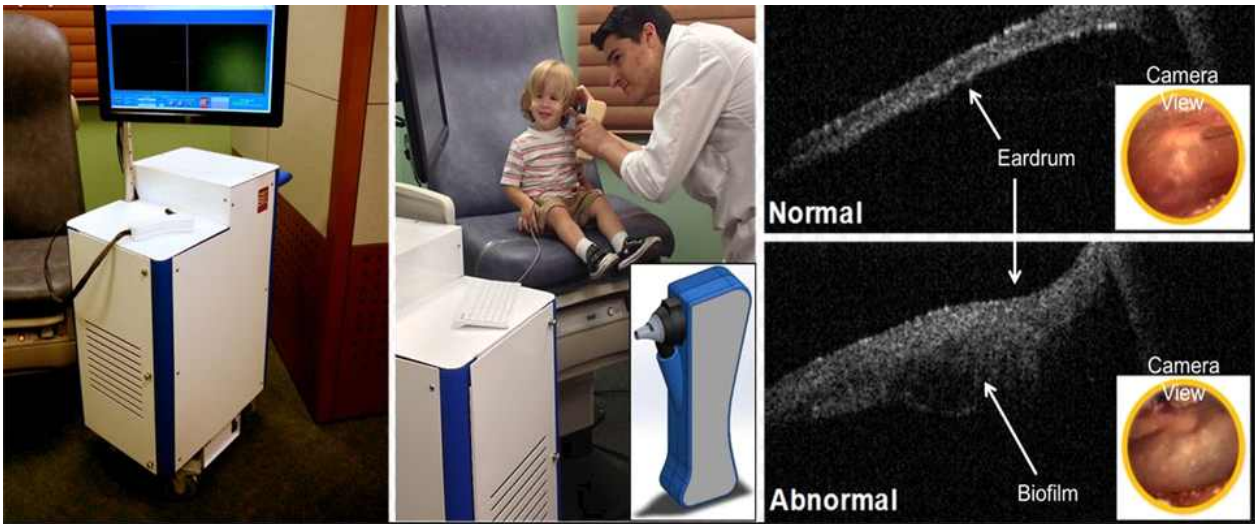
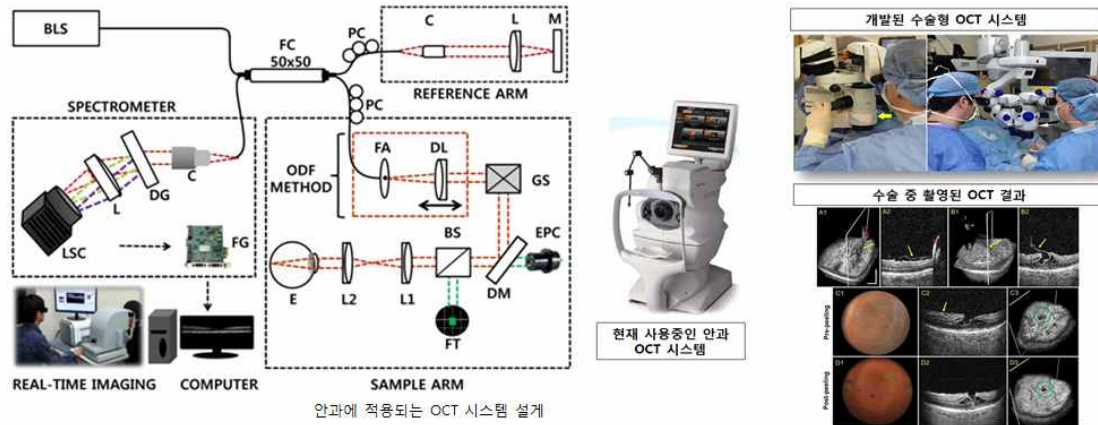
2. 추가 연구의 필요성

- ① 다른 타입의 과수질병에 대한 시스템 개발 및 원천기술 확보 필요
- ② 소형화에 대한 연구를 진행하여 편의성과 이동성이 더 높은 장비를 만들 필요가 있음.
- ③ 이동 가능한 포터블 OCT장비를 이용하여 다른 산업용 어플리케이션(Ex: 선박의 페인트 두께측정기) 개발
- ④ 제작 단가를 감소시키기 위한 제조의 라인화를 진행하여 대량 생산을 가능하게 하고, 농가에 보급하여 과수질병의 조기진단으로 농가의 생산비를 절감
- ⑤ 감염 판별 알고리즘의 지속적인 업그레이드를 통해 휴대용 SD-OCT의 판별 정확도를 높일 예정임.
- ⑥ 본 과제를 통해 개발된 휴대용 SD-OCT장비 및 판별기술을 차 후 국내 NeT(신기술 인증)/NeP(신제품인증)을 통한 인증을 수행할 예정이며, 이를 통해 국내/해외 상용화 및 기술 거래
- ⑦ 현재까지 개발된 기술 중, 육안상 병징이 나타나지 않는 상태에서 사과갈색무늬병균 및 배검은별무늬병균의 감염여부를 판별할 수 있는 기술은 본 과제를 통해 개발된 LAMP법이 유일하므로, 차 후 LAMP법을 대체할 수 있는 분자생물학적인 방법에 대한 연구 예정

제 6 장 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

코드번호	D-08
------	------


○ Optical coherence tomography (OCT)는 1991년 개발된 이래로, 안과학에서 주로 이용되고 있으며, 최근 OCT 장비는 기술 개발을 거듭하면서 안과 수술 중에 실시간으로 관찰 가능한 microscope integrated surgical OCT (MI-OCT) 등과 같은 새로운 장비가 개발되어 상업적으로 판매되고 있음.(Rebolleda et al., 2015).




○ 또한 최근에는 그 적용범위가 넓어져 이비인후과, 심장병학(Cardiology), 흑생종의 진단 등에 사용이 되고 있음.

○ 의학 분야 이외에 식물형태 관찰, 종자의 형태 측정 등 여러 분야에서 application이 이뤄지고 있으나, 이에 대한 연구는 극히 미미함.

○ 농가에서 농작물의 병변을 검출하기 위해서는 이동성이 높은 OCT 장비를 제작하여야 하여 가장 최근에 개발된 OCT중 Santec의 IVS-300 이 가장 Portable 한 장비임.

a) 

b) 

	Probe type		
			
	Standard	Cross polarization	High resolution
Lateral resolution	30 μm	30 μm	5 μm
Lateral scan area	5 × 5 mm	5 × 5 mm	1 × 1 mm
Depth of focus	3 mm	3 mm	0.1 mm
Working distance	2.7 mm	1 mm	2 mm
Configuration	Mouse type	Oral scanner	Grip type
Suitable applications	General	Dental	Dermatology

○ 식물병 진단 분야에 적용되고 있는 OCT 장비에 대한 기술
 농산물 관련 질병의 검출을 광학적으로 검출하는 기술에 대해서 수집한 결과, 파장을 변화시켜 촬영한 이미지를 필터링 하여 검출하는 기술이나 열화상 카메라로 촬영하여 각 대상 시료의 온도 차이를 측정하여 어떤 문제가 있는지 확인하는 기술도 있었으나, 본 과제의 기술 처럼 실시간으로 농산물의 단면을 비파괴로 측정하여 검출하는 기술은 전무한 것으로 확인 됨.

제 7 장 연구개발결과의 보안등급

	코드번호	D-09
일반등급		

제 8 장 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입 기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	코드번호		D-10	
					구입 가격 (천원)	구입처 (전화번호)	비고 (설치 장소)	NTIS장비 등록번호
해당 없음								

제 9 장 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적

	코드번호	D-11
○ 연구 및 작업실 점검 계획(연구 안전 환경 조성에 관한 법률 시행령 제7조 및 9조)		
- 정기점검: 연구개발 활동에 사용되는 기계, 기구, 전기,약품, 병원체 등의 보관상태 및 보호 장비의 관리실태 등을 안전점검기기를 이용하여 실시하는 세부적인 점검으로서 매년 1회 이상 실시		
- 일상점검: 연구 활동 종사자가 연구개발 활동에 사용되는 기계, 기구, 전기,약품, 병원체 등의 보관상태 및 보호 장비의 관리실태 등을 육안으로 실시하는 점검으로서 연구개발 활동을 시작하기 전에 매일 1회 실시 (연구실 안전관리점검 일지 매일 작성)		

제 10 장 연구개발과제의 대표적 연구실적

번호	구분 (논문 /특허 /기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국가	코드번호		D-12	
						Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/인 용횟수 등)
1	논문	Optical sensing method to analyze germination rate of <i>Capsicum annum</i> seeds treated with growth-promoting chemical compounds using optical coherence tomography	경북대		Journal of Biomedical Optics	2.53	2017.01.05	단독	SCI
2	논문	Molecular phylogeny and morphology of <i>Mycosphaerella nawae</i> , the causal agent of circular leaf spot on persimmon	경북대		Mycobiology	0.761	2016.12.31	단독	SCIE
3	논문	Optical-coherence-tomography-integrated, wearable (backpack-type), compact diagnostic imaging modality for in situ leaf quality assessment	경북대		Applied Optics	1.650	2017.03.20	중복	SCI
4	논문	Optical inspection and morphological analysis of <i>Diospyros kaki</i> plant leaves for the detection of circular leaf spot disease	경북대		Sensors	2.964	2016.08.12	단독	SCIE
5	특허	휴대용 광단층 검사장치	오즈텍		대한민국		2017.08.01	단독	

제 11 장 기타사항

	코드번호	D-13
해당없음.		

제 12 장 참고문헌

	코드번호	D-14		
<p>Anoliefo G. and D. Vwioko. 1995. Effects of spent lubricating oil on the growth of <i>Capsicum annum</i> L. and <i>Lycopersicon esculentum</i> Miller. Environ. Pollut. 88:361 - 364.</p> <p>Black L. L., S. K. Green, G. L. Hartman, and J. M. Poulos, 1991. Pepper Diseases: A field guide, Asian vegetable research and development center.</p> <p>Chan K. H. et al., 2015. Use of 2D images of depth and integrated reflectivity to represent the severity of demineralization in cross polarization optical coherence tomography. J. Biophotonics 8:36 - 45.</p> <p>Cho H. J., B. S. Kim, and H. S. Hwang. 2001. Resistance to gray leaf spot in Capsicum peppers. HortScience 36:752 - 754.</p> <p>Cho N. H. et al., 2014. In vivo imaging of middle-ear and inner-ear microstructures of a mouse guided by SD-OCT combined with a surgical microscope. Opt. Express 22:8985 - 8995.</p> <p>Cho N. H. et al., 2015. Evaluation of the usefulness of three-dimensional optical coherence tomography in a guinea pig model of endolymphatic hydrops induced by surgical obliteration of the endolymphatic duct. J. Biomed. Opt. 20:036009.</p> <p>Chow T. H., K. M. Tan, B. K. Ng et al., 2009. Diagnosis of virus infection in orchid plants with high-resolution optical coherence tomography. J. Biomed. Opt. 14:014006.</p> <p>Clements J. et al., Optical coherence tomography as a novel tool for non destructive measurement of the hull thickness of lupin seeds. Plant Breed. 123:266 - 270.</p> <p>Cui C. et al. 2014. Dual spectrometer system with spectral compounding for 1-μm optical coherence tomography in vivo. Opt. Lett. 39:6727 - 6730.</p> <p>Drexler S. E. et al., 2001. Ultrahigh-resolution ophthalmic optical coherence tomography. Nat. Med. 7:502 - 507.</p> <p>Hee M. R., C. A. Puliafito, C. Wong et al., 1995. Quantitative assessment of macular edema with optical coherence tomography. Arch. Ophthalm. 113:1019 - 1029.</p> <p>Huang D., E. A. Swanson, C. P. Lin et al., 1991. Optical coherence tomography. Science 254:1178 - 1181.</p> <p>Jung D. et al. 2011. Handheld optical coherence tomography scanner for primary care diagnostics. IEEE Trans. Biomed. Eng. 58:741 - 744.</p> <p>Kim B.-S., S. H. Yu, H.-J. Cho, and H.-S. Hwang, 2004. Gray leaf spot in peppers caused by <i>Stemphylium solani</i> and <i>S. lycopersici</i>. Plant Pathol. J. 20:85 - 91.</p>				

- Kutis I. et al., 2005. Study of the morphological and functional state of higher plant tissues by optical coherence microscopy and optical coherence tomography. *Russ. J. Plant Physiol.* 52:559 - 564.
- Lee C. H. et al., 2012. The application of optical coherence tomography in the diagnosis of Marssonina blotch in apple leaves, *J. Opt. Soc. Korea* 16:133 - 140.
- Lee C., S.-Y. Lee, J.-Y. Kim, H.-Y. Jung, and J. Kim. 2011. Optical sensing method for screening disease in melon seeds by using optical coherence tomography. *Sensors* 11:9467 - 9477.
- Lee S. Y. et al., 2012. Application of optical coherence tomography to detect *Cucumber green mottle mosaic virus* (CGMMV) infected cucumber seed. *Hortic. Environ. Biotechnol.* 53:428 - 433.
- Lee R. C. et al., 2014. Automated assessment of the remineralization of artificial enamel lesions with polarization-sensitive optical coherence tomography. *Biomed. Opt. Express* 5:2950 - 2962.
- Martínez-Maldonado F.E., D. Miranda-Lasprilla, and S. Magnitskiy. 2013. Sugar apple (*Annona squamosa* L., Annonaceae) seed germination: morphological and anatomical changes. *Agron. Colomb.* 31:176 - 183.
- Meglinski I. V., C. Buranachai, and L. A. Terry, 2010. Plant photonics: application of optical coherence tomography to monitor defects and rots in onion. *Laser Phys. Lett.* 7:307 - 310.
- Munkvold G. P., C. A. Martinson, J. M. Shriver, and P. M. Dixon. 2001. Probabilities for profitable fungicide use against gray leaf spot in hybrid maize. *Phytopathology* 91:477 - 484.
- Nassif N. et al., 2004. In vivo high-resolution video-rate spectral-domain optical coherence tomography of the human retina and optic nerve. *Opt. Express* 12:367 - 376.
- Nimmi V. and G. Madhu. 2009. Effect of pre-sowing treatment with permanent magnetic field on germination and growth of chilli (*Capsicum annum* L.). *Int. Agrophys.* 23:195 - 198.
- Pitris C., A. Goodman, S. A. Boppart, J. J. Libus, J. G. Fujimoto, and M. E. Brezinski, 1999. High-resolution imaging of gynecologic neoplasms using optical coherence tomography. *Obst. Gynecol.* 93:135 - 139.
- Ravichandran N. K. et al., 2016. In vivo monitoring on growth and spread of gray leaf spot disease in *Capsicum annum* leaf using spectral domain optical coherence tomography. *J. Spectrosc.* 1093734.
- Reeves A. et al., 2002. In vivo three dimensional imaging of plants with optical coherence microscopy. *J. Microsc.* 208:177 - 189.
- Ryu C. M. et al. 2003. Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100:4927 - 4932.
- Sapozhnikova V. V., V. A. Kamenskii, and R. V. Kuranov. 2003. Visualization of plant tissues by optical coherence tomography. *Russian J. Plant Physiol.* 50:282 - 286.
- Sapozhnikova V. V. et al., 2004. In vivo monitoring of seeds and plant-tissue water absorption using optical coherence tomography and optical coherence microscopy. *Proc.*

SPIE. 5316:408.

- Schuerger A. C., C. S. Brown, and E. C. Stryjewski, 1997. Anatomical features of pepper plants (*Capsicum annuum* L.) Grown under red light-emitting diodes supplemented with blue or far-red light. *Annal. Bot.* 79:273 - 282.
- Smith P. T. and B. G. 1991. Cobb Accelerated germination of pepper seed by priming with salt solutions and water. *Hort. Sci.* 26:417 - 419.
- Sumayo M., M.-S. Hahm, and S.-Y. Ghim. 2013. Determinants of plant growth-promoting *Ochrobactrum lupini* KUDC1013 involved in induction of systemic resistance against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* in tobacco leaves. *Plant Pathol. J.* 29:174 - 181.
- Verboven P. et al., 2013. Optical coherence tomography visualizes microstructure of apple peel. *Postharvest Biol. Technol.* 78:123 - 132.
- Welzel J. 2001. Optical coherence tomography in dermatology: a review. *Skin Res. Technol.* 7:1 - 9.
- Wijesinghe R. E. et al., 2016. Optical inspection and morphological analysis of *Diospyros kaki* plant leaves for the detection of circular leaf spot disease. *Sensors* 16:1282.
- Wojtkowski et al., 2005. Three-dimensional retinal imaging with high-speed ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *Ophthalmology* 112:1734 - 1746.
- Yadav P. V., M. Kumari, and Z. Ahmed 2011. Seed priming mediated germination improvement and tolerance to subsequent exposure to cold and salt stress in capsicum. *Res. J. Seed Sci.* 4:125 - 136.

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 첨단생산기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 첨단생산기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.