

특화작목개발시험장

담당자 : 권 순배, 허 수정

(033)243-1823, snbkwon@hanmail.net

나리의 우량종구 생산을 위한 주요 바이러스 검정 프로그램 개발

1. 현황 및 문제점

- 장기간이 소요되는 조직배양 나리의 종구 생산에 있어, 구 육성단계별로 체계화된 바이러스 검정 프로그램이 없는 실정으로
- 우량 종구의 안정적 대량생산을 위하여는, 실정에 맞는 효율적인 바이러스 검정체계 확립이 시급함

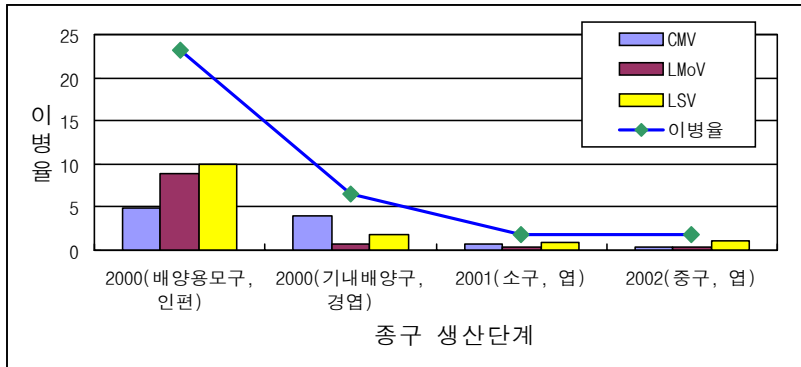
2. 연구결과('00 ~ '02)

- 나리 종구 생산시 주요 바이러스 (CMV, LSV, LMoV)의 효율적인 진단을 위한 검정 프로그램 개발

종구 육성단계	바이러스 검정					비 고
	시기	방 법	조직 (부위)	시료량 (mg)	횟수	
모구 선발	모구선발 시	ELISA	인편	100	1	이병주 제거
기내 배양	1차계대배양 60일경과 후	ELISA	경엽	100	1	"
포장 양구1) (소,중,개화구)	생육기간중	육안검정	엽	-	2회/년	"
	"	항체진단	엽	100	-	육안판별 곤란시 활용

1) 포장양구는 진딧물 비래 방지를 위하여 망실재배

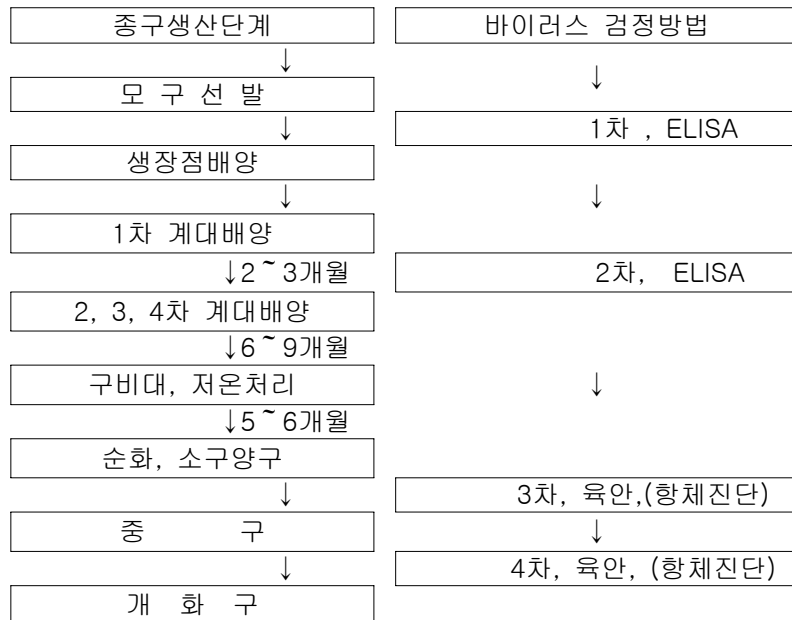
◦ 개발된 바이러스 검정 프로그램에 따른 나라 종구 생산시 주요 바이러스 제거 효과 ('00~'02 실증시험 결과)



3. 기대효과

◦ 나라 종구 대량 증식시 체계적인 바이러스 검정체계 이용으로 고품질 우량종구의 안정적 대량생산 가능

4. 적 요



- 바이러스 검정 프로그램 모식도 -

- 나라 조직배양 종구의 육성단계별 효율적인 바이러스 검정체계 확립
 - 모구(1회) : 인편조직 일부를 ELISA 검정
 - 기내 배양(1회) : 1차 계대배양 후 2개월 경과 시 경엽을 ELISA 검정
 - 포장 양구(2회/년) : 육안검정
 - 나라 바이러스 육안검정 기준 정립

바이러스	특징적 병징
CMV	모자이크> 퇴록반문> 엽꼬임, 생육불량
LSV	모자이크> 퇴록반문> 생육불량
LMoV	모자이크> 엽꼬임, 생육불량> 화편퇴록
CMV+LSV	모자이크> 퇴록반문> 괴사반점> 엽꼬임, 생육불량
LSV+LMoV	모자이크> 퇴록반문> 엽꼬임, 생육불량> 화편퇴록> 괴사반점
CMV+LSV+LMoV	모자이크, 퇴록반문, 괴사반점, 엽꼬임, 생육불량, 화편퇴록

◦ 개발된 바이러스 검정 프로그램에 따른 나리 종구 생산시 최종 양구단계 (종구~개화구)까지 낮은 바이러스 이병율 유지가능

- 3년간('00~'02) 실증시험결과, 바이러스 이병율을 1.8%(LMoV-0.4, LSV-1, CMV-0.4)수준까지 유지할 수 있어 「네델란드 구근품질등급(S> EE> E> ST)규정」의 EE급(LMoV-0.5, LSV-5, LVX-1)이상 고품질 종구 생산가능

5. 유사 영농활용기술과의 차이점

◦ 감자 종서 생산체계

<세부연구결과성적>

(시험 1) 나리 바이러스병 피해조사

◦ 강원도 나리 주산단지에서의 바이러스병 발생실태

조사 년도	조사 지역	품종	검정 개체수	바이러스별 이병주수 J				이병율 (%)
				CMV	LSV	LMoV	복 합 감염주	
2000	춘천	콘아모르	60	0	8	10	2	27.0
	평창,춘천	카사블랑카	68	68	52	68	68	100.0
	춘천	시베리아	90	10	7	6	2	23.0
2001	강릉	로사토	260	0	51	42	17	29.2
	평창	르네브	240	34	80	94	67	58.8

J 검정법 : ELISA

(시험 2) 종구 증식 단계별 검정체계확립 연구

가. 주요 바이러스 진단 기술 확립 및 ELISA키트개발

◦ 개발한 주요 바이러스 (LSV, CMV)의 ELISA 진단키트의 적정사용조건 설정

바이러스	최 적 조 건			평균 OD405치	검출 한계 농도 (ng/ml)	
	항체농도 ($\mu\text{g/ml}$)	이병즙액 희석(배)	효소표지 항체희석(배)		자체개발	수입산
LSV	2	$10^{-1} \sim 10^{-2}$	5×10^{-2}	1.5 ± 0.5	5	5
CMV	"	"	5×10^{-2}	1.5 ± 0.5	5	5

- 진단방법 : 바이러스 항체코팅(2시간) → 이병식물 즙액처리(2)
→ 효소표지항체 반응(2) → 기질첨가 이병유무 진단(1/2)

◦ Lily mottle virus(LMoV)의 항체진단법 확립

진단키트	최 적 조 건			평균 OD405치	검출한계 희석배수 (w/v)
	이병즙액 희석(배)	항체농도 ($\mu\text{g/ml}$)	효소표지 항체희석(배)		
Potyvirus group	$10 \sim 10^{-2}$	2	2×10^{-2}	1.5 ± 0.5	이병엽 10^{-5}

나. 주요 바이러스의 포장검정을 위한 육안판별 기준 정립

◦ 감염 바이러스 종류별 특징적인 병징 유형

바이러스	조사주수	병 징 (주)				
		모자 이크	퇴록 반문	괴사 반점	엽꼬임, 생육불량	화편 퇴록
소 계	150					
CMV	3	3	3	-	3	-
LSV	27	27	-	-	3	
LMoV	18	18	-	-	7	6
CMV+LSV	9	9	7	6	5	-
LSV+LMoV	18	18	10	2	12	9
CMV+LSV+LMoV	3	3	3	3	3	3
비감염	72	-	-	-	-	-

- 조사품종 : 콘아모르, -조사방법 : ELISA

다. 종구 증식단계별 적정 검정시기 구명

◦ 시료채취 시기별 주요 3종 바이러스의 검출한계

바이러스 검정시기	채취부위(mg)	이병즙액희석(w/v)					비고
		10	10-2	10-3	10-4	10-5	
모구 선발 시	인편(100)	1.61)	1.5	1.1	0.7	0.2	
계대배양 후 30일	인편+경엽(")	1.1	0.7	0.4	0.2	0.2	기내배양
계대배양 후 60일	경엽(")	2.5	1.5	1.2	0.6	0.2	"
정식 후 본엽 4~5매	엽(")	2.8	2.8	2.8	2.3	0.7	망실재배
건전주	엽(")	0.17	0.16	0.16	0.16	0.17	

1) ELISA reader에서 O.D값 0.35이상 : 이병판정

(시험 3) 개발된 바이러스 검정 프로그램에 따른 나라 중구 생산시 주요 바이러스 경감율 조사

◦ 실증시험('00~'02)수행 결과, 중구 증식단계별 바이러스 이병율 경감 추이

증식단계	조사 년도	조사 주수	조사 부위	이병주수 1)				이병율 (%)
				CMV	LMoV	LSV	계	
배양용 모구	2000	617	인편	30	55	61	146	23.1
기내배양구	2000	5,286	경엽	214	41	100	355	6.5
소구	2001	630	엽	4	2	6	12	1.9
중구	2002	1350	엽	6	4	14	24	1.8

1) 바이러스 종류별 이병주수 조사 : ELISA