

사업구분	기관프로젝트	수행구분	전반기	연구기간	'00~'02(2년차)
연구과제명	수출유망 신작목 개발연구			연구책임자	정병찬
세부과제명	나리무병주 생산을 위한 바이러스 검정체계 확립				
세부과제책임자	특화작목개발시험장 지방농업연구소 권순배 (033-258-4511)				
색인용어	나리, 바이러스, 무병주				

1. 재료 및 방법

가. 나리바이러스 이병실태조사

나. 종구 증식단계별 바이러스 검정체계확립연구

- 검정바이러스 : LSV, CMV, LMoV 등, - 검정시기 : 조직배양~개화구 증식단계
- 검정방법 : 항체, 유전자진단 및 육안검정

2. 시험성적

가. 나리 바이러스병 이병실태조사

표 1. 조직배양종구 및 개화구의 바이러스 감염실태 조사

구분 (구근증식단계)	조사 주수	이병주수				이병율 (%)	비고 (ELISA 검정점수)	
		CMV	LMoV	LSV	복합감염			
조직배양종구	배양용 모구	617	30	55	61	3	23.1	1,851
	1차계대배양구	5,286	214	41	100	10	6.5	15,858
	1년양구(소구)	630	4	2	6	0	1.9	1,890
	2년양구(중구)	-	-	-	-	-	-	'02년조사
개화구	3년양구(개화구)	-	-	-	-	-	-	'03년조사
	C농가	260	0	51	42	17	29.2	780
	D농가	240	34	80	94	67	58.8	720

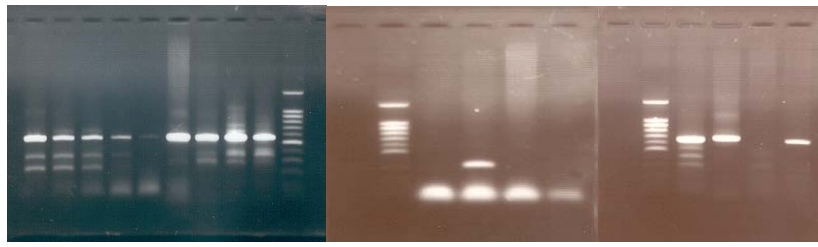
나. 종구 증식단계별 바이러스 검정체계확립 연구

1) 기내배양시 바이러스검정방법 및 최적 검정시기 구명

- 바이러스 종류별 적정 검정방법 구명
 - CMV 및 LSV : DAS-ELISA법, ·LMoV : Indirect ELISA법
- 적정 검정시기 구명
 - 1차검정 : 모구선발시, ·2차검정 : 1차계대배양 후 2개월
- 유전자 진단법 확립

바이러스	프라이머염기배열(5'-3')	비고
LSV	GATGTCGAAGGTGTCAAAAGCTGC CACTGTTAGAGCAACGACTAACCC	551bp
CMV	GAGTCATGGACAAATCTG AACACGGATTCAAACACTGG	650bp
LMoV	GGCTGTTTCATCTGGAAGTGTGC CATGGTTTGTGCATAGAGAATGG	300bp

그림 1. 나리 주요바이러스의 유전자진단을 위한 특이 프라이머 세트의 염기배열 디자인



LSV 진단 LMoV 진단 CMV 진단
 그림 2. 나리 주요바이러스의 유전자진단 결과 전기영동사진

2) 포장 양구시 바이러스검정방법 확립

- 적정 검정 방법
 - 육안검정 : 명료한 병징 발현주(나리바이러스판별 리후렛 활용)
 - 항체진단 : 생육불량 및 감염의심주
- 적정 검정시기 및 횟수
 - 생육기간 중 2~3회

3. 결과요약

- 나리의 조직배양종구(강원도원) 및 개화구(C, D농가)의 바이러스 오염율
 - 배양용 모구 23%, 1차계대배양 6.5%, 소구(1년양구) 1.9%, 개화구(C농가) 29.2%, (D농가) 58.8%
- 종구증식 단계별 고효율 검정체계 확립
 - 대상바이러스 : CMV, LSV, LMoV
 - 검정기술 정립

구 분	ELISA	RT-PCR	육안검정
단계별 이용검정법	-1차계대배양구 -모구(포장감염의심주)	ELISA로 검정불가 시 (저농도 등)	포장양구
검정횟수	2	-	2~3/년
검정한계 (시료희석농도, W/V)	기내배양묘(10^{-4})	기내배양묘(10^{-6})	병징관찰 후 이병주 제거
소요시간(h)	8~17	3~4	-

- 체계적인 바이러스 검정(기내 2회, 포장2회/년)으로 오염을 최소화 가능
 - 종구 증식단계(오염율) : 배양용모구(23%) → 1차 계대배양(6.5%) → 소구, 1년차 양구포장(1.9%)
 - 조직배양 1년차 소구의 오염율이 1.9%(LSV-1, LMoV-0.3, CMV-0.6)로 화란구근등급 (S) EE) E) ST)규정의 EE급(LMoV-0.5, LSV-1)이상 고품질 종구 생산가능성 확인

4. 결과활용계획

- 자체활용(나리 우량종구 자급화사업, 2004년이후 500만구/년 보급)