

316011-05

보안 과제(), 일반 과제() / 공개(), 비공개()발간등록번호()
수출전략기술개발사업 2021년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-003434-01

종자수출 확대를 위한 가공처리 기술 국산화

2021. 3. 26.

주관연구기관 / 국립종자원
협동연구기관 / (주) 신농
협동연구기관 / (주) 코레곤
협동연구기관 / 동아대학교
협동연구기관 / 충남대학교
협동연구기관 / 고려대학교

종자수출
확대를
위한
가공처리
기술
국산화

2021

농림축산식품부
농림식품기술기획평가원

농림축산식품부
(전문기관)농림식품기술기획평가원

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “중자수출확대를 위한 가공처리 기술 국산화”(개발기간 : 2016.05.19. ~ 2020.12.31.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2021. 03. 26.

주관연구기관명 : 국립종자원	(대표자)
협동연구기관명 : (주) 신농	(대표자)
협동연구기관명 : (주) 코레곤	(대표자)
협동연구기관명 : 동아대학교 산학협력단	(대표자)
협동연구기관명 : 충남대학교 산학협력단	(대표자)
협동연구기관명 : 고려대학교 산학협력단	(대표자)
위탁연구기관명 : (주) 노루홀딩스	(대표자)



주관연구책임자 : 정은선
협동연구책임자 : 신동호
협동연구책임자 : 양준열
협동연구책임자 : 김두현
협동연구책임자 : 조병관
협동연구책임자 : 류지훈
위탁연구책임자 : 최승영

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

보고서 요약서

과제고유번호	316011-5	해 당 단 계 연 구 기 간	2016.05.19.~ 2020.12.31	단 계 구 분	(5단계)/ (총5단계)
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	수출전략기술개발사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	종자수출확대를 위한 가공처리 기술 국산화			
연구책임자	정은선	해당단계 참여연구원 수	총: 269명 내부: 262명 외부: 7명	해당단계 연구개발비	정부: 3,500,000천원 민간: 1,167,500천원 계: 4,667,500천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 269명 내부: 262명 외부: 7명	총 연구개발비	정부: 3,500,000천원 민간: 1,167,500천원 계: 4,667,500천원
연구기관명 및 소속부서명	국립종자원 종자검정연구센터 동아대학교 산학협력단 충남대학교 산학협력단 고려대학교 산학협력단			참여기업명 (주)신농 (주)코레곤	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위탁연구	연구기관명: (주)노루홀딩스			연구책임자: 최승영	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	
<p>요약</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 주요 수출입 채소원예작물 종자의 가공처리 신기술개발 및 최적조건 선정 ○ 프라이밍처리 기술 개발 및 장비 개발 ○ 펠름코팅 원료 및 처리 기술 개발 및 장비 개발 ○ 펠렛코팅 원료 및 처리 기술 개발 ○ 다중스트레스 조합을 이용한 종자의 살균기술 개발 ○ 식물유래 천연항균소재를 이용한 종자의 살균기술 개발 ○ 미생물 유래 천연항균소재를 이용한 종자 살균기술 개발 ○ 신속·정확한 비파괴 종자품질 검정 기술 개발 ○ 가공처리종자의 품질보증 패키징 기술개발 	보고서 면수

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p><연구 목적></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 세계 최고 기술력보유 선진국(일본, 네덜란드)수준까지 근접한 종자가공처리 신기술 개발 및 산업화 ○ 국제수준의 프라이밍 및 펠름코팅 장치 개발(현재 20%→ 선진국대비 90%) 및 산업화 ○ 가공처리종자의 품질보증 패키징 개발 <p><연구 내용></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 주요 수출입 채소원예작물 종자의 가공처리 신기술개발 및 최적조건 선정 <ul style="list-style-type: none"> - (14작물) 무, 배추, 양배추, 상추, 수박, 호박, 대목, 오이, 멜론, 고추, 토마토, 파프리카, 양파, 당근 ○ 프라이밍처리 기술 개발 및 장비 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 종자활력 증진 및 품질향상을 위한 친환경적 처리기술 개발 ○ 펠름코팅 원료 및 처리 기술 개발 및 장비 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 저비용 고품질 무독성 원료 및 종자수명 유지의 점성조절제 개발 ○ 펠렛코팅 원료 및 처리 기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 종자수명에 영향을 미치지 않는 펠렛코팅 원료 및 처리 기술 개발 - 기계화과종에 적합한 펠렛종자 가공 기술 개발 ○ 다중스트레스 조합을 이용한 종자의 살균기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 액체·기체 이산화염소 기반 허들테크놀러지를 이용한 종자 살균기술 개발 ○ 식물유래 천연항균소재를 이용한 종자의 살균기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 액체상 및 기체상 식물 정유를 이용한 종자의 살균기술 개발 ○ 미생물 유래 천연항균소재를 이용한 종자 살균기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 길항미생물 및 길항미생물의 조추출물을 이용한 종자의 살균기술 개발 ○ 신속·정확한 비파괴 종자품질 검정 기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 종자품질(비정상립, 불충실립, 비활력립) 및 활력수준 선별 기술 개발 - X-ray 및 초분광 근적외선, 라만 영상 등 융복합적 선별기법 개발 ○ 가공처리종자의 품질보증 패키징 기술개발 <ul style="list-style-type: none"> - 최적 가공처리→저장→기계화생력재배 품질보증 구축을 위한 품목별 프로토콜 구축 - Ring Test로 가공처리방법 및 개발장비의 유효성 및 재연성 검정 				
<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 특허출원 15건/ 특허등록 10건 이상 ○ 기술이전 5건 이상 ○ 펠름코팅 및 펠렛코팅 원료개발 3건 이상 ○ 가공처리종자의 제품화 5건 이상 및 수출 5개국 이상 ○ SCI 10건, 비SCI 10건 및 학술발표 33건 이상 ○ 전문인력양성(석사급, 박사급) 15명, 교육지도 10건 이상 ○ 가공처리종자 품질보증·저장방법·종자살균기술관련 정책제안 5건 이상 				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 주요 수출종자에 가공처리적용 및 '21년 2억불달성 지원 ○ 가공처리 원료 및 원천기술력의 국산화·산업화로 민간기업 지원 ○ 종자가공처리 기술 및 장비(프라이밍, 펠렛코팅)의 산업화로 기술수준 상향화 ○ 선진국수준의 국내종자가공 전문처리업체가 신장할 수 있는 기반구축 ○ 민간육종단지내 기업을 포함한 종자업체에게 기술이전 종자가공처리시설 구축지원 				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>종자가공처리</p>	<p>프라이밍</p>	<p>펠름코팅</p>	<p>펠렛코팅</p>	<p>품질보증</p>
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>Seed-processing</p>	<p>Seed-priming</p>	<p>Seed-coating</p>	<p>Seed-pelleting</p>	<p>Quality assurance</p>

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요	1
2. 연구수행 내용 및 결과	7
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	643
4. 연구결과의 활용 계획 등	645
붙임. 참고 문헌	646

<별첨 1> 연구개발보고서 초록

<별첨 2> 주관연구기관의 자체평가의견서

<별첨 3> 연구성과 활용계획서

1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발 목적

1. 연구개발 목표

1) 세계 최고 기술력보유 선진국(일본, 네덜란드)수준까지 근접한 종자가공처리 신기술 개발 및 산업화

- ▶ 종자가공처리기술(프라이밍, 필름코팅, 펠렛코팅) 자체 기술력 확보
- ▶ 선진국수준의 프라이밍처리 기술개발(현재 30%→선진국대비 75%) 및 산업화
- ▶ 선진국수준의 저비용 고품질 필름코팅제 및 처리기술 개발(현재 50%→100%) 및 산업화
- ▶ 선진국수준의 펠렛소재 및 펠렛코팅 기술개발(현재 10%→30%) 및 산업화
- ▶ 국제수준의 프라이밍, 필름코팅 장비 개발(현재 20% → 선진국대비 90%) 및 산업화

2) 발아율에 영향을 미치지 않는 병제어 처리기술개발(현재 30% → 선진국대비 70%) 및 산업화

3) 종자품질분석의 비파괴선별 기술개발(현재 60% → 선진국대비 90%) 및 기술이전

4) 가공처리종자의 최적처리부터·보관조건 및 기계화생력 재배기술까지 패키지 구축

'21년까지 세계 최고 기술력을 보유하고 있는 일본·네덜란드의 수준에 근접한 종자가공처리기술 및 장비의 국산화·산업화 달성으로 종자수출확대·지원	
◎ 산업화 목표	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 종자가공처리기술개선 및 기술의 산업화 ◦ 종자무병화의 살균기법 개발 및 산업화 ◦ 종자품질분석의 비파괴선별 기술개발 및 기술이전 ◦ 프라이밍, 필름코팅 처리장비 개발 및 산업화 ◦ 필름 및 펠렛코팅 원료 및 기술의 국산화, 산업화 및 기술이전
◎ 정책목표	<ul style="list-style-type: none"> ◦ '21년까지 종자수출액 2억불(현재 4천만불) 달성지원 ◦ 민간기업에게 기술지원 및 전문인력양성지원으로 일자리 창출

1-2. 연구개발의 필요성

1. 국내의 종자산업 및 종자가공처리산업 현황

1) 현재 우리나라 종자시장 규모는 약 5억불('15)로서 세계종자시장 규모의 1% 정도에 불과하며, 세계 종자가공처리시장 규모가 약 50억불('15)로서 세계종자시장의 10%를 차지하는 반면, 우리나라의 종자가공처리시장은 17만불로서 세계 종자가공처리 시장의 약 0.3%에 해당

되는 미미한 수준임

- 세계 종자가공처리시장 규모는 연평균('14-'20) 10%의 성장세 추이로 볼 때 2020년까지 약 89억불에 이르고 종자가공처리시장 중 종자코팅시장은 약 16억불 규모가 될 것으로 추정됨 (Zion Research Analysis, 2015)
- 2) 농산업에서 코팅종자의 수요가 지속적으로 증가하고 있고, 특히 해외의 종자가공처리 및 코팅전문 서비스회사들은 과학적 농법으로 전환하고 있는 아시아 국가를 사업 확대의 대상으로 인식하여 원료 및 장비 판매 등의 절호의 기회 대상으로 인식하고 있음(Agriculture Sector Monitor, 2015)
- 3) (GSP 프로젝트, '12~'21, 총 3,985억원) 2020년도 종자수출 2억 달러 달성을 통한 글로벌 종자강국 실현 및 민간 종자산업 기반 구축을 위한 국가전략형 수출·수입대체 종자 개발의 국가 연구개발 사업 추진 중임
 - 글로벌 시장개척 채소종자 개발 품목 : 고추, 배추, 무, 수박
 - 품종보호 전략 채소종자 개발 품목 : 양배추, 양파, 토마토, 파프리카
- 4) GSP 프로젝트 1단계('12~'16)의 채소사업단 및 원예사업단의 세부프로젝트를 분석해 볼 때, 필요한 연구개발 부분은 종자가공처리에 대한 기술개발로서 개발된 신품종이 고부가가치 종자로 수출·유통이 확대 될 수 있도록 종자가공처리 연구개발은 신품종 개발과 동시에 수행 될 필요가 있음

2. 국내의 종자가공처리 기술수준 현황

- 1) 종자가공처리 관련 세계 최고 기술수준을 보유하고 있는 일본(SUMITOMO사), 미국 (INCOTEC사), 네덜란드(SEED PROCESSING사)은 자체 원천기술력으로서 종자품목별 다양한 제조법을 보유하고 있음
- 2) 우리나라의 경우, 세계 최고 기술수준 보유국보다 현저히 낮아 대부분의 핵심기술은 수입에 의존하고 있는 실정으로 소재개발의 한계로 원료를 해외에 의존하거나 이를 분석하여 모방한 낮은 수준의 원료를 이용하고 있는 실정임
 - 네덜란드는 우리나라 종자시장과 비슷한 규모(4천만불)이나 우리나라보다 수출량은 20배, 수출액은 32배 이상 높은 이유는 종자가공처리에 의한 고품질화에 의한 차이의 결과라고 볼 수 있음
- 3) 우리나라의 종자가공처리 기술은 업체별로 기술수준의 차이가 심하며 수출품종을 육종하더라도 동남아 등 개발도상국 수준에서 요구하는 처리종자를 유통하며, 유럽/미주 등에서 요구하는 고품질 처리종자에 대한 요구기준을 충족시키지 못하고 있음

3. 문제점

- 1) 종자수입은 무, 양파, 고추, 토마토 등이 채소종자 전체의 약 62%를 차지하고 있으며 대

부분은 일본과 네덜란드 등으로부터 수입하고 있는 실정으로 이들 종자들은 100% 코팅종자로서 발아율이 높아 농가에서는 가격이 비싸더라도 수입산을 선호하는 추세임

- 2) 국내 종자가공처리 관련 기술력은 세계 최고 수준인 일본과 네덜란드보다 현저히 낮아 대부분의 핵심기술은 수입에 의존하고 있는 실정임
- 3) 국내 유통종자의 약 60~70%는 필름코팅 종자인데 코팅시 사용되는 원료 및 배합기술 등 핵심 기술은 일본 등에서 전량 수입하여 사용하고 있으며 종자의 가치를 높이는 프라이밍, 펠렛코팅 등 가공기술 또한 로열티를 지불하고 사용하고 있음
*기술제휴 시, 가공처리종자 매출액의 약 7%를 로열티로 지급
- 4) 일반화된 종자가공처리에 반해, 관련 기술력은 해외의존도가 높은 실정이며, 업체중심의 가공처리 산업화는 영세성 및 경제성 등을 감안할 때 자체예산 투입만으로는 선진국수준까지 도달하기 어려운 실정임
- 5) 민간의 고품질종자 및 노동력 절감의 기계화생력재배에 활용 가능한 종자의 수요가 높아지고 있으나 영세한 중·소규모 기업은 종자처리에 대한 능력이 없고, 중견 및 대기업 종자업체들은 종자가공처리 관련 원료개발 및 기술의 국산화·산업화에 대한 요구도는 높으나 관련 연구기반 및 투자가 열악한 상황임

표 1. 선진국과 우리나라의 종자가공 처리분야 기술수준

분 야	선진국 *(일본) 스미토모, (미국) 인코텍	우리나라
종자 프라이 밍	<ul style="list-style-type: none"> - 자체 원천기술 보유 - 종자처리에 자체기술을 보유한 회사를 인수 처리시장 선점 확대 - 발아율발아세 향상뿐만 아니라 병해충 방제 등 고부가가치 종자처리기술 개발추진 - 다양한 품목별 선택적 프라이밍으로서 채소 및 화훼류뿐만 아니라 콩, 벼, 면화 등의 식량종자도 종자처리 대상임 	<ul style="list-style-type: none"> - 종자업체들간 기술 수준차이가 크고 종자발아 사고의 원인으로 작용 - 조건이 까다로운 토마토, 상추, 양파 등은 전문처리업체를 통해 진행하나 기술 수준 및 산업적 규모는 영세함 - 선진기술의 약 30% 수준
코 팅	<ul style="list-style-type: none"> - 원예작물의 생산 및 가공처리기술 분야의 선도적 기술력 확보 - 종자처리에 자체기술을 보유한 회사를 인수하여 처리시장 선점 확대 - 자체 종자처리기술 연구부서 확보 및 원천기술 보유로 로열티 확보 - 식량작물(옥수수>콩>밀) 분야가 종자처리에서 가장 빠른 성장세를 나타냄 	<ul style="list-style-type: none"> - 최근 유통 채소종자의 약 60-70%는 필름코팅 종자이나 검색수준 - 일반화된 기술인 반면 코팅기계, 원료 및 배합기술 등은 해외 의존도가 높은 실정 - 채소종자위주이나 최근 참깨, 마카 등 특용작물 종자에 처리하여 파종시간 절감 및 증수효과 - 선진기술의 약 50% 수준
	<ul style="list-style-type: none"> - 종자수명을 단축시키지 않는 기술력 보유 - 더불어 품질관별의 신속성을 위한 가공처리종자의 비파괴 활력검정 기술개발 - 종자처리 관련 기기나 장비 및 활력검정 기기로 해외시장 선점 중 	<ul style="list-style-type: none"> - 대부분 필름코팅 처리제품이며 펠렛코팅은 약 2%에 불과 - 해외에 전적으로 의존하고 있으며 단가가 높아 극히 제한된 품목에만 적용하고 있는 수준 - 선진기술의 10% 수준

4. 종자가공처리 연구개발의 필요성

- 1) 신제품에 대한 수출 및 품종보호강화로 로열티 감소 등 수출확대를 위해서는 우리나라 주요 수출품목인 채소 및 원예종자의 가공처리를 통한 종자의 고품질화로 수출확대 지원이 필수임
- 2) 종자의 부가가치를 높이고 외국과 경쟁하기 위해 초기에는 우리의 강점인 십자화과, 고추 품종중심의 틈새시장 공략이 필요함과 동시에 고품질화가 필요함
- 3) 본 연구에서는 종자가공처리대상 작물로 채소작물별 생산량, 총매출액 및 수출액과 GSP 프로젝트의 채소 및 원예사업단의 작물을 참고하여 14작물을 선정하였음
 - 무, 배추, 양배추, 상추, 고추, 수박, 호박, 대목, 오이, 멜론, 토마토, 파프리카, 양파, 당근

◆ 국내 생산과 해외채종을 합한 종자생산량(2015년 기준)은 206만 kg으로 2000년 이후 감소 추세를 나타내다가 2012년 이후 200만 kg이상의 생산량을 나타냈으며, 여전히 무가 가장 큰 비중을 차지하고 있음(종자협회, 2016)

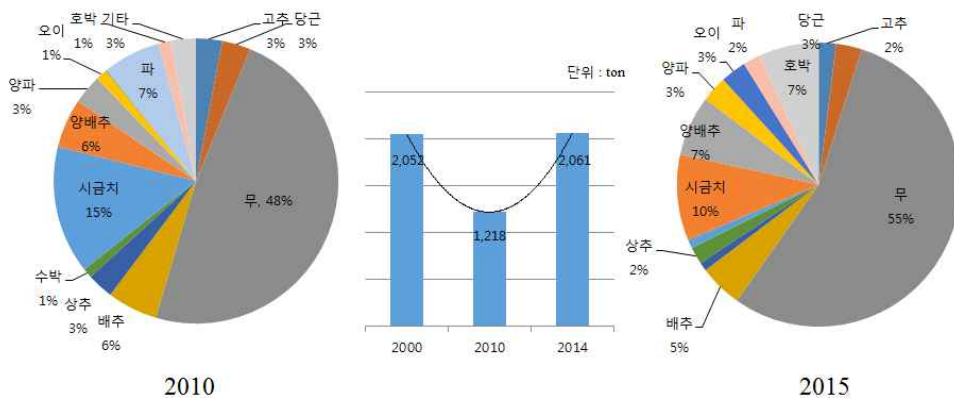


그림 12. 2015년도 채소종자 작물별 생산량(한국종자협회, 2016)

◆ 우리나라 채소종자 총 매출액은 2,647억이고 그중 수출액은 515억으로서 총매출액의 19%를 차지하고 있으며 종자수출액은 5천5백만불로, 이중 98%를 채소종자가 차지하고 있으며 수입액(68백만불)의 66%를 또한 채소종자가 차지하고 있음(종자협회, 2016)

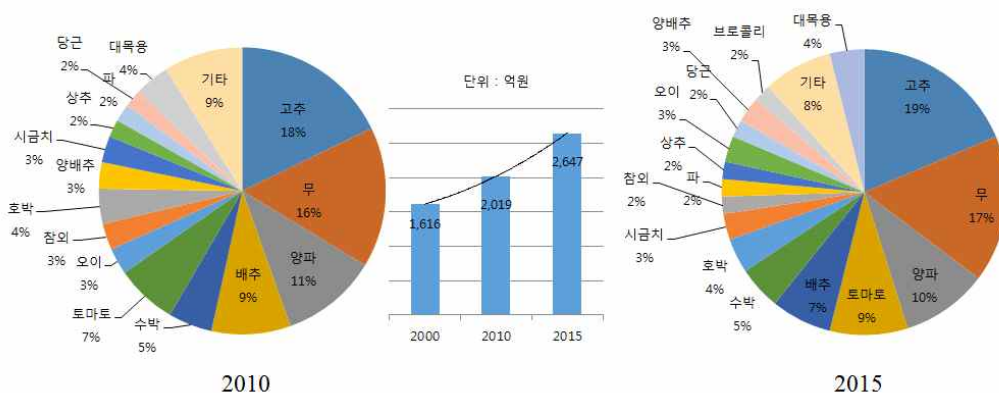


그림 13. 2015년도 채소종자 작물별 총매출액(한국종자협회, 2016).

가공(seed conditioning) → 등급향상(seed upgrading) → 활력증진(seed enhancement) → 소독
(seed disinfection) → 코팅(seed coating)과 관련된 원천기술 및 장비를 개발

2. 연구개발 핵심기술

1) 프라이밍 처리기술 개발 및 장비 개발

- 품목별 종자활력 증진 및 품질향상을 위한 종자전처리의 신기술 개발
- 품목별 제조법 28개 이상 보유
- 살균제 및 살충제 등을 사용하지 않는 친환경적 종자처리(자외선, 초음파 등) 기술개발

2) 필름코팅 처리기술 개발 및 장비 개발

- 필름코팅제(중합제)의 원료(무독성 소재) 개발
- 종자살균 처리시 발아 및 종자의 수명에 영향을 미치지 않는 융·복합적 기술개발
- 품목별 제조법 28개 이상 보유
- 나종자와 유사한 종자수명을 보유하는 점성조절제 개발

3) 펠렛코팅 처리기술 개발

- 종자수명 6개월 보장(선진국수준은 3년경과시에도 발아율에 이상 없음)의 기술 개발
- 폴리머 2종 이상 개발(선진국수준은 채소 25품목에 대한 6종의 소재 보유)
- 품목별 기계화과중에 적합한 펠렛종자 가공(분진, 경도 등) 기술 개발

4) 종자선별 및 활력수준 규명을 위한 비파괴적 종자품질 검정 기술개발

- 비정상립, 비활력립 선별 및 활력수준을 검정할 수 있는 기법 개발
- 근적외선분광방법 · 라만 · X-ray 융 · 복합 선별기법 개발
- 정확도 99% 이상

5) 건전종자 생산을 위한 종자살균 기술 개발

- 다중스트레스 조합(이산화염소기반 허들기술)을 이용한 종자의 살균기술 개발
- 식물유래 정유를 이용한 종자의 살균기술 개발
- 미생물유래 천연항균소재(길항미생물의 조추출물)를 이용한 종자 살균기술 개발

6) 품목별 가공처리종자의 최적처리조건, 저장 및 기계생력재배까지 품질보증 패키징 구축

- 영상분석(2D, 3D) 기법을 활용한 가공처리종자 발아세 및 발아력 분석 구축
- 품목별 처리조건별 저장조건(포장재, 온·습도, 함수량)에 따른 활력유지 기간 검증
- 품목별 최적가공처리 조건+개발 장치+기계화생력재배의 프로토콜 개발 → 표준화

2. 연구수행 내용 및 결과

2-1. 연구개발의 추진전략·방법 및 추진체계

1) 연구개발 추진전략·방법

가. 연구개발 추진전략

【전략 1】 채소원예종자 14품목에 대한 종자가공처리 기술개발의 년차별 선택과 집중

- 문제점진단 : 우리나라 종자수출액 중 98%가 채소종자이며 수입 또한 채소종자가 차지 (67%)함. 주요 수출국은 인도, 중국, 일본으로 무, 고추, 양배추, 토마토 등이 대부분을 차지하고 최근 수출품목이 다양화되었으나 종자의 고품질화를 위한 종자가공처리기술 및 원료에 대한 해외의존도가 큼
- (강점+기회) : 세계시장에서 강한 우수한 십자화과작물의 육종실력과 인도 및 중국으로의 다양한 채소종자의 수출확대 및 지원을 위해 채소종자 가공처리 전문가 등 풍부한 선행기술을 보유하고 있는 전문와의 협력으로 원료개발 및 가공처리의 원천기술력 보유로 종자수출확대지원가능
- **【1단계 : 프라이밍장비개발】** : 본 과제에서는 주요 수출용 및 로열티대응 채소원예작물의 종자에 대한 종자가공처리기술수준을 상향화하고 원천기술력을 확보하기 위해, 1년차에는 프라이밍장비개발과 더불어 프라이밍처리 기술개발을 수행
- **【2단계 : 7품목 필름코팅】** 2년차에는 십자화과(무,배추,양배추) 중 무, 박과(수박,호박,대목,오이,멜론) 중 수박 및 오이를, 가지과(고추,토마토,파프리카) 중 고추와 토마토를, 그리고 양파, 당근, 상추 등 7작물에 대한 필름코팅 처리를 우선적으로 수행
- **【3단계 : 7품목 필름코팅】** 3년차에는 나머지 7품종에 대해 선행한 방법으로 필름코팅을 적용하고
- **【4단계 : 2품목 펠릿코팅】** 3년차에 각 작물별 대표적인 크기이면서 가격이 싼 무와 상추를 우선 펠릿코팅 처리를 수행하여 최적 조건을 선정한 후 나머지 종자에 적용하여 단계별 처리기술 적용
- **【5단계 : 4품목 페렛팅】** 4년차에는 무의 선행적 방법으로 배추 및 양배추에 적용하고, 상추에 적용하였던 선행방법으로 토마토에 순차적으로 적용
- **【6단계 : 품질보증】** 최종적으로 품목별 가공처리종자의 최적처리 조건과 최적 보관조건을 선정하고 링테스트를 진행하여 품목별 가공처리종자의 품질보증을 위한 전과정 프로토콜의 패키지화
- 가공처리전 종자가공으로 비파괴적으로 종자를 선별하여 품질수준을 파악한 후 품질별 가공처리방법을 선정하고, 건전우량종자를 생산하기 위한 종자소독처리기술을 개발하여 산업화하고자 함

【전략 2】 종자가공처리 원천기술개발을 위한 각 분야별 최적화된 산·학·관 협업체계 조성

- 문제점진단 : 대기업들은 자체적인 연구인력과 기술개발로 공동연구 참여로 노하우를 공개하기 꺼리며, 대·중·소기업들 및 부처간 종자산업에 적극 교류 협업하지 않아 산업생태계가 조성되지 않음

- (강점+기회)본 과제에서는 종자가공처리의 선도기업인 (주)신농, 국내 종자수출 3위인 (주)코레곤과 필름코팅 및 펠렛코팅 전문가인 동아대학교가 참여하고, 특히 코팅원료 개발의 최고전문가를 보유하고 있는 (주)노루홀딩스와, 종자살균처리에 대한 다양한 천연원료를 보유하고 있는 고려대가 협업하며 과제결과를 민간에서 상용화할 수 있도록 국립종자원이 주관하여 과제 수행
- 주관+협동5개 기관+위탁1개 기관은 분기별로 과제진행관련 협의회를 통해 과제 진행 및 추진일정을 점검

		내부요인	
		강점 (S)	약점 (W)
		<ul style="list-style-type: none"> ▷ 종자가공처리 및 코팅원료 개발이 가능한 화학회사 참여, 비파괴선별기술 및 종자살균 등 분야별 전문성 보유 및 장비제작 전문가들로 최적의 연구팀 구성 ▷ 폭넓은 인적네트워크 ▷ 풍부한 선행기술의 확보 ▷ 풍부한 소재의 확보 	<ul style="list-style-type: none"> ▷ 연구결과물의 산업체 적용 및 현장 경험 부족 ▷ 효과적인 정보교환을 위한 유통마케팅 전문가 pool의 미비 ▷ 장기연구 R&D 투자 부족 ▷ 다국적기업에 대응할 규모화된 민간업체 취약 ▷ 내수시장 협소
		S-O전략	W-O전략
외부요인	기회 (O)	<ul style="list-style-type: none"> ▷ 종자에 대한 관심 증가 ▷ 종자교역의 확대 및 수출 증대의 필요성 인식 ▷ 유기농 기반 채소식품의 확대 ▷ 분석기술 및 장비의 발달 ▷ 고비용의 해외기술력에 대한 경쟁력 강화 ▷ 개발도상국에서의 필름코팅종자사용 비율 증가 ▷ 종자의 고품질화 추세 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 장기연구역량 집중투입으로 세계최고수준의 비파괴선별, 종자소독처리 및 종자가공 처리 기술경쟁력 확보 ○ 코팅, 펠렛코팅 및 종자소독용 신소재개발 및 장치의 선제적개발 ○ 논문, 특허, 기술이전을 통한 산업화로 수출확대 도출 ○ 해외글로벌 종자회사 및 중국, 인도, 동남아, 유럽 등 신흥시장에 대한 맞춤형 품목개발
	위협 (T)	<ul style="list-style-type: none"> ▷ 외국 종자업체와의 기술력수준의 큰 차이 ▷ 중국의 종자가공처리에의 투자 ▷ 종자전염병으로 인한 경제적 손실의 확대 ▷ 신종 위해미생물의 출현 ▷ 국내 시장의 영세성 ▷ 해외선진기술, 원료 및 장비수입 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 관주도에서 민간주도의 종자산업으로 전환 ○ 종자기업, 연구기관 및 시장과의 교류 활성화 ○ 세계수준의 종자품질보증시스템 개발 및 해외시장개척을 위한 선제적 마케팅 ○ 과학적 위해데이터를 이용한 통상국의 규제완화요구 대응 ○ 지속적인 연구개발 역량함양
		S-T전략	W-T전략
		<ul style="list-style-type: none"> ○ 차별화된 기술개발로 해외시장경쟁력 확보 ○ 종자생산의 경제적 손실 최소화 ○ 품목별 맞춤형 제조법개발 및 보급형 장비개발로 가격경쟁력 제고 ○ 관련 부처 및 민간기업과의 공동연구를 통한 외국기업과의 기술격차 축소 ○ 연구개발을 위한 지속적 모니터링으로 탄력적 대응 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 관주도에서 민간주도의 종자산업으로 전환 ○ 종자기업, 연구기관 및 시장과의 교류 활성화 ○ 세계수준의 종자품질보증시스템 개발 및 해외시장개척을 위한 선제적 마케팅 ○ 과학적 위해데이터를 이용한 통상국의 규제완화요구 대응 ○ 지속적인 연구개발 역량함양

표 1. 연구개발 추진전략을 위한 본 연구과제의 SWOT 분석

나. 세부 기술개발 전략

(1) 종자프라이밍 처리 기술개발 전략

- 기존 수화처리 방법에서 폐수 발생을 획기적으로 줄이는 친환경적 처리기술 개발
 - 종자에 적용된 적이 없는 초음파 처리와 광처리 처리 기술을 접목하여 신기술을 산업화
 - 여러 처리가 동시적/연속적으로 가능한 종자처리 기기의 개발 및 산업화
 - 대표 채소작물의 프라이밍 처리 기준 마련으로 신품목 도입 시, 최적의 프라이밍 조건을 손쉽게 찾을 수 있도록 메뉴얼화

(2) 종자필름코팅 기술개발 전략

- 수입이나 카피제품에 의존했던 필름코팅 기기의 국산화
 - 별도의 건조 처리가 필요하지 않은 로터리 타입 필름 코팅기기의 국산화
 - 선진국 제품 도입비용의 50% 수준

(3) 코팅 및 펠릿코팅 원료개발 전략

- 코팅원료 개발시 친환경 종자코팅제 개발 10종과 코팅 후 발아율 85% 이상을 목표로 함
- 원료가격 : 선진국 제품의 70 ~ 80% 수준
- 펠릿소재 및 접착제 개발 : 펠릿소재 10종 이상, 접착제 5종이상 개발
- 종자수명 유지 : 6개월 이상
- 원료가격 : 선진국 제품의 70 ~ 80% 수준

(4) 비파괴 종자검정 기술개발 전략

- 글로벌 경쟁력을 갖춘 종자발아 및 활력 비파괴 검정기술 개발
 - 세계 최초 융복합 영상 기술(초분광 근적외선+x-ray영상) 개발
 - 딥러닝을 활용한 검정 정확도 향상 기술 개발
 - 해외장비 수입대응 및 수출시장 개척을 위한 선제적 마케팅 기반 구축
- 현장 적용 종자발아 선별기술 개발
 - 가격대비 이용효율성 제고
 - 영세기업에도 판매 가능한 품목별 보급형 맞춤형 선별기 기반 기술 제공
- 자동화 선별장치 개발을 통한 실용성 제고 : 초당 10개 이상 자동 검사

(5) 종자살균처리 기술개발 전략

- 위해미생물에 대한 살균효과의 극대화를 위한 다중스트레스 조합처리 기술의 개발
 - 고려대학교 연구팀은 다양한 스트레스 조합의 위해미생물에 대한 살균시너지에 대한 풍부한 노하우와 경험을 축적하고 있음
 - 고려대학교 연구팀은 pathogen-free radish seeds와 bacteria-free radish seeds 개발에 대

한 연구기술이 축적되어 있음

- 천연유래 항균 정유를 이용한 종자의 살균기술 개발
 - 세계최초 기체상 정유의 항균력을 측정할 수 있는 장치개발
 - 위해미생물에 대한 천연항균소재 (기체상 정유)의 살균시너지 조합을 선별하기 위한 checkerboard assay 기술 확보
 - 다양한 위해 미생물에 대한 기체상 정유의 항균성 확인 데이터베이스 확보
- 미생물유래 천연항균소재를 이용한 친환경적 종자살균기술 개발
 - 고려대학교 미생물제어소재 연구소에 약 10,000점 이상의 토양 및 기타환경 유래 미생물이 분리확보 중임.
 - 항균특성을 나타내는 천연물 및 미생물 약 10,000종 이상 라이브러리 보유
 - 길항미생물의 조추출물 생산을 위한 기술이 확보되어 있으며, 다양한 생물농약 경험의 노하우가 축적되어 있음

(6) 종자가공처리 종자의 품질보증 패키지 기술개발 전략

- 14개 품목별로 최적의 가공처리조건 선정 및 매뉴얼 구축
 - 프라이밍, 필름코팅, 펠렛코팅 처리과정의 표준화
 - 가공처리된 종자의 실험실내 및 토양에서의 품질검정, 이미지 DB구축
- 14개 품목별 최적 가공처리조건별 협동기관간 링테스트를 통한 최적조건 검증
- 14개 품목별/가공처리조건별 최적 보관조건 선정 및 매뉴얼 구축
 - 보관용기, 온도 및 습도에 따른 활력유지 기간 조사
- 민간기업 또는 영세기업에서도 사용 가능한 품목별 범용화된 기술개발 구축
- 협동 및 위탁기관 개발기술의 공유 및 실시간 적용

다. 연구개발 접근방법·전문가 활용

- 국립종자원(주관)은 「**발아율 향상 및 종자수명에 가장 적합한 작물별 가공처리 및 보관 조건 구축**」 과 「**가공처리종자 품질보증매뉴얼 작성 및 구축**」 으로서 협동 및 위탁기관이 제작한 품목별, 조건별 처리종자 및 보관조건별 표준·토양발아검정 분석시 영상분석장치(3D)를 활용하고 영상분석의 전문기관인 KIST의 전문가와의 정보공유와 더불어 펠렛종자의 종자품질검정에 대한 국제규정 적용시 ISTA 전문가들과의 정보공유로 품질보증을 위한 표준운영절차(SOP)를 구축. 생산품질관리 및 고품질종자의 기준을 제시
- 종자품질검정은 ISTA 국제검정규정을 활용하고, 신속·정확한 품질검정을 위한 신기술 개발은 각국의 ISTA 실험실의 분야별 전문가 네트워크와 국내 페녹믹스 연구회 및 품질검정 전문가를 활용하고 또한 최신 논문(seed science & technology) 을 이용하여 연구에 필요한 자료를 수집/활용함
- 종자처리 및 선별 기술개발과 관련된 정보는 기관, 기업체의 자료 및 네트워크를 이용하여 연구에 필요한 자료를 수집/활용함

- 국내, 본 연구관련 학회, 세미나뿐만 아니라 국외 ISTA 워크숍, 세미나 및 종자심포지엄에 참여, 최신 정보를 수집할 수 있으며 참여기관들이 참여하고 있는 다양한 종자업계의 국제회의(APSA, ISF 등), 심포지움이나 국제 총회를 통해 해외 기술 동향과 선진국 종자시장의 흐름에 대한 정보를 파악하여 과제에 활용
- ㈜신농(협동1)은 「양파, 당근, 무, 배추 및 양배추 종자의 친환경적 프라이밍처리 산업화」와 「종자수명에 영향을 미치지 않는 국제 수준의 펠렛코팅 개발 및 산업화」가 목표임. ㈜신농은 최고의 종자처리 기술을 보유하고 있는 스미토모사(일본)와 기술 제휴로 국내에 세계수준의 펠렛코팅 서비스를 제공하고 있는 노하우를 기반으로 다양한 분야에서 활용하고는 있으나, 아직 종자에는 도입되지 않은 친환경적처리에 대한 기술을 선행연구로 효과를 검증한 바 있으며 펠렛코팅 기술의 해외 의존도를 줄이기 위해 국내 자체적인 연구를 수행중으로 본 과제를 통해 선진국수준으로 기술수준을 높이고 타 협동 및 위탁기관과 ring test를 하여 처리방법의 유효성을 검증하여 산업화 마련
- ㈜코레곤(협동2)은 「박과류의 필름코팅 처리 기술개발 및 선진국수준의 코팅기계 장치 개발」과 「펠렛 종자의 기계 생력화 재배기술 확립」으로 수출용 및 수입대체용 채소원예작물의 신제품 육성을 통한 종자수출 2억불 달성(2020) 등 정부의 목표와 발맞춰 우수 필름코팅 종자를 보급하고자 세계 중상수준에 머물러 있는 국내 종자 필름코팅 기술을 선진국 수준으로 향상하고 특히 펠렛종자의 기계화생력재배의 표준화를 구축하여 실용화 및 산업화 마련함에 있어 연구의 검증 및 산업화를 위한 선행과정으로서 과제에 관련된 외부 자문을 통한 초청, 세미나 또는 기술 자문을 실시하고, 유사 기술을 활용하는 대학/정부기관/업체의 기술교류 및 검증 등의 협조체계를 진행함
- 동아대학교(협동3)은 「가지과 종자의 프라이밍, 필름/펠렛코팅처리 기술의 산업화」를 목표로 함. 종자가공기술의 산업화 과정에는 가공 소재에 따른 발아특성의 저하, 친환경 소재의 개발 요구, 기계화 파종에 적절한 가공종자의 경도와 크기, 분진발생, 저장성의 저하, 성형 시 숙련된 기술자의 필요와 같은 문제점을 가지고 있음. 이의 해결을 위해 개발가능성이 있는 가공소재(필름소재, 접착제, 천연색소, 광물질, 보존제)에 대한 목록과 가공 시 필요한 특성 정보를 수집 중이며 추후 노루홀딩스(위탁)과 정보를 공유할 것임. 전문가와 타 기관 협조는 국내 농진청연구진과 ARI(미국캘리포니아 농업연구회)의 종자전문가들과 연구교류로 목표달성 가능함
- 충남대학교(협동4)는 초분광 영상 및 X-ray 영상장치와 딥러닝 분석기술 등의 융복합기술을 활용하여 종자의 품질상태(발아여부)를 상용화가 가능한 높은 선별 수준을 구현할 수 있는 기술 개발과 정확도 향상을 위해 국내외 인공지능 전문가 및 바이오시스템공학회지와 비파괴검사학회지 등을 통해 최신정보 지속 수집
- 고려대학교(협동5)는 종자소독처리를 위한 기존의 건열처리의 다양한 살균제제 개발과 다중조건개발로 발아율에 영향을 미치지 않으면서 코팅과 함께 처리될 수 있는 기술 개발이 목표임. 고려대학교 미생물제어소재 연구소에 약 10,000종 이상의 토양 및 기타 환경 유래 미생물이 분리확보 중이며, 항균기체의 항균력 측정을 위한 특허를 보유하고 있으며, 살균시너지를 확인할 수 있는 checkerboard assay 기술을 확보로 기술개발을 접근할 것임

2) 연구개발 추진체계

연구개발과제		총 참여연구원
과제명	선진국수준의 종자가공처리기술·장비개발의 국산화로 종자수확확대 지원	주관연구책임자 (정은선) 총 66명

기관별 참여 현황		
구분	연구기관수	참여연구원수
중소기업	3	18
대학	3	40
국공립(연)	1	7

주관 국립종자원	위탁 1 (주)노루홀딩스
가공처리 종자의 품질보증 패키지 개발 구축 정은선 외 6명	- 고품질 펠름코팅 및 펠렛코팅 원료 개발 및 국산화 최승영 외 3명
담당기술개발내용	담당기술개발내용
- 품목별 최적 가공처리조건 및 저장조건 품질보증 구축을 위한 표준 및 토양발아의 영상분석 - ring test로 가공처리방법 및 개발 장비의 유효성 및 재연성 검증	- 무독성 고품질 원료 및 점성 조절제 개발 및 국산화 - 펠렛코팅 원료 개발 및 국산화 ◆ 현 우리나라 페인트업계 3위의 화학기업으로서 염료의 최고전문가들을 보유
◆ 국내 유일의 ISTA 인증시험실로서 종자 품질평가 및 보증의 최고 전문기관임	

협동 1 (주)신농	협동 2 농업회사법인(주)코레콘	협동 3 동아대학교	협동 4 충남대학교	협동 5 고려대학교
십자화과(무,배추,양배추) 당근, 양파 종자의 가공처리 기술 및 장비 개발 신동호 외 7명	박과 작물 종자의 가공처리 기술 및 장비 개발 양준열 외 5명	가지과(고추,토마토,파프리카) 및 상추종자의 가공처리 기술개발 김두현 외 5명	신속 정확한 비파괴 종자선별 및 품질검정 기술개발 조병관 외 9명	건전, 활력종자 생산을 위한 종자소독처리기술 개발 류지훈 외 23명
담당기술개발내용	담당기술개발내용	담당기술개발내용	담당기술개발내용	담당기술개발내용
- 프라이밍 처리 기술 개발 - 펠름코팅 처리 기술 개발 - 펠렛코팅 처리 기술 개발 - 프라이밍 장비 개발 *십자화과(무,배추,양배추), 당근, 양파	- 프라이밍 처리 기술 개발 - 펠름코팅 처리 기술 개발 - 기계화, 생력재배기술 표준화 *박과(수박,호박,대목,오이,멜론)	- 저비용 고품질 펠렛코팅 원료조성 개발 - 종자수명에 영향을 미치지 않는 펠렛코팅 기술 개발 *가지과(토마토,파프리카,고추), 상추	- 종자품질비정상립 불충실립 비활력립) 및 활력수준 선별 기술 개발 - 초분광 NIR 및 라만영상 및 X-ray 영상 활용 융·복합 영상 선별기술 개발	- 다중스트레스 조합처리를 이용한 종자소독 기술개발 - 식물정유를 이용한 종자 살균기술 개발 - 길항미생물을 이용한 종자의 살균 기술 개발
◆ 현 우리나라 최고의 종자가공처리업체이며 채소작물 종자처리의 최고 기술을 보유하고 있고장비제작의 선도업체임	◆ 현 우리나라 종자수출 3위의 업체로서 신농과는 기업적 파트너이며 1,000여개의 대리점과 5개의 지사로 다양한 유통채널을 가진 기업임	◆ 다양한 작물 및 특히 소립종자에 대한 펠렛코팅 과제를 수행하였고 종자가공처리연구과제관련 국내의 경험이 풍부한 전문가임	◆ 현 우리나라 최고의 비파괴종자선별의 전문가로서 선진국수준의 장비 및 판별시스템을 개발하는 전문가임	◆ 위해세균, 식물병리학자, 식물육종학자로 연구팀을 구성, 종자살균관련 선행기술 풍부, 10,000점이상 토양미생물확보증

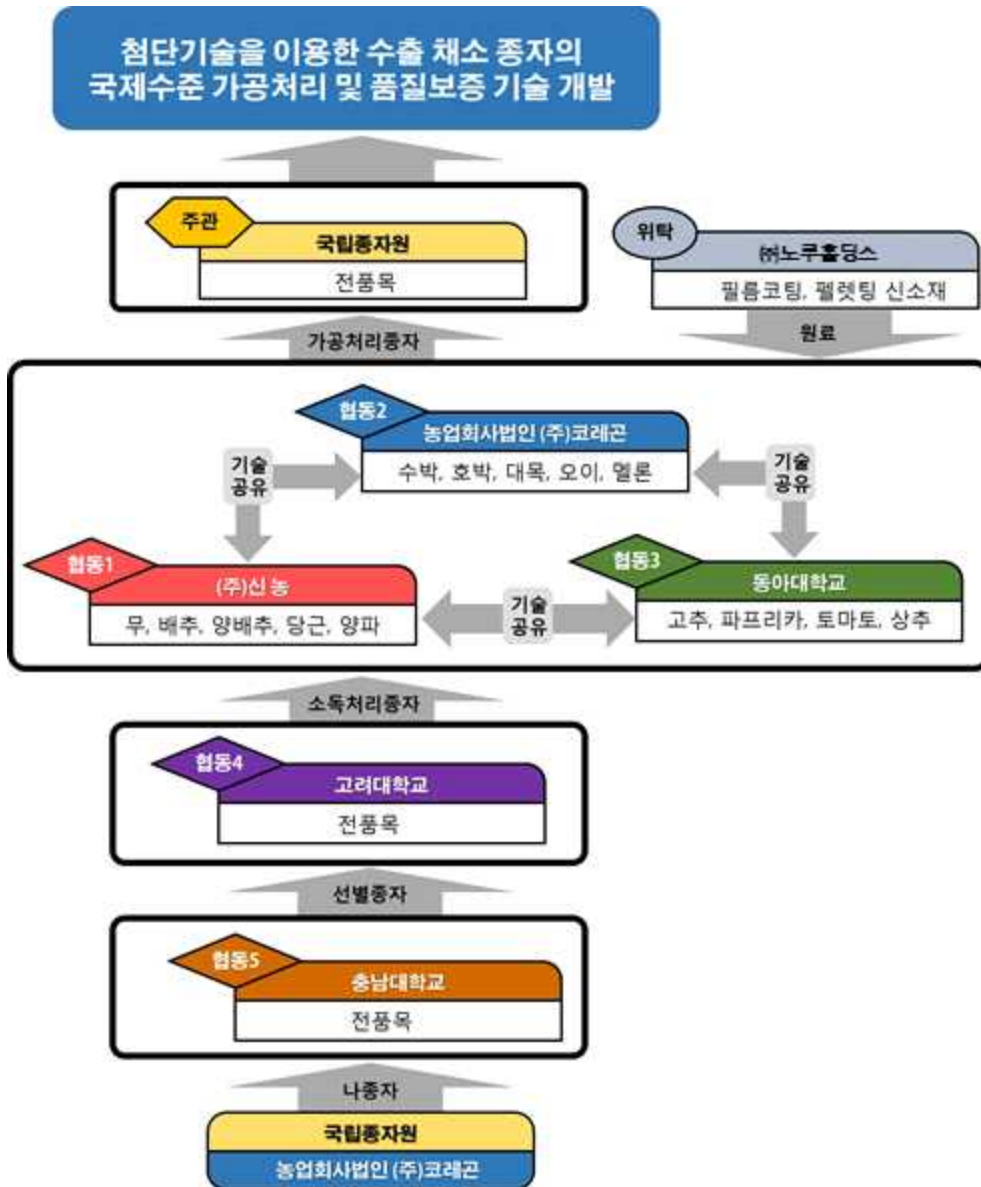


그림 3. 세부 과제별 연구개발 추진 체계도

3) 연구개발 목표 및 결과

세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
[제1세부] 가공처리 종자의 최적 품질보증 패키지 구축	○ 품목별 프라이밍 처리 최적 조건 선정	○ 협동기관 선별·송부 해준 처리종자의 발아세 및 발아율검정을 통한 최적조건 선정	○ 프라이밍 처리 효과(발아세, 발아율) 확인 - [신농] 4작물 99조건 (당근/31조건, 무/17, 배추/28, 양배추/23) - [코레콘] 5작물 123조건 (호박/19조건, 대목/15, 멜론/27, 수박38, 오이/24) - [동아대] 3작물 17조건 (고추/6조건, 토마토/5, 상추/6)
	○ 가공처리 종자의 최적 저장조건 구축	○ 작물별 활력유지 기간 구명을 위한 저장 온도 및 용기조건 선정	○ 프라이밍 처리 조건 선정 및 조건별 저장 - 13작물 61처리 조건 선정 및 조건별 저장 ○ 나종자 및 처리 종자 활력유지 기간 조사 (저장 후 6개월) - 9작물 31처리 조건의 온도·용기별 활력 검정
	○ 품목별 필름코팅 처리 종자 발아세·발아율 검정	○ 품목별·제품별 코팅종자의 발아 관련 형질 측정을 통해 개발된 코팅 소재 및 코팅조건 평가	○ 코팅소재 평가(발아세·발아율) 확인 - 품목별(9작물)에 대한 대조구(인코텍社 제품) 및 시제품 이용 코팅한 종자의 발아 관련 형질 평가 완료
	○ 품목별 가공처리 종자의 최적 저장조건 구축	○ 온도별·용기별 가공처리 종자를 저장 후 품목별 활력 유지 기간 검정을 통한 가공처리 평가 및 저장 조건 규명	○ 품목별 가공처리종자의 활력유지 기간 검정 - (프라이밍처리) 13작물 64처리 조건에 대한 온도별(상온, 5℃, 15℃)·용기별(마대, 알루미늄진공팩, 페트병)·기간별(6, 12개월) 발아율·발아세 검정 완료 - (필름코팅처리) 9작물에 대한 대조제품 및 개발된 시제품 이용 코팅 종자의 온도별(상온, 5℃, 15℃)·용기별(마대, 알루미늄진공팩, 페트병)·기간별(6개월) 발아율 및 발아세 검정 완료
	○ 품목별 가공처리(프라이밍, 필름코팅, 펠렛코팅) 종자의 발아세·발아율 검정	○ 협동기관에서(1, 2, 3협동) 가공처리 종자의 발아세 및 발아율 검정을 통해 최적 가공처리 조건 선정	○ 프라이밍 처리 효과(발아세, 발아율) 확인 - 당근 5조건, 양파 5, 멜론 39, 오이 39, 대목 39에 대한 발아율 및 발아세를 통한 최적 프라이밍 처리 조건 선정 ○ 필름코팅 처리 효과(발아세, 발아율) 확인 - 품목별(10작물)에 대한 대조구(인코텍社) 및 시제품 이용 필름코팅 처리 종자의 발아세 발아율 검정 및 조건별 저장 ○ 펠렛코팅 처리 효과(발아세, 발아율) 확인 - 품목별(6작물)에 대한 대조구(스미토모社) 및 시제품 이용 펠렛코팅 처리 종자의 발아세 발아율 검정 및 조건별 저장
	○ 품목별 가공처리(프라이밍, 필름코팅, 펠렛코팅) 종자의 최적 저장 조건 구축	○ 온도별·용기별 가공처리 종자를 저장 후 조건별 발아율 검정을 통해 가공처리 평가 및 최적 저장조건 규명	○ 프라이밍 처리 종자의 최적 저장 조건 규명 - 당근의 프라이밍 처리 종자(대조구 및 게르마늄 처리)의 온도별(상온, 15℃, 5℃)·용기별(마대, 알루미늄박, 캔포장)·기간별(저장 후 6개월) 발아세·발아율 검정 완료 - 멜론, 오이, 및 대목의 프라이밍 가공처리 종자는 최적 처리 조건 선정 후 조건별로 저장 후 발아세·발아율 검정 완료 ○ 필름코팅 처리 종자의 최적 저장 조건 규명 - 10작물에 대한 대조제품 및 개발된 시제품 이용 필름코팅 처리 종자의 온도별(상온, 15℃, 5℃)·용기별(마대, 알루미늄박, 캔포장)·기간별(저장 후 6, 12개월) 발아세·발아율 검정 완료 ○ 펠렛코팅 처리 종자의 최적 저장 조건 규명 - 6작물에 대한 대조제품 및 개발된 시제품 이용 펠렛코팅 처리 종자의 저장성 검정

	○ 연구과제 성과물 (기기, 소재) 전시 및 시연	○ 프라이밍·필름코팅 기자재 및 필름코팅 소재 전시 및 시연	○ 2019년 국제종자박람회 참석(김제, 10. 16.~18.) - (전시물) 프라이밍 처리 장비, 필름코팅 처리 장비, 필름코팅 소재 - (홍보방법) 전시물품 별 홍보 리플릿 제작 배포 및 시연을 통해 홍보 ○ 2020년 국제종자박람회 참석(온라인 박람회, 10.15~11.11.) - (전시물) 프라이밍 처리 장비, 필름코팅 처리 장비, 필름코팅 소재
[제1협동] 십자화과(무, 배추, 양배추), 당근, 양파 종자의 가공 처리기술 및 장비의 국산화	○ 무, 당근, 양파, 배추, 양배추 프라이밍 최적 조건 규명	○ 5품목(무, 당근, 양파, 배추, 양배추)종자의 프라이밍 최적 조건을 규명하기 위해 선행된 각종 논문 및 문헌을 조사하여 시약을 선정, 산업화에 맞게 프라이밍 기준 확립	○ 우선적으로 선별된 시약군을 가지고 5품목(무, 배추, 양배추, 양파, 당근)종자의 프라이밍 구축을 위해 시약의 농도 시간을 달리하여 적용 가능한 시약을 찾아내고 종자에 미치는 영향 분석 ○ 2품목(양파, 당근)종자의 친환경 소재(맥반석 수용액, 게르마늄 수용액, 보르도액, 탄산나트륨, 탄산칼륨, 산화제2구리, 수산화제2구리)를 적용한 최적 프라이밍 시약 선별 및 영향 분석
	○ 연구용 프라이밍 기기 제작	○ 35L 용량의 프라이밍 기 제작(초음파+광처리+수화) ○ 드럼 프라이밍 기기 제작 ○ 70L 용량의 프라이밍 기기 제작(초음파+광처리+수화)	○ 연구용 프라이밍 기기 제작 완료 -35L 용량의 프라이밍 기기(1구) ○ 드럼 프라이밍 기기 제작 완료 ○ 산업용 프라이밍 기기 제작 완료 -70L 용량의 프라이밍 기기(3구:210L)
	○ 필름코팅기기 제작	○ 종자 회사에서 가장 많이 사용하고 종자 가공 설비 판매 회사에서 판매되고있는 필름코팅기의 종류를 검토하여 한국시장에 맞는 코팅기 제작 ○ 기존 제작한 필름코팅기보다 원판길이를 700mm(700mm)로 늘려서 제작	○ rotary type의 필름코팅기가 안정적이고 작업하기가 용의 하다고 판단 ○ 직경 500mm 의 크기로, 용제의 주입방식은 주사기 방식으로 코팅 원판 가운데에 용제를 투입하면 용제가 스프레이분사 형태로 종자에 코팅이 입혀지는 방식으로 실험용으로 제작완료 ○ 기존 제작한 필름코팅기보다 원판길이를 700mm(700mm)로 늘려서 제작 완료
	○ 산업용 종자 건조기 제작	○ 산업현장에서 다양한 종자에 활용가능한 형태로 소형 과 대형 건조기 제작	○ 소형 건조기 제작 완료 -각 5L씩 종자 건조(6구) ○ 대형 건조기 제작 완료 -각 85L씩 종자 건조(2구)
	○ 종자필름코팅기 및 용제 평가 실험	○ 제작된 필름 코팅기기를 활용하여 종자의 필름코팅을 진행하여 실험하였고, 타사 용액과도 비교하여 종자에 미치는 영향 분석	○ 제작된 필름코팅기의 작업 능력과 종자의 필름코팅 실험을 진행하여 필름코팅시 적정용제의 양과 노루기반의 용제와 INCOTECTk의 용제를 비교 실험하여 용제들이 종자에 미치는 영향을 비교 받아실험
[제2협동] 주요 수출채소 (박과)종자의 종자가공처리 기술 및 장비개발	○ 박과종자 프라이밍 기술 조건 수립	○ 박과종자에 대한 프라이밍 적합 시약 선별	○ 종자품질 검정을 위한 발아검정 기준 마련 - ISTA기준으로 PP 검정 및 상토발아 검정으로 결정 ○ 시약/농도/시간/온도 조건 가운데 실제산업 조건(처리시간/비용)에 적합한 조건을 선별 - 소량/다품목 동시 실험이 가능한 실험기기를 제1협동과 협의 제작 - 시약11종/시약별 농도 3~4단계/처리시간 2단계/처리온도 2단계 ○ 선별된 조건을 대용량 초음파 종자처리기에 적용하여 적합한 조건을 선별 - 40L 용량의 초음파 종자프라이밍 기기를 이용

			<p>하여 대응량 프라이밍에 적합한 시약 조건을 선발</p> <p>○ water 조건하에서 박과종자별 적합한 초음파 세기/온도/처리시간 조건을 선발</p> <p>- 40L 용량의 초음파/광 종자처리기를 제1협동과 협의 제작 및 개선진행(2차례 부분보수 진행)</p> <p>- 박과종자별로 초음파세기 2단계/온도2단계/시간2단계 조건에서 안전하고 발아개량에 효과가 있는 조건을 수립</p> <p>○ 박과종자별로 안전하다고 판단되는 처리조건(초음파세기/온도/시간)을 기반으로 선발된 프라이밍 시약에 적용하여 최적의 조건 선발</p> <p>- 종자별 시약조건 3-4종/처리시간 4단계/초음파세기1단계</p> <p>- 프라이밍 처리가 된 종자는 직후 발아검사를 실시하고 6개월 또는 1년 저장 후 발아검사를 실시</p>
		<p>○ 박과종자에 대한 초음파 프라이밍 최적 조건 선발</p> <p>○ 산업 규모에서 박과종자에 대한 시약+초음파 프라이밍 최적 조건 선발</p>	
		<p>○ 제1협동 개발 코팅기기 사용평가/기기개선 및 박과종자 사용 최적 조건 수립</p>	<p>○ 원판형 종자코팅기기를 제1협동과 협의 제작 및 실사용후 개선사항 반영</p> <p>- 5년차에 2단계 개선된 종자코팅기기 제작완료</p>
	○ 박과종자 필름코팅제 평가 및 조건 수립	<p>○ 박과종자에 적합한 필름코팅제의 품질 검증/개선 평가 및 코팅조건 수립</p>	<p>○ 위탁기관에서 제작한 필름코팅제를 박과종자에 코팅하고 작업용이성/코팅결과물/발아 등을 평가하고 개선사항을 전달</p> <p>- 개선된 용액마다 종자 종류에 따라 경우의 수가 많아져 종자소모량이 커 소량코팅에 적합한 소형 코팅기기를 제작</p> <p>- 4차례 신규 코팅액에 대한 작업평가를 진행하고 박과종자에 적합한 조건수립</p> <p>- 제1협동에서 제작한 원판형 종자코팅기기에 선발된 조건이 적합한지 확인</p>
	○ 박과종자 펠렛팅 기계파종 생력화 측정	○ 제1,3협동에서 제작한 펠렛종자의 기계 파종평가	<p>○ 위탁기관에서 생산한 펠렛소재로 제1,3협동기관에서 제작한 펠렛종자에 대한 기계파종 적합성 검증 실시</p> <p>- 기계파종 적합성(파종율/파쇄/중복파종)을 검증하고 보완사항 전달</p>
[제3협동] 가지과 작물 및 상추 종자처리 소재 탐색 및 검증	○ 가지과(고추, 토마토) 및 상추 종자의 종자품질 향상을 위한 프라이밍 기술 개발	○ 품목별 프라이밍방법(삼투, 수화, 드럼), 물리적 처리(초음파, 광처리) 및 첨가제(LS, SNP, 24-EBL, SNP)의 단·혼용 처리 조건의 구명 및 최적 프라이밍 처리기술 구축	<p>○ 환경스트레스 환경(온도, 염스트레스)에서 종자발아특성평가를 통한 품목별 우수프라이밍 방법 선정</p> <p>○ 가지과 고추 종자는 염류, 수화, 드럼 프라이밍 등 처리 시간 단축, 균일하고 빠른 발아 속도의 환경 친화적 프라이밍처리 기술 확립(6종)</p> <p>○ 토마토 종자는 염류프라이밍, 염류-음파프라이밍, 드럼프라이밍 혼용처리의 3종의 발아 속도와 균일성 등의 종자품질 향상 프라이밍 기술 구축</p> <p>○ 상추종자는 3종의 복합 염류, 수화, 드럼프라이밍처리 기술 개발로 고온감수성 품종의 고온발아성 향상(무처리16% →처리 시 83%)</p>
	○ 가지과(고추, 파프리카, 토마토) 및 상추 종자의 필름코팅 소재 평가 및 처리 기술 구축	○ 필름코팅소재의 국산화를 위한 평가 기준 확립 및 발아특성 유지를 위한 필름코팅 처리조건 구명	<p>○ 필름코팅 국산화를 위한 소재[선진국의 시판제제 1종 및 위탁(노루) 개발품 5종], 처리량(5수준), 처리 방법에 따른 원료의 무독성, 발림성, 이중립, 용해성등 필름코팅형태특성 비교</p> <p>○ 개발 필름코팅소재 처리 종자의 평가항목(7항목) 별 평가 기준 및 처리 방법의 매뉴얼화</p>

			<ul style="list-style-type: none"> ○ 펠름코팅종자 평가항목에 따른 평가 및 펠름코팅 처리량, 속도 등의 적정 처리조건 구명
	<ul style="list-style-type: none"> ○ 가지과(고추, 토마토) 및 상추 종자의 기계화과중에 적합한 펠렛코팅소재 평가 및 처리기술 개발 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 소재의 국산화를 위한 펠렛코팅종자의 평가 기준 확립, 과제에서 제작 장비 평가, 선진국 펠렛코팅소재와의 가공, 성형특성 비교 및 펠렛가공기술 확립 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 위탁연구기관(노루홀딩스)의 개발제품으로 제작한 펠렛종자의 형태적 특성(경도, 구형율, 분진률, 이중립, 비립, 수율) 및 발아율 평가를 통한 펠렛코팅소재의 평가기준 구축 ○ binder대신 물을 이용한 친환경 펠렛코팅, 경도 증진 및 분진을 저감을 위한 펠렛가공기술 확립(6 작물 대상) ○ 국외시판 제품(Incotec, 일본 시판제품)과 국내개발소재(8종)에 대한 비교
	<ul style="list-style-type: none"> ○ 우수품질의 종자가공기술 구축을 위한 가지과(고추, 토마토) 및 상추 종자의 프라이밍, 펠름 및 펠렛코팅의 융·복합처리 기술 개발 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 작물별 펠름 및 펠렛코팅 종자의 발아품질향상을 위한 우수 프라이밍처리와의 융 복합처리 기술 마련 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 프라이밍과 펠름코팅의 복합처리로 상추종자의 고온발아성 향상기술 구축 ○ 고추종자에서 프라이밍과 융합처리로 펠렛코팅 단용종자의 발아특성을 무펠렛종자 수준으로 향상 기술 개발 ○ 프라이밍과 펠렛코팅 융복합처리 기술적용으로 펠렛단용 토마토 종자의 발아품질, 유효생육향상(초기발아 단용시 7% → 융·복합처리 시 64%)
[제4협동] 비과과 종자품질 측정 복합영상 시스템 구축 및 최적화	<ul style="list-style-type: none"> ○ X-ray 영상 선별기술 개발 	<ul style="list-style-type: none"> ○ X-ray CT (3차원영상) 및 2D 영상을 이용하여 종자 발아 판별모델 개발 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 종자 내부 형태학적 특성과 발아여부 관련성 구명 ○ X-ray CT 영상을 통한 자동 발아예측 모델 개발 및 검증 ○ 2D X-ray 영상을 이용한 경제적이며 신속 측정이 가능한 발아여부 선별기술 개발
	<ul style="list-style-type: none"> ○ 초분광 영상 종자선별기술 개발 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 온라인 초분광 적외선 영상을 이용하여 종자 발아 판별모델 개발 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 초분광 적외선 영상을 측정된 뒤 발아 테스트를 수행하여 실제 발아력을 예측할 수 있는 패턴 분류 알고리즘 개발 ○ 다양한 분광 전처리 및 케모메트릭 분광분석법을 이용하여 수박종자 발아예측 모델 개발
	<ul style="list-style-type: none"> ○ 비과과 종자선별시스템 개발 및 성능검정 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 온라인 초분광 적외선 영상기술을 이용하여 종자 발아 판별시스템 개발 ○ Blind test를 통한 온라인 초분광 적외선 영상 장치 검증 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 13개 수박종자 품종에 대한 발아예측 모델 개발 및 성능 검증 - 초기 발아율이 낮은 4개의 수박종자 품종(청복꽃, 금노란꽃, 쿨오아시스, 블랙루비)에 개발 모델 적용 시 낮은 최초발아율에서 높은 발아율의 발아율로 선별 가능함을 검증함 - 발아율 향상 결과: 청복꽃 42.5% → 83.9%(97% 증가), 금노란꽃 41.9% → 81.6%(95% 증가), 쿨오아시스 64% → 89.6%(40% 증가), 블랙루비 80.4 → 92.6% (15% 증가) ○현장 적용시 높은 경제적 효과창출이 예상됨
[제5협동] 종자의 위해미생물 제어를 위한 이산화염소 기체 기반 다중스트레스 처리기술의 개발/항균성 물질의 유효성분 분석 및 종자처리용	<ul style="list-style-type: none"> ○ 다중스트레스 조합을 이용한 종자의 살균기술 개발 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 기초연구 및 실험 조건 확립 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 대상종자 (8종)와 위해미생물들 확보 - 멜론, 오이, 호박, 수박, 상추, 양배추, 무, 고추 포함 총 8종의 대상종자 확보 - KACC로부터 <i>Acidovorax citrull</i>, <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> (<i>Xcc</i>)를 포함한 22 균주의 식물 위해미생물 확보 ○ 향후 실험을 위한 기초연구 - 선정된 위해미생물의 생육패턴 확인 - 대상종자의 병원균 접종방식과 종자의 발아 모델 구축 - 종자별 건열 및 습열 처리에 대한 저항성 확인
		<ul style="list-style-type: none"> ○ 종자의 위해미생물 제어를 위한 이산화염소 용액 기반 다중스 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 종자별 이산화염소 용액과 열처리에 대한 저항성 확인 - 1, 2차 발아율을 측정하여 종자별로 처리가

부제 개발		<p>트레스 처리기술 개발</p> <p>능한 이산화염소 용액의 최대농도 및 열처리 최대온도 조건을 확인함</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 이산화염소 용액과 건열처리의 위해미생물 (<i>A. citrulli</i>)에 대한 살균시너지 확인 - 멜론, 고추: 5분간 50 ppm ClO₂ 처리 및 45°C 에서 24시간 건조처리한 뒤 60°C 에서 24시간 열처리시 멸균 확인 - 수박, 양배추: 5분간 50 ppm ClO₂ 처리 및 45°C 에서 건조처리시 멸균 확인
	<p>○ 종자의 위해미생물 제어를 위한 이산화염소 기체 기반 다중스트레스 처리기술의 개발</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 종자별 이산화염소 기체과 열처리에 대한 저항성 확인 - 상추 종자를 제외한 7가지 종자 모두 85% 상대습도, 50°C 조건에서 이산화염소 기체 1,000 ppm를 2시간 동안 처리시 1, 2 차 발아율이 감소하지 않음 ○ 이산화염소 기체과 열처리의 위해미생물 (<i>A. citrulli</i>, <i>Xcc</i>)에 대한 살균시너지 확인 ○ 최적화를 위해 처리 조건을 85% 상대습도, 60°C 온도, 이산화염소 기체 3,000 ppm로 바꿨을 때 박과 (멜론, 수박, 오이, 호박) 종자의 경우 30분, 비 박과 (고추, 무, 양배추)종자의 경우 120분까지 1, 2 차 발아율이 감소하지 않음 ○ 이산화염소 기체과 열처리의 위해미생물 (<i>A. citrulli</i>, <i>Xcc</i>)에 대한 살균시너지 확인 - 멜론, 수박, 오이 종자: 20분 만에 <i>A.citrulli</i> 의 멸균 확인 - 고추, 양배추 종자: 30분 만에 <i>Xcc</i> 의 멸균 확인
	<p>○ 종자의 위해미생물 제어를 위한 유기산 기체 기반 다중스트레스 처리기술의 개발</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 위해미생물에 대한 살균력을 지닌 유기산 기체 선별 - 아세트산, 프로피온산 ○ 종자별 유기산 기체에 대한 저항성 확인 - 1, 2차 발아율을 측정하여 종자별로 처리가 능한 유기산 기체 종류 및 처리 조건 확립 ○ 유기산 기체의 위해미생물 (<i>A. citrulli</i>)에 대한 살균효과 확인 - 85% 상대습도와 50°C 조건에서 아세트산 기체 처리시 멜론, 수박, 오이 종자에서는 1시간, 무 종자에서는 2시간만에 멸균 확인 - 85% 상대습도와 50°C 조건에서 프로피온산 기체 처리시 수박, 오이 종자에서는 1시간, 멜론, 양배추 종자에서는 2시간 만에 멸균 확인
<p>○ 식물유래 천연 항균소재를 이용한 종자의 살균기술 개발</p>	<p>○ 종자의 위해미생물 제어를 위한 정유 기체 기반 다중스트레스 처리기술의 개발</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ MIC, MLC 측정을 통한 위해미생물에 대한 살균력을 지닌 정유 기체 선별 - <i>A. citrulli</i>: garlic, cinnamon bark - <i>Xcc</i>: garlic, onion ○ 종자별 정유 기체에 대한 저항성 확인 - 43% 및 85% 상대습도와 25°C 조건에서 정유기체를 최대 48시간 처리하였을 때 모든 종자의 1, 2차 발아율이 감소하지 않음 ○ 유기산 기체의 위해미생물 (<i>A. citrulli</i>, <i>Xcc</i>)에 대한 살균효과 확인 - 박과 종자에 접종된 <i>A. citrulli</i>의 경우 정유기체를 처리하였을 때 1.0~2.0 log CFU/g 정도의 개체수 감소를 보임 - 비박과 종자에 접종된 <i>Xcc</i>의 경우 정유기 	

			체를 처리하였을 때 0.7~2.7 log 정도의 개체 수 감소를 확인하였음
○ 미생물 유래 천연항균소재를 이용한 종자 살균기술 개발	○ 기초연구 및 실험 조건 확립		○ 종자 병원균 선정 및 기 분리된 물질 또는 조추출물의 해당 병원균에 대한 항균활성 검증 - KACC에서 종자 병원균을 확보하고 감염 종자에서도 종자 병원균을 분리 기 분리된 물질 또는 조추출물이 선발된 종자 병원균에 대해 항균활성을 갖는지 검증 ○ 확보된 천연물 라이브러리 중 병원균 세포막/벽 분해 활성을 갖는 물질 선발 -식물, 곰팡이, 방선균 추출물에서 병원균 세포막/벽 분해 활성을 갖는 물질을 확보 ○ 비살균성 병원성세균 밀도 제어 물질 스크리닝 시스템을 구축하고 후보물질을 선발 - CV026균주를 이용한 비살균성 병원성세균 밀도 제어 물질 스크리닝 시스템을 구축 ○ 두 모델시스템을 통해 선발된 균주의 대사체 중심으로 유효성분 스크리닝 - 용매추출법 및 다양한 크로마토그래피 기법을 통해 미생물 균주의 대사체로부터 유효성분을 분리
○ 미생물 유래 천연항균소재를 이용한 종자 살균기술 개발	○ 길항미생물의 대사체 추출기술 개발 및 종자처리 영향 분석		○ 부제 종류와 농도별 발아율 영향 -1% PVA가 종자 발아율에 가장 적은 영향을 주는 것으로 확인됨 ○ 선발된 항진균 활성 균주들이 종자의 발아율, 감염률에 미치는 영향 -종자감염균 <i>Didymella bryoniae</i> 에 항균효과가 있는 16종을 선발 ○ 선발된 균주의 배양추출물 확보 - 항균활성이 있는 추출물을 다양한 크로마토그래피 (Diaion, C ₁₈ , silica, C ₁₈ sep-pak, TLC, size exclusion, HPLC 등)를 통해 유효성분을 정제 ○ 지속적인 토양 방선균, 근권 세균 배양액 추출물 라이브러리 확보 -국내 다양한 지역에서 채집한 토양에서 951점의 방선균주를 확보하고 해당 균주들의 배양액을 추출하여 라이브러리 확보함
○ 미생물 유래 천연항균소재를 이용한 종자 살균기술 개발	○ 종자코팅을 위한 길항미생물의 유효성분 분석 및 종자 부제 개발		○ 종자 코팅을 위한 길항미생물 선발 -길항미생물 5종 (KPP02103, KPP02113, KPP02129, KPP02639, KPP03317) 선발 활성분획으로 무, 오이 종자 코팅 ○ 길항 미생물의 오이, 무 종자에 대한 in vivo 검증 -Pythium 접종토양에서 무처리 대비 Thiram과 KPP02113, KPP02639균주 배양액을 처리한 오이종자가 높은 발아율을 유지함 -Rhizoctonia 접종토양에서는 KPP03317균주와 보존제SUN를 혼합처리한 무종자에서 가장 높은 발아율 확인함
	○ 종자코팅을 위한 길항미생물의 유효성분 분석 및 종자 부제 개발		○ 선발된 길항미생물의 유효성분 분석 -길항미생물 2종(KPP02129, KPP02639)의 활성물질 분리조건 확립 및 분자량 확인 ○ 길항미생물 배양액 코팅된 무, 오이,고추종자의 활력 및 유효기 효과 검증 -선발된 5종 미생물의 배양액이 코팅된 종자

			<p>에서 발아율과 종자 활력 유지됨</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 길항미생물 배양액 코팅된 고추 종자의 병원균 <i>Rhizoctonia solani</i>에 대한 길항력 조사 - 발아한 종자 중에서 KPP02113, KPP02129, KPP02639, thiram이 코팅된 고추 종자에서 비교적 낮은 발병도 확인
		<ul style="list-style-type: none"> ○ 종자코팅을 위한 길항미생물의 유효성분 분석 및 종자 부제 개발 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 선발된 길항미생물의 유효성분 분석 - 길항미생물 KPP02113 배양액으로부터 항균활성물질 lucensomycin 분리, 구조동정함 - 길항미생물 KPP03845 배양액으로부터 저분자 펩타이드 항균활성물질 분리 <i>Fusarium oxysporum</i>에 항균활성 확인하였음 ○ 상용화 후보물질의 코팅된 무, 오이 종자의 활력 및 유묘기 효과 검증 - KPP03845 활성 분획이 코팅된 무, 오이 종자에서 발아율이 무처리 대비 증가/유지 - KPP03845 활성 분획이 코팅된 오이종자의 shoot길이에 유의적 차이가 없었으며, KPP03845 HP 20 분획이 코팅된 무종자의 shoot는 유의적인 길이의 감소가 관찰됨 ○ 상용화 후보물질의 코팅된 종자의 발아율과 감염률 검증 - <i>Fusarium</i> 병원균 접종 토양에서 배양액 코팅된 무 종자에서 처리간 유의한 차이가 관찰되지 않음 - <i>Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici</i> 접종 토양에서 무처리, 코팅제 처리 대비 KPP03845 HP20 활성분획이 코팅된 오이 종자에서 높은 발아율, SP컬럼 활성분획이 코팅된 오이 종자에서 낮은 발아율이 관찰됨
[제1위탁] 고품질 필름코팅 및 펠렛코팅 원료 개발 및 국산화	○ 코팅 및 펠렛 코팅 기성상품 재담색과 선발, 산화 기초 연구	○ 국내외 기존 코팅 및 펠렛코팅 재료 탐색 및 분석	○ 국내외 기존 필름 코팅제 및 펠렛코팅제의 정밀 조성 분석을 통하여 기초 데이터 수집 - 인코텍 및 국내 제품.
	○ 7개 품목(무, 고추, 수박, 오이, 당근, 상추, 양파)의 코팅 소재 개발	○ 7품목(무, 고추, 수박, 오이, 당근, 상추, 양파)의 종자코팅 소재 개발	○ 종자 발아율 향상을 위한 재료 배합비 개발 진행하여, 각 종자별 코팅 시 처리 조건 확립 - 십자화과에 필름코팅제 적용
	○ 6개 품목(배추, 양배추, 파프리카, 호박, 대목, 멜론)의 코팅 소재 개발 ○ 2개 품목(무, 고추)의 펠렛코팅 소재 개발	○ 6개 품목(배추, 양배추, 파프리카, 호박, 대목, 멜론)의 코팅 소재 개발 및 처리조건 최적화 ○ 2개 품목(무, 고추)의 펠렛코팅 소재 개발 및 처리조건 최적화	○ 박과류 등의 발립성 향상 및 분진 감소를 위한 첨가제 선정 및 최적의 배합비 개발 - 각 종자별 처리 농도, 코팅 시간, 희석배율, RPM ○ 펠렛 소재의 제작 및 샘플 테스트 진행 - 무, 배추 종자에 테스트 완료

2-3 연구개발 성과

1) 국내외 논문 게재

No	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)	게재일	등록번호
1	Inhibition of <i>Staphylococcus aureus</i> by antimicrobial biofilms formed by competitive exclusion microorganisms on stainless steel	International Journal of Food Microbiology	Hyeri Son	238	미국	ELSEVIER	SCI	2016.12.05	0168-1605
2	Biosensors and their applications in food safety: A review	Journal of Biosystem Engineering	Jannat Yasmin	41(3)	한국	한국농업기계학회	비SCI	2016.9	10.5307/JBE.2015.41.3.240
3	Outdoor Applications of Hyperspectral Imaging Technology for Monitoring Agricultural Crops: A Review	Journal of Biosystems Engineering	M.R. Ahmed	41	한국	한국농업기계학회	비SCI	2016.12	
4	Assessment of seed quality using non-destructive measurement techniques: a review	Seed Science Research	A. Rahman	26	영국	Cambridge University Press	SCI	2016.12	
5	Machine vision technique for rapid measurement of soybean seed vigor	Journal of Biosystems Engineering	Hoonsoo Lee	42	한국	KASAM	비SCI	2017.09.01	
6	Antimicrobial activities of gaseous essential oils against <i>Listeria monocytogenes</i> on a laboratory medium and radish sprouts	International Journal of Food Microbiology	Gyeongmin Lee	265	미국	ELSEVIER	SCI	2018.01.16	0168-1605
7	Development of non-pathogenic bacterial biofilms on the surface of stainless steel which are inhibitory to <i>Salmonella enterica</i>	Food Microbiology	Yoonbin Kim	69	미국	ELSEVIER	SCI	2018.02	0740-0020
8	Inhibition of <i>Escherichia coli</i> O157:H7 on stainless steel using <i>Pseudomonas veronii</i> biofilms	Letters in Applied Microbiology	Yoonbin Kim	66	미국	SFAM	SCI	2018.02.14	0266-8254
9	Non-destructive technique for determining the viability of soybean seeds using FT-NIR spectroscopy	Journal of the Science of Food and Agriculture	Dewi Kusumaningrum	98	USA	Wiley	SCI	2018.04	
10	Raman spectral imaging technique for API detection in pharmaceutical microtablets	Sensors and Actuators B	Lalit M. Kandpal	260	Switzerland	Elsevier	SCI	2018.05	
11	Quality analysis of stored bell peppers using near-infrared hyperspectral imaging	Transactions of the ASABE	A. Rahman	61	USA	ASABE	SCI	2018.08	
12	X-ray CT image analysis for morphology of muskmelon seed in relation to germination	Biosystems Engineering	Mohammad R. Ahmed	175	USA	Elsevier	SCI	2018.11	
13	Antimicrobial aromatic polyketides: a review of their antimicrobial properties and potential use in plant disease control	World Journal of Microbiology and Biotechnology	Jaewoo Han	34	미국	SpringerLink	SCI	2018.11.01	0959-3993
14	Classification method for viability screening of naturally aged watermelon seeds using FT-NIR spectroscopy	Sensors	Jannat Yasmin	19	스위스	MDPI	SCI	19.3	
15	Development of a decontamination method to inactivate <i>Acidovorax citrulli</i> on Cucurbitaceae seeds without loss of seed viability	Journal of the Science of Food and Agriculture	Seulgi Lee	13	미국	John Wiley & Sons	SCI	2019.06.04	1097-0010

16	Inhibition of <i>Listeria monocytogenes</i> using biofilms of non-pathogenic soil bacteria (<i>Streptomyces</i> spp.) on stainless steel under desiccated condition	Food Microbiology	Yoonbin Kim	79	미국	ELSEVIER	SCI	2019.06	0740-0020
17	Assessment of the Morphological Structure of Watermelon and Muskmelon Seeds as Related to Viability	Journal of Biosystems Engineering	Ahmed Raju	44	한국	한국농업기계학회	비SCI	2019.06	
18	Optimized Multivariate Analysis for the Discrimination of Cucumber Green Mosaic Mottle Virus-Infected Watermelon Seeds Based on Spectral Imaging	Journal of Biosystems Engineering	서영욱	44	한국	한국농업기계학회	비SCI	2019.06	
19	Antimicrobial activities of organic acid vapors against Acidovoraxcitruuli, Salmonella enterica, Escherichia coli O157:H7, and Listeria monocytogenes Cucurbitaceae seeds	Food Microbiology	HyeJung Shin	92	미국	ELSEVIER	SCI	2020.12	0740-0020
20	Postharvest disease control efficacy of the polyene macrolide lucensomycin produced by <i>Streptomyces plumbestrain</i> CA5 against gray mold on grapes	Postharvest Biology and Technology	JeongDo Kim	162	미국	ELSEVIER	SCI	2020.04	0925-5214
21	Improvement in Purity of Healthy Tomato Seeds Using an Image-Based One-Class Classification Method	Sensors	Y. Jannat	19	스위스	MDPI	SCI	2020.05	
22	Classification of pepper seed quality based on internal structure using X-ray CT imaging	Computers and Electronics in Agriculture	M.R. Ahmed	179	스위스	Elsevier	SCI	2020.11	
23	Determination of the viability of retinispora (<i>Hinoki</i> cypress) seeds using shortwave infrared hyperspectral imaging spectroscopy	Journal of Near Infrared Spectroscopy	P. Mukasa	28	미국	SAGE	SCI	2020.04	

2) 국내 및 국제학술회의 발표

No	회의명칭	발표자	발표일시	장소	국명
1	The IFT Annual Meeting & Food Expo (국외)	손혜리	2016.7.18	Chicago	USA
2	한국육종학회	권혁	2016.06.29	청주	대한민국
3	한국육종학회	문다현	2016.06.29	청주	대한민국
4	한국작물학회	박선엽	2016.10.20.	충남대	대한민국
5	9회 아시아작물학회	김민근	2017.06.04	제주	대한민국
6	9회 아시아작물학회	김영애	2017.06.04	제주	대한민국
7	9회 아시아작물학회	박선엽	2017.06.04	제주	대한민국
8	한국식품과학회	김윤빈	2017.06.21	제주도	대한민국
9	한국식품과학회	이경민	2017.06.21	제주도	대한민국
10	한국육종학회	김동민	2017.07.06	대구	대한민국
11	한국미생물학회 연합 국제학술대회	전현식	2017.11.02	일산	대한민국
12	한국식품영양과학회	이슬기	2017.11.10	경주	대한민국
13	한국식품영양과학회	장수진	2017.11.10	경주	대한민국
14	한국식품영양과학회	김윤빈	2017.11.10	경주	대한민국
15	한국작물학회	김동민	2017.10.19	무주	대한민국
16	한국농업기계 추계학술대회	아크바 파퀴자다	2017.10.28	광주	대한민국

17	한국농업기계 추계학술대회	콜린스 와콜리	2017.10.28	광주	대한민국
18	한국작물학회	김동민	2018.4.19	여수	대한민국
19	2018 IAFP annual meeting	이정민	2018.7.9	Salt lake city	미국
20	2018 IAFP annual meeting	이소현	2018.7.11	Salt lake city	미국
21	2018 IAFP annual meeting	지혜근	2018.7.11	Salt lake city	미국
22	2018 IAFP annual meeting	조유림	2018.7.11	Salt lake city	미국
23	The 26 th International Conference on Raman Spectroscopy	Mohamad R. Ahmed	2018.08.27.	제주 ICC	한국
24	한국자원식물학회	김민근	2018.10.8.	제천	대한민국
25	한국자원식물학회	김민근	2018.10.8.	제천	대한민국
26	한국자원식물학회	강원식	2018.10.8.	제천	대한민국
27	한국작물학회	이혜정	2018.10.18.	서울	대한민국
28	2018 한국농업기계 추계학술대회	Mohamad R. Ahmed	2018.10.19.	서울	대한민국
29	International Joint Conference on Plant Protection 2018 & the 2018 KSPP Fall Meeting and Conference	박민영	2018.10.24.	광주	대한민국
30	한국작물학회	김나연	2019.9.30.	김제	대한민국
31	한국생명과학회	강원식	2019.8.13.	부산	대한민국
32	2019 IAFP annual meeting	염우림	2019.7.23.	Louisville	미국
33	2019 IAFP annual meeting	신혜정	2019.7.23.	Louisville	미국
34	2019 IAFP annual meeting	조유림	2019.7.23.	Louisville	미국
35	6TH International Conference on Bio-Sensing Technology	조병관	2019.6.17..	Renaissance Kuala Lumpur Hotel	말레이시아
36	한국생명과학회	정한진	2020.8.6.	경주	대한민국
37	한국생명과학회	김나연	2020.8.6.	경주	대한민국
38	한국생명과학회	김영애	2020.8.6.	경주	대한민국
39	2020 한국식품영양과학회	정민영	2020.10.21.	제주도	대한민국
40	2020 한국식품영양과학회	LI XI	2020.10.21.	제주도	대한민국
41	2020 IAFP annual meeting	정민영	2020.10.28.	온라인	미국

3) 생명자원(생물자원)/화합물

No	생명자원(생물자원)/화합물명	등록/기탁번호	등록/기탁기관	발생년도
1	<i>Bacillus safensis</i> strain Chamnamu-sup 5-29	KACC 92124P	국립농업과학원	2016
2	<i>Pseudomonas azotoformans</i> strain Lettuce-9	KACC 92125P	국립농업과학원	2016
3	<i>Pseudomonas extremorientalis</i> strain Lettuce-28	KACC 81047BP	국립농업과학원	2017
4	<i>Pseudomonas veronii</i> strain Lettuce-19	KACC 81051BP	국립농업과학원	2017

4) 지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신제품, 프로그램)

No	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국 명	출원			등 록			기여 율
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
1	바실러스 사펜시스 균주 KACC 92124P 및 이를 포함하는 조성물	대한민국	고려대학교 산학협력단	2016.7.4	10-2016-0084200	고려대학교 산학협력단	2018.1.10	10-1819344	100
2	슈도모나스 아조토포만스 균주 KACC 92125P 및 이를 포함하는 조성물	대한민국	고려대학교 산학협력단	2016.7.4	10-2016-0084201	고려대학교 산학협력단	2018.1.9	10-1818859	100
3	초분광 영상을 이용한 유정란 내부 배아 생존유무 판별방법	대한민국	충남대학교 산학협력단	2016.11.16	10-2016-0152982	충남대학교 산학협력단	2018.10.5.	10-1907563	100
4	초음파를 이용한 종자 발아 향상 장치	대한민국	(주)신농	2016.11.25	10-2016-0158646	(주)신농	2018.6.21.	10-1871706	100
5	초음파 및 광을 이용한 종자 발아 향상장치	대한민국	코레곤	2017.7.4	10-2017-0084732	코레곤	2019.3.25.	10-1963861	100
6	슈도모나스 익스트리모리엔탈리스 균주 KACC 81047BP 및 이를 포함하는 조성물	대한민국	고려대학교 산학협력단	2017.5.31	10-2017-0113866				100
7	슈도모나스 베로니 균주 KACC 81051BP 및 이를 포함하는 조성물	대한민국	고려대학교 산학협력단	2017.10.23	10-2017-0137347	고려대학교 산학협력단	2019.1.10	10-1939080	100
8	프라이밍, 초음파 및 광을 이용한 종자 발아 향상 장치	대한민국	(주)신농	2017.11.20	10-2017-0154521	(주)신농	2019.7.22	10-2004254	100
9	종자 필름 코팅기	대한민국	(주)신농	2018.4.12	10-2018-0042581	(주)신농	2020.3.16	10-2091859	100
10	토마토종자의 발아향상처리	대한민국	동아대학교 산학협력단	2018.11.15	10-2018-0140794				100
11	내건성 곰팡이 제어를 위한 항진균천연 정유 조성물	대한민국	고려대학교 산학협력단	2018.8.3	10-2018-0090618	고려대학교 산학협력단	2020.8.27	10-2150843	50
12	종자 프라이밍 장치	대한민국	(주)신농	2019.8.6	10-2019-0095696				
13	초분광영상기술을 이용한 편백나무 우량종자 선별방법	대한민국	충남대학교 산학협력단	2018.12.31	10-2018-0173424	충남대학교 산학협력단	2020.5.12	10-2112088	100
14	유기산 기체를 이용한 박과 식물 종자의 살균 방법	대한민국	고려대학교 산학협력단	2020.5.25	10-2020-0062470				100
15	종자건조기	대한민국	(주)신농	2020.8.3.	10-2020-0096656				100

5) 전문 연구 인력 양성

No	분류	기준 년도	현 황											
			학위별				성별		지역별					
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타	
1	학위과정	2016		1			1			1				
2	학위과정	2017		4	1		4	1	3	1	1			
3	학위과정	2018		6	1		3	4	4		3			
4	학위과정	2019	1	6			4	3	4	1	2			
5	학위과정	2020	3	10			7	6	6	5	2			

6) 산업기술 인력양성

No	프로그램명	프로그램 내용	교육기관	교육 개최회수	총 교육시간	총 교육인원
1	16년 종자검사실무과정	종자검정기기점검 및 운영방법	농식품공무원 교육원	1	2	30명
2	16년 종자관리실무과정	종자생산관리실무	농식품공무원 교육원	1	8	35명
3	17년 종자검사실무과정	순도분석, 발아율검사, 종자활력검사 이론	농식품공무원 교육원	1	5	30명
4	17년 종자관리사자격대비	종자생산관리 실무	농식품공무원 교육원	1	8	35명
5	18년 종자관리사자격대비	종자 시료채취 및 품질검정 이론 및 실습	농식품공무원 교육원	1	5	35명
6	18년 종자검사실무과정	국내외종자검정체계, 종자검정 이론 및 실습	농식품공무원 교육원	1	10	25명
7	19년 종자검사실무과정	종자검정 이론 및 실습	농식품공무원 교육원	1	10	25명
8	19년 종자관리사자격대비	종자생산관리 실무	농식품공무원 교육원	1	8	25명
9	육묘업 신규등록자 교육	종자 발아 및 저장 생리	국제종자생명 교육센터	1	2	30명
10	종자검사원교육	국제종자검정기준과 종자검사요령, 품질검정 이론 및 실습	국제종자생명 교육센터	1	6	15명
11	종자기사 및 종자관리사 이론, 실습과정	종자품질검정실습	국제종자생명 교육센터	1	6	15명

7) 기술거래(이전) 등

No	기술이전 유형	기술실시계약명	기술실시 대상기관	기술실시 발생일자	기술료 (당해연도 발생액)	누적 징수현황
1	전용실시권	초음파 처리 기술	(주)코레곤	2016.6.7.	-	
2	전용실시권	종자 표면 광처리 기술	(주)신농	2016.6.7	-	
3	직접실시	원판 필름코팅기 제작 기술	(주)코레곤	2017.10.20	-	
4	직접실시	원판 필름코팅기를 이용한 종자별 코팅 기술	(주)코레곤	2017.10.20	-	
5	직접실시	산업용 종자처리기기 작물별 모듈 개조 및 수 리 기술	(주)코레곤	2018.10.22	-	
6	직접실시	산업용 종자처리기기를 이용한 종자처리 기술	(주)코레곤	2018.10.22	-	
7	전용실시권	산업용 종자처리기기 제작기술	(주)코레곤	2019.10.16	-	
8	전용실시권	종자 펠릿 제조 기술	(주)코레곤	2019.10.16	-	
9	특허권양도	초분광 영상을 이용한 유정란 내부 배아 생존유무 판별방법	(주)제네센	2020.12.21	2,500,000원	
10	특허권양도	초분광영상기술을 이용한 편백나무 우량종자 선별방법	(주)제네센	2020.12.21	2,500,000원	

8) 사업화 투자실적

No	추가 R&D 투자	설비 투자	기타 투자	합계	투자자금 성격

9) 사업화 현황

(단위 : 명, 년)

No	사업화 방식	사업화 형태	지역	사업화명	내용	업체명	매출액		매출 발생년도	기술 수명
							국내	국외		
1	자가실시	시제품 개발	국내	종자 프라이밍 처리 기기 제작	종자발아 개량처리를 위한 시제품 개발	시제품 개발	-	-	-	지속 가능
2	자기실시	신제품개발	국내	국산 종자 칼라코팅제 개발	국내 종자 가공처리 업체 칼라코팅제 판매	신젠타 코리아	1.2백만	-	2017	지속 가능
3	기술 사용	기술사용으로 인한 기존제품 부가가치 상승	국내 (충청)	프라이밍을 이용한 수박 종자의 품질 향상	재고종자를 프라이밍처리하여 국내 육묘장에 납품이 가능한 품질로 향상	충청지역 육묘장 (은진육묘장 외)	4.5백만	-	2018,2019	지속 가능
4	기술 사용	기술사용으로 인한 기존제품 부가가치 상승	국외 (중국)	프라이밍/코팅을 이용한 중국용 수박 수박종자 부가가치 향상	프라이밍/코팅을 하여 수출 종자의 기본 단가 상승효과	중국	-	11.4백만	2018	지속 가능
5	제품 판매	개발 기기의 상용화를 통한 제품화	국내	초음파를 이용한 종자의 재균처리로 친환경 종자 처리의 상용화	초음파 처리 기기의 제품화	국내	57백만	-	2019	지속 가능
6	제품 판매	개발 기기의 상용화를 통한 제품화	국내	필름 코팅기의 국산화	필름 코팅기 (500II)의 제품화	(주)베이직 사이언스	29.4백만	-	2019,2020	지속 가능
7	자기실시	신제품개발	국내	초음파 프라이밍 처리기	종자 발아율 향상을 위한 초음파 처리	(주)베이직 사이언스	17.6백만	-	2019,2020	지속 가능
8	자기실시	신제품개발	국내	산업용종자 처리기 개발	대용량 초음파 처리를 위한 대형 (70L) 종자처리기	시제품 개발	-	-	-	지속 가능
9	자기실시	신제품개발	국내	산업용 종자 필름코팅기 개발	대용량 처리를 위한 필름 코팅기 (700II)	시제품 개발	-	-	-	지속 가능
10	자기실시	신제품개발	국내	소형 종자건조기 개발	가공처리 후 종자건조를 위한 소형 종자건조기	시제품 개발	-	-	-	지속 가능

10) 홍보실적

No	홍보유형	매체명	제목	일시
1	보도자료배포	연합뉴스 등 14매체	종자가공처리기술 국산화로 종자 부가가치 향상	2019.12.3.

11) 전시회참가

No	유형	행사명칭	전시품목	장소	일시
1	박람회	제2회 국제종자박람회	연구성과물	김제 민간육종단지	18.10.23.~26.
2	박람회	2019년 국제종자박람회	종자처리기, 필름코팅기, 코팅소재 및 코팅시연	김제 민간육종단지	19.10.16.~18.
3	전시회	2020 국제종자박람회	연구성과물 전시	온라인전시	2020.10.15.~11.11

12) 보고서 원문

연도	보고서 구분	발간일	등록번호

13) 기타 (정책활용 내역)

No	정책활용상태	시책명	주관부처	활용연도
1	정책건의	종자의 부가가치 향상을 위한 종자 가공처리(펠렛) 기술 개발	농림축산식품부	20.07.29.
2	정책건의	분광분석영상을 이용한 비파괴 종자 품질진단 시스템 개발	농림축산식품부	20.07.29.
3	정책건의	친환경 기체를 이용한 유기농 식물 종자의 살균기술의 개발	농림축산식품부	20.12.01
4	정책건의	친환경 종자 가공처리(펠렛)를 위한 항균소재 개발	농림축산식품부	20.12.01
5	정책건의	식물 바이러스 병 면역력 증진 원예상토 개발	농림축산식품부	20.12.01

2-3. 연구결과

[제1세부 : 가공처리 종자의 최적 품질보증 패키지 구축]

1. 연구목표

가. 연구개발의 필요성

- 우리나라 종자시장의 규모는 세계 종자시장 규모의 1% 정도를 차지하고 있으며, 그 중 종자가공처리 시장 규모는 세계 종자시장의 10%를 차지하고 있다. 반면, 우리나라 종자가공처리시장은 세계 종자가공처리 시장의 약 0.3%로 미미한 수준이다. 농산업에서 가공처리 종자의 수요가 지속적으로 증가하고 있고, 특히 해외의 종자가공처리 및 코팅전문 서비스 회사들은 아시아 국가를 사업 확대의 대상으로 인식하여 원료 및 장비 판매 등의 대상으로 인식하고 있다.
- 종자가공처리 관련 선진기술을 보유하고 있는 일본(SUMITOMO사), 미국 (INCOTEC사), 네덜란드(SEED PROCESSING사)은 자체 기술력으로 종자 품목별 다양한 제조법을 보유하고 있다. 또한 전 세계 종자업계를 대상으로 기술 판매를 실시하고 있으며, 기기 및 시약을 모두 구입해야 처리기술을 이전하는 형태의 패키지 판매를 함에 따라 영세한 규모의 회사는 도입이 어렵다. 우리나라의 경우, 대부분의 핵심기술은 수입에 의존하고 있고, 소재 개발의 한계로 원료를 해외에 의존하거나 이를 분석하여 모방한 낮은 수준의 원료를 개발하여 이용하고 있는 실정이다. 또한, 업체별로 기술수준의 차이가 심하여 수출품종을 육성하더라도 고품질 처리종자에 대한 요구기준을 충족시키지 못하고 있다.
- 민간의 고품질 종자 및 노동력 절감의 기계화 생력재배에 활용 가능한 종자의 수요가 높아지고 있으나 영세한 중·소규모 기업은 종자처리에 대한 능력이 없고, 중견 및 대기업 종자업체들은 종자가공처리 관련 기술에 대한 요구는 높으나 관련 연구기반 및 투자가 열악한 상황이다. 따라서 신품종에 대한 수출 및 품종보호 강화로 로열티 감소 등 수출확대를 위해서는 우리나라 주요 수출품목인 채소 및 원예종자의 가공처리를 통한 종자의 고품질화로 수출확대 지원이 필수적이다.

나. 연구개발의 목적

- 국내 채소 종자 시장은 대부분 종자 가공처리(프라이밍, 필름코팅, 펠렛코팅 등)를 통해 품질이 향상된 제품이 유통되고 있으며, 선진국은 국내 기술보다 앞선 가공처리 기술을 바탕으로 고품질 종자가 유통되고 있다. 현재 몇몇 종자업체를 제외하고 대부분의 종자업체들은 자체적인 종자 가공처리 기술을 보유하고 있지 않기 때문에 종자 가공처리 시 값비싼 외국산 장비 및 소재에 의존하고 있는 실정이다. 국내 고품질 종자를 생산하기 위해서는 품목별 최적 가공처리(프라이밍, 필름코팅, 펠렛코팅) 기술 및 소재·장비의 국산화 개발 및 이의 상용화가 시급하다. 따라서 본 연구는 품목별 최적 가공처리 기술·소재·장비를 개발하고 이를 이용 최적 가공처리 및 저장 조건을 구축하기 위하여 수행하였다.

2. 연구재료 및 방법

가. 연구 재료

○ 프라이밍 처리 종자

- 본 연구에서는 13개 작물([1협동/당근, 무, 배추, 양배추, 양파], [2협동/수박, 대목, 호박, 오이, 멜론], [3협동/고추, 토마토, 상추])을 실험재료로 사용하였고, 1, 2, 3협동기관에서 시약 및 초음파를 이용 단일 및 혼용하여 프라이밍 처리한 종자의 최적 프라이밍 처리 조건을 규명하기 위하여 처리 조건별 일별 정상묘출현율 및 최종발아율 조사하고, 품목별 최적 프라이밍 처리구를 선정하여 이를 여러 가지 저장 조건별로 일정기간(6개월, 12개월) 저장하였다가 종자활력을 검정하였다.
- 또한 본 연구의 목표 작물은 아니지만 과제를 통해 개발된 초음파 프라이밍 처리 조건의 효과를 검증하기 위하여 최종 발아하기까지 소요기간이 긴 작물을 선정(시금치)하여 초음파 처리별(강도 및 시간) 프라이밍 처리 후 조건별 일별 정상묘출현율 및 최종발아율을 조사하였다.

○ 필름코팅 처리 종자

- 위탁연구기관에서 필름코팅 소재(시제품명: P2030)를 개발하였으며, 1·2·3협동에서 개발된 P2030에 대한 10개 작물(당근, 무, 배추, 양배추, 멜론, 수박, 오이, 상추, 고추, 토마토)의 최적 필름코팅 공정을 개발하였다.
- 각 협동기관에서 필름코팅 소재 P2030 이용 필름코팅 처리한 종자를 송부 받았고, 필름코팅 소재 및 코팅종자의 품질 평가를 위하여 10개 작물에 품목별 일별 정상묘출현율 및 최종발아율 검정을 수행하였고, 또한 처리 종자의 최적 저장 조건을 규명하기 위하여 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 최종발아율 검정을 수행하였다. 객관적인 소재 평가를 위하여 국제적으로 품질 면에서 최상위 품질로 시판되고 있는 인코텍社 코팅소재 이용 코팅처리 한 종자를 대조구로 사용하여 비교분석을 실시하였다.

○ 펠렛코팅 처리 종자

- 위탁연구기관에서 펠렛코팅 소재(시제품명: DTK_5)를 개발하였으며, 1·3협동에서 개발된 DTK_5에 대한 6개 작물(당근, 양배추, 무, 상추, 고추, 양파)의 최적 펠렛코팅 공정을 개발하였다.
- 각 협동기관(1협동 및 3협동)에서 동일한 펠렛코팅 소재 DTK_5 이용 각 협동의 최적 공정을 통해 펠렛코팅 처리한 종자를 송부 받았고, 펠렛코팅 소재 평가를 위하여 품목별 일별 정상묘출현율 및 최종발아율 검정을 수행하고, 처리 종자의 저장 조건별 활력검정을 통해 최적 저장 조건을 규명하기 위하여 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 최종발아율 검정을 수행하였다.
- 객관적인 소재 평가를 위하여 국제적으로 품질 면에서 최상위 품질로 시판되고 있는 S社 펠렛소재 이용 펠렛코팅 처리 한 종자를 대조구로 사용하여 비교분석을 실시하였다.

나. 발아율 및 종자활력 검정

- 품목별 처리에 대한 효과와 처리 조건별 저장조건 규명을 위한 발아율 검정 방법은 ISTA 규정에 따라 수행하였다. 종자치상 배지는 Pleated Paper 용지를 사용하여 100립씩 4반복으로 치상하였고, 치상 후 종자발아를 위하여 ISTA규정에 명시된 작물별 발아적온으로 발아기 온도를 세팅하여 발아실험을 수행하였다(표 1).
- 발아율은 정상묘, 비정상묘, 불발아 종자로 구분하고(ISTA Seedling Evaluation Handbook 4rd edition, 2018), 작물별로 일별 정상묘출현율 및 최종조사일 까지 출현한 정상묘를 합산을 통한 최종발아율을 산정하였다. 작물별 가공처리 조건과 최적 저장조건 선별을 위하여 일별 정상묘출현율과 최종발아율을 조사하고 대조구와의 비교분석을 통해 최적 가공처리 및 저장 조건을 선정하였다.

표 1. 작물별 ISTA 규정에 따른 발아검사 방법

작물명	발아상 ¹	생육온도 ²	1차 조사일	최종 조사일	전처리 ³
무	PP	20<=>30	4	10	-
배추	PP	20<=>30	5	7	예냉
양배추	PP	20<=>30	5	7	0.2% KNO3
고추	PP	20<=>30	7	14	0.2% KNO3
수박	PP	20<=>30	5	14	-
호박	PP	20<=>30	4	8	-
대목	PP	20<=>30	5	14	-
오이	PP	20<=>30	4	8	-
멜론	PP	20<=>30	4	8	
당근	PP	20<=>30	7	14	
상추	PP	20	4	7	예냉(5℃),7일간, 광조건
양파	PP	20	6	12	예냉(5℃), 7일간

1



PP(Pleated Paper) : 50회 접혀진 발아지의 각 주름 사이에 종자를 치상하여 발아율 검정하는 방법

² 항온 : 일정한 온도(20 또는 25℃) 로 유지

변온 : 16시간은 20℃, 8시간은 30℃로 반복 유지

³ KNO3 : 물대신 0.2% KNO3용액으로 발아상에 수분을 주는 것

예냉 : 생리적 휴면타파 방법으로서 5~10℃에서 7일정도 처리

다. 선발 된 가공처리 종자시료 저장

- 작물별 대조구에 비해 일별 정상묘출현율이 증진되거나 통계적으로 차이가 나지 않고 최종발아율 또한 대조구와 유의한 차이를 보이지 않는 처리조건을 선발하고, 이에 대한 최적 저장 조건을 규명하기 위하여 대조구 및 가공처리 종자시료를 각각의 저장용기(3조건 : 알루미늄캔, 진공 알루미늄 호일봉투, 마대)에 넣고 각각의 저장온도((5℃ /RH35%, 15℃ /RH35%, 상온)에 저장 후, 6개월 및 12개월이 되는 시점에 각 저장 조건별 시료의 일별 정상묘출현율과 최종발아율을 조사하였다.

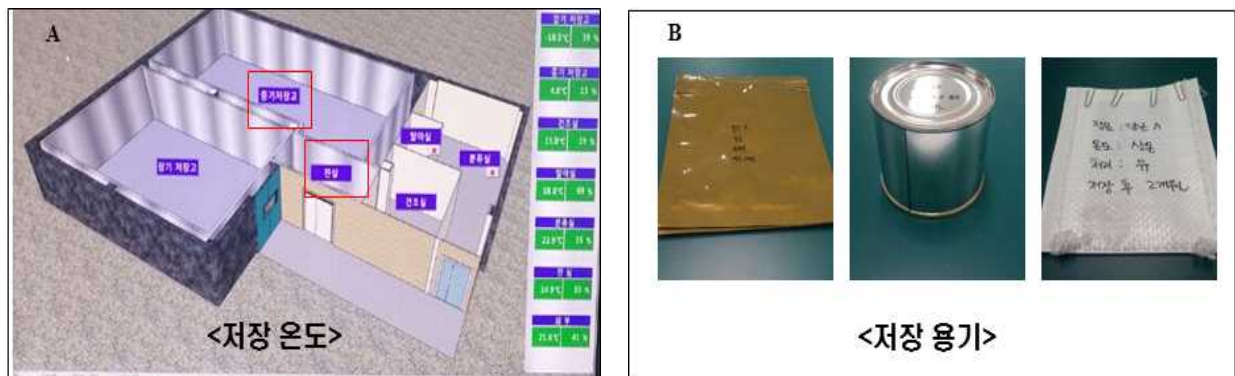


그림 1. 프라이밍 처리 종자의 활력 유지기간 조사를 위한 저장환경

A(저장온도) : 5℃/중기저장고, 15℃/저장고전실, 상온/종자검정실실험실

B(저장용기) : 왼쪽부터 알루미늄진공팩, 알루미늄캔, 마대

3. 연구결과 및 고찰

가. 프라이밍 처리 종자의 발아율·일별 정상묘출현율 조사 및 저장성 검정

(1) 당근 종자의 프라이밍 처리 최적 조건 및 저장성 검정

- 당근 종자의 초음파 및 시약 처리 효과 검정

- (초음파 및 시약처리) 당근C 종자의 발아 촉진을 위한 priming 처리 방법으로 여러 범위의 초음파 및 PEG8000, KH₂PO₄, NaCl 별 여러 농도를 사용하고 일별 정상묘출현율 및 최종발아율을 조사한 후(표 2), 각 처리별 일별 정상묘 출현율과 최종발아율이 높은 처리 조건을 선정하여 나종자와 비교하여 처리 효과를 조사하였다(표3).
- 치상 후 5일의 일별 정상묘출현율은 초음파 22.8Khz 0.5h를 제외하고 모든 처리구가 나종자보다 유의하게 증가된 것을 보였고, 최종발아율은 처리구와 나종자 간에는 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다. 프라이밍 처리 효과를 확인하기 위하여 다른 당근종자 로트인 당근1 종자에 당근C 로트에서 처리효과를 보인 초음파 17.1Khz 및 KH₂PO₄시약을 이용하여 프라이밍 처리 후 나종자와 비교하여 처리효과를 조사하였다(표4).
- KH₂PO₄ 0.3% 48h 처리구는 치상 후 5일의 일별 정상묘출현율이 나종자에 비해

유의하게 높았으며 최종발아율은 나중자와 차이를 보이지 않았다. 반면 초음파 17.1Kha 1h 처리구는 일별 정상묘출현율 및 최종발아율이 나중자에 현저히 떨어지는 것으로 조사되었다. 17.1Kha 1h 처리는 당근C 종자에서는 프라이밍 효과가 있는 것과는 반대로 당근1 종자에서는 일별 정상묘 출현율 및 최종발아율에 악영향을 미치는 결과가 나왔는데, 같은 품목이라 할지라도 품종 간 동일한 프라이밍 처리조건의 효과가 다른 이유가 품종 간 지니고 있는 특성 때문인지 아니면 그 외적인 부분 때문인지에 대해서는 좀 더 세부적인 연구가 필요하다.

표 2. 당근C 종자의 프라이밍 처리 시 일별 정상묘 출현율 및 최종발아율

로트	처리조건	4일차	5일차	6일차	7일차	8일차	14일차
초음파	14.3Khz 1h	1	11	32	51	54	54
	14.3Khz 2h	2	13	40	51	56	56
	14.3Khz 3h	9	23	43	54	56	56
	17.1Khz 1h	9	23	45	57	59	59
	17.1Khz 2h	9	25	46	53	54	54
	17.1Khz 3h	9	24	48	54	54	54
	17.1Khz 1h	3	19	45	55	55	55
	22.8Khz 0.5h	4	18	44	54	58	58
당근C	0.1% 48h	11	28	53	58	58	58
	0.2% 48h	5	19	41	47	48	48
	0.5% 48h	12	24	44	51	54	54
	0.7% 48h	7	19	39	47	50	50
	1.0% 48h	8	21	36	55	58	58
	0.1% 48h	10	24	44	58	60	60
	0.2% 48h	8	24	41	54	58	58
	0.5% 48h	5	16	34	51	55	55
	0.7% 48h	6	17	36	54	54	54
	1.0% 48h	8	17	29	45	47	47
NaCl 0.1% 48h	0.1% 48h	12	31	41	49	51	51
	0.2% 48h	6	21	42	51	52	52
	0.5% 48h	2	12	29	40	42	42
	0.7% 48h	3	15	36	50	50	50
	1.0% 48h	2	12	32	50	53	53

*: 각 프라이밍 처리별 일별 정상묘 출현율 및 최종발아율이 좋은 조건이 좋은 구를 적색으로 표기

표 3. 당근C 종자의 선발한 프라이밍 처리 효과

로트	처리조건	5일차	6일차	7일차	8일차	9일차	14일차
당근C	나종자	17 c	46 a	53 a	58 a	61 a	61 a
	초음파 17.1Khz 1h	29 ab	49 a	51 a	54 a	57 a	57 a
	초음파 22.8Khz 0.5h	22 bc	49 a	51 a	55 a	60 a	60 a
	PEG8000 0.1% 48h	34 a	52 a	54 a	57 a	61 a	61 a
	KH2PO4 0.1% 48h	33 a	46 a	48 a	50 a	52 a	52 a
	NaCl 0.1% 48h	30 ab	48 a	51 a	53 a	57 a	57 a

* : Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

표 4. 당근1 종자의 프라이밍(초음파 및 시약) 처리 효과

로트	처리조건	5일차	6일차	7일차	8일차	9일차	14일차
당근1	나종자	76 b	86 a	89 a	89 a	89 a	89 a
	초음파 17.1Khz 1h	13 c	27 b	36 b	46 b	46 b	46 b
	KH2PO4 0.3% 1h	86 a	90 a	91 a	92 a	92 a	92 a

* : Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

- (맥반석 및 게르마늄 처리) 당근A 종자에 [맥반석 0.1% 24시간] 및 [게르마늄 0.3% 24시간]를 처리하여 일별 정상묘출현율 및 최종발아율을 나종자와 비교하였다(그림 1). 모든 조건의 프라이밍 처리가 나종자에 비해 일별 정상묘출현율이 통계적으로 유의하게 증가된 것으로 조사되었으며, 최종발아율은 [맥반석 0.1% 24시간] 및 [게르마늄 0.3% 24시간] 처리가 나종자에 비해 유의하게 높았고 다른 처리구는 나종자와 차이가 없는 것으로 조사되었다. 맥반석 및 게르마늄 처리가 일별 정상묘출현율 뿐만 아니라, 최종발아율을 높이는 효과에 대해서는 추후 세부적인 연구가 필요하다.

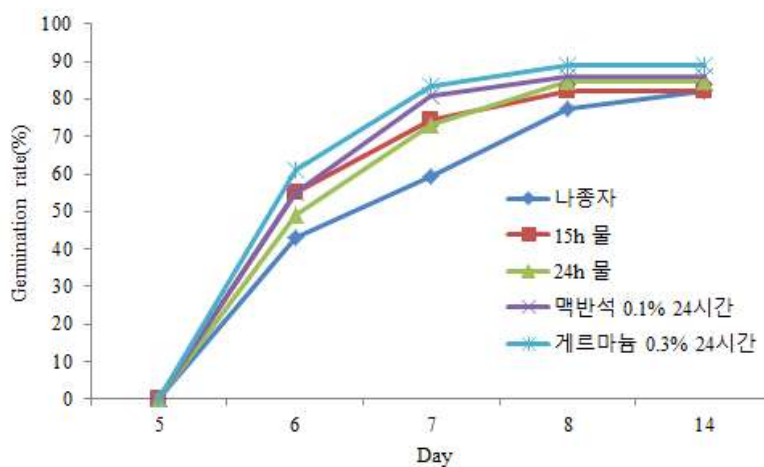


그림 1. 당근 나종자 및 프라이밍 처리 종자의 일별 정상묘출현율 및 발아율

- 선별된 당근 종자 프라이밍 처리 조건의 저장성 검증
 - **(초음파 및 시약처리 종자 저장성)** 당근C 종자의 프라이밍 효과가 좋았던 처리구 초음파 17.1Khz 1h 및 PEG8000 0.1% 48h 처리 종자와 나종자를 저장 조건별로 6개월 동안 저장한 후에 각 조건별 일별 정상묘출현율과 최종발아율을 조사하였다(표 5). 저장 6개월에서는 대부분의 저장 조건에서 프라이밍 처리구의 일별 정상묘출현율은 나종자에 비해 유의하게 높았으며, 최종발아율에는 차이가 없는 것으로 조사되었다.
 - 반면 저장 후 12개월에서는 특정 조건([5℃/알루미늄진공팩])에서만 프라이밍 효과가 있고, 그 외 다른 조건에서는 나종자에 비해 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다. 또한 프라이밍 처리종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 저장 온도 및 용기에 민감하게 영향을 받는 것으로 조사되었고, 특히 나종자와 모든 프라이밍 처리 종자는 [상온/마대] 조건에 보관하였을 때 치상 후 6일째의 정상묘출현율 및 최종발아율이 현저하게 감소하는 것으로 나타났다.
 - **(택반석 및 게르마늄 처리 종자 저장성)** 나종자에 비해 일별 정상묘출현율 및 최종발아율이 높았던 프라이밍 처리구의([게르마늄 0.3% 24시간]) 최적 저장조건을 규명하기 위하여 나종자 및 처리구 종자를 저장 조건별로 저장하고, 저장 후 6개월 및 12개월 후 저장 조건별 종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율 검정을 수행하였다(표 6).
 - [12개월/상온/마대] 조건을 제외하고 저장 기간, 온도, 용기에 상관없이 게르마늄 0.3% 24시간 처리 종자가 나종자보다 일별 정상묘출현율이 높은 것으로 조사되었다. 최종발아율은 저장 전 게르마늄 처리 종자가 높은 것으로 조사되었었고, 저장 후 6개월까지도 모든 저장 조건에서([6개월/상온/마대] 제외) 게르마늄 0.3% 24시간 처리 종자가 나종자에 비해 최종발아율이 유의하게 높은 것으로 조사되었으나, 저장 후 12개월에서는 모든 조건에서 나종자와 통계적인 차이가 없는 것으로 조사되었다.
 - 게르마늄 처리 종자의 경우 6개월 및 12개월 저장 조건에서의 일별 정상묘출현율은 저장 온도 및 용기에 따라 상당한 영향을 주는 것으로 조사되었다. 분석 결과, 게르마늄 0.3% 24시간 처리 종자의 경우 12개월까지 종자활력을 유지하기 위해서는 저장 조건을 [상온/마대] 조건을 제외한 다른 저장 조건하에서 저장해야 한다는 결과를 도출할 수 있었다.

표 5. 당근C 종자의 프라이밍(시약 및 초음파) 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나종자		초음파 17.1Khz 1h		PEG8000 0.1% 48h		Duncan ^a Analysis A vs C vs E	Duncan Analysis B vs D vs F
			GR at 6d(A)	GR at 14d(B)	GR at 6d(C)	GR at 14d(D)	GR at 6d(E)	GR at 14d(F)		
당근 종자 (6개월 저장)	5	마대	22±9.1	59±5.3	30±7.2	50±2.5	42±9.4	59±9.4	A ^b , B ^{ab} , C ^a	NS
		알루미늄	20±5.3	59±12.9	33±2.5	50±8.5	36±5.7	53±9.3	A ^b , B ^a , C ^a	NS
		캔포장	25±4.1	59±5.3	33±5.5	55±7.7	33±2.5	52±5.7	A ^b , B ^a , C ^a	NS
	15	마대	19±4.8	55±11.2	32±4.1	61±9.2	40±4.4	60±2.8	A ^b , B ^a , C ^a	NS
		알루미늄	30±5.7	55±4.8	36±5.3	58±7.2	37±7.0	53±8.4	A ^b , B ^a , C ^a	NS
		캔포장	27±7.0	58±10.6	34±4.5	54±5.2	35±2.3	55±2.3	A ^b , B ^{ab} , C ^a	NS
	상온	마대	12±4.3	44±3.7	12±1.6	20±4.7	6±1.6	21±3.5	NS	B ^a , D ^b , F ^b
		알루미늄	22±5.3	54±3.3	30±4.2	55±6.2	29±7.4	53±9.0	A ^b , B ^a , C ^a	NS
		캔포장	24±4.3	59±6.2	33±5.8	54±4.8	30±5.4	51±6.8	A ^b , B ^a , C ^a	NS
	온도			NS	NS	** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)	
	용기			** (0.004)	NS	NS	NS	NS	NS	
	온도X용기			NS	NS	** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)	
당근 종자 (12개월 저장)	5	마대	24±10.6	58±10.2	33±3.5	54±9.4	40±1.6	53±2.0	A ^b , B ^{ab} , C ^a	NS
		알루미늄	24±1.9	56±3.4	28±8.1	55±10.1	35±3.5	55±7.7	A ^b , B ^{ab} , C ^a	NS
		캔포장	30±4.4	62±6.5	31±11.7	56±2.5	35±3.0	52±6.4	NS	NS
	15	마대	25±5.3	53±14.7	23±7.4	57±8.9	27±6.8	51±8.2	NS	NS
		알루미늄	28±4.4	53±11.2	31±3.2	55±3.8	33±3.5	58±4.3	NS	NS
		캔포장	36±4.3	56±6.3	32±4.2	56±5.0	30±7.7	61±8.1	NS	NS
	상온	마대	8±4.1	28±11.7	4±5.3	26±6.8	6±3.4	22±2.8	NS	NS
		알루미늄	20±7.1	52±8.3	24±6.3	54±4.3	27±8.9	55±5.3	NS	NS
		캔포장	17±3.8	54±14.7	20±4.4	52±5.7	24±4.1	50±5.7	NS	NS
	온도			** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)	
	용기			** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)	
	온도X용기			NS	NS	** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)	

^a: Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

* : 0.01 ≤ P ≤ 0.05, ** : P ≤ 0.01

표 6. 당근A 종자의 프라이밍(게르마늄) 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나종자				t-test A vs C	t-test B vs D
			GR at 6d(A)	GR at 14d(B)	GR at 6d(C)	GR at 14d(D)		
당근A 종자 (6개월 저장)	5	마대	40±9.3	76±5.7	57±9.1	86±5.2	*	*
		알루미늄	48±5.7	81±7.7	67±2.6	92±3.3	**	*
		캔포장	45±3.4	80±4.7	61±6.8	95±4.8	**	**
	15	마대	36±7.9	73±6.6	58±6.7	92±5.9	**	**
		알루미늄	44±3.5	79±4.2	65±3.1	93±1.2	**	**
		캔포장	42±6.7	81±7.2	55±6.4	93±5.0	*	*
	상온	마대	33±2.6	81±5.7	13±3.5	59±7.5	**	*
		알루미늄	39±4.4	82±5.0	65±8.2	95±2.0	**	**
		캔포장	34±2.0	79±5.0	57±3.5	90±6.0	**	*
	온도		** (0.0005)	NS	** (0.000)	** (0.000)		
	용기		* (0.010)	NS	** (0.000)	** (0.000)		
	온도X용기		NS	NS	** (0.000)	** (0.000)		
당근A 종자 (12개월 저장)	5	마대	36±4.3	79±3.4	58±4.1	80±6.0	**	NS
		알루미늄	43±3.8	78±3.7	60±6.8	78±8.1	**	NS
		캔포장	38±9.4	76±5.4	56±2.8	74±6.8	**	NS
	15	마대	41±4.1	76±2.5	60±6.8	78±5.9	**	NS
		알루미늄	45±6.0	80±3.4	68±2.5	83±3.4	**	NS
		캔포장	37±6.4	78±1.6	61±1.2	83±5.8	**	NS
	상온	마대	27±7.4	75±3.5	6±4.3	68±8.5	**	NS
		알루미늄	52±5.9	78±7.1	61±4.8	82±1.9	*	NS
		캔포장	37±3.0	77±8.7	55±1.9	82±3.8	**	NS
	온도		NS	NS	** (0.000)	NS		
	용기		** (0.000)	NS	** (0.000)	NS		
	온도X용기		* (0.015)	NS	** (0.000)	NS		

* : 0.01 ≤ P ≤ 0.05, ** : P ≤ 0.01

(2) 무 종자 최적 프라이밍 처리 조건 선발

○ 무 종자의 초음파 처리 효과 검정

- (초음파 처리) 무A 종자의 발아 촉진을 위한 priming 처리 방법으로 초음파의 처리를 강도(4조건: 14.3Khz, 17.1Khz, 20.0Khz, 22.8Khz) 및 처리시간(3조건: 5분, 10분, 15분)으로 분류하여 처리하고, 일별 정상묘 출현율 및 최종발아율을 조사하였다(표 7). 초음파의 강도와 처리시간은 일별 정상묘 출현율과 최종발아율에 유의수준 5% 범위 내에서 통계적인 유의차는 나타나지 않았지만, 미세한 영향을 미치는 것으로 나타났다(강도: $0.05 < P < 0.1$, 시간: $0.05 < P < 0.1$).
- 초음파의 강도가 높을수록 일별 정상묘출현율이 증가하였고 처리 시간이 길어질수록 일별 정상묘출현율 및 최종발아율이 감소되는 경향으로 나타났다. 각 처리별 일별 정상묘 출현율과 최종발아율이 높은 처리 조건을 선정하여 나종자와 다시 비교하여 처리 효과를 조사하였다(표 8). 치상 후 3일차부터 최종조사일인 10일차까지의 일별 정상묘출현율은 초음파 22.8Khz 5m 제외한 모든 처리구와 나종자 간에는 통계적인 유의차는 없는 것으로 조사되었다.
- 무A의 나종자 자체가 워낙 치상 후 최종발아율에 이르기까지의 소요되는 기간이 짧기 때문에 프라이밍 처리효과가 없는 것으로 사료된다. 다만 22.8Khz 5m 처리조건의 경우 치상 후 4일부터 최종조사일인 10일차까지 모두 나종자에 비해 일별 정상묘출현율 및 최종발아율이 다소 높은 것으로 조사되었다.

표 7. 무A 종자의 프라이밍 처리 시 일별 정상묘 출현율 및 최종발아율

로트	처리조건	2일차	3일차	4일차	5일차	6일차	10일차	
무A	초음파	14.3Khz 5m	38	66	73	78	82	82
		14.3Khz 10m	37	62	72	76	78	78
		14.3Khz 15m	30	56	67	77	77	77
		17.1Khz 5m	34	59	73	79	82	82
		17.1Khz 10m	33	59	70	77	80	82
		17.1Khz 15m	26	55	66	75	77	77
		20.0Khz 5m	39	69	76	82	85	85
		20.0Khz 10m	34	59	71	76	78	81
		20.0Khz 15m	36	56	64	68	69	71
		20.0Khz 5m	42	65	77	80	81	81
	20.0Khz 10m	32	55	68	73	76	76	
	22.8Khz 15m	38	56	67	73	76	76	

* : 각 프라이밍 처리별 일별 정상묘 출현율 및 최종발아율이 좋은 조건이 좋은 구를 적색으로 표기

표 8. 무A 종자의 선발한 프라이밍 처리 효과

로트	처리조건	3일차	4일차	5일차	6일차	10일차
	나종자	55 b	69 a	76 a	84 a	84 a
	초음파 14.3Khz 5m	61 ab	59 a	78 a	83 a	83 a
무A	초음파 17.1Khz 5m	56 ab	67 a	75 a	83 a	83 a
	초음파 20.0Khz 5m	60 ab	70 a	76 a	81 a	81 a
	초음파 22.8Khz 5m	62 a	72 a	80 a	86 a	86 a

* : Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

○ 선별된 무 종자 프라이밍 처리 조건의 저장성 검정

- (초음파 처리 종자 저장성) 무A 종자의 프라이밍 효과가 컸던 처리구 초음파 22.8Khz 5m 처리 종자와 나종자를 저장 조건별로 6개월 및 12개월 동안 저장한 후에 각 조건별 일별 정상묘출현율과 최종발아율을 조사하였다(표 9). 저장 후 6개월에서는 프라이밍 처리종자는 나종자에 비해 치상 후 3일째의 일별 정상묘출현율은 저장 조건에 상관없이 유의하게 높은 것으로 나타났고 최종발아율은 통계적인 차이를 보이지 않았다. 저장 후 12개월 조건에서는 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 모든 저장 조건에서 나종자와 유의한 차이가 없는 것으로 조사되었다. 또한 프라이밍 처리 종자는 저장 기간에 상관없이 저장 온도 및 용기에 큰 영향을 미치는 것으로 나타났는데 분석 결과, 무 종자의 초음파 22.8Khz 5m 처리 종자 보관 시 저장 온도 5℃와 알루미늄진공팩이나 캔포장에 저장할 경우 6개월까지는 나종자에 비해 일별 정상묘출현율이 높게 유지되며 12개월이 지난 후에도 최종발아율의 감소 없이 저장 할 수 있다는 것으로 나타났다.

표 9. 무A 종자의 프라이밍(초음파) 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나종자		초음파 22.8Khz 5m		t-test A vs C	t-test B vs D
			GR at 3d(A)	GR at 10d(B)	GR at 3d(C)	GR at 10d(D)		
무 종자 (6개월 저장)	5	마대	32±4.3	79±6.8	48±5.3	86±1.2	**	NS
		알루미늄	33±7.1	78±7.6	56±7.9	87±4.1	**	NS
		캔포장	42±6.8	82±3.4	55±6.8	84±1.6	*	NS
	15	마대	25±4.4	79±8.6	36±6.3	75±7.5	*	NS
		알루미늄	35±4.1	81±6.2	47±7.2	82±9.1	*	NS
		캔포장	33±5.3	77±4.4	42±3.7	81±7.7	*	NS
	상온	마대	16±2.3	76±8.8	26±1.9	69±2.0	**	NS
		알루미늄	26±5.7	81±6.2	45±3.4	82±5.3	**	NS
		캔포장	24±4.7	76±8.0	46±3.3	85±1.9	**	NS
	온도		**	NS	**	*		
	용기		**	NS	**	**		
	온도X용기		NS	NS	NS	NS		
무 종자 (12개월 저장)	5	마대	28±6.0	79±4.1	25±5.3	72±3.4	NS	NS
		알루미늄	31±6.2	80±4.3	36±6.4	77±6.0	NS	NS
		캔포장	31±3.0	79±7.7	31±1.9	73±2.6	NS	NS
	15	마대	29±6.8	76±3.4	22±3.4	68±6.4	NS	NS
		알루미늄	32±2.5	74±3.4	33±3.4	81±2.8	NS	NS
		캔포장	32±4.9	74±5.4	30±4.7	75±6.2	NS	NS
	상온	마대	9±8.4	72±6.4	16±8.5	67±3.8	NS	NS
		알루미늄	23±2.6	74±4.3	27±5.0	67±4.2	NS	NS
		캔포장	23±3.0	74±5.3	27±6.0	69±4.8	NS	NS
	온도		**	*	*	**		
	용기		**	NS	**	*		
	온도X용기		NS	NS	NS	NS		

* : 0.01 ≤ P ≤ 0.05, ** : P ≤ 0.01

(3) 배추 종자 최적 프라이밍 처리 조건 선발

○ 배추 종자의 초음파 처리 효과 검정

- (초음파 처리) 배추1 종자의 발아 촉진을 위한 priming 처리 방법으로 초음파의 처리를 강도(4조건: 14.3Khz, 17.1Khz, 20.0Khz, 22.8Khz) 및 처리시간(3조건: 30분, 1시간, 2시간, 3시간)으로 분류하고 처리하고, 일별 정상묘 출현율 및 최종발아율을 조사하고(표 10), 각 처리별 일별 정상묘출현율과 최종발아율이 높은 처리 조건을 선정하여 나종자와 비교하여 처리 효과를 조사하였다(표 11).
- 치상 후 4일 차에는 모든 처리구가 나종자에 비해 일별 정상묘출현율이 높았지만 5일 차부터 최종조사일인 10일차까지 모든 처리구와 나종자 간에는 일별 정상묘출현율 및 최종발아율에는 통계적인 유의차는 없는 것으로 조사되었다.

표 10. 배추1 종자의 프라이밍 처리 시 일별 정상묘 출현율 및 최종발아율

로트	처리조건	3일차	4일차	5일차	6일차	10일차	
배추1	초음파	초음파 14.3Khz 1h	6	16	32	62	62
		초음파 14.3Khz 2h	10	25	66	76	76
		초음파 14.3Khz 3h	14	31	62	72	72
		초음파 17.1Khz 1h	3	19	59	69	69
		초음파 17.1Khz 2h	9	19	63	73	73
		초음파 17.1Khz 3h	12	36	79	79	79
		초음파 20.0Khz 1h	10	30	68	78	78
		초음파 22.8Khz 0.5h	12	24	59	69	69

* : 각 프라이밍 처리별 일별 정상묘 출현율 및 최종발아율이 좋은 조건이 좋은 구를 적색으로 표기

표 11. 배추1 종자의 선발한 프라이밍 처리 효과

로트	처리조건	4일차	5일차	6일차	10일차
배추1	나종자	33 e	67 a	70 a	73 a
	초음파 14.3Khz 2h	38 d	71 a	74 a	74 a
	초음파 14.3Khz 3h	43 c	76 a	77 a	77 a
	초음파 17.1Khz 3h	48 b	76 a	79 a	79 a
	초음파 20.0Khz 1h	53 a	76 a	78 a	78 a

* : Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

- 선별된 배추 종자 프라이밍 처리 조건의 저장성 검증
 - (초음파 처리 종자 저장성) 배추 종자의 프라이밍 효과가 컸던 처리구 초음파 20.0Khz 1h 처리 종자와 나종자를 저장 조건별로 6개월 및 12개월 동안 저장한 후에 각 조건별 일별 정상묘 출현율과 최종발아율을 조사하였다(표 12).
 - 저장 후 6개월에서는 프라이밍 처리종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 대부분의 조건에서 나종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율간에 통계적으로 차이가 나지 않는 것으로 조사되었다. 다만 저장 조건이 5℃일 경우에는 용기에 상관없이 나종자에 비해 일별 정상묘출현율이 유의하게 높은 것으로 조사되었다.
 - 저장 후 12개월에서는 나종자 및 초음파 처리구의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 모든 저장 조건에서([5℃/마대]조건 제외) 통계적인 차이가 없는 것으로 조사 되었다. 프라이밍 처리 종자의 경우에는 일별 정상묘출현율 및 최종발아율이 기간에 상관없이 저장 온도에 영향을 받는 것으로 조사되었는데, 프라이밍 종자의 품질 유지를 위해서는 저온 저장이 꼭 필요하다고 사료되어 진다.

표 12. 배추1 종자의 프라이밍(초음파) 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나종자		초음파 20.1Khz 1h		t-test A vs C	t-test B vs D
			GR at 3d(A)	GR at 10d(B)	GR at 3d(C)	GR at 10d(D)		
배추 종자 (6개월 저장)	5	마대	31±5.3	66±3.0	47±7.7	71±6.6	*	NS
		알루미늄	37±7.9	74±8.9	51±3.5	70±6.6	*	NS
		캔포장	37±1.2	72±3.3	48±7.1	74±7.1	*	NS
	15	마대	37±5.3	64±10.0	44±4.4	60±4.9	NS	NS
		알루미늄	34±6.0	63±5.3	49±5.0	72±3.8	**	NS
		캔포장	38±4.4	65±5.3	46±8.3	66±9.7	NS	NS
	상온	마대	21±5.3	51±9.0	25±4.2	44±10.7	NS	NS
		알루미늄	31±8.4	59±10.9	36±4.3	58±6.3	NS	NS
		캔포장	33±4.4	52±7.8	34±8.5	54±7.5	NS	NS
	온도		*	*	**	**		
	용기		NS	NS	*	*		
	온도X용기		NS	NS	NS	NS		
배추 종자 (12개월 저장)	5	마대	18±5.4	63±1.9	30±4.7	70±10.8	*	NS
		알루미늄	30±2.3	69±2.6	30±8.2	68±13.2	NS	NS
		캔포장	33±4.2	70±3.4	31±4.1	72±4.4	NS	NS
	15	마대	18±3.7	60±5.9	24±1.0	61±4.2	NS	NS
		알루미늄	19±2.6	67±1.0	25±3.4	63±9.6	NS	NS
		캔포장	24±4.4	63±3.4	24±7.2	60±4.9	NS	NS
	상온	마대	14±2.3	50±5.3	15±2.6	42±2.8	NS	*
		알루미늄	19±7.0	59±6.0	23±4.8	56±4.3	NS	NS
		캔포장	16±3.8	51±7.4	21±5.5	55±1.2	NS	NS
	온도		**	**	**	**		
	용기		**	**	NS	NS		
	온도X용기		*	NS	NS	NS		

* : P≤0.05, ** : P≤0.01

(4) 양배추 종자 최적 프라이밍 처리 조건 선발

○ 양배추 종자의 초음파 처리 효과 검정

- (초음파 처리) 양배추C 종자의 발아 촉진을 위한 priming 처리 방법으로 초음파 처리를 강도(4조건: 14.3Khz, 17.1Khz, 20.0Khz, 22.8Khz) 및 처리시간(3조건: 30분, 1시간, 2시간, 3시간)으로 분류하고 처리하고, 일별 정상묘출현율 및 최종발아율을 조사하였다(표 13).
- 초음파의 강도와 처리시간은 일별 정상묘출현율과 최종발아율에 통계적인 유의한 차이를 내지 않는 범위 내에서 영향을 미치는 것으로 나타났다($0.05 < P < 0.1$). 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 초음파의 강도가 강해질수록 일별 정상묘출현율이 증가하였고 처리시간이 길어질수록 최종발아율이 감소되는 것으로 나타났다. 각 처리별 일별 정상묘출현율과 최종발아율이 높은 처리 조건을 선정하여 나종자와 다시 비교하여 처리 효과를 조사하였다(표 14).
- 치상 후 4일차에는 22.8Khz 0.5h 처리구가 나종자에 비해 일별 정상묘출현율이 높으면서 최종발아율이 유의차가 없는 것으로 조사되었다. 다른 처리구와 나종자간 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 통계적인 차이는 없지만 수치가 감소하는 경향으로 나타났다.

표 13. 양배추C 종자의 프라이밍 처리 시 일별 정상묘 출현율 및 최종발아율

로트	처리조건	3일차	4일차	5일차	10일차
양배추C 초음파	초음파 14.3Khz 1h	14	73	87	87
	초음파 14.3Khz 2h	14	62	74	74
	초음파 14.3Khz 3h	20	38	46	46
	초음파 17.1Khz 1h	18	70	80	80
	초음파 17.1Khz 2h	12	67	77	77
	초음파 17.1Khz 3h	35	73	78	78
	초음파 20.0Khz 1h	4	56	63	63
	초음파 22.8Khz 0.5h	28	72	76	76

* : 각 프라이밍 처리별 일별 정상묘출현율 및 최종발아율이 좋은 조건이 좋은 구를 적색으로 표기

표 14. 양배추1 종자의 선발한 프라이밍 처리 효과

로트	처리조건	4일차	5일차	6일차	7일차	10일차
양배추1	나종자	39 bc	77 a	81 a	83 a	83 a
	초음파 14.3Khz 1h	32 cd	71 ab	76 ab	78 ab	78 ab
	초음파 17.1Khz 1h	32 d	64 b	72 b	75 ab	75 b
	초음파 17.1Khz 3h	44 b	68 ab	75 ab	76 ab	76 ab
	초음파 22.8Khz 0.5h	51 a	77 a	81 a	81 ab	81 ab

* : Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

- 선별된 양배추 종자 프라이밍 처리 조건의 저장성 검정
 - **(초음파 처리 종자 저장성)** 양배추1 종자의 프라이밍 효과가 컸던 처리구 초음파 22.8Khz 0.5h 처리 종자와 나종자를 저장조건별로 6개월 및 12개월 동안 저장한 후에 각 조건별 일별 정상묘출현율과 최종발아율을 조사하였다(표 15). 프라이밍 처리 종자 6개월 저장 후의 치상 후 3일차 정상묘출현율은 용기와 상관없이 5℃에서 보관 시 나종자에 유의하게 높았고, 최종발아율은 저장 조건에 상관없이 나종자의 최종발아율과 통계적인 차이가 없었다.
 - 나종자 및 프라이밍 처리종자의 일별 정상묘출현율을 저장 온도와 용기에 의해 영향을 받는 것으로 조사되었는데, 특히 나종자와 프라이밍 처리종자 모두 [상온/마대] 보관 시 일별 정상묘출현율이 다른 저장 조건에 비해 크게 감소되는 것으로 나타났다.
 - 저장 후 12개월 조건에서 [상온/마대]저장 조건에서는 프라이밍 처리 종자의 최종발아율이 나종자에 비해 유의하게 낮은 것으로 나왔고 그 외 대부분의 저장 조건에서는 나종자와 프라이밍 처리 종자간 유의한 차이가 없었다.

표 15. 양배추 종자의 프라이밍(초음파) 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나종자		초음파 20.1Khz 1h		t-test A vs C	t-test B vs D
			GR at 3d(A)	GR at 10d(B)	GR at 3d(C)	GR at 10d(D)		
양배추 종자 (6개월 저장)	5	마대	31±5.3	66±3.0	47±7.7	71±6.6	*	NS
		알루미늄	37±7.9	74±8.9	51±3.5	70±6.6	*	NS
		캔포장	37±1.2	72±3.3	48±7.1	74±7.1	*	NS
	15	마대	37±5.3	64±10.0	44±4.4	60±4.9	NS	NS
		알루미늄	34±6.0	63±5.3	49±5.0	72±3.8	**	NS
		캔포장	38±4.4	65±5.3	46±8.3	66±9.7	NS	NS
	상온	마대	21±5.3	51±9.0	25±4.2	44±10.7	NS	NS
		알루미늄	31±8.4	59±10.9	36±4.3	58±6.3	NS	NS
		캔포장	33±4.4	52±7.8	34±8.5	54±7.5	NS	NS
	온도		*	*	**	**		
	용기		NS	NS	*	*		
	온도X용기		NS	NS	NS	NS		
양배추 종자 (12개월 저장)	5	마대	18±5.4	63±1.9	30±4.7	70±10.8	*	NS
		알루미늄	30±2.3	69±2.6	30±8.2	68±13.2	NS	NS
		캔포장	33±4.2	70±3.4	31±4.1	72±4.4	NS	NS
	15	마대	18±3.7	60±5.9	24±1.0	61±4.2	NS	NS
		알루미늄	19±2.6	67±1.0	25±3.4	63±9.6	NS	NS
		캔포장	24±4.4	63±3.4	24±7.2	60±4.9	NS	NS
	상온	마대	14±2.3	50±5.3	15±2.6	42±2.8	NS	*
		알루미늄	19±7.0	59±6.0	23±4.8	56±4.3	NS	NS
		캔포장	16±3.8	51±7.4	21±5.5	55±1.2	NS	NS
	온도		**	**	**	**		
	용기		**	**	NS	NS		
	온도X용기		*	NS	NS	NS		

* : 0.01 ≤ P ≤ 0.05, ** : P ≤ 0.01

(5) 수박 종자 최적 프라이밍 처리 조건 선발

○ 수박 종자의 초음파 처리 효과 검정

- (시약 처리) 수박A 종자의 발아 촉진을 위한 priming 처리 방법으로 PEG6000(0.3%, 5%), PEG8000(0.3%, 5%) 및 KNO₃ 별 여러 농도를 사용하여 일별 정상묘 출현율 및 최종발아율을 조사한 결과 PEG6000은 농도가 높은 5.0%, PEG8000은 농도가 낮은 0.3%가 프라이밍 처리효과가 나타났다. PEG6000, PEG8000 및 KNO₃의 용액 농도를 각각 5.0%, 0.3%, 및 100mM로 희석·이용하여 수박A 종자에 프라이밍 처리하고 처리별 일별 정상묘출현율과 최종발아율을 조사하였다(표 16).
- 가장 효과적인 프라이밍 처리군은 KNO₃ 100mM 24h로 조사되었으며, 모든 프라이밍 처리군은 치상 후 5일차까지 나종자에 비해 일별 정상묘출현율이 높은 것으로 나타났으며 최종발아율은 나종자와 통계적인 차이가 없는 것으로 나타났다.
- (초음파 및 시약처리) 수박B 종자에 초음파와 시약을 혼용 처리한 조건들은(초음파+PEG6000, 초음파+PEG8000, 초음파+KNO₃) 모두 일별 정상묘출현율이 나종자에 비해 유의하게 높았고, 최종발아율은 통계적인 차이가 없는 것으로 나타났다(표 17).
- 초음파 강도 및 처리 시간에 따른 일별 정상묘출현율을 조사한 결과, 처리 강도와는 상관없이 처리 시간이 길수록 5일차 정상묘출현율의 증가하는 것으로 나타났다. 시약 처리 조건에 초음파 처리의 시간이 길어지는 군이 초음파 처리 시간이 짧은 조건에 비해 일별 정상묘출현율이 높은 경향을 보였지만, 초음파 및 시약을 혼용한 프라이밍 처리 시 초음파 강도와 시간에 따른 수박 종자의 프라이밍 효과에 대해서는 추후 세부적인 연구를 통해 증명이 필요하다.

표 16. 수박A 종자의 프라이밍 처리 효과

로트	처리조건	4일차	5일차	6일차	7일차	8일차	9일차	14일차
수박A	나종자	13 c	49 c	83 b	89 b	90 b	95 a	95 a
	KNO ₃ 100mM 24h	73 a	91 a	97 a	98 a	98 a	98 a	98 a
	PEG6000 5.0% 24h	51 b	76 b	92 ab	95 a	95 ab	95 a	95 a
	PEG8000 0.3% 24h	54 b	74 b	93 ab	95 a	95 ab	95 a	95 a

* : Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

표 17. 수박A 종자의 시약 및 초음파 프라이밍 혼용처리 효과

로트	처리조건	5일차	6일차	7일차	8일차	14일차
	나종자	17 efg	83 b	94 ab	94 a	94 a
	초음파 8.5Khz 30m + water 24h	10 fg	89 a	96 ab	98 a	98 a
	초음파 8.5Khz 1h + water 24h	42 abc	91 a	95 ab	97 a	97 a
	초음파 17.1Khz 30m + water 24h	19 def	90 a	97 ab	98 a	98 a
	초음파 17.1Khz 1h + water 24h	43 abc	91 a	98 ab	99 a	99 a
수박A	초음파 17.1Khz 1h + PEG6000 24h	36 bc	81 bc	89 ab	92 a	92 a
	초음파 17.1Khz 30m + PEG6000 24h	33 cd	71 bcd	88 ab	93 a	93 a
	초음파 17.1Khz 30min + PEG8000 24h	27 cde	83 b	92 ab	95 a	95 a
	초음파 17.1Khz 1h + PEG8000 24h	56 a	91 a	86 b	98 a	98 a
	초음파 17.1Khz 1h + KNO3 24h	54 a	96 a	99 a	99 a	99 a
	초음파 17.1Khz 30m + KNO3 24h	52 ab	94 a	98 a	98 a	98 a

* : Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

○ 선별된 수박 종자 프라이밍 처리 조건의 저장성 검정

- (시약 처리 종자 저장성) 수박A 종자의 프라이밍 효과가 컸던 시약군(KNO3 100mM 24h, PEG6000 5.0% 24h, PEG8000 0.3% 24h) 처리 종자와 나종자를 저장 조건별로 6개월 동안 저장한 후에 각 조건별 일별 정상묘 출현율과 최종발아율을 조사하였다(표 18).
- PEG8000 0.3% 24h 처리구를 제외하고 나종자 및 모든 프라이밍 처리종자의 일별 정상묘 출현율과 최종발아율은 저장 온도 및 용기에 상관없이 영향을 받지 않는 것으로 조사되었다. 치상 후 4일째 정상묘출현율은 모든 처리구에서 나종자에 비해 유의하게 높은 것으로 나타났으며 최종발아율은 차이가 없는 것으로 나타났다.
- 이러한 결과는 수박A 종자의 프라이밍 처리 종자 보관 시 굳이 낮은 온도 및 알루미늄진공팩 또는 캔포장을 하지 않고 상온 및 마대에 보관을 하더라도 최종발아율에 영향을 미치지 않고 프라이밍 효과를 지속할 수 있다는 것으로 사료되어진다.
- (초음파 및 시약 처리 종자 저장성) 수박B 종자의 프라이밍 효과가 컸던 초음파 + 시약군(음파 17.1Khz 1h + PEG8000 24h, 초음파 17.1Khz 30m + KNO3 24h) 처리 종자와 나종자를 저장 조건별로 6개월 동안 저장한 후에 각 조건별 일별 정상묘출현율과 최종 발아율을 조사하였다(표 19).
- 5일차 일별 정상묘출현율에 있어서 상온조건을 제외하고 대부분의 조건에서 초음파 + 시약군이 나종자에 비해 유의하게 높은 것으로 나타났으며, 최종발아율은 모든 저장 조건에서 나종자와 처리구간에 통계적인 차이가 없는 것으로 나타났다. 프라이밍 처리

종자의 경우 저장 온도 및 용기에 따라 일별 정상묘출현율이 유의하게 차이가 있었는데, 저장 온도는 낮을수록 일별 정상묘출현율이 높았고 용기는 마대보다는 알루미늄 진공팩이나 캔포장이 일별 정상묘출현율이 높은 것으로 조사되었다. 최종발아율은 나종자 및 처리종자 모두 저장 조건에 따른 통계적인 차이가 없는 것으로 조사되었다.

표 18. 수박A 종자의 펠렛코팅 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나중자		KNO3 100mM 24h		PEG6000 5.0% 24h		PEG8000 0.3% 24h		Duncan Analysis	Duncan Analysis
			GR at 4d(A)	GR at 14d(B)	GR at 4d(C)	GR at 14d(D)	GR at 4d(E)	GR at 14d(F)	GR at 4d(G)	GR at 14d(H)	A vs C vs E vs G	B vs D vs F vs H
수박 종자 (6개 월 저장)	5	마대	12±5.5	97±3.4	57±4.8	98±1.6	55±6.2	100	43±6.2	99±1.0	Ac, Ca, Eab, Gb	NS
		알루미늄	11±4.2	97±1.0	57±6.0	99±1.2	55±5.3	99±1.0	52±3.8	99±1.9	Ab, Ca, Ea, Ga	NS
		캔포장	9±5.3	98±1.0	57±4.4	99±1.9	55±7.7	97±1.2	48±3.4	100	Ab, Ca, Ea, Ga	NS
	15	마대	13±4.7	99±1.9	60±5.7	100	58±6.8	98±3.8	43±6.2	97±3.0	Ac, Ca, Ea, Gb	NS
		알루미늄	10±3.3	98±1.0	62±8.5	99±1.9	61±5.0	99±1.0	47±8.2	99±1.0	Ac, Ca, Ea, Gb	NS
		캔포장	14±7.5	98±2.3	55±34	100	58±7.1	99±1.2	41±3.5	96±2.8	Ac, Ca, Ea, Gb	NS
	상온	마대	10±5.9	98±1.6	59±7.0	99±1.9	52±7.1	94±1.6	21±5.3	99±1.0	Ab, Ca, Ea, Gb	NS
		알루미늄	16±1.9	95±4.1	56±3.8	99±1.0	66±8.7	99±1.0	32±7.4	99±1.9	Ac, Ca, Ea, Gb	NS
		캔포장	18±5.3	100	56±4.1	99±1.2	59±9.0	99±1.0	35±3.0	99±1.0	Ac, Ca, Ea, Gb	NS
온도		NS	NS	NS	NS	NS	NS	**	NS			
용기		NS	NS	NS	NS	NS	NS	**	NS			
온도X용기		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS			

^a: Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

* : 0.01 ≤ P ≤ 0.05, ** : P ≤ 0.01

표 19. 당근 종자의 프라이밍(시약 및 초음파) 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나중자		초음파 17.1Khz 1h + PEG8000 24h		초음파 17.1Khz 1h + KNO3 24h		Duncan Analysis A vs C vs E	Duncan Analysis B vs D vs F
			GR at	GR at	GR at	GR at	GR at	GR at		
			5d(A)	14d(B)	5d(C)	14d(D)	5d(E)	14d(F)		
수박 종자 (6개월 저장)	5	마대	24±4.3	99±1.0	39±4.8	97±3.4	39±4.8	94±3.4	Ab, Ca, Ea	NS
		알루미늄	26±4.1	99±1.0	36±5.3	100±1.0	45±6.0	99±4.8	Ac, Cb, Ea	NS
		캔포장	26±3.0	99±1.2	35±5.4	98±2.5	47±3.0	99±1.2	Ac, Cb, Ea	NS
	15	마대	28±5.0	100±0.0	38±3.4	96±4.0	41±6.2	97±1.2	Ab, Ca, Ea	NS
		알루미늄	30±3.7	98±1.6	36±7.5	98±1.9	48±4.3	98±2.3	Ac, Cb, Ea	NS
		캔포장	30±1.9	98±2.5	47±8.4	99±2.0	44±4.4	99±1.0	Ab, Ca, Ea	NS
	상온	마대	16±5.0	97±1.9	14±5.0	97±2.6	16±3.0	96±3.7	NS	NS
		알루미늄	17±3.5	98±1.6	30±7.5	97±2.5	34±8.2	98±1.0	Ab, Ca, Ea	NS
		캔포장	24±4.1	99±2.0	21±2.8	97±2.6	23±4.4	96±0.0	NS	NS
		온도	** (0.002)	NS	** (0.000)	NS	** (0.000)	NS		
		용기	* (0.035)	NS	* (0.037)	NS	** (0.000)	NS		
		온도X용기	NS	NS	** (0.004)	NS	NS	NS		

^a: Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

* : 0.01 ≤ P ≤ 0.05, ** : P ≤ 0.01

(6) 대목용박종자 최적 프라이밍 처리 조건 선발

○ 대목용박 종자의 초음파 처리 효과 검정

- (초음파 및 시약 처리) 대목B 종자의 발아 촉진을 위한 priming 처리 방법으로 여러 가지 시약(Ca(NO₃)₂, D-mannitol, NaNO₃, KCl)별 여러 농도를 사용하여 일별 정상묘출현율 및 최종발아율을 조사하였다. 모든 처리군의 최종발아율은 나종자와 차이가 없었고, 일별 정상묘 출현율은 몇몇 처리군(Ca(NO₃)₂ 및 D-mannitol) 처리군을 제외하고 모든 처리군에서 나종자에 비해 증가한 것으로 나타났다(표 20).
- 프라이밍 효과가 가장 좋았던 KCl 100mM과 초음파를 혼용처리 한 결과 일별 정상묘출현율이 나종자에 비해 증진된 것으로 나타났고, [KCl 100mM 24h + 초음파 17.1Khz 30m]와 [KCl 100mM 24h + 17.1Khz 1h]간에는 일별 정상묘출현율 및 최종발아율에는 차이가 없는 것으로 나타났다.
- 같은 대목 종자 B를 이용하여 효과가 높았던 KCl이용, [KCl 100mM] 단일 처리 및 [KCl 100mM + 초음파 17.1Khz] 혼용처리 간의 6일차 일별 정상묘출현율을 비교하였을 때(표 21), 혼용처리 효과가 통계적으로 큰 것으로 조사되었다. 대목B 종자는 초음파 강도가 17.1Khz일 때 처리시간(30분, 1시간)은 유의한 차이가 없는 것으로 나타났는데, 초음파의 다른 강도에서도 처리시간이 대목 종자 프라이밍에 효과에 있어서 어떤 영향을 미치는지 추후 연구가 필요한 부분이다.

표 20. 대목B 종자의 프라이밍 처리 효과

로트	처리조건	6일차	7일차	8일차	9일차	10일차	14일차
	나종자	29 de	65 c	90 ab	98 a	99 a	99 a
	Ca(NO ₃) ₂ 150mM 24h	32 cd	66 c	91 ab	97 a	98 a	98 a
	Ca(NO ₃) ₂ 200mM 24h	15 e	50 d	85 ab	93 a	100 a	100 a
	D-mannitol 150mM ² 24h	19 de	63 cd	90 ab	99 a	99 a	99 a
대목B	D-mannitol 50mM 24h	33 cd	69 c	84 b	94 a	97 a	97 a
	NaNO ₃ 100mM 24h	34 c	73 abc	88 ab	95 a	96 a	96 a
	NaNO ₃ 200mM 24h	36 bc	66 c	85 ab	94 a	94 a	94 a
	KCl 100mM 24h	56 a	86 a	95 ab	99 a	99 a	99 a
	KCl 200mM 24h	48 ab	85 ab	93 ab	97 a	98 a	98 a

* : Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

표 21. 대목B 종자의 프라이밍 혼용처리 효과

로트	처리조건	5일차	6일차	7일차	8일차	9일차	14일차
	나종자	0 b	23 b	58 b	88 b	97 a	97 a
대목B	KCl 100mM 24h + 17.1Khz 30m	42 a	80 a	96 a	99 a	99 a	99 a
	KCl 100mM 24h + 17.1Khz 1h	49 a	84 a	95 a	98 a	98 a	98 a

* : Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

- (초음파 및 시약 처리) 대목C의 프라이밍 최적 조건을 선정하기 위하여 여러 가지 시약(KNO₃, KCl, NaCl, NaNO₃)별 여러 농도 및 초음파 처리 시간별로 혼용처리하고 일별 정상묘출현율 및 발아율 조사를 수행하였다(표 22).
- 대목 나종자 및 처리종자의 경우 치상 후 4일차까지는 정상묘출현율이 0%였고, 정상묘는 모든 처리구에서 치상 후 5일차부터 출현하였다. [초음파+수화] 혼용 프라이밍 처리 시 모든 조건에서 나종자에 비해 일별 정상묘출현율이 증가하는 경향을 보였으며, [초음파+시약] 혼용 프라이밍 처리의 경우에 대부분의 조건에서 나종자의 정상묘출현율 뿐만 아니라 최종발아율이 나종자에 비해 유의하게 증가하는 것으로 조사되었다. 프라이밍 처리가 가장 효과적인 조건은 [초음파 30분 + 0.1% NaNO₃ 24시간] 조건이 5일차 가장 높은 정상묘출현율을 보였으며 최종발아율도 나종자에 비해 유의하게 높은 것으로 나타났다. 초음파 시간 및 시약 농도·처리시간에 3가지 인자에 다른 정상묘출현율에 대한 비교 분석 및 교호작용에 대해서는 추후 실험이 필요한 부분이다.

표 22. 대목C 프라이밍 조건별 일별 정상묘출현율 및 최종발아율

품목	처리조건	정상묘출현율(%)				
		5일	6일	7일	8일	14일
		차	차	차	차	차
	무처리(나종자)	31	58	78	89	89
	초음파 36.3Khz 30분 + 물 24시간	56	78	90	95	95
	초음파 36.3Khz 1시간 + 물 24시간	56	76	89	95	95
	초음파 36.3Khz 30분 + 물 48시간	76	86	91	96	96
	초음파 36.3Khz 1시간 + 물 48시간	64	79	92	94	94
	초음파 36.3Khz 30분 + 0.1% KNo3 24시간	72	81	86	93	93
	초음파 36.3Khz 30분 + 0.1% KCl 24시간	66	81	92	97	97
	초음파 36.3Khz 30분 + 0.1% NaCl3 24시간	70	78	83	88	88
	초음파 36.3Khz 30분 + 0.1% NaNo3 24시간	83	90	93	97	97
	초음파 36.3Khz 30분 + 3.0% KNo3 24시간	59	70	90	95	95
	초음파 36.3Khz 30분 + 3.0% KCl3 24시간	39	58	80	89	89
	초음파 36.3Khz 30분 + 3.0% NaCl3 24시간	34	61	83	92	92
	초음파 36.3Khz 30분 + 3.0% NaNo3 24시간	73	85	93	98	98
	초음파 36.3Khz 1시간 + 0.1% KNo3 24시간	68	84	92	95	95
	초음파 36.3Khz 1시간 + 0.1% KCl3 24시간	63	77	83	89	89
	초음파 36.3Khz 1시간 + 0.1% NaCl3 24시간	82	90	93	96	96
	초음파 36.3Khz 1시간 + 0.1% NaNo3 24시간	81	91	96	99	99
	초음파 36.3Khz 1시간 + 3.0% KNo3 24시간	73	83	94	97	97
대목C	초음파 36.3Khz 1시간 + 3.0% KCl3 24시간	49	66	87	95	95
	초음파 36.3Khz 1시간 + 3.0% NaCl3 24시간	43	70	85	93	93
	초음파 36.3Khz 1시간 + 3.0% NaNo3 24시간	77	86	94	96	96
	초음파 36.3Khz 30분 + 0.1% KNo3 48시간	67	81	91	94	94
	초음파 36.3Khz 30분 + 0.1% KCl3 48시간	69	84	93	97	97
	초음파 36.3Khz 30분 + 0.1% NaCl3 48시간	78	92	96	97	97
	초음파 36.3Khz 30분 + 0.1% NaNo3 48시간	80	88	95	98	98
	초음파 36.3Khz 30분 + 3.0% KNo3 48시간	40	67	84	94	94
	초음파 36.3Khz 30분 + 3.0% KCl3 48시간	38	68	83	94	94
	초음파 36.3Khz 30분 + 3.0% NaCl3 48시간	43	77	86	92	92
	초음파 36.3Khz 30분 + 3.0% NaNo3 48시간	63	81	90	95	95
	초음파 36.3Khz 1시간 + 0.1% KNo3 48시간	81	90	97	100	100
	초음파 36.3Khz 1시간 + 0.1% KCl3 48시간	68	81	91	98	98
	초음파 36.3Khz 1시간 + 0.1% NaCl3 48시간	79	94	98	99	99
	초음파 36.3Khz 1시간 + 0.1% NaNo3 48시간	65	84	93	98	98
	초음파 36.3Khz 1시간 + 3.0% KNo3 48시간	60	79	90	93	93
	초음파 36.3Khz 1시간 + 3.0% KCl3 48시간	32	60	84	92	92
	초음파 36.3Khz 1시간 + 3.0% NaCl3 48시간	48	71	80	93	93
	초음파 36.3Khz 1시간 + 3.0% NaNo3 48시간	69	83	94	97	97

- 선별된 대목용박 종자 프라이밍 처리 조건의 저장성 검정
 - **(초음파 및 시약 처리 종자 저장성 1)** 대목B 종자의 프라이밍 효과가 컸던 초음파 + 시약군(KCl 100mM 24h + 17.1Khz 1h) 및 처리 종자와 나중자를 저장조건별 6개월 동안 저장한 후에 각 조건별 일별 정상묘출현율과 최종발아율을 조사하였다(표 23).
 - 7일차 일별 정상묘출현율에 있어서 모든 조건에서 초음파 + 시약군이 나중자에 비해 유의하게 높은 것으로 나타났으며, 최종발아율은 모든 저장 조건에서 나중자와 처리구간에 통계적인 차이가 없는 것으로 나타났다.
 - 프라이밍 처리 종자의 경우 저장 온도별·용기별 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 통계적인 차이가 없는 것으로 나타났으나 저장 온도가 높을수록 일별 정상묘출현율 및 최종발아율이 다소 낮은 경향으로 조사되었다.
 - **(초음파 및 시약 처리 종자 저장성 2)** 대목C 종자의 프라이밍 효과가 컸던 초음파 + 시약군(36.3Khz 30분 + 0.1% NaNo3 24h) 및 처리 종자와 나중자를 저장조건별 6개월 동안 저장한 후에 각 조건별 일별 정상묘출현율과 최종발아율을 조사하였다(표 24).
 - 5일차 일별 정상묘출현율 및 최종발아율에 있어서 모든 조건에서 초음파 + 시약군이 나중자에 비해 유의하게 높은 것으로 나타났다.
 - 프라이밍 처리 종자의 경우 저장 온도별·용기별 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 통계적인 차이가 없는 것으로 나타났고, 대목C 프라이밍 처리 종자는 저장 온도별·용기별로 일별 정상묘출현율 및 최종발아율 조사 결과, 온도는 낮을수록, 용기는 마대보다는 알루미늄진공팩 또는 캔포장에서 일별 정상묘출현율 및 최종발아율이 높은 것으로 조사되었다.

표 23. 대목용박B 종자의 프라이밍(초음파+시약) 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나종자				t-test A vs C	t-test B vs D
			GR at 7d(A)	GR at 14d(B)	GR at 7d(C)	GR at 14d(D)		
대목 용박B 종자 (6개월 저장)	5	마대	40±3.3	93±3.8	66±6.9	98±4.0	**	NS
		알루미늄	45±6.8	95±3.8	67±5.0	97±3.8	**	NS
		캔포장	37±8.9	92±3.3	66±8.7	94±2.3	**	NS
	15	마대	36±9.8	94±3.3	64±3.3	95±2.0	**	NS
		알루미늄	45±8.5	92±5.5	69±3.8	93±2.0	**	NS
		캔포장	27±8.0	90±2.3	59±9.4	95±5.0	**	NS
	상온	마대	28±8.8	89±3.8	60±12.6	93±5.0	**	NS
		알루미늄	36±7.3	89±5.0	62±6.9	93±3.8	**	NS
		캔포장	43±6.9	90±5.2	57±9.4	91±5.0	*	NS
	온도		NS	NS	NS	NS		
	용기		NS	** (0.002)	NS	NS		
	온도X용기		NS	NS	NS	NS		

* : 0.01 ≤ P ≤ 0.05, ** : P ≤ 0.01

표 24. 대목용박C 종자의 프라이밍(초음파+시약) 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나종자				t-test A vs C	t-test B vs D
			36.3Khz 30분 + 0.1% NaNo3 24h					
			GR at 5d(A)	GR at 14d(B)	GR at 5d(C)	GR at 14d(D)		
대목 용박C 종자 (6개월 저장)	5	마대	28±0.0	85±3.1	83±4.2	99±1.2	**	**
		알루미늄	27±6.4	85±5.8	86±3.4	99±1.2	**	**
		캔포장	27±2.3	88±5.3	75±3.2	99±1.3	**	**
	15	마대	26±3.5	76±4.0	80±2.0	97±2.3	**	**
		알루미늄	25±4.6	81±4.6	83±4.6	100±0.0	**	**
		캔포장	21±1.2	87±7.6	83±2.3	99±1.2	**	**
	상온	마대	3±1.2	65±8.3	27±3.1	93±3.1	**	**
		알루미늄	21±3.1	83±6.4	75±3.1	99±1.2	**	**
		캔포장	15±2.3	85±8.3	63±2.8	99±1.2	*	**
		온도	** (0.000)	* (0.037)	** (0.000)	* (0.013)		
		용기	* (0.009)	* (0.003)	** (0.000)	* (0.002)		
		온도X용기	** (0.000)	NS	** (0.000)	* (0.011)		

* : 0.01 ≤ P ≤ 0.05, ** : P ≤ 0.01

(7) 멜론종자 최적 프라이밍 처리 조건 선발

○ 멜론 종자의 초음파 처리 효과 검정

- (초음파 및 시약 처리) 멜론D 종자의 발아 촉진을 위한 priming 처리 방법으로 여러 가지 시약(KCl, NaCl, NaNO₃, KNO₃, PEG6000, PEG8000)별 여러 농도를 사용하여 일별 정상묘 출현율 및 최종발아율을 조사하였다(표 24).
- 모든 처리군의 최종발아율은 나종자와 차이가 없었고, 4일차 정상묘일별 정상묘출현율이 나종자에 비해 증가한 것으로 나타났다. 프라이밍 효과가 나타났던 KCl, NaCl, 및 KNO₃와 초음파를 혼용처리 한 결과 나종자에 비해 5일차 일별 정상묘출현율이 증가된 것으로 나타났다(표 25). 각 시약 및 초음파 혼용처리군에서 초음파 처리시간에 따른 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 유의한 차이가 나지 않는 것으로 나타났다.

표 24. 멜론D 종자의 프라이밍 처리 효과

로트	처리조건	4일차	5일차	6일차	7일차	8일차
멜론D	나종자	33 e	71 bc	88a a	94a a	95a a
	KCL 50mM 24h	64 ab	81 ab	90a a	94a a	95a a
	KCL 200mM 24h	63 ab	86 a	94a a	95a a	96a a
	NaCl 150mM 24h	63 ab	76 ab	82a a	85a a	88a a
	NaCl 200mM 24h	64 ab	81 ab	90a a	93a a	94a a
	KNO ₃ 100mM 24h	71 a	86 a	93a a	95a a	96a a
	KNO ₃ 200mM 24h	67 ab	87 a	91a a	93a a	95a a
	NaNO ₃ 150mM 24h	58 bc	76 ab	84a a	88a a	91a a
	NaNO ₃ 200mM 24h	59 bc	77 ab	84a a	88a a	92a a
	PEG6000 3% 24h	53 bc	75 ab	83a a	88a a	91a a
	PEG6000 5% 24h	46 cd	79 ab	89a a	93a a	94a a
	PEG8000 3% 24h	55 bc	76 ab	83a a	87a a	90a a
	PEG8000 5% 24h	40 d	56 c	63b b	69b b	72b b

* : Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

표 25. 멜론D 종자의 프라이밍 처리 및 혼용처리 효과

로트	처리조건	4일차	5일차	6일차	7일차	8일차
멜론D	나종자	41 c	80 b	90 a	92 a	92 a
	초음파 17.1Khz 30m + Nacl 200mM 24h	46 bc	90 a	94 a	94 a	94 a
	초음파 17.1Khz 1h + Nacl 200mM 24h	46 bc	89 a	91 a	92 a	92 a
	초음파 17.1Khz 30m + KNO ₃ 100mM 24h	53 ab	88 a	91 a	91 a	91 a
	초음파 17.1Khz 1h + KNO ₃ 100mM 24h	52 ab	90 a	93 a	93 a	93 a
	초음파 17.1Khz 30m + KCl 200mM 24h	47 bc	92 a	94 a	94 a	94 a
	초음파 17.1Khz 1h + KCl 200mM 24h	51 ab	90 a	93 a	93 a	93 a

* : Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

- (초음파 및 시약 처리) 멜론A의 프라이밍 최적 조건을 선정하기 위하여 ISTA 규정에 따라 일별 정상묘출현율 및 발아율 조사를 수행하였다(표 26).
- 멜론 나종자 및 처리종자의 경우 치상 후 4일차까지는 정상묘출현율이 0%였고, 정상묘는 모든 처리구에서 치상 후 5일차부터 출현하였다. [초음파+수화] 혼용 프라이밍 처리 시 모든 조건에서 나종자에 비해 일별 정상묘출현율이 증가하는 경향을 보였고, [초음파+시약] 혼용 프라이밍 처리의 경우, 몇몇 조건은 나종자와 5일차 정상묘출현율이 나종자와 유의한 차이를 보이지 않았지만, 대부분의 조건에서 나종자의 정상묘출현율이 나종자에 비해 유의하게 증가하는 경향을 보였다. 프라이밍 처리가 가장 효과적인 조건은 [초음파 30분 + 3.0% KNO₃ 24시간] 으로 5일차 가장 높은 정상묘출현율을 보였다.

표 26. 멜론A 프라이밍 조건별 일별 정상묘출현율 및 최종발아율

품목	처리조건	정상묘출현율(%)			
		5일차	6일차	7일차	8일차
멜론A	무처리(나종자)	54	80	90	92
	초음파 36.3Khz 30분 + 물 24시간	75	84	89	90
	초음파 36.3Khz 1시간 + 물 24시간	65	79	82	84
	초음파 36.3Khz 30분 + 물 48시간	66	78	81	83
	초음파 36.3Khz 1시간 + 물 48시간	68	82	88	89
	초음파 36.3Khz 30분 + 0.1% KNo3 24시간	71	85	88	90
	초음파 36.3Khz 30분 + 0.1% KCl3 24시간	68	81	86	88
	초음파 36.3Khz 30분 + 0.1% NaCl3 24시간	62	79	86	91
	초음파 36.3Khz 30분 + 0.1% NaNo3 24시간	62	80	89	92
	초음파 36.3Khz 30분 + 3.0% KNo3 24시간	79	85	89	92
	초음파 36.3Khz 30분 + 3.0% KCl3 24시간	65	82	84	86
	초음파 36.3Khz 30분 + 3.0% NaCl3 24시간	58	74	87	90
	초음파 36.3Khz 30분 + 3.0% NaNo3 24시간	44	65	83	87
	초음파 36.3Khz 1시간 + 0.1% KNo3 24시간	71	83	85	87
	초음파 36.3Khz 1시간 + 0.1% KCl3 24시간	64	73	82	86
	초음파 36.3Khz 1시간 + 0.1% NaCl3 24시간	63	78	88	91
	초음파 36.3Khz 1시간 + 0.1% NaNo3 24시간	61	79	89	93
	초음파 36.3Khz 1시간 + 3.0% KNo3 24시간	76	83	87	91
	초음파 36.3Khz 1시간 + 3.0% KCl3 24시간	69	80	83	85
	초음파 36.3Khz 1시간 + 3.0% NaCl3 24시간	59	77	86	90
	초음파 36.3Khz 1시간 + 3.0% NaNo3 24시간	51	71	83	89
	초음파 36.3Khz 30분 + 0.1% KNo3 48시간	68	88	94	95
	초음파 36.3Khz 30분 + 0.1% KCl3 48시간	67	82	88	90
	초음파 36.3Khz 30분 + 0.1% NaCl3 48시간	74	80	87	91
	초음파 36.3Khz 30분 + 0.1% NaNo3 48시간	62	76	83	85
	초음파 36.3Khz 30분 + 3.0% KNo3 48시간	78	84	87	90
	초음파 36.3Khz 30분 + 3.0% KCl3 48시간	69	83	92	93
	초음파 36.3Khz 30분 + 3.0% NaCl3 48시간	67	74	86	89
	초음파 36.3Khz 30분 + 3.0% NaNo3 48시간	42	59	75	83
	초음파 36.3Khz 1시간 + 0.1% KNo3 48시간	59	80	86	92
	초음파 36.3Khz 1시간 + 0.1% KCl3 48시간	58	77	81	85
	초음파 36.3Khz 1시간 + 0.1% NaCl3 48시간	67	79	84	88
	초음파 36.3Khz 1시간 + 0.1% NaNo3 48시간	62	81	89	93
	초음파 36.3Khz 1시간 + 3.0% KNo3 48시간	69	75	83	85
	초음파 36.3Khz 1시간 + 3.0% KCl3 48시간	63	84	89	91
	초음파 36.3Khz 1시간 + 3.0% NaCl3 48시간	54	74	81	85
초음파 36.3Khz 1시간 + 3.0% NaNo3 48시간	33	58	75	84	

- 선별된 멜론 종자 프라이밍 처리 조건의 저장성 검증
 - **(시약 처리 종자 저장성)** 멜론D 종자의 프라이밍 효과가 컸던 시약군(KNO₃ 100mM 24h, KCl 200mM 24h) 종자와 나종자를 저장조건별로 6개월 및 12개월 동안 저장한 후 각 조건별 일별 정상묘출현율과 최종발아율을 조사하였다(표 27).
 - 나종자 및 모든 프라이밍 처리구의 일별 정상묘출현율은 저장 온도 및 용기와 밀접한 연관이 있는 것으로 나타났으며, 최종발아율은 나종자 및 모든 처리구에서 온도 및 용기, 용기·온도 교호작용이 없는 것으로 나타났다.
 - 저장 전 나종자와 프라이밍 처리구간 일별 정상묘출현율이 유의한 차이를 보인 것과 같이 저장 12개월 후에서도 나종자와 프라이밍 처리구간에 일별 정상묘출현율은 유의한 차이를 보이는 것으로 조사되었다. 멜론D 종자에 KNO₃ 100mM 24h 및 KCl 200mM 24h 처리는 [상온/마대]조건을 제외 하고는 다른 온도 및 용기 조건 하에서는 저장 후 12개월까지 최종발아율에는 영향을 미치지 않고 프라이밍 효과를 지속되는 것으로 사료되어진다.
 - **(초음파 및 시약 처리 종자 저장성 1)** 멜론D 종자의 프라이밍 혼용 처리 효과가 컸던 처리(초음파 17.1Khz 30m + KNO₃ 100mM 24h) 종자와 나종자를 저장 조건별로 6개월 및 12개월 동안 저장한 후에 각 조건별 일별 정상묘출현율과 최종발아율을 조사하였다(표 28).
 - 4일차 일별 정상묘출현율에 있어서 저장 후 6개월은 상온 조건을 제외하고는 용기 상관없이 나종자에 비해 여전히 프라이밍 처리 종자가 높은 것으로 나타났으나, 저장 후 12개월에서는 [5°C/마대] 및 [5°C/알루미늄진공팩] 조건에서만 프라이밍 효과가 있는 것으로 나타났다. 반면에 최종발아율은 저장 기간, 온도 및 용기에 상관없이 모든 조건에서 나종자와 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다.
 - **(초음파 및 시약 처리 종자 저장성 2)** 멜론A 종자의 프라이밍 효과가 컸던 초음파 + 시약군(초음파 36.3Khz 1시간 + 3.0% KNO₃ 24시간) 및 처리 종자와 나종자를 저장 조건별 6개월 및 12개월 동안 저장한 후에 각 조건별 일별 정상묘출현율과 최종발아율을 조사하였다(표 29).
 - 5일차 일별 정상묘출현율 및 최종발아율에 있어 모든 조건에서 프라이밍 처리 종자가 나종자에 비해 유의하게 높은 것으로 나타났다. 프라이밍 처리 종자의 경우 저장 온도는 정상묘출현율에 유의미한 영향을 미치는 반면 용기는 영향이 없는 것으로 나타났고, 최종발아율에는 저장 조건별로 차이가 나지 않는 것으로 나타났다. 다만 상온 저장 시 저장 용기를 마대로 사용할 경우에는 최종발아율을 감소시키는 주요 요인으로 작용하는 것을 알 수 있었다.

표 27. 멜론D 종자의 프라이밍(시약) 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나종자		KNO3 100mM		KCL 200mM		Duncan Analysis A vs C vs E	Duncan Analysis B vs D vs F
			GR at 5d(A)	GR at 8d(B)	GR at 5d(C)	GR at 8d(D)	GR at 5d(E)	GR at 8d(F)		
멜론D 종자 (6개월 저장)	5	마대	24±7.7	96±1.6	49±5.0	95±3.5	42±5.3	93±5.5	Ab, Ba, Ca	NS
		알루미늄	27±5.0	95±2.6	47±8.7	95±3.0	43±6.6	92±4.3	Ab, Ba, Ca	NS
		캔포장	25±2.0	96±3.7	43±9.3	95±3.4	42±1.6	90±5.7	Ab, Ba, Ca	NS
	15	마대	24±9.4	94±6.3	38±6.3	96±1.6	45±9.1	92±2.3	Ab, Bab, Ca	NS
		알루미늄	23±5.3	95±1.2	44±8.4	95±1.0	42±4.4	91±4.2	Ab, Ba, Ca	NS
		캔포장	20±0.5	94±4.3	39±9.6	91±1.9	46±6.7	93±3.4	Ab, Ba, Ca	NS
	상온	마대	8±2.6	91±3.4	2±1.9	85±5.7	6±3.3	88±0.5	NS	NS
		알루미늄	17±2.2	89±2.6	37±4.1	93±3.0	37±3.4	91±4.2	Ab, Ba, Ca	NS
		캔포장	22±5.8	95±6.4	37±3.8	92±2.8	40±4.9	93±1.9	Ab, Ba, Ca	NS
	온도		**	NS	**	*	**	NS		
	용기		NS	NS	**	NS	**	NS		
	온도X용기		NS	NS	**	NS	**	NS		
멜론D 종자 (12개월 저장)	5	마대	25±3.4	86±8.7	45±7.7	85±4.4	41±2.6	86±9.1	Ab, Ba, Ca	NS
		알루미늄	25±4.4	94±4.3	46±10.2	89±4.8	45±2.5	88±1.0	Ab, Ba, Ca	NS
		캔포장	25±6.0	90±5.7	43±10.7	85±6.6	43±7.4	89±1.9	Ab, Ba, Ca	NS
	15	마대	23±4.3	92±3.4	40±8.1	86±5.5	41±6.0	88±4.3	Ab, Ba, Ca	NS
		알루미늄	24±3.8	93±2.6	34±4.3	86±3.3	40±3.3	90±5.2	Ab, Ba, Ca	NS
		캔포장	29±3.7	89±5.0	40±5.2	89±5.0	40±3.7	87±2.5	Ab, Ba, Ca	NS
	상온	마대	14±5.7	86±2.8	1±2.0	60±6.9	5±3.4	64±5.9	Aa, Bb, Cb	Aa, Bb, Cb
		알루미늄	8±3.4	86±6.2	36±3.8	86±7.1	29±5.3	84±2.3	Ab, Ba, Ca	NS
		캔포장	18±5.7	89±5.0	31±6.2	86±1.9	35±6.0	86±5.5	Ab, Ba, Ca	NS
	온도		**	NS	*		**	NS		
	용기		*	NS	*	NS	**	NS		
	온도X용기		NS	NS	**	NS	**	NS		

^a: Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

* : 0.01≤P≤0.05, ** : P≤0.01

표 28. 멜론D 종자의 프라이밍(초음파 + 시약) 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나중자		초음파 17.1Khz 1h + KNO3 100mM 24h		t-test A vs C	t-test B vs D
			GR at 4d(A)	GR at 8d(B)	GR at 4d(C)	GR at 8d(D)		
멜론D 종자 (6개월 저장)	5	마대	23±9.1	84±2.8	33±8.7	79±4.3	*	NS
		알루미늄	21±6.2	92±3.3	33±7.5	89±1.9	*	NS
		캔포장	16±7.5	85±6.6	39±2.6	87±4.3	*	NS
	15	마대	23±5.3	86±4.0	30±9.5	89±3.3	*	NS
		알루미늄	17±4.7	88±2.5	26±4.3	90±4.3	*	NS
		캔포장	18±4.7	85±4.1	32±5.9	89±1.2	*	NS
	상온	마대	24±6.9	86±11.6	18±5.9	86±6.2	NS	NS
		알루미늄	16±1.0	88±5.4	13±4.0	93±4.2	NS	NS
		캔포장	19±4.4	82±1.0	24±7.6	92±5.5	NS	NS
	온도		NS	NS	**	NS		
	용기		*	NS	*	NS		
	온도X용기		NS	NS	NS	NS		
멜론D 종자 (12개월 저장)	5	마대	6±3.7	86±5.7	20±4.3	86±7.8	**	NS
		알루미늄	12±4.4	86±2.5	19±2.6	90±2.8	*	NS
		캔포장	16±6.3	85±6.0	19±7.5	91±4.3	NS	NS
	15	마대	24±6.6	82±5.4	13±5.0	85±2.6	NS	NS
		알루미늄	17±6.6	83±3.4	9±4.4	91±1.9	NS	*
		캔포장	16±4.3	87±3.5	20±2.3	86±3.7	NS	NS
	상온	마대	8±5.7	69±3.0	1±1.0	66±6.9	*	NS
		알루미늄	9±2.6	80±4.4	0±0.0	79±4.2	**	NS
		캔포장	12±4.3	81±4.2	8±3.3	87±1.0	NS	NS
	온도		** (0.000)	*	**	*		
	용기		NS	*	**	*		
	온도X용기		*	*	*	*		

* : 0.01 ≤ P ≤ 0.05, ** : P ≤ 0.01

표 29. 멜론A 종자의 프라이밍(초음파 + 시약) 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나중자				t-test A vs C	t-test B vs D
			초음파 36.3Khz 1h + 0.3% KNO3 24h					
			GR at 5d(A)	GR at 8d(B)	GR at 5d(C)	GR at 8d(D)		
멜론A 종자 (6개월 저장)	5	마대	39±3.3	88±3.8	65±1.9	80±3.8	**	NS
		알루미늄	33±1.9	80±3.0	62±9.4	85±2.0	**	NS
		캔포장	35±4.8	80±5.9	67±4.4	87±9.3	**	NS
	15	마대	35±9.0	79±5.1	58±6.0	81±6.0	**	NS
		알루미늄	36±2.3	75±5.2	59±8.2	84±5.3	**	*
		캔포장	38±5.4	81±6.0	57±3.4	82±6.4	**	NS
	상온	마대	38±7.0	82±6.0	54±2.5	81±1.2	**	NS
		알루미늄	32±6.2	77±4.1	61±4.4	83±6.6	**	*
		캔포장	38±3.5	82±7.0	60±4.9	87±4.4	**	NS
	온도			NS	NS	*	NS	
	용기			NS	NS	NS	NS	
	온도X용기			NS	NS	NS	NS	
멜론A 종자 (12개월 저장)	5	마대	35±4.8	81±7.6	62±6.7	82±7.5	**	NS
		알루미늄	39±1.9	83±3.6	62±6.6	84±6.8	**	NS
		캔포장	38±5.8	77±5.0	62±1.0	83±7.4	**	NS
	15	마대	30±9.0	81±2.5	54±4.1	83±5.7	**	NS
		알루미늄	33±8.7	83±8.2	60±4.9	87±4.4	**	NS
		캔포장	38±4.1	79±4.7	62±3.4	85±5.0	**	NS
	상온	마대	12±2.5	68±4.7	25±4.4	70±7.3	**	NS
		알루미늄	34±4.2	83±5.3	61±3.5	82±6.8	**	NS
		캔포장	36±8.6	85±6.6	55±2.0	80±1.9	**	NS
	온도			NS	NS	*	NS	
	용기			**	NS	NS	NS	
	온도X용기			NS	NS	NS	NS	

* : 0.01 ≤ P ≤ 0.05, ** : P ≤ 0.01

(8) 오이종자 최적 프라이밍 처리 조건 선발

○ 오이 종자의 초음파 처리 효과 검정

- (초음파 및 시약 처리) 오이A 종자의 발아 촉진을 위한 priming 처리 방법으로 여러 가지 시약(KCl, NaCl, NaNO₃, KNO₃, , PEG6000, PEG8000)별 여러 농도를 사용하여 일별 정상묘출현율 및 최종발아율을 조사하였다(표 30).
- 모든 처리군의 최종발아율은 나종자와 차이가 없었고, 일별 정상묘 출현율이 증가한 것으로 나타났다. 프라이밍 효과가 좋았던 KNO₃ 100mM과 PEG800 3.0%를 초음파를 혼용처리 한 결과, 나종자에 비해 일별 정상묘출현율이 증진된 것으로 나타났다(표 31).
- 각 시약 및 초음파 혼용 처리군에서 초음파 처리시간을 30분과 1시간 처리하였을 때 모든 시약군에서 초음파 처리시간 30분과 1시간 간에는 일별 정상묘출현율과 최종발아율에서 통계적인 차이가 없는 것으로 조사되었다.
- (초음파 및 시약 처리) 제2협동에서 제공한 오이B의 프라이밍 최적 조건을 선정하기 위하여 ISTA 규정에 따라 일별 정상묘출현율 및 발아율 조사를 수행하였다(표 32). 오이 나종자 및 처리 종자의 경우 치상 후 4일차까지는 정상묘출현율이 0%였고, 정상묘는 모든 처리구에서 치상 후 5일차부터 출현하였다.
- [초음파+수화] 및 몇몇의 [초음파+수화] 혼용처리 조건에서 최종발아율은 나종자와 유의한 차이가 없고 일별 정상묘출현율이 증가하는 것으로 조사되었다. 프라이밍 처리가 가장 효과적인 조건은 [초음파 36.3Khz 1시간 + 3.0% KCl 24시간] 조건이 5일차 가장 높은 정상묘출현율을 보였다.

표 30. 오이A 종자의 프라이밍 처리 효과

로트	처리조건	4일차	5일차	6일차	7일차	8일차
오이A	나종자	0 h	20 d	76 c	92 a	94 a
	Water 24h	9 gh	72 c	87 b	92 a	93 a
	KCL 50mM 24h	14 fg	73 bc	90 ab	93 a	94 a
	KCL 100mM 24h	16 efg	76 abc	88 ab	92 a	94 a
	NaCl 150mM 24h	28 bcd	80 abc	90 ab	92 a	93 a
	NaCl 200mM 24h	25 cdef	82 abc	93 ab	94 a	97 a
	KNO ₃ 10mM 24h	27 bcd	82 abc	92 ab	93 a	94 a
	KNO ₃ 100mM 24h	37 abc	85 ab	90 ab	91 a	92 a
	NaNO ₃ 50mM 24h	32 abc	79 abc	90 ab	93 a	95 a
	NaNO ₃ 100mM 24h	42 a	86 a	94 a	95 a	96 a
	PEG6000 0.3% 24h	22 def	77 abc	92 ab	93 a	94 a
	PEG6000 0.5% 24h	10 gh	75 abc	89 ab	92 a	93 a
	PEG8000 1.0% 24h	25 cdef	81 abc	91 ab	94 a	96 a
	PEG8000 3.0% 24h	38 ab	83 abc	93 ab	95 a	96 a

* : Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

표 31. 오이A 종자의 프라이밍 처리 및 혼용처리 효과

로트	처리조건	4일차	5일차	6일차	7일차	8일차
	나종자	0 c	35 c	79 c	88 b	92 a
오이A	초음파 PEG8000 24h	12 b	71 b	85 bc	90 ab	90 a
	초음파 24h	17 b	77 b	86 ab	91 ab	91 a
	초음파 24h	24 a	88 a	93 a	96 a	96 a
	초음파 24h	19 b	81 ab	92 a	94 ab	94 a

* : Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

○ 선별된 오이 종자 프라이밍 처리 조건의 저장성 검증

- (시약 처리 종자 저장성) 오이A 종자의 프라이밍 효과가 컸던 시약군(KNO₃ 100mM 24h, NaCl 200mM 24h, KCl 200mM 24h) 처리 종자와 나종자를 저장조건별로 6개월 동안 저장한 후에 각 조건별 일별 정상묘출현율과 최종발아율을 조사하였다(표 33).
- 나종자는 처상 후 5일째의 일별 정상묘출현율은 저장 온도 및 용기에 따라 차이가 있는 것으로 나타났다. 나종자의 최종발아율은 대부분의 저장 조건에서 저장 전 나종자의 최종발아율과도 차이가 없는 것으로 나타났다.
- 프라이밍 처리 종자는 [상온/마대]조건을 제외한 모든 저장 조거에서 일별 정상묘출현율이 증가된 것을 확인 할 수 있었으며 특히 KNO₃ 100mM 처리구는 종자보다 일별 정상묘출현율이 크게 증가된 것을 볼 수 있다. 이러한 결과는 KNO₃ 100mM 프라이밍 처리 종자는 상온 조건에서라도 알루미늄진공팩이나 캔포장으로 저장을 할 경우 전에 프라이밍 처리의 효과가 지속되어 종자의 활력을 6개월까지는 유지시킨다는 것으로 사료된다.
- (초음파 및 시약 처리 종자 저장성 1) 오이A 종자의 프라이밍 혼용 처리 효과가 컸던 처리(17.1Khz 1h + KNO₃ 24h) 종자와 나종자를 저장조건별로 6개월 및 12개월 동안 저장한 후에 각 조건별 일별 정상묘출현율과 최종발아율을 조사하였다(표 34).
- 저장 기간 및 저장 조건에 관계없이 프라이밍 처리 종자의 5일차 일별 정상묘출현율은 나종자에 비해 통계적으로 높은 것으로 나타났고, 최종발아율은 차이가 없는 것으로 나타났다. 오이A 프라이밍 처리 종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 조정 용기 및 온도에 영향을 많이 받는 것으로 나타났는데, 온도가 낮은 조건에서는 용기에 상관없이 높은 정상묘출현율과 최종발아율에 영향을 미치지 않았지만, 온도가 낮은 조건에서 마대에 저장했을 경우에 일별 정상묘출현율과 최종발아율이 크게 감소되는 것을 확인할 수 있었다.
- (초음파 및 시약 처리 종자 저장성 2) 오이B 종자의 프라이밍 효과가 컸던 초음파 + 시약군(초음파 36.3Khz 1시간 + 3.0% KCl 24시간) 및 처리 종자와 나종자를 저장

조건별로 6개월 및 12개월 동안 저장한 후에 각 조건별 일별 정상묘출현율과 최종발아율을 조사하였다(표 35).

- 최종발아율에 있어서 저장 기간에 상관없이 모든 조건에서 프라이밍 처리 종자와 나종자 간에는 통계적인 차이를 보이지 않는 것으로 나타났다. 5일차 정상묘출현율은 저장 기간에 따라 약간 차이를 보였는데, 6개월 저장 후 5일차 정상묘출현율은 5℃ 및 15℃에 저장 시 용기에 상관없이 프라이밍 처리 효과가 지속되는 것으로 나타났지만, 12개월 저장 후 5일차 정상묘출현율은 5℃에서 알루미늄진공팩과 캔포장에 저장했을 경우에만 프라이밍 처리 효과가 지속되는 것으로 나타났다.
- 나종자와 프라이밍 처리 종자의 최종발아율은 저장 조건별 통계적 차이가 없는 것으로 나타난 반면, 일별 정상묘출현율은 저장 조건별 유의한 차이를 보이며 저장 온도 및 용기 간에 교호작용이 있는 것으로 조사되었다.

표 32. 오이B 프라이밍 조건별 일별 정상묘출현율 및 최종발아율

품목	처리조건	정상묘출현율(%)			
		5일차	6일차	7일차	8일차
	무처리(나종자)	74	96	97	97
	초음파 36.3Khz 30분 + 물 24시간	89	96	98	99
	초음파 36.3Khz 1시간 + 물 24시간	87	95	96	97
	초음파 36.3Khz 30분 + 물 48시간	72	91	95	96
	초음파 36.3Khz 1시간 + 물 48시간	81	92	95	97
	초음파 36.3Khz 30분 + 0.1% KNO ₃ 24시간	43	96	98	99
	초음파 36.3Khz 30분 + 0.1% KCl ₃ 24시간	51	93	98	98
	초음파 36.3Khz 30분 + 0.1% NaCl ₃ 24시간	40	96	98	99
	초음파 36.3Khz 30분 + 0.1% NaNO ₃ 24시간	58	95	99	99
	초음파 36.3Khz 30분 + 3.0% KNO ₃ 24시간	67	96	98	98
	초음파 36.3Khz 30분 + 3.0% KCl ₃ 24시간	50	95	98	98
	초음파 36.3Khz 30분 + 3.0% NaCl ₃ 24시간	57	93	97	98
	초음파 36.3Khz 30분 + 3.0% NaNO ₃ 24시간	18	84	95	97
	초음파 36.3Khz 1시간 + 0.1% KNO ₃ 24시간	79	95	98	99
	초음파 36.3Khz 1시간 + 0.1% KCl ₃ 24시간	89	97	99	100
	초음파 36.3Khz 1시간 + 0.1% NaCl ₃ 24시간	83	96	99	99
	초음파 36.3Khz 1시간 + 0.1% NaNO ₃ 24시간	87	96	98	99
	초음파 36.3Khz 1시간 + 3.0% KNO ₃ 24시간	87	96	99	99
오이	초음파 36.3Khz 1시간 + 3.0% KCl ₃ 24시간	91	99	99	100
	초음파 36.3Khz 1시간 + 3.0% NaCl ₃ 24시간	85	95	98	98
	초음파 36.3Khz 1시간 + 3.0% NaNO ₃ 24시간	61	97	98	98
	초음파 36.3Khz 30분 + 0.1% KNO ₃ 48시간	26	78	90	92
	초음파 36.3Khz 30분 + 0.1% KCl ₃ 48시간	53	83	92	94
	초음파 36.3Khz 30분 + 0.1% NaCl ₃ 48시간	51	87	94	98
	초음파 36.3Khz 30분 + 0.1% NaNO ₃ 48시간	35	88	97	99
	초음파 36.3Khz 30분 + 3.0% KNO ₃ 48시간	57	91	95	97
	초음파 36.3Khz 30분 + 3.0% KCl ₃ 48시간	68	97	98	99
	초음파 36.3Khz 30분 + 3.0% NaCl ₃ 48시간	52	93	97	98
	초음파 36.3Khz 30분 + 3.0% NaNO ₃ 48시간	0	6	79	89
	초음파 36.3Khz 1시간 + 0.1% KNO ₃ 48시간	40	90	98	100
	초음파 36.3Khz 1시간 + 0.1% KCl ₃ 48시간	61	90	97	99
	초음파 36.3Khz 1시간 + 0.1% NaCl ₃ 48시간	60	90	99	99
	초음파 36.3Khz 1시간 + 0.1% NaNO ₃ 48시간	48	90	96	99
	초음파 36.3Khz 1시간 + 3.0% KNO ₃ 48시간	76	94	96	98
	초음파 36.3Khz 1시간 + 3.0% KCl ₃ 48시간	79	94	96	98
	초음파 36.3Khz 1시간 + 3.0% NaCl ₃ 48시간	66	90	96	97
	초음파 36.3Khz 1시간 + 3.0% NaNO ₃ 48시간	0	15	89	96

표 33. 오이A 종자의 프라이밍(시약) 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나종자		NaNo3 100mM 24h		KNO3 100mM 24h		Duncan Analysis A vs C vs E	Duncan Analysis B vs D vs F
			GR at 5d(A)	GR at 8d(B)	GR at 5d(C)	GR at 8d(D)	GR at 5d(E)	GR at 8d(F)		
오이A 종자 (6개월 저장)	5	마대	45±7.2	94±3.7	61±4.8	88±3.7	75±2.5	94±4.4	Ac , Cb , Ea	NS
		알루미늄	50±5.9	96±3.7	65±6.2	94±7.2	79±3.5	95±1.9	Ac , Cb , Ea	NS
		캔포장	49±5.8	95±2.6	62±3.3	93±1.9	81±4.4	92±4.0	Ac , Cb , Ea	NS
	15	마대	45±2.0	93±5.0	51±6.6	92±5.7	69±7.7	90±7.7	Ab , Cb , Ea	NS
		알루미늄	50±6.3	95±6.2	59±7.4	89±5.8	73±5.8	93±4.8	Ab , Cb , Ea	NS
		캔포장	54±5.7	96±2.8	59±4.7	91±4.1	75±3.4	91±2.5	Ab , Cb , Ea	NS
	상온	마대	24±5.9	86±4.3	1±1.0	37±3.5	0±0.0	38±8.5	Aa , Cb , Ea	Ba , Db , Fb
		알루미늄	18±6.2	80±3.4	46±4.3	93±1.9	62±5.4	96±3.7	Ac , Cb , Ea	Ba , Da , Fa
		캔포장	29±6.6	90±4.7	43±1.0	86±4.6	56±4.7	91±7.6	Ac , Cb , Ea	NS
	온도		** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)		
	용기		*(0.047)	NS	** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)		
	온도X용기		NS	NS	** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)		
오이A 종자 (12개월 저장)	5	마대	40±5.7	94±5.3	48±7.1	93±3.8	57±2.6	88±4.4	Ac , Cb , Ea	Ba , Da , Fb
		알루미늄	51±6.2	97±3.5	56±5.7	95±3.5	67±6.0	96±2.5	Ac , Cb , Ea	NS
		캔포장	51±8.1	94±6.7	50±7.5	93±4.4	64±3.7	91±5.5	Ab , Cb , Ea	NS
	15	마대	41±7.6	95±1.2	44±4.9	91±1.9	56±5.9	95±1.0	Ab , Cb , Ea	NS
		알루미늄	43±5.3	92±5.0	52±6.3	88±1.6	59±4.8	94±1.9	Ac , Cb , Ea	NS
		캔포장	46±6.3	96±2.8	50±5.3	88±6.3	55±6.8	94±1.6	Ab , Cb , Ea	Ba , Db , Fa
	상온	마대	16±8.2	89±5.5	0±0.0	33±3.8	0±0.0	27±3.8	Aa , Cb , Eb	Ba , Db , Fb
		알루미늄	17±1.9	88±4.9	36±5.4	91±2.0	36±3.0	94±4.4	Ab , Ca , Ea	NS
		캔포장	19±2.5	89±3.8	38±2.5	88±4.1	34±4.3	90±7.6	Ab , Ca , Ea	NS
	온도		** (0.000)	** (0.003)	** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)		
	용기		NS	NS	** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)		
	온도X용기		NS	NS	** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)		

^a: Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

* : 0.01 ≤ P ≤ 0.05, ** : P ≤ 0.01

표 34. 오이A 종자의 프라이밍(초음파 + 시약) 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나중자		초음파 17.1Khz 1h + KNO3 24h		t-test A vs C	t-test B vs D
			GR at 5d(A)	GR at 8d(B)	GR at 5d(C)	GR at 8d(D)		
오이A 종자 (6개월 저장)	5	마대	4±1.6	87±3.4	60±9.7	88±8.5	**	NS
		알루미늄	8±1.9	89±1.9	75±8.9	93±1.2	**	NS
		캔포장	8±5.4	88±2.4	74±9.4	93±3.4	**	NS
	15	마대	4±2.8	87±1.2	63±7.7	93±2.5	**	NS
		알루미늄	1±1.0	87±5.0	69±3.4	93±4.4	**	NS
		캔포장	5±4.1	85±5.3	62±7.8	95±3.4	**	NS
	상온	마대	2±1.6	81±4.1	40±6.0	91±3.4	**	NS
		알루미늄	3±1.9	79±2.1	52±2.5	88±8.1	**	NS
		캔포장	1±1.0	82±6.3	48±2.3	91±11.0	**	NS
	온도		** (0.001)	** (0.000)	** (0.000)	NS		
	용기		NS	NS	** (0.002)	NS		
	온도X용기		NS	NS	NS	NS		
오이A 종자 (12개월 저장)	5	마대	1±1.2	82±2.8	58±3.4	94±1.6	**	NS
		알루미늄	3±2.6	82±7.5	55±3.8	89±4.2	**	NS
		캔포장	1±1.0	79±2.5	59±5.5	91±2.5	**	NS
	15	마대	1±1.0	83±1.9	52±10.0	93±5.0	**	NS
		알루미늄	1±1.0	69±6.2	45±9.6	93±4.4	**	NS
		캔포장	3±1.0	76±5.7	47±6.6	93±3.4	**	NS
	상온	마대	0±0.0	55±1.2	2±1.9	71±5.7	**	NS
		알루미늄	0±0.0	23±2.6	13±3.0	82±2.8	**	NS
		캔포장	1±1.2	72±6.2	38±2.8	91±3.8	**	NS
	온도		NS	** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)		
	용기		NS	** (0.000)	** (0.000)	** (0.005)		
	온도X용기		*(0.014)	** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)		

* : 0.01 ≤ P ≤ 0.05, ** : P ≤ 0.01

표 35. 오이B 종자의 프라이밍(초음파 + 시약) 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나중자		초음파 17.1Khz 1h + KNO3 24h		t-test A vs C	t-test B vs D
			GR at 5d(A)	GR at 8d(B)	GR at 5d(C)	GR at 8d(D)		
오이B 종자 (6개월 저장)	5	마대	53±1.9	97±2.6	65±3.4	99±1.2	**	NS
		알루미늄	62±1.0	98±0.0	73±1.9	99±1.9	**	NS
		캔포장	53±4.4	100±1.0	68±4.1	99±1.9	**	NS
	15	마대	56±4.4	98±1.6	61±6.0	99±1.9	*	NS
		알루미늄	55±3.8	99±2.0	74±1.6	97±4.1	**	NS
		캔포장	57±3.8	98±2.8	66±5.2	99±1.2	**	NS
	상온	마대	52±1.6	97±1.0	60±3.0	98±2.5	NS	NS
		알루미늄	54±4.9	99±1.9	59±1.9	98±3.8	NS	NS
		캔포장	51±1.9	98±1.9	56±2.8	99±1.9	NS	NS
		온도	*	NS	**	NS		
		용기	*	NS	**	NS		
		온도X용기	*	NS	**	NS		
오이B 종자 (12개월 저장)	5	마대	49±2.0	100±0.0	50±5.0	100±2.5	NS	NS
		알루미늄	47±4.2	99±3.0	66±5.9	100±1.0	**	NS
		캔포장	35±3.0	99±1.0	61±4.6	98±0.0	**	NS
	15	마대	43±3.5	98±2.5	48±2.5	96±2.3	NS	NS
		알루미늄	50±1.9	99±1.2	54±4.7	99±1.9	NS	NS
		캔포장	53±4.4	98±1.0	41±6.6	96±4.6	*	NS
	상온	마대	5±1.0	98±3.8	1±1.2	95±2.5	NS	NS
		알루미늄	38±2.8	100±1.0	44±5.9	99±2.0	NS	NS
		캔포장	26±3.3	99±1.2	36±1.6	100±1.0	NS	NS
		온도	**	NS	**	NS		
		용기	**	NS	**	NS		
		온도X용기	**	NS	**	NS		

* : 0.01 ≤ P ≤ 0.05, ** : P ≤ 0.01

(9) 고추종자 최적 프라이밍 처리 조건 선발

○ 고추 종자의 초음파 처리 효과 검정

- (초음파 및 시약 처리) 고추1 종자의 시약(KNO₃ 300mM 4d + KNO₃ 100mM 3d, K₂SO₄ 100mM 6d) 처리군에서 나종자에 비해 일별 정상묘 출현율이 높은 것으로 나타났다(표 36). [KNO₃ 300mM 4d + KNO₃ 100mM 3d] 및 [K₂SO₄ 100mM 6d] 처리구는 9일차에 발아율 약 60%에 도달한 반면, 나종자는 11일차에 60%이상에 도달하는 것으로 나타났다. 또한 초음파와 K₂SO₄ 혼용처리구의 최종발아율에 영향을 미치지 않고 일별 정상묘출현율이 나종자에 비해 유의하게 증가하는 것으로 나타났다(표 36).

표 35. 고추1 종자의 프라이밍 처리 효과

로트	처리조건	7일차	8일차	9일차	10일차	11일차	12일차	14일차
고추1	나종자	0 b	28 b	31 b	51 b	66 a	72 a	72 a
	KNO ₃ 300mM 4d + KNO ₃ 100mM 3d	0 b	53 a	58 a	62 a	66 a	69 a	69 a
	K ₂ SO ₄ 100mM 6d	5 a	49 a	61 a	64 a	66 a	67 a	67 a
	PEG8000 27% 4d	0 b	22 b	31 b	32 c	57 b	66 a	66 a

* : Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

표 36. 고추1 종자의 프라이밍 처리 효과

로트	처리조건	7일차	8일차	9일차	10일차	11일차	12일차	14일차
고추1	나종자	5 b	25 b	66 a	67 a	68 a	69 a	69 a
	초음파 17.1Khz 5m + K ₂ SO ₄ 100mM 4d	24 a	48 a	64 a	64 a	65 a	65 a	65 a

* : Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

○ 선별된 고추 종자 프라이밍 처리 조건의 저장성 검정

- (초음파 및 시약 처리 종자 저장성) 고추1 종자의 프라이밍 효과가 컸던 시약군(KNO₃ 300mM 4d + KNO₃ 100mM 3d, K₂SO₄ 100mM 6days) 처리 종자와 나종자를 저장조건별로 6개월 동안 저장한 후에 각 조건별 일별 정상묘출현율과 최종발아율을 조사하였다(표 37).
- 프라이밍 처리 종자는 [상온/마대] 조건을 제외하고 나종자에 비해 일별 정상묘출현율이 증가된 것으로 나타났으며 최종발아율은 나종자와 유의한 차이를 보이지 않았다. 특히 KNO₃ 300mM 4d + KNO₃ 100mM 3d 처리군은 5℃의 알루미늄진공팩에 보관 할 경우 6개월까지는 종자활력이 높은 상태로 유지하면서 저장이 가능하다고 사료되어진다.

- (초음파 및 시약 처리 종자 저장성) 고추1 종자의 프라이밍 혼용처리 효과가 있던 초음파 + 시약군(초음파 17.1Khz 5m + K2SO4 100mM 4d) 및 처리 종자와 나종자를 저장 조건별로 6개월 및 12개월 동안 저장한 후에 각 조건별 일별 정상묘출현율과 최종발아율을 조사하였다(표 38).
- 최종발아율은 저장 기간에 상관없이 대부분의 조건에서 프라이밍 처리 종자와 나종자 간에는 통계적인 차이를 보이지 않는 것으로 조사되었다. 프라이밍 처리 종자의 8일차 정상묘출현율은 저장 기간에 상관없이 모든 조건에서 나종자에 비해 유의하게 높은 것으로 나타났다. 고추1의 나종자 및 프라이밍 처리종자는 용기에 상관없이 상온에서 저장 시 일별 정상묘출현율과 최종발아율이 5℃ 및 15℃ 조건보다는 감소되는 것으로 나타났고 특히 [상온/마대] 저장 시 가장 크게 감소되는 것을 확인 할 수 있었다.

표 37. 고추1 종자의 프라이밍(시약) 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나종자		KNO ₃ 300mM 4d + KNO ₃ 100mM 3d		K ₂ SO ₄ 100mM 6d		Duncan Analysis A vs C vs E	Duncan Analysis B vs D vs F
			GR at 8d(A)	GR at 14d(B)	GR at 8d(C)	GR at 14d(D)	GR at 8d(E)	GR at 14d(F)		
고추1 종자 (6개월 저장)	5	마대	23±9.1	62±1.9	53±9.4	63±8.2	49±7.0	66±9.4	Ab , Ca , Ea	NS
		알루미늄	32±8.2	73±4.2	58±4.4	68±3.8	58±7.0	74±8.1	Ab , Ca , Ea	NS
		캔포장	30±9.9	74±9.3	60±8.2	67±6.2	59±3.8	70±4.4	Ab , Ca , Ea	NS
	15	마대	23±3.0	70±5.5	55±7.5	71±13.6	54±4.3	66±4.9	Ab , Ca , Ea	NS
		알루미늄	30±1.6	70±4.9	61±7.4	71±9.9	64±8.5	76±3.7	Ab , Ca , Ea	NS
		캔포장	27±7.7	73±3.5	54±5.4	66±8.2	56±7.3	69±6.2	Ab , Ca , Ea	NS
	상온	마대	6±1.6	63±6.8	21±2.6	54±6.7	14±3.4	61±6.6	Ac , Ca , Eb	NS
		알루미늄	13±2.6	62±4.7	50±5.5	62±6.3	59±9.8	73±9.4	Ab , Ca , Ea	NS
		캔포장	15±6.0	71±9.6	47±9.0	60±9.8	43±9.0	67±8.1	Ab , Ca , Ea	NS
	온도		**	NS	**	*	**	NS		
	용기		*	*	**	NS	**	**		
	온도X용기		NS	NS	**	NS	**	NS		

^a: Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

* : 0.01≤P≤0.05, ** : P≤0.01

표 38. 고추1 종자의 프라이밍(초음파 + 시약) 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나중자				t-test A vs C	t-test B vs D	
			초음파 17.1Khz 5m + K2SO4 100mM 4d						
			GR at 8d(A)	GR at 14d(B)	GR at 8d(C)	GR at 14d(D)			
고추1 종자 (6개월 저장)	5	마대	26±5.5	54±9.6	50±4.9	58±8.5	**	NS	
		알루미늄	25±2.6	56±5.9	49±7.9	58±6.3	**	NS	
		캔포장	32±1.0	65±6.2	48±8.5	60±12.6	**	NS	
	15	마대	18±7.2	51±6.8	44±3.7	54±3.4	**	NS	
		알루미늄	27±2.5	55±2.6	53±11.2	64±10.8	**	NS	
		캔포장	27±3.4	55±5.8	51±3.4	59±3.8	**	NS	
	상온	마대	13±5.3	59±3.4	48±6.6	54±6.2	**	NS	
		알루미늄	20±6.7	59±10.5	47±6.9	57±3.0	**	NS	
		캔포장	12±5.9	48±14.9	51±10.6	59±9.9	**	NS	
	온도			** (0.000)	NS	NS	NS		
	용기			* (0.023)	NS	NS	NS		
	온도X용기			* (0.043)	NS	NS	NS		
고추1 종자 (12개월 저장)	5	마대	14±3.3	50±7.4	50±4.4	51±4.4	**		
		알루미늄	18±3.8	49±2.5	42±8.2	51±8.7	**	NS	
		캔포장	18±5.2	47±7.7	50±5.7	54±4.3	**	NS	
	15	마대	14±6.3	52±5.0	52±4.7	56±7.0	**	NS	
		알루미늄	14±5.7	51±5.7	48±10.8	54±9.4	**	NS	
		캔포장	7±3.5	59±8.8	47±8.7	57±11.1	**	NS	
	상온	마대	0±0.0	18±4.1	7±1.9	38±6.6	**	**	
		알루미늄	1±1.0	21±10.1	41±6.4	52±9.1	**	**	
		캔포장	1±1.2	38±2.5	31±8.1	52±7.8	**	*	
	온도			**	**	**	**		
	용기			NS	**	*	NS		
	온도X용기			NS	*	**	*		

* : 0.01 ≤ P ≤ 0.05, ** : P ≤ 0.01

(10) 토마토종자 최적 프라이밍 처리 조건 선발

○ 토마토 종자의 초음파 처리 효과 검정

- (초음파 및 시약 처리) 토마토1 종자의 시약 처리군이 나종자에 비해 최종발아율에 영향을 미치지 않으면서 일별 정상묘 출현율이 높은 것으로 나타났다(표 39).
- 프라이밍 처리 종자는 치상 후 3일차부터 5일차까지의 나종자에 비해 일별 정상묘출현율이 유의하게 높았고, 7일차부터 최종조사일까지 발아율은 나종자와 통계적인 차이가 없는 것으로 나타났다. 초음파와 프라이밍 처리 효과가 좋았던 시약 KNO₃와의 혼용처리구도 최종발아율에 영향을 미치지 않고 일별 정상묘출현율이 증가하는 것으로 나타났다.

표 39. 토마토1 종자의 프라이밍 처리 효과

로트	처리조건	3일차	4일차	5일차	6일차	7일차	8일차	14일차
토마토1	나종자	27 b	53 b	77 b	88 a	89 a	90 a	90 a
	KNO ₃ 100mM 4d	79 a	87 a	89 a	92 a	92 a	92 a	92 a

* : Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

표 40. 토마토1 종자의 프라이밍 처리 효과

로트	처리조건	4일차	5일차	6일차	7일차	8일차	9일차	14일차
토마토1	나종자	13 c	79 b	89 a	91 a	92 a	92 a	92 a
	초음파 5.7Khz 5m + KNO ₃ 100mM 4d	89 a	91 a	92 a	93 a	93 a	93 a	93 a

* : Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

○ 선별된 토마토 종자 프라이밍 처리 조건의 저장성 검정

- (초음파 및 시약 처리 종자 저장성) 토마토1 종자의 프라이밍 혼용처리 효과가 있던 초음파 + 시약(초음파 5.7Khz 5m + KNO₃ 100mM 4d) 처리 종자와 나종자를 저장 조건별로 6개월 및 12개월 동안 저장한 후에 각 조건별 일별 정상묘출현율과 최종발아율을 조사하였다(표 41).
- 프라이밍 처리 종자의 최종발아율은 저장 후 6개월에는 [상온/마대] 조건을 제외하고는 대부분의 조건에서 나종자와 유의한 차이를 보이지 않거나 높은 경향을 보였고, 저장 12개월 후에는 5℃ 및 15℃에서 보관할 경우에는 프라이밍 처리 종자 및 나종자의 최종발아율 간에는 유의한 차이가 없었지만 상온조건에서 보관 시 용기와는 상관없이 모두 나종자에 비해 프라이밍 처리 종자가 통계적으로 낮은 것으로 조사되었다.

표 41. 토마토1 종자의 프라이밍(초음파 + 시약) 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나종자				t-test A vs C	t-test B vs D
			초음파 5.7Khz 5m + KNO3					
			100mM 4d		100mM 4d			
GR at 5d(A)	GR at 14d(B)	GR at 5d(C)	GR at 14d(D)					
토마토 1 종자 (6개월 저장)	5	마대	36±4.4	88±3.7	90±2.8	95±3.4	**	*
		알루미늄	50±7.0	84±5.7	89±5.5	93±5.5	**	NS
		캔포장	42±3.8	85±1.9	86±6.3	90±5.4	**	NS
	15	마대	28±6.2	88±3.5	79±6.6	93±2.8	**	NS
		알루미늄	55±8.7	89±2.8	81±2.6	93±3.4	**	NS
		캔포장	57±5.0	91±4.2	82±4.3	93±3.0	**	NS
	상온	마대	53±5.3	87±4.8	10±1.0	43±8.2	**	**
		알루미늄	59±5.5	89±2.6	69±2.6	90±1.6	*	NS
		캔포장	53±6.4	87±6.2	67±6.2	87±6.0	*	NS
		온도	**	NS	**	**		
		용기	**	NS	**	**		
		온도X용기	**	NS	**	**		
토마토 1 종자 (12개월 저장)	5	마대	37±7.4	87±1.9	78±7.2	91±6.0	**	NS
		알루미늄	46±5.9	86±3.7	85±5.8	94±3.8	**	*
		캔포장	47±6.2	85±3.4	82±6.8	90±2.8	**	NS
	15	마대	25±5.3	83±2.5	74±8.5	87±6.2	**	NS
		알루미늄	51±8.1	89±2.5	69±8.1	92±3.3	**	NS
		캔포장	45±3.5	87±3.8	89±3.8	94±3.4	**	*
	상온	마대	44±2.3	89±4.1	1±1.0	43±8.2	**	**
		알루미늄	50±4.3	88±4.3	17±5.8	79±6.8	**	**
		캔포장	43±7.4	86±6.6	12±3.4	73±6.8	**	**
		온도	**	NS	**	NS		
		용기	**	NS	**	NS		
		온도X용기	NS	NS	**	NS		

* : 0.01 ≤ P ≤ 0.05, ** : P ≤ 0.01

12) 상추종자 최적 프라이밍 처리 조건 선발

○ 상추 종자의 초음파 처리 효과 검정

- (초음파 및 시약 처리) 상추1 종자를 초음파 및 물을 이용하여 프라이밍 처리 효과를 조사한 결과, 나종자에 비해 일별 정상묘 출현율 및 최종발아율을 증진시키는 효과가 있는 것으로 나타났다(표 42).
- 또한 초음파만을 처리한 군보다 초음파 처리 후 16시간동안 물에 침지 시킨 처리군이 통계적인 차이는 없지만 일별 정상묘출현율 및 최종발아율이 좋은 것으로 나타났다.

표 42. 상추1 종자의 프라이밍 처리 효과

		4일차	5일차	6일차	7일차
	나종자	54 b	67 b	73 a	78 b
상추1	초음파 20.08Khz 5m	63 ab	74 ab	79 ab	80 ab
	초음파 20.08Khz 5m + Water 16h	71 a	81 a	84 a	85 a

* : Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

○ 선별된 토마토 종자 프라이밍 처리 조건의 저장성 검정

- (초음파 및 시약 처리 종자 저장성) 상추1 종자의 프라이밍 혼용처리 효과가 있던 초음파 + 시약(초음파 20.08Khz 5m + Water 16h) 처리 종자와 나종자를 저장 조건별로 6개월 및 12개월 동안 저장한 후에 각 조건별 일별 정상묘출현율과 최종발아율을 조사하였다(표 43).
- 저장 후 6개월 프라이밍 처리 종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 대부분의 조건에서 나종자와 차이가 없거나 낮은 것으로 조사되는데, 특히 상온 보관 시 용기와 상관없이 나종자에 비해 일별 정상묘출현율이 상당히 낮은 것을 관찰할 수 있었고, 나종자의 최종발아율은 온도 및 용기에 영향을 미치지 않는 반면에 프라이밍 처리 종자는 저장 조건에 굉장히 영향을 많이 받는 것으로 나타났다.
- 이는 프라이밍 처리 종자는 처리 직후에는 일별 정상묘출현율을 증가 시키는 효과가 있지만 저장 후 6개월 후부터는 본문에서 제시한 어떤 저장 조건으로는 그 효과를 지속시키지 못한다는 결과가 나왔다.

표 43. 상추1 종자의 프라이밍(초음파 + 시약) 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나중자		초음파 20.08Khz 5m + Water 16h		t-test A vs C	t-test B vs D
			GR at 5d(A)	GR at 7d(B)	GR at 5d(C)	GR at 7d(D)		
상추1 종자 (6개월 저장)	5	마대	60±8.5	76±3.8	63±1.0	80±5.4	NS	NS
		알루미늄	58±5.5	75±5.3	74±9.9	82±4.3	*	NS
		캔포장	69±7.4	79±4.4	64±3.4	78±6.3	NS	NS
	15	마대	66±4.4	76±4.1	56±5.9	74±8.2	*	NS
		알루미늄	65±4.1	77±6.6	67±9.6	81±4.2	NS	NS
		캔포장	70±7.5	79±4.7	64±4.3	80±3.4	NS	NS
	상온	마대	50±2.3	72±3.7	0±0.0	2±1.9	**	**
		알루미늄	60±9.3	76±7.3	28±7.1	66±7.0	**	NS
		캔포장	57±6.8	74±4.3	6±1.9	27±1.9	**	**
	온도		** (0.001)	NS	** (0.000)	** (0.000)		
	용기		NS	NS	** (0.000)	** (0.000)		
	온도X용기		NS	NS	* (0.012)	** (0.000)		
상추1 종자 (12개월 저장)	5	마대	53±7.9	74±7.9	51±9.6	61±8.2	NS	NS
		알루미늄	62±5.3	78±4.3	58±8.5	72±7.7	NS	NS
		캔포장	62±5.5	79±4.1	50±5.4	71±3.4	*	*
	15	마대	65±5.3	80±5.2	32±6.9	58±9.1	**	**
		알루미늄	51±6.6	78±5.9	56±4.1	77±7.4	NS	NS
		캔포장	45±5.0	61±4.8	33±6.0	59±2.6	*	NS
	상온	마대	3±2.5	19±7.6	0±0.0	0±0.0	NS	**
		알루미늄	14±6.0	36±8.5	1±1.0	4±5.4	**	**
		캔포장	18±2.5	39±6.2	1±1.0	4±1.9	**	**
	온도		** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)		
	용기		NS	* (0.047)	** (0.000)	** (0.000)		
	온도X용기		** (0.000)	** (0.000)	** (0.000)	* (0.023)		

* : 0.01 ≤ P ≤ 0.05, ** : P ≤ 0.01

13) 시금치 종자 최적 프라이밍 처리 조건 선발

○ 시금치 종자의 초음파 처리 효과 검토

- 초음파 처리 강도 및 시간에 따른 시금치 종자의 발아 촉진 효과를 조사하기 위하여 초음파 처리 강도(30Khz, 40Khz) 및 시간(60초, 150초, 300초, 600초)별로 구분하여 시금치 종자에 초음파를 처리 한 후, 각 처리구의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율을 비교분석 하였다(표 44).
- 나종자 및 각 처리구의 종자는 모두 치상 후 4일차까지 정상묘출현율은 0%였고, 치상 후 5일차부터 정상묘가 출현하기 시작하였다. 5일차부터 7일차까지는 각 처리구 간에는 유의한 차이를 보이는 것으로 조사되었고, 나종자와도 통계적인 차이를 보이는 처리구도 관찰되었다. 특히 [초음파 30Khz 60초] 및 [초음파 40Khz 60초] 처리구는 정상묘가 출현한 5일차부터 7일차까지 나종자에 비해 일별 정상묘출현율이 유의하게 높은 것으로 나타났다.
- 초음파 처리 강도 및 시간과 일별 정상묘출현율 및 최종발아율에 대한 영향분석을 실시한 결과, 초음파 처리 강도는 일별 정상묘출현율 및 최종발아율에 유의한 영향이 없는 것으로 나타난 반면, 초리 시간은 최종발아율에는 유의한 영향이 없지만 일별 정상묘출현율에는 상당한 영향을 미치는 것으로 조사되었다. 치상 후 5일차부터 7일차까지의 처리구별 일별 정상묘출현율은 처리 시간을 길게한 처리구에서 정상묘출현율이 높아 진다는 것을 확인할 수 있었다.

표 44. 시금치 종자의 프라이밍 처리 효과

작물	분류	시간	강도	5일차a	6일차	7일차	8일차	9일차	10일차	
시금치	나종자	-	-	10d	37c	72ab	81a	86a	87a	
					60초	12cd	51bc	75ab	78a	81a
	초음파 처리	30Khz	150초		21ab	58ab	77ab	84a	90a	90a
			300초		16bcd	61ab	77ab	79a	83a	83a
			600초		27a	67a	79ab	84a	86a	86a
			60초		16bcd	41c	67b	77a	81a	82a
		40Khz	150초		16bcd	63ab	80ab	85a	86a	87a
			300초		21ab	65ab	82ab	87a	88a	90a
			600초		19bc	69a	82a	85a	86a	86a
			처리 시간			**	**	*	NS	NS
			처리 강도		NS	NS	NS	NS	NS	NS
			온도X용기		**	NS	NS	NS	NS	NS

a: Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

* : $0.01 \leq P \leq 0.05$, ** : $P \leq 0.01$

나. 필름코팅 처리 종자의 일별 정상묘출현율·최종발아율 및 저장성 검정

1) 당근 종자의 필름코팅 처리 후 일별 정상묘출현율·발아율 검정 및 저장성 검정

○ 필름코팅 처리 후 일별 정상묘출현율 및 발아율 검정

- 연구과제를 통해 기 개발 된 필름코팅 소재(시제품:P2030)가 가공처리 시 발아 관련 형질에 미치는 영향을 조사하기 위하여 필름코팅 처리 후에 나종자 및 인코텍社 필름코팅 종자와 일별 정상묘출현율 및 최종발아율 비교를 수행하였다.
- 나종자, P2030 필름코팅 처리 종자, 인코텍社 필름코팅 종자 모두 치상 후 4일차까지 정상묘출현율은 0%였고, 치상 5일차부터 정상묘가 출현하기 시작하였다. P2030 필름코팅 처리 종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 나종자 및 인코텍社 필름코팅 종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율과 비교 시 유의한 차이를 보이지 않는 것으로 조사되었다(표 45).

표 45. 당근 종자의 필름코팅 처리 종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율

로트	처리조건	4일차	5일차	6일차	7일차	8일차	9일차	14일차
	나종자	0	21 a	61 a	77 a	83 a	89 a	89 a
당근	P2030소재 필름코팅 종자	0	31 a	60 a	81 a	86 a	91 a	91 a
	인코텍社 필름코팅 종자	0	27 a	54 a	74 a	82 a	87 a	87 a

* : Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

- 필름코팅 처리 종자의 최적 저장조건을 규명하기 위하여 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 검정을 수행하였다(표 46). 당근 나종자의 저장 전, 저장 후(6개월 및 12개월)의 6일차 정상묘출현율 및 최종발아율을 조사한 결과, 나종자의 저장 전 저장 후의 6일차 정상묘출현율을 각각 61%→47%→32%(약 48% 감소), 최종발아율은 각각 89%→82%→79%(약 11% 감소)로 조사되었다.
- 인코텍社 필름코팅 종자의 저장 전 저장 후의 6일차 정상묘출현율은 각각 54%→35%→28%(약 48% 감소), 최종발아율은 각각 87%→81%→77%(약 11% 감소)로 조사되었고, P2030소재 필름코팅 종자의 저장 전 저장 후의 6일차 정상묘출현율을 각각 60%→27%→28%(약 53% 감소), 최종발아율은 각각 91%→80%→78%(약 14% 감소)로 조사되었다.
- P2030소재 이용 필름코팅 처리 종자 및 인코텍社의 필름코팅 종자의 저장 6개월 후 6일차 정상묘출현율은 저장 온도 및 용기에 상관없이 P2030 필름코팅 종자가 나종자에 비해 정상묘출현율이 낮은 경향을 보였고, 최종발아율은 대부분의 저장 조건에서 나종자, P2030 필름코팅 종자 및 인코텍社 필름코팅 종자간에 유의한 차이를 보이지 않았다.

- P2030소재 이용 필름코팅 처리 종자의 저장 12개월 후 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 나종자 및 인코텍社 소재 필름코팅 종자와 통계적인 차이가 없는 것으로 나타났다 ([12개월/상온/켄포장] 조건 제외).
- P2030소재 이용 필름코팅 종자를 6 및 12개월 저장 시 저장 온도는 일별 정상묘출현율에 영향을 주는 주요 원인으로 나타난 반면(저장 온도가 낮을수록 대다수의 조건에서 일별 정상묘출현율이 감소하는 경향을 보임), 용기는 일별 정상묘출현율에 영향을 크게 미치지 않는 것으로 조사되었다.
- P2030 필름코팅 종자는 저장 기간에 따라 최종발아율이 감소하는 경향을 보였지만 같은 저장 기간 내에서 온도별·용기별 조건 간의 최종발아율은 유의미한 차이를 보이지 않았다.

표 46. 당근 종자의 필름코팅 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나종자		P2030 필름코팅 종자		인코텍社 필름코팅 종자		Duncan Analysis A vs C vs E	Duncan Analysis B vs D vs F
			GR at 6d(A)	GR at 14d(B)	GR at 6d(C)	GR at 14d(D)	GR at 6d(E)	GR at 14d(F)		
당근 종자 (6개월 저장)	5	마대	51±5.3	83±3.8	31±4.7	79±7.7	40±7.7	80±4.3	Aa , Cb , Eab	NS
		알루미늄	51±8.2	87±4.2	35±7.7	80±4.3	33±5.0	80±4.3	Aa , Cb , Eb	NS
		캔포장	48±7.2	81±4.8	26±3.8	77±7.4	36±9.1	86±7.1	Aa , Cb , Eab	NS
	15	마대	51±7.0	81±7.5	26±7.7	81±3.8	33±7.4	86±1.0	Aa , Cb , Eb	NS
		알루미늄	50±2.5	85±1.0	32±8.1	81±4.7	33±5.4	81±7.2	Aa , Cb , Eb	NS
		캔포장	45±6.2	81±4.4	28±5.0	85±6.6	41±6.2	81±6.2	Aa , Cb , Ea	NS
	상온	마대	35±7.7	76±4.3	19±2.6	75±8.2	25±4.8	76±7.3	Aa , Cb , Eab	NS
		알루미늄	49±4.8	82±5.9	25±11.9	80±6.9	44±9.3	88±4.3	Aa , Cb , Eab	NS
		캔포장	46±3.4	85±2.6	19±7.4	84±5.3	30±7.7	70±5.9	Aa , Cb , Eb	Ba , Da , Fb
	온도		*(0.028)	NS	** (0.009)	NS	NS	** (0.001)		
	용기		NS	NS	NS	NS	NS	NS		
	온도X용기		*(0.038)	NS	NS	NS	NS	NS		
당근 종자 (12개월 저장)	5	마대	32±5.4	80±6.7	32±4.4	85±4.8	31±6.2	78±3.8	NS	NS
		알루미늄	36±6.8	81±4.2	31±3.8	79±6.6	34±5.2	79±2.6	NS	NS
		캔포장	33±3.4	81±3.4	29±2.6	78±5.2	33±5.3	74±9.1	NS	NS
	15	마대	31±1.2	76±3.5	26±7.8	76±4.3	23±3.5	78±5.9	NS	NS
		알루미늄	34±5.9	77±4.4	32±4.9	77±3.0	37±7.7	74±4.3	NS	NS
		캔포장	34±3.3	78±2.6	29±1.9	78±1.6	37±5.5	78±2.8	NS	NS
	상온	마대	20±4.3	80±2.0	23±5.3	75±4.4	13±6.2	73±5.5	NS	NS
		알루미늄	32±6.3	81±3.4	24±1.6	75±3.5	29±4.2	80±1.9	NS	NS
		캔포장	34±4.6	79±5.7	25±6.6	76±6.3	16±4.7	75±3.5	Aa , Cab , Eb	NS
	온도		NS	NS	** (0.004)	NS	** (0.000)	NS		
	용기		*(0.012)	NS	NS	NS	** (0.000)	NS		
	온도X용기		NS	NS	NS	NS	*(0.033)	NS		

^a: Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

* : 0.01 ≤ P ≤ 0.05, ** : P ≤ 0.01

2) 무 종자의 필름코팅 처리 후 일별 정상묘출현율·최종발아율 및 저장성 검정

○ 필름코팅 처리 후 일별 정상묘출현율 및 발아율 검정

- P2030 필름코팅 소재가 무 종자 발아 관련 형질에 미치는 영향을 조사하기 위하여 필름코팅 처리 후의 종자와 나종자 및 인코텍社 필름코팅 종자와의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율 비교를 수행하였다(표 47).
- 나종자, P2030 필름코팅 종자, 인코텍社 필름코팅 종자 모두 치상 후 2일차까지 정상묘출현율은 0%였고, 치상 3일차부터 정상묘가 출현하기 시작하였다. P2030소재를 이용하여 필름코팅 한 종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 나종자 및 인코텍社 필름코팅 종자의 정상묘 출현율 및 최종발아율간 유의한 차이를 보이지 않는 것으로 조사되었다.

표 47. 무 종자의 필름코팅 처리 종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율

로트	처리조건	2일차	3일차	4일차	5일차	6일차	7일차	10일차
	나종자	0	29 a	59 a	70 a	75 a	80 a	80 a
무	P2030소재 필름코팅 종자	0	32 a	58 a	72 a	77 a	81 a	81 a
	인코텍社 필름코팅 종자	0	29 a	63 a	76 a	82 a	84 a	84 a

* : Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

○ 필름코팅 처리 종자의 저장 조건별 저장성 검정

- 필름코팅 처리 종자의 최적 저장조건을 규명하기 위하여 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 검정을 수행하였다(표 48). 무 나종자의 저장 전, 저장 후(6개월 및 12개월)의 4일차 정상묘출현율 및 최종발아율을 조사한 결과, 나종자의 저장 전 저장 후의 4일차 정상묘출현율을 각각 59%→49%→43%(약 27% 감소율), 최종발아율은 각각 80%→81%→73%(약 9% 감소율)로 조사되었다.
- 인코텍社 필름코팅 종자의 저장 전 저장 후의 6일차 정상묘출현율은 각각 63%→47%→44%(약 30% 감소율), 최종발아율은 각각 84%→78%→72%(약 14% 감소율)로 조사되었고, P2030소재 필름코팅 종자의 저장 전 저장 후의 6일차 정상묘출현율을 각각 60%→27%→28%(약 53% 감소율), 최종발아율은 각각 91%→80%→78%(약 14% 감소율)로 조사되었다.
- P2030소재 이용 필름코팅 처리 종자는 저장 6개월 및 12개월 후 대부분의 저장 조건에서 6일차 정상묘출현율 및 최종발아율은 나종자와 인코텍社 필름코팅 종자와 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.
- P2030소재 이용 필름코팅 종자를 6 및 12개월 저장 시 저장 온도는 일별 정상묘출현율에 영향을 주는 주요 원인으로 나타난 반면(저장 온도가 낮을수록 대다수의 조건에서 일별 정상묘출현율이 감소하는 경향을 보임), 용기는 일별 정상묘출현율에 영향을 크게 미치지 않는 것으로 조사되었다. P2030 필름코팅 종자는 저장 기간에 따라 최종발아율이 감소하는 경향을 보였지만 같은 저장 기간 내에서 온도별·용기별 조건 간의 최종발아율은 유의미한 차이를 보이지 않았다.

표 48. 무 종자의 필름코팅 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나종자		P2030 필름코팅 종자		인코텍社 필름코팅 종자		Duncan Analysis A vs C vs E	Duncan Analysis B vs D vs F
			GR at 4d(A)	GR at 10d(B)	GR at 4d(C)	GR at 10d(D)	GR at 4d(E)	GR at 10d(F)		
무 종자 (6개월 저장)	5	마대	53±2.6	80±4.3	50±3.0	83±6.2	53±5.0	81±6.8	NS	NS
		알루미늄 캔포장	59±4.1	83±4.8	53±6.8	84±4.4	51±3.4	79±6.0	NS	NS
		캔포장	59±5.0	85±2.0	59±5.3	85±3.4	53±9.1	82±5.3	NS	NS
	15	마대	55±6.4	85±1.9	48±6.8	77±3.0	50±5.5	79±3.0	NS	Ba , Db , Fb
		알루미늄 캔포장	53±8.7	82±5.9	56±5.3	84±6.7	53±5.3	83±6.4	NS	NS
		캔포장	52±5.4	86±3.7	49±3.8	80±5.7	52±7.0	85±4.4	NS	NS
	상온	마대	31±5.7	70±5.7	32±7.5	72±6.4	35±7.7	67±10.1	NS	NS
		알루미늄 캔포장	47±6.0	82±8.5	34±6.2	75±8.9	40±6.6	71±8.4	Aa , Cb , Eab	NS
		캔포장	35±6.2	75±6.8	40±8.5	75±6.2	35±9.1	77±7.4	NS	NS
	온도			**	**	**	**	**	**	**
	용기			*	NS	*	NS	NS	NS	NS
	온도X용기			*	NS	NS	NS	NS	NS	NS
무 종자 (12개월 저장)	5	마대	47±3.5	76±6.0	46±5.3	77±4.4	48±6.2	75±5.7	NS	NS
		알루미늄 캔포장	54±5.0	80±4.4	49±4.2	79±2.3	48±4.3	75±8.9	NS	NS
		캔포장	48±2.8	79±4.4	53±4.9	81±7.7	51±5.3	81±5.5	NS	NS
	15	마대	48±4.4	70±3.8	39±6.4	72±5.5	48±7.2	70±8.7	Aa , Cb , Ea	NS
		알루미늄 캔포장	54±8.2	78±7.3	48±7.4	78±5.3	50±5.9	80±6.0	NS	NS
		캔포장	43±4.2	76±4.0	48±6.9	72±4.1	45±8.2	77±5.0	NS	NS
	상온	마대	23±5.3	63±7.6	27±7.7	61±8.1	31±3.8	64±5.2	NS	NS
		알루미늄 캔포장	39±5.5	67±6.2	41±6.8	73±4.4	42±6.7	66±7.2	NS	NS
		캔포장	30±5.9	68±6.7	30±5.0	69±3.8	31±7.9	58±3.4	NS	NS
	온도			**	**	**	**	**	**	**
	용기			**	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	온도X용기			NS	NS	NS	NS	NS	*	*

^a: Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

* : 0.01 ≤ P ≤ 0.05, ** : P ≤ 0.01

3) 배추 종자의 필름코팅 처리 후 일별 정상묘출현율·최종발아율 및 저장성 검정

○ 필름코팅 처리 후 일별 정상묘출현율 및 발아율 검정

- P2030 필름코팅 소재가 무 종자 발아 관련 형질에 미치는 영향을 조사하기 위하여 필름코팅 처리 후의 종자와 나종자 및 인코텍社 필름코팅 종자와의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율 비교를 수행하였다(표 49).
- 나종자, P2030 필름코팅 종자, 인코텍社 필름코팅 종자 모두 치상 후 2일차까지 정상묘출현율은 0%였고, 치상 3일차부터 정상묘가 출현하기 시작하였다. P2030소재를 이용하여 필름코팅 한 종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 나종자 및 인코텍社 필름코팅 종자의 정상묘출현율 및 최종발아율간 유의한 차이를 보이지 않는 것으로 조사되었다.

표 49. 배추 종자의 필름코팅 처리 종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율

로트	처리조건	2일차	3일차	4일차	5일차	6일차	7일차
	나종자	0	92 a	96 a	97 a	97 a	97 a
배추	P2030소재 필름코팅 종자	0	94 a	96 a	98 a	98 a	98 a
	인코텍社 필름코팅 종자	0	92 a	96 a	98 a	98 a	98 a

* : Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

○ 필름코팅 처리 종자의 저장 조건별 저장성 검정

- 필름코팅 처리 종자의 최적 저장조건을 규명하기 위하여 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 검정을 수행하였다(표 50). 배추 나종자의 저장 전, 저장 후(6개월 및 12개월)의 3일차 정상묘출현율 및 최종발아율을 조사한 결과, 나종자의 저장 전 저장 후의 3일차 정상묘출현율을 각각 92%→94%→91%(약 1% 감소율), 최종발아율은 각각 97%→97%→95%(약 2% 감소율)로 조사되었다. 인코팅社 필름코팅 종자의 저장 전 저장 후의 3일차 정상묘출현율은 각각 92%→93%→92%(약 0% 감소율), 최종발아율은 각각 98%→96%→95%(약 1% 감소율)로 조사되었고, P2030소재 필름코팅 종자의 저장 전 저장 후의 3일차 정상묘출현율을 각각 94%→92%→90%(약 4% 감소율), 최종발아율은 각각 98%→97%→95%(약 3% 감소율)로 조사되었다.
- 저장 후 12개월 조건에서 저장 온도에 관계없이 마대에 보관 한 P2030 필름코팅 종자의 일별 정상묘출현율 다른 용기에 비해 떨어지는 경향을 보였고, 인코텍社 필름코팅 종자는 [상온/마대] 조건에서 일별 정상묘출현율 및 최종발아율이 감소되는 경향을 보였다. P2030소재 이용 필름코팅 처리 종자의 저장 6개월 및 12개월 후 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 모든 저장 조건에서 나종자 및 인코텍社 필름코팅 종자 간에는 유의한 차이가 나지 않는 것으로 나타났다.

표 50. 배추 종자의 필름코팅 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나종자		P2030 필름코팅 종자		인코텍社 필름코팅 종자		Duncan Analysis A vs C vs E	Duncan Analysis B vs D vs F
			GR at 3d(A)	GR at 7d(B)	GR at 3d(C)	GR at 7d(D)	GR at 3d(E)	GR at 7d(F)		
배추 종자 (6개월 저장)	5	마대	95±1.0	96±1.0	93±5.3	97±2.6	91±5.8	95±4.2	NS	NS
		알루미늄	95±1.6	99±1.2	94±1.6	97±2.6	93±3.4	96±2.8	NS	NS
		캔포장	97±1.0	99±1.9	95±2.5	98±1.6	93±4.1	97±3.4	NS	NS
	15	마대	94±4.6	96±3.7	87±7.4	95±4.4	92±4.1	97±3.4	NS	NS
		알루미늄	94±2.8	97±3.0	94±3.7	98±1.6	96±3.8	99±1.2	NS	NS
		캔포장	95±3.8	95±3.8	94±3.7	98±1.9	93±3.8	95±3.8	NS	NS
	상온	마대	91±5.0	94±2.5	88±2.8	96±1.6	90±3.0	94±2.5	NS	NS
		알루미늄	94±1.9	98±2.5	94±3.3	99±1.2	93±3.4	96±4.4	NS	NS
		캔포장	90±1.6	98±1.6	92±1.9	96±3.0	93±1.2	98±3.0	NS	NS
	온도		**	NS	NS	NS	NS	NS		
	용기		NS	NS	NS	NS	NS	NS		
	온도X용기		NS	NS	NS	NS	NS	NS		
배추 종자 (12개월 저장)	5	마대	91±3.5	97±3.0	87±8.7	93±5.3	93±4.8	95±3.8	NS	NS
		알루미늄	94±1.6	96±1.6	92±1.9	96±3.0	95±1.9	96±1.6	NS	NS
		캔포장	91±3.5	96±1.0	92±1.0	94±1.9	93±4.4	95±3.5	NS	NS
	15	마대	90±4.7	93±3.8	87±6.2	92±6.8	89±2.5	92±1.9	NS	NS
		알루미늄	93±3.5	96±1.6	92±3.3	97±2.5	94±1.0	97±2.6	NS	NS
		캔포장	91±6.6	94±5.2	91±4.2	97±1.0	94±4.4	95±2.6	NS	NS
	상온	마대	89±3.8	93±3.5	89±4.8	96±1.9	87±5.0	89±6.6	NS	NS
		알루미늄	89±2.0	96±1.0	93±2.5	96±2.5	93±3.4	95±4.8	NS	NS
		캔포장	90±4.4	94±5.9	91±1.0	96±3.8	93±6.6	94±5.5	NS	NS
	온도		NS	NS	NS	NS	NS	NS		
	용기		NS	NS	*	NS	*	*		
	온도X용기		NS	NS	NS	NS	NS	NS		

^a: Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

* : 0.01 ≤ P ≤ 0.05, ** : P ≤ 0.01

4) 양배추 종자의 필름코팅 처리 후 일별 정상묘출현율·최종발아율 및 저장성 검정

○ 필름코팅 처리 후 일별 정상묘출현율 및 발아율 검정

- P2030 필름코팅 소재가 양배추 종자 발아 관련 형질에 미치는 영향을 조사하기 위하여 필름코팅 처리 후의 종자와 나종자 및 인코텍社 필름코팅 종자와의 일별 정상묘출현율·발아율 비교를 수행하였다.
- 나종자, P2030 필름코팅 종자, 인코텍社 필름코팅 종자 모두 치상 후 2일차까지 정상묘출현율은 0%였고, 치상 3일차부터 정상묘가 출현하기 시작하였다. P2030소재를 이용하여 필름코팅 한 종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 나종자 및 인코텍社 필름코팅 종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율간에 유의한 차이를 보이지 않는 것으로 조사되었다(표 51).

표 51. 양배추 종자의 필름코팅 처리 종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율

로트	처리조건	2일차	3일차	4일차	5일차	6일차	7일차	10일차
	나종자	0	23 a	62 a	75 a	91 a	84 a	84 a
양배무	P2030소재 필름코팅 종자	0	26 a	67 a	78 a	85 a	87 a	87 a
	인코텍社 필름코팅 종자	0	27 a	67 a	80 a	87 a	89 a	89 a

* : Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

○ 필름코팅 처리 종자의 저장 조건별 저장성 검정

- 필름코팅 처리 종자의 최적 저장조건을 규명하기 위하여 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 검정을 수행하였다(표 52). 양배추 나종자의 저장 전, 저장 후(6개월 및 12개월)의 4일차 정상묘출현율 및 최종발아율을 조사한 결과, 나종자의 저장 전 저장 후의 4일차 정상묘출현율을 각각 62%→33%→26%(약 58% 감소율), 최종발아율은 각각 84%→73%→63%(약 25% 감소율)로 조사되었다. P2030소재 필름코팅 종자의 저장 전 저장 후의 4일차 정상묘출현율을 각각 67%→33%→29%(약 57% 감소율), 최종발아율은 각각 87%→75%→68%(약 22% 감소율)로 조사되었다.
- 나종자, P2030 필름코팅, 인코텍社 필름코팅 종자는 6개월 및 12개월 저장 시 저장 온도 및 용기는 일별 정상묘출현율과 최종발아율에 큰 영향을 미치는 것으로 조사되었고, 특히 상온 저장 시에는 6·12개월 조건에서 모두 일별 정상묘출현율 및 최종발아율이 크게 감소되는 것으로 조사되었다.
- P2030 필름코팅 종자 저장 시 종자 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 몇 가지 저장 조건을 제외하고는 대부분의 저장 조건에서 나종자와 통계적인 차이가 없는 것으로 나타났다. 하지만 P2030 필름코팅의 종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 저장 온도와 용기에 크게 영향을 받으며 온도X용기 간 교호작용도 있는 것으로 조사되었다. 이는 종자 저장 시 온도는 낮을수록, 용기는 알루미늄>캔포장>마대 순으로 일별 정상묘출현율·최종발아율 감소가 적은 것으로 나타났다.

표 52. 양배추 종자의 필름코팅 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나종자		P2030 필름코팅 종자		인코텍社 필름코팅 종자		Duncan Analysis A vs C vs E	Duncan Analysis B vs D vs F
			GR at 4d(A)	GR at 10d(B)	GR at 4d(A)	GR at 10d(B)	GR at 4d(A)	GR at 10d(B)		
양배추 종자 (6개월 저장)	5	마대	46±7.4	76±5.7	37±3.4	77±5.3	35±3.4	79±3.8	Aa , Cb , Eb	NS
		알루미늄	47±6.0	80±5.9	43±5.0	79±5.7	43±8.2	79±6.2	NS	NS
		캔포장	49±2.0	85±7.2	42±6.6	79±6.0	40±2.3	86±1.6	NS	NS
	15	마대	30±7.2	75±7.7	33±5.9	79±3.0	32±7.5	77±7.4	NS	NS
		알루미늄	39±7.7	76±3.3	36±6.2	74±6.0	38±5.5	80±4.4	NS	NS
		캔포장	41±7.4	79±5.0	35±3.4	80±4.1	35±5.3	83±6.2	Aa , Cb , Eb	NS
	상온	마대	11±2.6	58±5.7	8±5.2	56±8.5	10±1.6	57±8.4	NS	NS
		알루미늄	19±5.3	67±6.2	30±2.8	75±5.0	20±6.2	73±3.8	Ab , Ca , Eb	NS
		캔포장	16±5.0	63±5.5	33±7.0	74±6.7	33±4.1	75±3.8	Ab , Ca , Ea	Bb , Da , Fa
	온도		**	**	**	**	**	**		
	용기		*	*	**	**	**	**		
	온도X용기		NS	NS	**	*	**	*		
양배추 종자 (12개월 저장)	5	마대	33±2.5	77±6.6	34±6.2	73±5.5	NE	NE	NS	NS
		알루미늄	43±6.0	78±4.4	40±4.1	77±3.8	36±5.9	71±8.2	NS	NS
		캔포장	40±4.3	75±3.5	34±5.9	76±2.8	33±4.8	69±4.1	NS	NS
	15	마대	26±4.4	61±4.2	30±4.3	68±2.8	NE	NE	NS	NS
		알루미늄	31±7.7	69±6.6	35±3.0	72±7.2	39±7.2	73±6.2	NS	NS
		캔포장	34±3.7	67±7.1	35±6.8	71±6.2	36±4.4	73±6.4	NS	NS
	상온	마대	7±2.0	40±9.7	10±3.4	48±6.8	NE	NE	NS	NS
		알루미늄	12±4.3	54±6.2	18±5.7	62±4.4	6±1.6	45±8.4	NS	Bab , Da , Fb
		캔포장	10±5.9	50±8.5	26±5.0	67±6.0	15±2.0	58±8.2	Ab , Ca , Eb	Bb , Da , Fab
	온도		**	**	**	**	**	**		
	용기		NS	*	**	**	NS	NS		
	온도X용기		NS	NS	**	**	NS	*		

^a: Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

* : 0.01≤P<0.05, ** : P≤0.01

NE : Not Evaluated

5) 멜론 종자의 필름코팅 처리 후 일별 정상묘출현율·최종발아율 및 저장성 검정

○ 필름코팅 처리 후 일별 정상묘출현율 및 발아율 검정

- P2030 필름코팅 소재가 멜론 종자 발아 관련 형질에 미치는 영향을 조사하기 위하여 필름코팅 처리 후의 종자와 나종자 및 인코텍社 필름코팅 종자와의 일별 정상묘출현율·최종발아율 비교를 수행하였다(표 53).
- 나종자, P2030 필름코팅 종자, 인코텍社 필름코팅 종자 모두 치상 후 2일차까지 정상묘출현율은 0%였고, 치상 3일차부터 정상묘가 출현하기 시작하였다. 저장 전 일별 정상묘출현율은 나종자에 비해 P2030 및 인코텍社나 필름코팅 종자가 유의하게 낮은 것으로 조사되었고(나종자>P2030 필름코팅 종자>인코텍社 필름코팅 종자), 최종 발아율에서는 3가지 종자에서 차이가 없는 것으로 나타났다.

표 53. 멜론 종자의 필름코팅 처리 종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율

로트	처리조건	2일차	3일차	4일차	5일차	6일차	7일차	8일차
	나종자	0	82 a	95 a	97 a	98 a	98 a	98 a
멜론	P2030소재 필름코팅 종자	0	49 b	81 b	88 b	94 ab	99 a	99 a
	인코텍社 필름코팅 종자	0	22 c	77 c	82 c	89 b	97 a	97 a

* : Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

○ 필름코팅 처리 종자의 저장 조건별 저장성 검정

- 필름코팅 처리 종자의 최적 저장조건을 규명하기 위하여 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 검정을 수행하였다(표 54).
- 나종자, P2030 필름코팅, 인코텍社 필름코팅 종자는 6개월 및 12개월 저장 시 저장 온도 및 용기는 일별 정상묘출현율과 최종발아율 감수에 큰 영향을 미치는 않는 것으로 조사되었고, 종자 일별 정상묘출현율은 3개 처리 모두 저장 기간의 경과에 따라 감소되는 경향을 보였다.
- P2030 필름코팅 종자 저장 시 저장 후 6개월 조건에서는 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 [15°C/알루미늄]조건을 제외하고 모든 조건에서 나종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율과는 차이가 없는 것으로 조사되었다.
- 이는 P2030의 발아율 및 최종발아율이 다른 조건에 비해 감소 된 것이 아니라, 위 조건에서의 나종자 발아율 및 최종발아율이 높게 나타났기 때문이다. 12개월 저장 조건에서는 대부분의 조건에서 P2030 필름코팅 종자의 일별 정상묘출현율이 나종자의 일별 정상묘출현율 보다 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 조사되었으며, 특히 P2030 필름코팅 종자의 경우 저장 시 마대에 보관 시 일별 정상묘출현율이 다른 저장 조건의 일별 정상묘출현율보다 낮은 것으로 나타났다. 12개월 저장 조건에서는 나종자, P2030 및 인코텍社이 필름코팅 종자의 최종발아율 간에는 유의한 차이가 나타나지 않았다.

표 54. 멜론 종자의 필름코팅 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나종자		P2030 필름코팅 종자		인코텍社 필름코팅 종자		Duncan Analysis ^a A vs C vs E	Duncan Analysis B vs D vs F
			GR at 4d(A)	GR at 8d(B)	GR at 4d(A)	GR at 8d(B)	GR at 4d(A)	GR at 8d(B)		
멜론 종자 (6개월 저장)	5	마대	85±4.2	95±4.1	80±3.7	98±1.6	81±3.8	98±2.8	NS	NS
		알루미늄	92±3.3	99±1.2	85±5.0	97±2.6	79±3.8	94±5.9	Aa, Cab, Eb	NS
		캔포장	88±5.3	95±4.8	82±6.8	97±3.5	80±4.9	95±3.5	NS	NS
	15	마대	91±3.0	98±2.5	81±4.8	96±4.4	83±7.0	97±1.2	NS	NS
		알루미늄	95±1.2	98±2.5	84±3.7	96±3.4	80±5.7	94±2.8	Aa, Cb, Eb	NS
		캔포장	94±3.0	99±1.9	82±2.8	98±1.6	79±9.3	99±1.9	Aa, Cab, Eb	NS
	상온	마대	90±3.4	98±1.6	81±4.8	95±3.4	71±9.3	97±1.0	Aa, Cab, Eb	NS
		알루미늄	93±2.6	99±2.0	85±6.0	94±1.6	78±4.3	97±2.0	Aa, Cab, Eb	Ba, Db, Fab
		캔포장	92±4.4	99±1.9	86±5.5	97±2.6	82±7.9	95±3.8	NS	NS
		온도	NS	NS	NS	NS	NS	NS		
		용기	NS	NS	NS	NS	NS	NS		
		온도X용기	NS	NS	NS	NS	NS	NS		
멜론 종자 (12개월 저장)	5	마대	66±8.5	98±1.6	46±4.4	99±1.2	40±4.3	98±1.0	Ab, Ca, Ea	NS
		알루미늄	66±3.8	98±1.6	54±2.5	98±1.9	42±5.4	98±1.0	Ab, Cab, Ea	NS
		캔포장	60±6.3	97±1.2	61±7.4	99±1.9	50±5.3	98±1.6	NS	NS
	15	마대	68±7.8	99±1.9	45±5.7	99±1.0	49±6.6	100±1.0	Ab, Ca, Ea	NS
		알루미늄	66±7.5	99±1.2	60±5.9	99±1.2	50±8.2	97±2.6	Ab, Cb, Ea	NS
		캔포장	71±6.4	100±1.0	50±8.2	98±1.6	51±6.6	97±1.9	Ab, Ca, Ea	NS
	상온	마대	59±7.4	98±1.6	43±3.8	97±2.6	45±4.4	98±1.6	Ab, Ca, Ea	NS
		알루미늄	63±9.1	100±1.0	52±6.9	99±3.0	51±10.1	98±0.0	NS	NS
		캔포장	64±7.1	100±1.0	53±7.2	98±1.6	49±8.1	99±1.9	Ab, Cab, Eb	NS
		온도	NS	NS	NS	NS	NS	NS		
		용기	NS	NS	** (0.000)	NS	NS	NS		
		온도X용기	NS	NS	NS	NS	NS	NS		

^a: Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

* : 0.01 ≤ P ≤ 0.05, ** : P ≤ 0.01

6) 수박 종자의 필름코팅 처리 후 일별 정상묘출현율·발아율 검정 및 저장성 검정

○ 필름코팅 처리 후 일별 정상묘출현율 및 발아율 검정

- P2030 필름코팅 소재가 수박 종자 발아 관련 형질에 미치는 영향을 조사하기 위하여 필름코팅 처리 후의 종자와 나종자 및 인코텍社 필름코팅 종자와의 일별 정상묘출현율·최종발아율 비교를 수행하였다(표 55).
- 나종자, P2030 필름코팅 종자, 인코텍社 필름코팅 종자 모두 치상 후 2일차까지 정상묘출현율은 0%였고, 치상 3일차부터 정상묘가 출현하기 시작하였다. 치상 후 3일~4일차 정상묘출현율은 나종자가 P2030 및 인코텍社 필름코팅 종자에 비해 통계적으로 유의하게 높은 것으로 조사되었지만, 치상 후 5일차부터의 정상묘출현율과 최종발아율은 차이가 없는 것으로 조사되었다.

표 55. 수박 종자의 필름코팅 처리 종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율

로트	처리조건	2일차	3일차	4일차	5일차	6일차	14일차
	나종자	0	5 a	89 a	98 a	100 a	100 a
수박	P2030소재 필름코팅 종자	0	1 c	49 b	92 b	99 a	99 a
	인코텍社 필름코팅 종자	0	3 b	51 b	90 b	99 a	99 a

* : Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

○ 필름코팅 처리 종자의 저장 조건별 저장성 검정

- 수박 종자는 보관 기간이 경과함에 따라 나종자, P2030 및 인코텍社 필름코팅 종자는 모든 저장 조건에서 치상 후 5일차 정상묘출현율이 크게 감소하는 경향을 보였으나(저장 전 나종자·P2030 필름코팅 종자·인코텍社 필름코팅 종자의 치상 후 5일차 정상묘출현율은 각 98%, 92%, 90%임), 최종발아율에서는 차이가 없는 것으로 조사되었다(표 56).
- P2030 필름코팅 종자의 일별 정상묘출현율은 [6개월/5℃/알루미늄], [12개월/15℃/마대], [12개월/15℃/캔포장] 조건에서는 나종자의 일별 정상묘출현율보다 유의하게 낮은 것으로 조사되었으나 그 외의 조건에서 나종자의 일별 정상묘출현율과 유의한 차이를 보이지 않았다.
- 최종발아율은 모든 저장 조건에서 나종자와 유의한 차이를 보이지 않았다. 또한 P2030 필름코팅 종자를 12개월 보관 시 저장 용기별 일별 정상묘출현율은 유의한 차이를 보이지 않았지만, 저장 온도별 일별 정상묘출현율 간에는 유의한 차이를 보이는 것으로 보아 저장 온도가 일별 정상묘출현율을 낮추는 주요 원인으로 작용하는 것으로 사료된다.

표 56. 수박 종자의 필름코팅 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나종자		P2030 필름코팅 종자		인코텍社 필름코팅 종자		Duncan Analysis A vs C vs E	Duncan Analysis B vs D vs F
			GR at 5d(A)	GR at 14d(B)	GR at 5d(C)	GR at 14d(D)	GR at 5d(E)	GR at 14d(F)		
수박 종자 (6개월 저장)	5	마대	74±6.2	98±1.9	67±4.1	95±1.2	69±9.0	97±2.5	NS	NS
		알루미늄 캔포장	80±2.3	97±1.2	71±4.2	95±1.2	72±4.0	98±1.0	Ab, Ca, Ea	NS
		캔포장	82±6.3	97±2.5	73±6.2	96±2.5	79±3.4	96±4.1	NS	NS
	15	마대	71±4.7	95±3.5	71±7.5	97±1.9	75±2.6	97±2.6	NS	NS
		알루미늄 캔포장	73±6.0	98±1.6	78±5.7	97±3.4	66±5.5	95±6.2	NS	NS
		캔포장	73±5.0	96±2.3	76±3.7	94±2.8	81±7.7	97±5.7	NS	NS
	상온	마대	69±6.4	97±1.2	69±3.5	98±2.8	62±3.7	94±1.9	NS	NS
		알루미늄 캔포장	74±3.7	98±1.6	73±6.2	98±2.8	72±5.9	97±3.5	NS	NS
		캔포장	67±6.4	98±1.9	75±5.3	97±2.6	73±5.3	98±1.6	NS	NS
		온도	** (0.001)	NS	NS	NS	NS	NS		
		용기	NS	NS	NS	NS	** (0.002)	NS		
		온도X용기	NS	NS	NS	NS	* (0.023)	NS		
수박 종자 (12개월 저장)	5	마대	51±7.0	100±1.2	49±8.9	100±0.0	48±7.3	97±1.0	NS	NS
		알루미늄 캔포장	63±7.4	99±1.2	54±5.4	100±0.0	60±6.1	100±1.2	NS	NS
		캔포장	NE	NE	50±7.5	100±0.0	55±8.1	96±1.0	NS	NS
	15	마대	48±10.4	98±2.1	37±4.7	98±1.4	55±5.7	100±0.0	Ab, Ca, Eb	NS
		알루미늄 캔포장	47±9.0	96±2.4	49±6.2	100±0.0	54±7.0	100±0.0	NS	NS
		캔포장	-	-	41±2.5	100±0.0	54±8.0	99±0.5	Ca, Eb	NS
	상온	마대	43±5.5	95±3.4	44±8.5	98±2.1	46±9.8	95±1.5	NS	NS
		알루미늄 캔포장	43±3.5	96±3.2	41±6.6	97±2.3	48±5.7	97±1.0	NS	NS
		캔포장	NE	NE	41±4.1	95±1.0	46±2.8	96±0.6	NS	NS
		온도	NS	NS	** (0.002)	NS	NS	NS		
		용기	NS	NS	NS	NS	NS	NS		
		온도X용기	NS	NS	NS	NS	NS	NS		

^a: Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

* : 0.01 ≤ P ≤ 0.05, ** : P ≤ 0.01

NE : Not Evaluated

7) 오이 종자의 필름코팅 처리 후 일별 정상묘출현율·발아율 검정 및 저장성 검정

○ 필름코팅 처리 후 일별 정상묘출현율 및 발아율 검정

- 오이 나종자, P2030 필름코팅 종자, 인코텍社 필름코팅 종자 모두 치상 후 2일차까지 정상묘출현율은 0%였고, 치상 3일차부터 정상묘가 출현하기 시작하였고, 3일째 정상묘출현율은 나종자와 P2030 필름코팅 종자 간에는 유의한 차이를 보이지 않았고, 인코텍社 필름코팅 종자는 다른 처리구에 비해 유의하게 낮은 것으로 나타났다. 치상 후 4일 차부터 최종 조사일까지의 발아율은 3개 조건 간 통계적인 차이가 없는 것으로 조사되었다(표 57).

표 57. 오이 종자의 필름코팅 처리 종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율

로트	처리조건	2일차	3일차	4일차	5일차	6일차	8일차
	나종자	0	53 a	87 a	92 a	92 a	93 a
오이	P2030소재 필름코팅 종자	0	52 a	85 a	88 a	90 a	92 a
	인코텍社 필름코팅 종자	0	43 b	82 a	88 a	89 a	91 a

* : Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

○ 필름코팅 처리 종자의 저장 조건별 저장성 검정

- 오이 종자의 경우에는 6개월 저장 시 나종자는 대부분의 저장 조건에서 치상 후 4일차 정상묘출현율이 저장 전 정상묘출현율과 통계적인 유의차를 보이지 않는 반면, P2030 및 인코텍社 필름코팅 종자의 경우 모든 저장 조건 정상묘출현율이 저장 전 보다 감소한 경향을 보였다(표 58). 대부분의 저장 조건에서의 나종자, P2030 및 인코텍社 필름코팅 종자의 최종발아율은 저장 전 최종발아율과 유의한 차이가 없는 것으로 조사되었다.
- P2030 필름코팅 종자의 일별 정상묘출현율은 6개월과 12개월 보관 조건하에서 용기와 관계없이 15℃ 및 상온 조건에서는 나종자의 치상 후 4일차 정상묘출현율은 유의한 차이가 없었지만 5℃에서는 나종자에 비해 정상묘출현율이 낮은 경향을 보였다.
- P2030 필름코팅 종자 최종발아율은 모든 저장 조건에서 나종자의 최종발아율과 차이를 보이지 않았다. P2030 필름코팅 종자를 12개월 보관 시 저장 조건간 정상묘출현율 및 최종발아율에는 유의한 차이가 없는 것으로 조사되었다.

표 58. 오이 종자의 필름코팅 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나종자		P2030 필름코팅 종자		인코텍社 필름코팅 종자		Duncan Analysis A vs C vs E	Duncan Analysis B vs D vs F
			GR at 4d(A)	GR at 8d(B)	GR at 4d(A)	GR at 8d(B)	GR at 4d(A)	GR at 8d(B)		
오이 종자 (6개월 저장)	5	마대	80±5.0	90±1.9	66±8.7	89±4.4	51±5.8	85±6.6	Aa, Cb, Ec	NS
		알루미늄	89±4.4	93±3.4	76±5.9	92±2.5	63±8.4	89±7.4	Aa, Cb, Ec	NS
		캔포장	86±6.8	96±2.5	71±5.7	91±4.1	55±4.8	91±2.0	Aa, Cb, Ec	NS
	15	마대	80±1.6	89±2.5	75±6.8	88±3.7	55±3.8	92±5.3	Aa, Ca, Eb	NS
		알루미늄	84±2.5	93±2.5	74±4.3	92±2.8	68±7.1	88±2.8	Aa, Cab, Eb	NS
		캔포장	84±3.8	91±3.8	74±5.5	95±3.4	61±7.5	88±1.6	Aa, Ca, Eb	Ba, Dab, Fb
	상온	마대	78±7.8	93±3.0	65±11.4	91±4.2	63±6.6	90±5.4	NS	NS
		알루미늄	86±3.7	93±5.3	76±7.1	90±5.7	69±7.4	90±3.4	Aa, Cab, Eb	NS
		캔포장	81±2.6	89±2.6	79±8.1	95±3.5	65±13.9	91±4.7	NS	NS
	온도		NS	NS	NS	NS	*	NS		
	용기		**	NS	NS	*	*	NS		
	온도X용기		NS	NS	NS	NS	NS	NS		
오이 종자 (12개월 저장)	5	마대	28±4.1	88±2.8	31±5.8	86±5.7	22±2.8	91±2.6	Aab, Ca, Eb	NS
		알루미늄	46±4.6	90±6.6	33±1.9	92±1.0	38±4.3	91±1.2	Aa, Cb, Eb	NS
		캔포장	42±3.8	93±2.6	30±2.8	94±1.0	40±5.7	93±5.0	Aa, Cb, Ea	NS
	15	마대	27±5.7	92±3.0	28±4.9	90±1.6	31±3.8	91±2.6	NS	NS
		알루미늄	34±5.0	88±2.8	31±2.5	92±5.7	40±3.8	92±3.4	Aab, Cb, Ea	NS
		캔포장	32±5.7	90±3.3	35±7.2	91±5.3	33±5.8	92±4.9	NS	NS
	상온	마대	21±4.4	93±3.4	23±2.6	91±2.6	26±3.7	88±3.8	NS	NS
		알루미늄	29±4.7	90±1.9	29±3.4	89±3.5	33±6.8	87±4.7	NS	NS
		캔포장	31±5.7	89±3.8	31±7.2	91±2.5	27±4.8	95±4.2	NS	NS
	온도		**	NS	NS	NS	*	NS		
	용기		**	NS	NS	NS	**	NS		
	온도X용기		NS	NS	NS	NS	*	NS		

^a: Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

* : 0.01 ≤ P ≤ 0.05, ** : P ≤ 0.01

8) 고추 종자의 필름코팅 처리 후 일별 정상묘출현율·발아율 검정 및 저장성 검정

○ 필름코팅 처리 후 일별 정상묘출현율 및 발아율 검정

- 고추 나종자, P2030 필름코팅 종자, 인코텍社 필름코팅 종자 모두 치상 후 8일차까지 정상묘출현율은 0%였고, 치상 9일차부터 정상묘가 출현하기 시작하였고 3개 조건별 정상묘출현율 및 최종발아율은 통계적인 차이가 없는 것으로 조사되었다(표 59).

표 59. 고추 종자의 필름코팅 처리 종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율

로트	처리조건	8일차	9일차	10일차	11일차	12일차	13일차	14일차
	나종자	0	12 a	25 a	40 a	48 a	50 a	50 a
고추	P2030소재 필름코팅 종자	0	14 a	24 a	35 a	43 a	46 a	46 a
	인코텍社 필름코팅 종자	0	15 b	28 a	40 a	44 a	44 a	44 a

* : Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

○ 필름코팅 처리 종자의 저장 조건별 저장성 검정

- 보관 기간 기간이 경과함에 따라 나종자, P2030 및 인코텍社 필름코팅 종자는 모든 저장 조건에서 치상 후 10일차 정상묘출현율이 크게 감소하는 경향을 보였으며, 나종자, P2030 필름코팅 종자 및 인코텍社 필름코팅 종자 간에는 대부분의 조건에서 유의한 차이를 보이지 않았다(표 60). P2030 필름코팅 종자의 최종발아율은 저장 기간에 상관없이 5℃ 및 15℃에서 보관 시 나종자의 최종발아율과는 통계적인 차이를 보이지 않았다.
- P2030 필름코팅 종자 보관 시 저장 온도 및 용기별 최종발아율은 서로간의 유의성이 없는 것으로 조사되었으나, 일별 정상묘출현율은 조건별 유의한 차이를 보이는 것으로 보아 저장 용기 및 온도가 일별 정상묘출현율을 낮추는 주요 원인으로 작용하는 것으로 나타났다.

표 60. 고추 종자의 필름코팅 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나종자		P2030 필름코팅 종자		인코텍社 필름코팅 종자		Duncan Analysis A vs C vs E	Duncan Analysis B vs D vs F
			GR at 10d(A)	GR at 14d(B)	GR at 10d(A)	GR at 14d(B)	GR at 10d(A)	GR at 14d(B)		
고추 종자 (6개월 저장)	5	마대	16±6.0	49±6.5	13±1.9	44±7.5	8±0.0	42±2.8	NS	NS
		알루미늄	18±7.2	54±6.6	21±6.6	52±6.7	11±5.0	45±8.1	NS	NS
		캔포장	13±2.6	44±5.0	13±3.4	44±8.2	10±3.7	41±3.8	NS	NS
	15	마대	12±6.7	42±8.7	13±2.0	42±7.9	4±5.4	39±1.9	Ab, Cb, Ea	Bb, Db, Fa
		알루미늄	11±4.4	41±1.9	13±5.8	40±5.9	6±2.8	43±6.8	NS	NS
		캔포장	12±3.8	46±8.0	13±2.0	53±6.6	7±3.5	44±5.3	NS	NS
	상온	마대	0±0.0	31±2.5	0±0.0	39±1.2	0±0.0	34±6.2	NS	NS
		알루미늄	0±0.0	30±7.7	15±5.3	50±5.0	7±1.2	40±4.1	Ac, Ca, Eb	Ba, Da, Fab
		캔포장	7±4.2	38±6.3	8±4.1	42±4.3	2±1.6	38±2.8	NS	NS
	온도		**	**	**	NS	**	*		
	용기		NS	NS	**	NS	NS	NS		
	온도X용기		NS	NS	*	*	NS	NS		
고추 종자 (12개월 저장)	5	마대	14±3.0	40±5.0	16±0.0	43±3.4	14±1.9	43±5.0	NS	NS
		알루미늄	18±6.0	44±7.7	14±3.7	44±8.7	13±5.0	46±6.3	NS	NS
		캔포장	18±5.0	43±8.4	18±4.1	42±3.7	14±3.4	47±7.6	NS	NS
	15	마대	10±2.5	41±5.5	13±1.2	41±5.7	6±3.0	40±5.5	NS	NS
		알루미늄	17±4.8	49±3.5	17±3.0	46±6.4	12±5.9	48±7.5	NS	NS
		캔포장	19±5.8	42±6.3	14±1.6	43±6.2	7±3.0	42±12.1	Ab, Cb, Ea	NS
	상온	마대	2±1.0	23±4.1	3±2.0	39±2.5	0±0.0	33±3.4	NS	NS
		알루미늄	0±0.0	32±5.7	17±3.8	44±6.7	9±3.0	52±9.0	Ac, Cb, Ea	Ba, Dab, Fb
		캔포장	7±5.3	34±10.1	12±2.8	39±8.4	5±2.0	40±9.1	NS	NS
	온도		**	**	**	NS	**	NS		
	용기		**	NS	**	NS	**	**		
	온도X용기		NS	**	**	NS	**	NS		

^a: Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

* : 0.01≤P≤0.05, ** : P≤0.01

9) 상추 종자의 필름코팅 처리 후 일별 정상묘출현율·발아율 검정 및 저장성 검정

○ 필름코팅 처리 후 일별 정상묘출현율 및 발아율 검정

- 상추 나종자, P2030 필름코팅 종자, 인코텍社 필름코팅 종자 모두 치상 후 3일차까지 정상묘출현율은 0%였고, 4일째 및 5일째 정상묘출현율은 나종자와 P2030 필름코팅 종자 간에는 유의한 차이를 보이지 않았고, 인코텍社 필름코팅 종자는 나종자에 비해 유의하게 낮은 것으로 나타났다. 치상 후 6일 차부터 최종 조사일까지의 발아율은 3개 조건 간 통계적인 차이가 없는 것으로 조사되었다(표 61).

표 61. 상추 종자의 필름코팅 처리 종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율

로트	처리조건	3일차	4일차	5일차	6일차	7일차
	나종자	0	52 a	76 a	81 a	89 a
수박	P2030소재 필름코팅 종자	0	47 ab	71 ab	83 a	89 a
	인코텍社 필름코팅 종자	0	41 b	65 b	78 a	84 a

* : Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

○ 필름코팅 처리 종자의 저장 조건별 저장성 검정

- 보관 기간 기간이 경과함에 따라 나종자, P2030 및 인코텍社 필름코팅 종자는 모든 저장 조건에서 치상 후 5일차 정상묘출현율이 크게 감소하는 경향을 보였다. 최종발아율도 전반적으로 모든 저장 조건에서 저장 전 최종발아율 보다 통계적으로 유의하게 낮아지는 것으로 조사되었고, [5℃/알루미늄, 캔포장] 저장 조건에서 저장 전 최종발아율 차이가 가장 적은 것으로 나타났다(표 62).
- P2030 필름코팅 종자의 정상묘출현율 및 최종발아율은 모든 저장 조건에서 나종자 통계적으로 차이가 없는 것으로 조사되었다. 또한 P2030 필름코팅 종자 보관 시 저장 온도 및 용기별 정상묘출현율 및 최종발아율은 서로간의 유의한 차이가 있는 것으로 보아 저장 용기 및 온도는 일별 정상묘출현율 및 최종발아율을 큰 영향을 주는 주요 원인으로 작용하는 것으로 사료된다.

표 62. 상추 종자의 필름코팅 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나종자		P2030 필름코팅 종자		인코텍社 필름코팅 종자		Duncan Analysis A vs C vs E	Duncan Analysis B vs D vs F
			GR at 5d(A)	GR at 7d(B)	GR at 5d(A)	GR at 7d(B)	GR at 5d(A)	GR at 7d(B)		
상추 종자 (6개월 저장)	5	마대	30±6.3	76±3.8	34±2.5	68±6.9	38±6.6	70±4.9	NS	NS
		알루미늄 캔포장	35±7.4	81±6.2	35±4.4	80±5.2	41±6.0	82±8.8	NS	NS
		마대	28±6.3	78±3.4	30±5.4	76±5.0	34±8.7	77±6.0	NS	NS
	15	알루미늄 캔포장	32±1.9	62±4.7	32±6.7	65±8.4	38±3.5	70±2.5	NS	NS
		마대	33±6.2	65±3.8	32±6.0	68±7.5	37±7.2	67±3.5	NS	NS
		알루미늄 캔포장	30±4.8	69±4.2	32±6.6	66±4.7	31±4.7	63±8.9	NS	NS
	상온	마대	0±0.0	1±1.2	1±1.0	3±1.9	0±0.0	4±3.4	NS	NS
		알루미늄 캔포장	14±4.3	41±2.6	22±7.3	53±3.5	9±3.5	50±9.2	NS	NS
		알루미늄 캔포장	14±5.3	47±5.0	13±3.0	43±8.1	14±7.7	43±8.7	NS	NS
온도			**	**	**	**	**	**	**	
용기			NS	**	*	**	NS	**	**	
온도X용기			**	**	*	**	*	**	**	
상추 종자 (12개월 저장)	5	마대	27±4.2	76±6.0	32±4.1	83±4.8	32±4.0	83±2.0	NS	NS
		알루미늄 캔포장	34±3.7	86±5.0	38±3.0	84±3.8	30±8.9	80±7.8	NS	NS
		알루미늄 캔포장	38±7.7	81±7.7	36±5.2	83±4.1	28±3.4	76±5.3	NS	NS
	15	마대	23±8.5	76±4.4	26±2.8	70±3.7	23±5.3	72±8.9	NS	NS
		알루미늄 캔포장	22±6.2	64±4.9	20±6.4	66±3.8	20±5.3	66±8.4	NS	NS
		알루미늄 캔포장	25±7.0	74±8.2	25±3.8	67±5.7	23±3.4	70±5.9	NS	NS
	상온	마대	0±0.0	2±1.6	0±0.0	2±1.9	0±0.0	1±1.2	NS	NS
		알루미늄 캔포장	6±4.4	40±6.7	11±2.6	49±4.4	5±3.8	50±8.9	NS	NS
		알루미늄 캔포장	10±1.0	50±7.1	17±3.4	51±4.8	11±2.6	51±5.3	NS	NS
온도			**	**	**	**	**	**	**	
용기			**	**	*	**	*	**	**	
온도X용기			NS	**	**	**	**	**	**	

^a: Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

* : 0.01 ≤ P ≤ 0.05, ** : P ≤ 0.01

10) 토마토 종자의 필름코팅 처리 후 일별 정상묘출현율·발아율 검정 및 저장성 검정

○ 필름코팅 처리 후 일별 정상묘출현율 및 발아율 검정

- 토마토 나종자, P2030 필름코팅 종자, 인코텍社 필름코팅 종자 모두 치상 후 3일차까지 정상묘출현율은 0%였고, 4일째 및 5일째 정상묘출현율은 나종자와 P2030 필름코팅 종자 간에는 유의한 차이를 보이지 않았고, 인코텍社 필름코팅 종자는 나종자 및 P2030 필름코팅 종자에 비해 유의하게 낮은 것으로 나타났다. 치상 후 6일 차부터 최종 조사일까지의 발아율은 3개 조건 간 통계적인 차이가 없는 것으로 조사되었다(표 63).

표 63. 토마토 종자의 필름코팅 처리 종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율

로트	처리조건	3일차	4일차	5일차	6일차	7일차	8일차	9일차	14일차
	나종자	0	29 a	49 a	57 a	62 a	64 a	68 a	68 a
토마토	P2030소재 필름코팅 종자	0	30 a	49 a	60 a	67 a	68 a	72 a	72 a
	인코텍社 필름코팅 종자	0	22 b	44 b	54 a	59 a	64 a	68 a	68 a

* : Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

○ 필름코팅 처리 종자의 저장 조건별 저장성 검정

- 보관 기간 기간이 경과함에 따라 나종자, P2030 및 인코텍社 필름코팅 종자는 대부분의 저장 조건에서 치상 후 7일차 정상묘출현율과 최종발아율이 감소하는 경향을 보였다. [5℃/알루미늄, 캔포장] 및 [15℃/알루미늄, 캔포장] 조건은 정상묘출현율은 저장 전 정상묘출현율과 유의한 차이가 없는 것으로 조사되었고, 최종발아율은 저장 전 최종발아율과 통계적인 차이가 나지 않은 것으로 조사되었다(표 64).
- P2030 필름코팅 종자의 정상묘출현율 및 최종발아율은 몇몇 조건을 제외한 대부분의 저장 조건에서 나종자 통계적으로 차이가 없는 것으로 조사되었고, 정상묘출현율 및 최종발아율이 나종자에 비해 통계적으로 낮아진 저장 조건은 [5℃/마대], [15℃/마대] 조건 인 것으로 조사되었다.
- 저장 온도와 관계없이 마대에 보관 할 경우 나종자, P2030 및 인코텍社 필름코팅 종자의 정상묘출현율 및 최종발아율이 저장 전 보다 크게 감소하는 것으로 나타났다. P2030 필름코팅 종자 보관 시 저장 온도 및 용기별 정상묘출현율 및 최종발아율은 서로간의 유의한 차이가 있는 것으로 조사되었는데, 이는 보관 온도 및 저장 용기 일별 정상묘출현율 및 최종발아율을 감소에 영향을 주는 주요 원인이라는 것을 나타낸다.

표 64. 토마토 종자의 필름코팅 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나종자		P2030 필름코팅 종자		인코텍社 필름코팅 종자		Duncan Analysis A vs C vs E	Duncan Analysis B vs D vs F
			GR at 5d(A)	GR at 7d(B)	GR at 5d(A)	GR at 7d(B)	GR at 5d(A)	GR at 7d(B)		
토마토 종자 (6개월 저장)	5	마대	26±2.5	52±8.5	24±9.8	44±12.8	31±2.6	56±6.7	NS	Ba, Db, Fa
		알루미늄	49±7.6	71±5.8	54±8.6	67±8.7	56±4.3	68±6.7	NS	NS
		캔포장	50±5.7	66±3.7	44±5.5	70±8.2	42±8.1	70±6.8	NS	NS
	15	마대	17±2.6	55±8.2	9±2.5	40±8.4	20±8.2	55±6.6	Aa, Cb, Ea	Ba, Db, Fa
		알루미늄	44±7.7	69±8.1	39±6.7	62±9.6	42±9.3	68±6.6	NS	NS
		캔포장	38±7.7	64±3.0	41±4.2	65±1.0	36±4.8	65±3.8	NS	NS
	상온	마대	7±2.6	49±4.1	9±7.0	40±12.0	12±10.2	52±9.3	NS	NS
		알루미늄	39±3.4	66±3.4	37±4.4	60±6.0	37±3.4	67±6.0	NS	NS
		캔포장	29±10.4	59±7.5	35±8.2	58±4.9	31±10.4	59±10.4	NS	NS
	온도		*	NS	**	*	NS	NS		
	용기		**	**	**	**	**	NS		
	온도X용기		*	NS	NS	NS	NS	NS		

^a: Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

* : 0.01≤P≤0.05, ** : P≤0.01

다. 펠렛코팅 처리 종자의 일별 정상묘출현율·최종발아율 및 저장성 검정

- 본 연구에서 개발한 펠렛소재 시제품(DTK_5) 이용 각 협동에서 보유하고 있는 펠렛코팅 가공처리 기술을 적용하여 공정 후, 나종자, DTK_5 펠렛코팅 종자, S社 펠렛코팅 종자간 일별 정상묘출현율과 최종발아율 검정을 통해 시제품 효과분석을 수행하였다.

1) 당근 종자의 펠렛코팅 처리 후 정상묘출현율·최종발아율 및 저장성 검정

○ 펠렛코팅 처리 후 일별 정상묘출현율 및 발아율 검정

- 당근의 경우 나종자, DTK_5 펠렛코팅 종자 모두 치상 후 5일차부터 정상묘가 출현하기 시작하였다(표 65). 나종자와 DTK_5 펠렛코팅 종자의 치상 후 5일부터 8일까지의 정상묘출현율과 최종발아율을 비교한 결과, 나종자와 DTK_5_1협동 펠렛코팅 종자간의 정상묘출현율 및 최종발아율에는 통계적인 차이가 없었지만, DTK_5_3협동 펠렛코팅 종자는 나종자의 정상묘출현율 및 최종발아율과는 유의한 차이가 있는 것으로 조사되었다.

표 65. 당근 나종자 및 펠렛종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율

작물	처리조건	치상 후 일별 정상묘출현율(%)					
		4일	5일	6일	7일	8일	14일
	나종자	0	19 a*	60 a	77 a	85 a	85 a
당근	DTK_5_1협동	0	21 a	58 a	84 a	86 a	86 a
	DTK_5_3협동	0	7 b	43 b	67 b	75 a	79 b

* : Duncan 검정 결과, 동일 문자간에는 5% 유의 수준에서 평균의 차이가 없음

○ 펠렛코팅 처리 종자의 저장 조건별 저장성 검정

- 펠렛코팅 처리 종자의 최적 저장조건을 규명하기 위하여 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 최종발아율 검정을 수행하였다(표 66).
- 당근 나종자의 저장 전, 저장 후(6개월 및 12개월)의 7일차 정상묘출현율 및 최종발아율을 조사한 결과, 나종자의 저장 전 저장 후의 7일차 정상묘출현율을 각각 77%→68%→44%(약 43% 감소율), 최종발아율은 각각 85%→82%→79%(약 7% 감소)로 조사되었다. DTK_5_1협동 펠렛종자의 저장 전 저장 후의 7일차 정상묘출현율은 각각 84%→77%→48%(약 42% 감소), 최종발아율은 각각 86%→85%→82%(약 5% 감소)로 조사되었고, DTK_5_3협동 펠렛종자의 저장 전 저장 후의 7일차 정상묘출현율은 각각 67%→72%→45%(약 33% 감소), 최종발아율은 각각 79%→81%→81%(약 3% 증가율)로 조사되었다.
- DTK_5 소재 이용 펠렛코팅 처리 종자의 저장 6개월 및 12개월 후 일별 정상묘출현율

및 최종발아율은 모든 저장 조건에서([12개월/5℃/알루미늄] 제외) 나중자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율과 통계적으로 유의한 차이가 나지 않는 것으로 나타났다.

- 나중자와 펠렛코팅 종자의 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 최종발아율을 분석하였을 때, 나중자 및 DTK_5 펠렛종자는 저장 기간에 따라 일별 정상묘출현율 및 최종발아율이 감소하는 경향을 보였지만 같은 저장 기간 내에서 온도별·용기별 조건 간의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 유의미한 차이를 보이지 않았다.
- 1협동과 3협동에서 동일한 DTK_5 소재를 이용하고 각 협동의 최적 펠렛팅 공정법을 적용하여 제조된 펠렛종자 간에는 일별 정상묘출현율과 최종발아율은 대부분의 조건에서 유의한 차이를 보이지 않은 것으로 조사되었다.

표 66. 당근 종자의 펠렛코팅 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나종자		DTK5_1협동 가공		DTK5_3협동 가공		Duncan Analysis A vs C vs E	Duncan Analysis B vs D vs F
			GR at 7d(A)	GR at 14d(B)	GR at 7d(C)	GR at 14d(D)	GR at 7d(E)	GR at 14d(F)		
당근 종자 (6개월 저장)	5	알루미늄	69±8.9	83±6.6	79±8.1	87±5.3	74±5.0	83±7.0	NS	NS
		캔포장	66±3.7	87±2.6	77±6.6	82±5.3	68±9.1	81±5.7	NS	NS
	15	알루미늄	67±8.9	79±4.8	75±3.8	86±3.3	74±4.4	79±3.8	NS	NS
		캔포장	67±5.5	81±6.0	75±6.0	85±7.4	69±6.3	81±4.4	NS	NS
	상온	알루미늄	71±4.1	85±5.3	78±9.4	82±9.6	75±7.2	84±7.1	NS	NS
		캔포장	68±6.0	80±5.3	77±7.4	85±8.7	71±6.0	81±7.5	NS	NS
	온도		NS	NS	NS	NS	NS	NS		
	용기		NS	NS	NS	NS	NS	NS		
	온도X용기		NS	NS	NS	NS	NS	NS		
	당근 종자 (12개월 저장)	5	알루미늄	42±5.2	79±3.4	54±4.5	83±2.6	42±3.0	78±7.4	Ab, Ca, Eb
캔포장			42±2.0	77±9.2	49±2.6	81±3.4	47±1.2	79±6.0	NS	NS
15		알루미늄	45±1.0	82±2.8	47±2.5	83±6.3	52±2.5	82±5.9	NS	NS
		캔포장	45±4.1	77±8.1	45±1.9	83±5.0	44±2.8	81±3.5	NS	NS
상온		알루미늄	46±2.3	77±3.8	46±7.5	83±5.3	46±2.8	83±7.2	NS	NS
		캔포장	48±3.3	79±8.9	49±1.9	78±1.6	44±3.7	83±4.7	NS	NS
온도		NS	NS	NS	NS	NS	NS			
용기		NS	NS	NS	NS	NS	NS			
온도X용기		NS	NS	NS	NS	NS	NS			

^a: Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

* : 0.01≤P≤0.05, ** : P≤0.01

2) 양배추 종자의 펠릿코팅 처리 후 정상묘출현율·최종발아율 및 저장성 검정

○ 펠릿코팅 처리 후 일별 정상묘출현율 및 최종발아율 검정

- 양배추 종자는 나종자와 펠릿종자 모두 치상 후 5일차부터 정상묘가 출현하였고, 치상 후 5일 및 6일차까지는 나종자와 DTK_5 펠릿코팅 종자 간의 정상묘출현율은 통계적인 차이가 없는 것으로 조사되었지만, 7일차부터 10일차까지의 정상묘출현율 및 최종발아율은 펠릿종자가 나종자에 비해 유의하게 낮은 것으로 나타났다(표 67).
- 또한 DTK_5_1협동 펠릿종자와 DTK_5_3협동 펠릿종자 간의 7일차부터 10일차까지의 정상묘출현율도 유의하게 다른 것으로 조사되었다.

표 67. 양배추 나종자 및 펠릿종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율

작물	처리조건	치상 후 일별 정상묘출현율(%)						
		4일	5일	6일	7일	8일	9일	10일
	나종자	0	19 a*	47 a	66 a	74 a	77 a	77 a
양배추	DTK_5_1협동	0	26 a	43 a	57 b	61 b	67 b	67 b
	DTK_5_3협동	0	20 a	39 a	44 c	51 c	57 c	57 c

* : Duncan 검정 결과, 동일 문자간에는 5% 유의 수준에서 평균의 차이가 없음

○ 펠릿코팅 처리 종자의 저장 조건별 저장성 검정

- 펠릿코팅 처리 종자의 최적 저장조건을 규명하기 위하여 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 최종발아율을 조사하였다(표 68). 양배추 나종자의 저장 전, 저장 후(6개월 및 12개월)의 7일차 정상묘출현율 및 최종발아율은 각각 74%→40%→37%(약 50% 감소율), 최종발아율은 각각 77%→69%→72%(약 6% 감소율)로 조사되었다.
- DTK_5_1협동 펠릿종자의 저장 전 저장 후의 7일차 정상묘출현율을 각각 61%→28%→29%(약 48% 감소), 최종발아율은 각각 67%→54%→57%(약 15% 감소)로 조사되었다. DTK_5_3협동 펠릿종자의 저장 전 저장 후의 7일차 정상묘출현율을 각각 54%→29%→24%(약 56% 감소), 최종발아율은 각각 60%→53%→49%(약 18% 감소)로 조사되었다.
- DTK_5 소재 이용 펠릿코팅 처리 종자의 저장 6개월 및 12개월 후 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 대부분의 저장 조건에서 나종자의 일별 정상묘출현율과 최종발아율 간에는 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 조사되었다.
- 또한 나종자 및 펠릿종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 저장 조건에 따라 큰 영향을 받는 것으로 조사되었는데, 특히 저장 후 12개월이 지난 펠릿종자의 경우에는

저장 온도 및 용기에 따른 일별 정상묘출현율과 최종발아율의 차이가 큰 것으로 나타났다.

- 본 연구에서 제시한 저장조건으로는 양배추 펠렛종자의 최종발아율 감소율을 나종자의 최종발아율 감소율 수준으로 유지하기는 어려운 것으로 나타났다.
- 1협동과 3협동에서 동일한 DTK_5 소재 및 각 협동의 최적 공정법을 적용하여 제조된 펠렛종자 간의 6개월 저장 시 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 대부분의 저장 조건에서 유의한 차이를 보이지 않았지만, 저장 기간이 늘어남에 따라 대부분의 조건에서 DTK_5_1협동 펠렛종자가 DTK_5_3협동 펠렛종자보다 일별 정상묘출현율과 최종발아율이 유의하게 높은 것으로 나타났다.
- 이는 양배추 종자의 펠렛코팅 공정은 펠렛종자 저장 시 종자활력 뿐만아니라 저장 조건을 선정하는데 있어서 상당한 영향을 줄 수 있다는 것을 나타낸다.

표 68. 양배추 종자의 펠렛코팅 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나종자		DTK5_1협동 가공		DTK5_3협동 가공		Duncan Analysis A vs C vs E	Duncan Analysis B vs D vs F
			GR at 7d(A)	GR at 10d(B)	GR at 7d(C)	GR at 10d(D)	GR at 7d(E)	GR at 10d(F)		
양배추 종자 (6개월 저장)	5	알루미늄	46±8.2	73±5.7	32±6.3	55±4.1	34±6.5	53±6.8	Aa, Cb, Eb	Ba, Db, Fab
		캔포장	44±4.3	75±4.2	32±4.9	54±4.3	35±3.8	54±4.0	Aa, Cb, Eb	Ba, Dc, Fb
	15	알루미늄	46±8.7	75±7.7	29±4.8	58±1.6	33±7.4	59±6.6	Aa, Cb, Eb	Ba, Db, Fb
		캔포장	36±3.7	66±5.4	26±5.7	56±3.3	24±7.1	44±7.5	Aa, Cb, Eb	Ba, Db, Fb
	상온	알루미늄	39±3.0	69±5.3	25±3.5	52±6.4	23±3.8	46±6.8	Aa, Cb, Eb	Ba, Db, Fb
		캔포장	27±9.1	56±9.9	26±8.7	52±4.3	24±5.9	43±8.2	Aa, Ca, Ea	Ba, Da, Fb
		온도	*(0.006)	*(0010)	NS	NS	*(0.006)	***(0.000)		
		용기	*(0.012)	*(0.028)	NS	NS	NS	NS		
		온도X용기	NS	NS	NS	NS	NS	NS		
	양배추 종자 (12개월 저장)	5	알루미늄	45±5.3	77±3.3	38±5.5	59±1.2	31±4.1	59±9.9	Aa, Cab, Eb
캔포장			37±5.0	76±5.3	32±2.3	62±9.5	28±3.3	50±8.5	Aa, Cab, Eb	Ba, Db, Fc
15		알루미늄	39±3.8	72±7.4	34±1.0	65±5.5	28±1.6	53±6.2	Aa, Cab, Eb	Ba, Db Fc
		캔포장	32±3.8	70±6.3	29±2.6	58±5.9	21±1.9	50±6.9	Aa, Ca, Eb	Ba, Db Fb
상온		알루미늄	36±7.7	70±5.0	25±3.0	56±4.4	24±2.8	46±9.8	Aa, Cb, Eb	Ba, Db, Fc
		캔포장	26±4.1	68±8.4	22±2.8	51±6.2	11±1.0	36±7.1	Aa, Ca, Eb	Ba, Db, Fc
		온도	*(0.005)	NS	***(0.000)	*(0.025)	***(0.000)	*(0.001)		
		용기	*(0.001)	NS	*(0.005)	NS	***(0.000)	*(0.001)		
		온도X용기	NS	NS	NS	NS	*(0.003)	NS		

^a: Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

* : 0.01≤P≤0.05, ** : P≤0.01

3) 고추 종자의 펠렛코팅 처리 후 정상묘출현율·최종발아율 조사 및 저장성 검정

○ 펠렛코팅 처리 후 일별 정상묘출현율 및 최종발아율 검정

- 고추 종자는 나종자와 펠렛종자 모두 치상 후 6일차부터 정상묘가 출현하였고, 치상 후 6일부터 최종조사일까지의 정상묘출현율은 나종자와 펠렛코팅 종자 간의 통계적인 차이가 없는 것으로 조사되었다(표 69).

표 69. 고추 나종자 및 펠렛종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율

작물	처리조건	치상 후 일별 정상묘출현율(%)					
		5일	6일	7일	8일	9일	14일
고추	나종자	0	20 a*	57 a	74 a	81 a	81 a
	DTK_5_1협동	0	32 a	62 a	83 a	85 a	85 a
	DTK_5_3협동	0	24 a	54 a	71 a	77 a	77 a

* : Duncan 검정 결과, 동일 문자간에는 5% 유의 수준에서 평균의 차이가 없음

○ 펠렛코팅 처리 종자의 저장 조건별 저장성 검정

- 펠렛코팅 처리 종자의 최적 저장조건을 규명하기 위하여 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 검정을 수행하였다(표 70). 고추 나종자의 저장 전, 저장 후(6개월 및 12개월)의 7일차 정상묘출현율 및 최종발아율 비교를 수행하였다. 나종자의 저장 전 저장 후의 7일차 정상묘출현율을 각각 57%→56%→45%(약 21% 감소), 최종발아율은 각각 81%→82%→79%(약 3% 감소)로 조사되었다.
- DTK_5_1협동 펠렛종자의 저장 전 저장 후의 7일차 정상묘출현율을 각각 62%→55%→48%(약 23% 감소), 최종발아율은 각각 85%→86%→82%(약 4% 감소)로 조사되었고, DTK_5_3협동 펠렛종자의 저장 전 저장 후의 7일차 정상묘출현율을 각각 54%→54%→46%(약 15% 감소), 최종발아율은 각각 77%→79%→77%(약 0% 증가)로 조사되었다.
- DTK_5 소재 이용 펠렛코팅 처리 종자의 저장 6개월 및 12개월 후 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 대부분의 저장 조건에서 나종자의 일별 정상묘출현율과 최종발아율 간에는 통계적으로 유의한 차이가 나지 않는 것으로 나타났다.
- 나종자와 펠렛코팅 종자의 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 최종발아율을 분석하였을 때, 저장 온도와 용기는 6개월 및 12개월 저장 시 나종자 및 펠렛종자의 일별 정상묘출현율과 최종발아율에는 영향을 미치지 않는 것으로 조사되었다.
- 1협동과 3협동에서 동일한 DTK_5 소재 및 각 협동의 최적 공정법을 적용하여 제조된 펠렛종자 간의 일별 정상묘출현율과 최종발아율은 모든 저장 조건에서 유의한 차이를 보이지 않은 것으로 조사되었다.

표 70. 고추 종자의 펠렛코팅 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나종자		DTK5_1협동 가공		DTK5_3협동 가공		Duncan Analysis A vs C vs E	Duncan Analysis B vs D vs F
			GR at 7d(A)	GR at 14d(B)	GR at 7d(C)	GR at 14d(D)	GR at 7d(E)	GR at 14d(F)		
고추 종자 (6개월 저장)	5	알루미늄	49±5.0	81±7.9	60±3.4	88±1.9	56±7.8	83±5.0	Ab, Ca, Ea	NS
		캔포장	49±6.6	79±4.8	57±8.7	86±3.3	53±7.7	80±3.0	Ab, Ca, Eab	NS
	15	알루미늄	53±2.6	80±4.3	55±8.2	85±6.6	52±8.5	79±6.8	NS	NS
		캔포장	53±4.1	83±6.3	54±8.5	84±8.8	55±6.0	78±4.3	NS	NS
	상온	알루미늄	54±5.0	86±5.3	48±4.9	85±3.5	55±5.3	79±7.9	NS	NS
		캔포장	57±5.9	82±7.0	58±5.7	86±1.6	52±5.9	78±9.8	NS	NS
		온도	NS	NS	NS	NS	NS	NS		
		용기	NS	NS	NS	NS	NS	NS		
		온도X용기	NS	NS	NS	NS	NS	NS		
	고추 종자 (12개월 저장)	5	알루미늄	42±5.2	79±3.4	52±2.5	85±2.6	42±3.5	76±5.3	NS
캔포장			42±2.0	77±9.2	49±2.6	81±3.4	47±1.2	79±6.0	NS	NS
15		알루미늄	45±1.0	82±2.8	47±2.5	84±6.3	52±2.5	76±4.8	NS	NS
		캔포장	45±4.1	77±8.1	45±1.9	84±5.0	44±2.8	75±3.5	NS	NS
상온		알루미늄	46±2.3	77±3.8	46±7.5	81±5.3	46±2.8	79±7.2	NS	NS
		캔포장	48±3.3	79±8.9	49±1.9	78±1.6	44±3.7	78±2.8	NS	NS
		온도	NS	NS	NS	NS	NS	NS		
		용기	NS	NS	NS	NS	NS	NS		
		온도X용기	NS	NS	NS	NS	NS	NS		

^a: Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

* : 0.01≤P≤0.05, ** : P≤0.01

4) 무 종자의 펠렛코팅 처리 후 정상묘출현율·최종발아율 및 저장성 검정

○ 펠렛코팅 처리 후 일별 정상묘출현율 및 최종발아율 검정

- 무 종자는 나종자와 펠렛종자 모두 치상 후 5일차부터 정상묘가 출현하였고, 치상 후 7일차까지는 나종자와 DTK5 펠렛코팅 및 S社 펠렛코팅 종자 간의 정상묘출현율은 통계적인 차이가 없는 것으로 조사되었다(표 71).
- 치상 후 8일차부터 최종조사일인 14일까지의 정상묘출현율 및 최종발아율은 나종자와 DTK5_3협동의 펠렛코팅 종자와는 유의한 차이가 있는 것으로 나타났고, DTK5_1협동의 펠렛코팅 및 S社 펠렛코팅 종자는 나종자의 정상묘출현율 및 최종발아율과 유의한 차이가 없는 것으로 조사되었다.

표 71. 무 나종자 및 펠렛종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율

작물	처리조건	치상 후 일별 정상묘출현율(%)						
		4일	5일	6일	7일	8일	9일	10일
무	나종자	0	34 a*	57 a	63 a	70 a	73 a	73 a
	DTK_5_1협동	0	31 a	55 a	59 a	64 a	69 ab	69 ab
	DTK_5_3협동	0	32 a	52 a	59 a	61 b	65 b	65 b
	S사 펠렛코팅	0	38 a	54 a	62 a	69 a	74 a	74 a

* : Duncan 검정 결과, 동일 문자간에는 5% 유의 수준에서 평균의 차이가 없음

○ 펠렛코팅 처리 종자의 저장 조건별 저장성 검정

- 펠렛코팅 처리 종자의 최적 저장조건을 규명하기 위하여 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 최종발아율 검정을 수행하였다(표 72). 무 나종자의 저장 전, 저장 후(6개월 및 12개월)의 6일차 정상묘출현율 및 최종발아율 비교를 수행하였다. 나종자의 저장 전 저장 후의 6일차 정상묘출현율을 각각 57%→56%→57%(약 0%감소), 최종발아율은 각각 73%→76%→74%(약 1% 증가, 저장 전후 평균의 유의차 없음)로 조사되었다.
- DTK_5_1협동 펠렛종자의 저장 전 저장 후의 6일차 정상묘출현율을 각각 55%→43% → 42%(약 24% 감소), 최종발아율은 각각 69%→65%→66%(약 4% 감소)로 조사되었다.
- DTK_5_3협동 펠렛종자의 저장 전 저장 후의 6일차 정상묘출현율을 각각 52%→42%→ 36%(약 31% 감소), 최종발아율은 각각 65%→63%→55%(약 15% 감소)로 조사되었다. S社 펠렛코팅의 저장 전 저장 후의 6일차 정상묘출현율을 각각 54%→53%→56%(약 4% 증가, 저장 전후 평균의 유의차 없음), 최종발아율은 각각 74%→70%→70%(약 5% 감소)로 조사되었다.
- DTK_5 소재 이용 펠렛코팅 처리 종자의 저장 6개월 및 12개월 후 일별 정상묘출현율

및 최종발아율을 조사한 결과, DTK_5_1협동의 펠렛종자의 경우 [5℃/알루미늄] 조건에서 저장할 경우에는 저장 기간에 상관없이 나종자의 일별 정상묘출현율과 최종발아율과 유의한 차이가 없는 것으로 나타났지만 대부분의 저장 조건에서 DTK_5 펠렛종자는 나종자의 일별 정상묘출현율과 최종발아율에 비해서 통계적으로 유의하게 감소된 것으로 조사되었다.

- 반면에, S社 펠렛코팅 종자의 저장 6개월 및 12개월 후 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 나종자와 비교하였을 때 모든 저장조건에서 유의한 차이가 없는 것으로 조사되었다.
- 1협동과 3협동에서 동일한 DTK_5 소재 및 각 협동의 최적 공정법을 적용하여 제조된 펠렛종자 간에는 일별 정상묘출현율과 최종발아율은 대부분의 조건에서 유의한 차이를 보이지 않은 것으로 조사되었으나 DTK_5_1협동 펠렛종자가 DTK_5_3협동 펠렛종자보다 높은 경향을 보였다.
- DTK_5 소재 이용 펠렛종자의 경우에는 저장 기간·조건별 일별 정상묘출현율 및 최종발아율이 S社 펠렛코팅 종자와는 달리 많은 감소율을 보였는데, 무 종자 최적 펠렛성형을 위해 추후 펠렛 소재 및 공정을 보완할 필요성이 있다고 사료되어 진다.

표 72 무 종자의 펠렛코팅 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나종자		DTK5_1협동 가공		DTK5_3협동 가공		산농코트재_1협동 가공		Duncan Analysis		
			GR at 6d(A)	GR at 10d(B)	GR at 6d(C)	GR at 10d(D)	GR at 6d(E)	GR at 10d(F)	GR at 6d(G)	GR at 10d(H)	A vs C vs E vs G	B vs D vs F vs H	
무 종자 (6개 월 저장)	5	알루미늄	54±8.4	73±4.8	44±5.9	64±5.0	43±4.4	66±2.5	53±9.8	71±3.8	NS	Ba, Db, Fab, Hab	
		캔포장	61±5.3	79±2.6	39±3.5	61±4.2	44±3.5	67±1.2	59±7.5	75±3.8	Aa, Cb, Eb, Ga	Ba, Db, Fb, Ha	
	15	알루미늄	57±3.5	80±5.0	50±4.1	70±7.7	46±6.6	66±5.7	56±5.0	72±5.9	Aa, Cab, Eb, Gab	Ba, Dab, Fb, Hab	
		캔포장	57±6.2	78±6.8	44±10.0	69±6.8	43±7.5	64±8.7	51±6.0	65±3.5	Aa, Cab, Eb, Gab	Ba, Dab, Fb, Hab	
	상온	알루미늄	5±3.8	74±3.3	38.7±4.2	64±8.7	40±1.6	61±7.7	49±6.2	69±6.6	Aa, Cb, Eb, Gab	Ba, Db, Fb, Hab	
		캔포장	50±4.4	69±2.5	39.5±6.6	65±4.1	37±8.9	56±9.2	51±9.5	68±8.2	Aa, Cb, Eb, Ga	Ba, Da, Fb, Ha	
	온도		NS	*(0.013)	NS	NS	NS	NS	NS	NS			
	용기		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS			
	온도X용기		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS			
	무 종자 (12개 월 저장)	5	알루미늄	58±4.6	72±2.5	48±5.0	69±8.4	37±1.9	60±3.7	58±8.7	75±8.1	Aa, Cab, Eb, Ga	Bab, Dab, Fb, Ha
			캔포장	55±3.4	73±9.4	49±1.0	68±5.0	42±5.5	57±6.8	56±6.4	71±7.2	Aa, Cab, Eb, Ga	Ba, Da, Fb, Ha
		15	알루미늄	59±6.4	79±8.5	44±4.3	66±8.4	43±2.5	61±6.2	61±3.5	72±1.6	Aa, Cb, Eb, Ga	Ba, Dab, Fb, Hb
캔포장			59±4.4	77±8.7	39±6.2	67±9.8	36±4.1	57±9.1	59±6.4	71±8.2	Aa, Cb, Eb, Ga	Ba, Db, Fb, Ha	
상온		알루미늄	53±8.7	71±9.8	37±3.4	65±6.8	26±7.1	43±9.3	53±6.0	65±6.6	Aa, Cb, Eb, Ga	Ba, Da, Fb, Ha	
		캔포장	56±6.4	72±5.7	34±7.8	63±2.0	32±7.5	54±3.4	47±5.0	68±3.4	Aa, Cb, Eb, Gab	Ba, Db, Fc, Hab	
온도			NS	NS	***(0.000)	NS	*(0.001)	*(0.011)	*(0.012)	NS			
용기			NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS			
온도X용기			NS	NS	NS	NS	*(0.041)	NS	NS	NS			

^a: Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

* : 0.01 ≤ P ≤ 0.05, ** : P ≤ 0.01

5) 상추 종자의 펠렛코팅 처리 후 정상묘출현율·최종발아율 및 저장성 검정

○ 펠렛코팅 처리 후 일별 정상묘출현율 및 발아율 검정

- 상추 종자는 나종자와 펠렛종자 모두 치상 후 3일차부터 정상묘가 출현하였고, 치상 후 7일까지 나종자, DTK_5_1협동 펠렛종자, 및 S社 펠렛종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율에는 통계적인 차이가 없었으나, DTK_5_3협동 펠렛종자는 일별 정상묘출현율과 최종발아율은 나종자에 비해 통계적으로 유의하게 작은 것으로 조사되었다(표 73).

표 73. 상추 나종자 및 펠렛종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율

작물	처리조건	치상 후 일별 정상묘출현율(%)					
		2일	3일	4일	5일	6일	7일
상추	나종자	0	39 a	59 a	69 a	74 a	76 a
	DTK_5_1협동	0	30 a	60 a	70 a	75 a	75 a
	DTK_5_3협동	0	19 b	33 b	46 b	59 b	64 b
	S사 펠렛코팅	0	39 a	59 a	67 a	71 a	73 a

* : Duncan 검정 결과, 동일 문자간에는 5% 유의 수준에서 평균의 차이가 없음

○ 펠렛코팅 처리 종자의 저장 조건별 저장성 검정

- 펠렛코팅 처리 종자의 최적 저장조건을 규명하기 위하여 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 검정을 수행하였다(표 74). 상추 나종자의 저장 전, 저장 후(6개월 및 12개월)의 3일차 정상묘출현율 및 최종발아율 비교를 수행하였다.
- 나종자의 저장 전 저장 후의 3일차 정상묘출현율을 각각 39%→31%→30%(약 23%감소), 최종발아율은 각각 76%→74%→74%(약 3% 감소)로 조사되었다.
- DTK_5_1협동 펠렛종자의 저장 전 저장 후의 3일차 정상묘출현율을 각각 30%→25%→26%(약 13% 감소), 최종발아율은 각각 75%→74%→74%(약 1% 감소)로 조사되었다. DTK_5_3협동 펠렛종자의 저장 전 저장 후의 3일차 정상묘출현율을 각각 19%→14%→16%(약 16% 감소), 최종발아율은 각각 64%→55%→52%(약 19% 감소)로 조사되었다. S社 펠렛코팅의 저장 전 저장 후의 6일차 정상묘출현율을 각각 39%→33%→34%(약 13% 감소), 최종발아율은 각각 73%→70%→73%(약 0% 감소)로 조사되었다.
- DTK_5_1협동 펠렛종자의 저장 6개월 및 12개월 후 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 모든 저장 조건에서 나종자, S社 펠렛종자의 일별 정상묘출현율과 최종발아율 간에는 통계적으로 유의한 차이가 나지 않는 것으로 나타났다.
- 반면 DTK_5_3협동 펠렛종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 대부분의 저장

조건에서 나중자 및 S社 펠렛종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율이 유의하게 작은 것으로 조사되었다.

- 나중자와 DTK_5_펠렛코팅 종자, S社 펠렛종자의 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 최종발아율을 분석하였을 때, 저장 온도와 용기는 일별 정상묘출현율에는 유의한 상관관계가 있지만 최종발아율에는 영향을 미치지 않는 것으로 조사되었다.
- 1협동과 3협동에서 동일한 DTK_5 소재 및 각 협동의 최적 공정법을 적용하여 제조된 펠렛종자 간에는 일별 정상묘출현율과 최종발아율은 대부분의 조건에서 유의한 차이를 보이는 것으로 조사되었고, 특히 DTK_5_1협동 펠렛종자의 경우에는 저장 기간·조건별 일별 정상묘출현율 및 최종발아율이 나중자 및 S社 펠렛코팅 종자와 비교 시 약간 감소되는 경향이 있었지만 통계적인 유의차는 없었다. 이는 추후 DTK_5소재 이용 최적 펠렛코팅 공정 구축을 통해 보완할 수 있을 것으로 사료된다.

표 74. 상추 종자의 펠렛코팅 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나종자		DTK5_1협동 가공		DTK5_3협동 가공		신농코트재_1협동 가공		Duncan Analysis A vs C vs E vs G	Duncan Analysis B vs D vs F vs H	
			GR at	GR at	GR at	GR at	GR at	GR at	GR at	GR at			
			3d(A)	7d(B)	3d(C)	7d(D)	3d(E)	7d(F)	3d(G)	7d(H)			
상추 종자 (6개 월 저장)	5	알루미늄	40±3.8	78±6.0	30±3.0	79±6.2	24±6.6	56.0±9.4	43.5±7.0	74.5±7.7	Aa, Cab, Eb, Ga	Ba, Da, Fb, Ha	
		캔포장	31±5.0	71±5.7	26±1.9	77±8.4	17.0±3.5	49.5±9.1	33.0±5.0	70.0±8.6	Aa, Cab, Eb, Ga	Ba, Da, Fb, Ha	
	15	알루미늄	35±5.5	77±4.4	26±4.9	74±3.4	19.0±3.8	59.5±9.6	39.0±1.2	75.0±3.8	Aa, Cab, Eb, Ga	Ba, Da, Fb, Ha	
		캔포장	27±9.3	78±3.4	24±3.7	75±7.2	21.0±2.6	57.0±3.8	34.5±3.0	68.5±8.4	Aab, Cab, Eb, Ga	Ba, Da, Fb, Ha	
	상 온	알루미늄	27±5.0	71±2.0	24±1.6	74±7.4	14.0±7.3	57.5±9.3	28.0±2.8	68.0±4.0	Aa, Ca, Eb, Ga	Ba, Da, Fb, Ha	
		캔포장	28±3.0	69±3.5	22±2.5	67±2.0	14.0±2.8	48.5±6.0	21.0±3.5	63.0±6.0	Aa, Cab, Eb, Gab	Ba, Da, Fb, Ha	
	온도		*	NS	*	NS	*	NS	**	NS			
	용기		*)	NS	*	NS	NS	NS	**	NS			
	온도X용기		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS			
	상추 종자 (12 개월 저장)	5	알루미늄	39±6.2	75±8.4	33±4.4	75±1.2	18±2.5	49±4.1	35±3.8	70±4.9	Aa, Ca, Eb, Ga	Ba, Da, Fb, Ha
			캔포장	34±4.3	76±1.9	33±4.4	74±9.2	17±4.8	59±9.8	39±3.8	74±5.0	Aa, Ca, Eb, Ga	Ba, Da, Fb, Ha
		15	알루미늄	36±5.0	77±9.3	25±3.8	70±8.5	17±2.5	49±7.4	37±3.0	74±8.2	Aa, Ca, Eb, Ga	Ba, Da, Fb, Ha
캔포장			25±2.0	78±3.8	25±2.5	74±6.3	15±4.1	51±9.7	29±4.8	73±5.0	Aa, Ca, Eb, Ga	Ba, Da, Fb, Ha	
상 온		알루미늄	27±3.0	78±9.4	21±1.9	76±5.7	11±1.9	45±9.1	33±3.8	71±4.2	Aa, Ca, Ec, Gb	Ba, Da, Fb, Ha	
		캔포장	21±2.5	60±3.3	23±3.5	78±9.4	19±1.0	56±2.5	30±3.8	76±9.6	Aa, Ca, Eb, Ga	Ba, Da, Fb, Ha	
온도		**	NS	**	NS	NS	NS	*	NS				
용기		**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS				
온도X용기		NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS				

^a: Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

* : 0.01 ≤ P ≤ 0.05, ** : P ≤ 0.01

6) 양과 종자의 펠렛코팅 처리 후 정상묘출현율·최종발아율 조사 및 저장성 검정

○ 펠렛코팅 처리 후 일별 정상묘출현율 및 발아율 검정

- 양과 종자는 나종자와 펠렛종자 모두 치상 후 5일차부터 정상묘가 출현하였고, 치상 후 12일까지 나종자, DTK_5_펠렛종자, 및 S社 펠렛종자의 일별 정상묘출현율 및 최종 발아율에는 통계적인 차이는 없는 것으로 조사되었다(표 75).

표 75. 양과 나종자 및 펠렛종자의 일별 정상묘출현율 및 최종발아율

작물	처리조건	치상 후 일별 정상묘출현율(%)					
		4일	5일	6일	7일	8일	12일
양과	나종자	0	32 a	58 a	68 a	70 a	70 a
	DTK_5_1협동	0	29 a	59 a	68 a	71 a	71 a
	DTK_5_3협동	0	23 a	56 a	68 a	71 a	71 a
	S사 펠렛코팅	0	28 a	52 a	63 a	66 a	69 a

* : Duncan 검정 결과, 동일 문자간에는 5% 유의 수준에서 평균의 차이가 없음

○ 펠렛코팅 처리 종자의 저장 조건별 저장성 검정

- 펠렛코팅 처리 종자의 최적 저장조건을 규명하기 위하여 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 검정을 수행하였다(표 76). 양과 나종자의 저장 전, 저장 후(6개월 및 12개월)의 6일차 정상묘출현율 및 최종발아율 비교를 수행하였다.
- 나종자의 저장 전 저장 후의 3일차 정상묘출현율을 각각 32%→36%→26%(약 19%감소), 최종발아율은 각각 70%→72%→67%(약 4% 감소)로 조사되었다.
- DTK_5_1협동 펠렛종자의 저장 전 저장 후의 3일차 정상묘출현율을 각각 29%→38%→25%(약 14% 감소), 최종발아율은 각각 71%→74%→70%(약 1% 감소)로 조사되었다. DTK_5_3협동 펠렛종자의 저장 전 저장 후의 3일차 정상묘출현율을 각각 23%→28%→14%(약 39% 감소), 최종발아율은 각각 71%→73%→65%(약 8% 감소)로 조사되었다. S社 펠렛코팅의 저장 전 저장 후의 6일차 정상묘출현율을 각각 28%→33%→23%(약 18% 감소), 최종발아율은 각각 69%→69%→64%(약 7% 감소)로 조사되었다.
- DTK_5 소재 이용 펠렛코팅 처리 종자의 저장 6개월 및 12개월 후 일별 정상묘출현율 및 최종발아율을 나종자와 비교하여 분석하였다. DTK_5_1협동의 펠렛종자의 경우 저장 기간에 상관없이 대부분의 조건에서 일별 정상묘출현율 및 최종발아율은 나종자에 비해 통계적인 유의차가 없는 것으로 조사되었고, 반면에 DTK_5_3협동의 펠렛종자의 일별 정상묘출현율은 대부분의 저장조건에서 나종자보다 유의하게 낮게 나왔고, 최종발아율은 대부분의 조건에서 차이가 없는 것으로 조사되었다.
- 나종자의 경우 12개월 저장 시 저장 용기에 따라 일별 정상묘출현율 및 최종발아율이 유의하게 차이가 나는 것으로 나타났고, DTK_5_1협동의 펠렛종자의 경우 최종발아율은 저장 기간에 상관없이 저장 용기 및 온도에 영향을 받지 않는 반면, 일별 정상묘출현율은 저장 온도 및 용기에 영향을 받는 것으로 조사되었다.

표 76. 양과 종자의 펠렛코팅 처리 후 저장 조건별 일별 정상묘출현율 및 발아율 비교

품목	온도	용기	나종자		DTK5_1협동 가공		DTK5_3협동 가공		신농코트재_1협동 가공		Duncan Analysis A vs C vs E vs G	Duncan Analysis B vs D vs F vs H	
			GR at	GR at	GR at	GR at	GR at	GR at	GR at	GR at			
			6d(A)	12d(B)	6d(C)	12d(D)	6d(E)	12d(F)	6d(G)	12d(H)			
양과 종자 (6개 월 저장)	5	알루미늄	37±6.8	68±1.0	39±5.7	73±5.7	33±2.0	75±8.2	28±6.9	71±4.2	Aa, Ca, Eab, Gb	NS	
		캔포장	43±3.8	74±6.9	36±2.8	76±3.4	28±7.1	74±9.1	34±4.1	72±9.8	Aab, Ca, Eb, Gab	NS	
	15	알루미늄	35±7.2	74±6.2	40±4.3	74±5.4	25±5.7	74±8.6	35±6.2	69±5.7	Aa, Ca, Eb, Ga	NS	
		캔포장	40±5.2	76±7.0	43±2.5	74±5.2	26±1.6	72±4.4	30±4.9	71±6.8	Aa, Ca, Eb, Gb	NS	
	상온	알루미늄	32±2.5	74±6.6	38±4.1	75±6.6	25±3.5	71±6.6	39±8.4	69±6.0	Aa, Ca, Eb, Ga	NS	
		캔포장	29±3.5	66±6.3	33±5.3	72±4.4	33±1.2	69±7.2	34±4.9	61±7.5	NS	Bab, Da, Fab, Hb	
	온도		*	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS			
	용기		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS			
	온도X용기		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS			
	양과 종자 (12 개월 저장)	5	알루미늄	34±5.7	72±3.8	31±6.8	66±3.0	17±2.8	71±9.4	26±2.3	67±5.5	Aa, Ca, Eb, Ga	NS
			캔포장	24±2.8	64±4.9	24±2.8	73±4.4	19±4.1	72±4.5	23±3.0	64±7.8	Aa, Ca, Eb, Gab	NS
		15	알루미늄	24±3.3	70±8.7	26±3.0	73±5.3	13±1.6	66±9.7	25±4.2	68±3.8	Aa, Ca, Eb, Ga	NS
캔포장			26±5.4	67±4.1	24±4.3	70±3.7	15±2.4	68±8.8	29±3.4	67±5.7	Aa, Ca, Eb, Ga	NS	
상온		알루미늄	29±3.0	69±1.9	25±3.0	72±6.6	8±3.1	56±9.0	17±1.9	62±6.6	Aa, Ca, Eb, Gb	Bab, Da, Fc, Hb	
		캔포장	21±2.5	61±2.5	17±3.5	65±9.8	11±2.6	60±5.1	20±1.9	60±8.8	Aa, Ca, Eb, Ga	NS	
온도		NS	NS	*	NS	**	*	**	NS				
용기		*	*	*	NS	NS	NS	NS	NS				
온도X용기		*	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS				

a: Duncan 분석 결과, 문자열이 다른 그룹 간에는 유의수준 5%에서 유의성을 나타냄

* : 0.01≤P≤0.05, ** : P≤0.01

[제1협동 : 주요 수출채소(엽채류, 근채류) 종자의 종자가공처리 기술 및 장비 개발]

1. 연구 목표

가. 종자(14품목)처리를 위한 priming 기기제작 및 필름코팅기기제작

1) 14품목 종자처리 연구용 소규모 priming 기기제작(개조)

- Priming 기기를 개발(제작/배급)하는 것이 달성 목표 중 하나이나 연구과제의 시작(2016년 7월)과 동시에 각 기관에 기기를 배급하는 것이 연구과제의 여건상 어려운 관계로 타 연구기관의 priming 기술연구를 바로 가능하게 하고자 당초 계획하였던 연구용 priming기기(대용량, 35L)외에 소규모 priming 기기를 추가 제작(개조)하고자 하였다. 타 연구기관(코레콘, 동아대)의 priming 기술연구에 적용되는 총 14 품목(무, 배추, 양배추, 당근, 양파, 수박, 호박, 대목, 오이, 멜론, 토마토, 파프리카, 고추, 상추)에 모두 적용가능하며 다양한 priming 조건에서의 연구결과를 확인할 수 있는 것이 소규모 priming 기기의 필수적인 요건이다. 기존의 판매되는 priming 항온수조를 이용하는 것은 제작 기간이 길고 제품의 가격이 고가여서 기존제품을 개조하여 경제적인 소규모 연구용 priming 기기를 먼저 제작 하였다.

2) 초음파/광 처리/수화처리를 융합한 연구용 priming 기기제작

- (주)신농에서는 개발된 연구용 priming 기기(대용량, 35L)는 초음파/광 처리를 융합하여 기존의 priming 기기와는 다른 차별화를 두어 제작하였다. 기존의 priming 기기는 SP (Soaking Hydro priming) 방식으로 일반화되어 사용되고 있으며, 국내 기술로 개발된 기기가 아닌 해외에서 개발된 제품들로 국내 구입 시에 높은 가격을 지불해야함과 동시에 처리물질 또한 구입한 회사의 제품으로 적용해야하는 한계성이 많이 있었다. 이에 본 연구기관은 순수 국내제작의 priming 기기 국산화를 목표로 개발하였고, 더 나아가 초음파 및 광 처리를 기기에 추가로 도입하여 종자의 발아효율성을 높이고자했다. 초음파는 종자표면의 발아억제물질을 제거시키는 기술로 (주)신농에서 사전실험으로 효과를 확인하였으며, 광 처리는 농약을 사용하지 않고 종피에 부착된 병원균을 제거할 수 있게 하고, 또한 적색광의 Lux(빛의 조도단위) 및 파장에 따라 엽채류 종자의 발아향상에 도움을 주는 친환경적 기술로서 제2협동기관인 (주)코레콘이 보유하여 상호 기술 이전하여 기존의 priming 기기에 적용해 효과를 극대화 하고자 하는 것이 본 기기제작의 목적이다.

3) 필름 코팅기 제작

- 현재 국내에서는 필름코팅기를 보유한 종자회사 및 가공 업체에서는 pill coating type (그림 1A)의 필름코팅 기기를 주로 사용하고 외국의 경우에는 rotary type (그림 1B)을 많이 사용하는데 이는 종자의 필름코팅 시 제품의 형태 및 작업속도 가공 후 종자에 미치는 영향들을 고려하여 선택한 것으로 여겨진다. 해외 우수 업체들이 판매중인 설비들을 국내 업체에서 구입 시 높은 가격이 업체에게는 부담이 되고 그에 따르는 가공 물질도 함께 수입을 병행해야하는 불편함이 있어 이러한 부분들을 개선하고자 좀 더 합리적인 가격대의 rotary type의 필름코팅기를 제작하였다. 이를 바탕으로 (주)노루기반에서 개발한 필름코팅

용제를 설비에 적용하여 필름코팅시 종자에 미치는 영향과 네덜란드의 incotec 사의 용제를 비교실험 하여 최적의 필름코팅조건을 알아보고자 하였다.

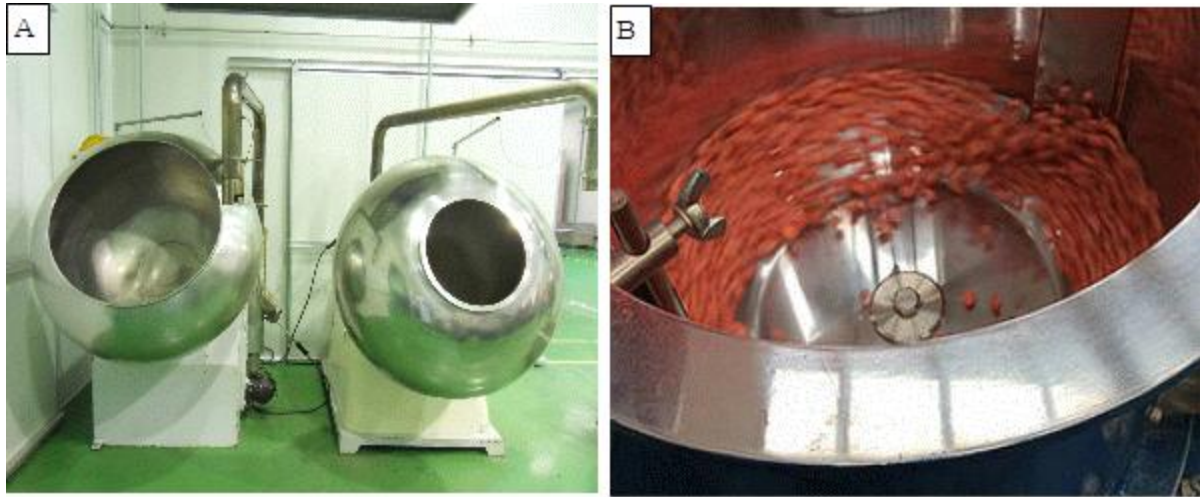


그림 1. A: pill coating type , B: rotary type

4) 초음파/수화처리/드럼식 을 융합한 산업용 priming 기기제작

-기존에 개발한 연구용 priming 기기에서 변형시켜 실제 산업현장에서 활용할 수 있는 기기를 제작하였다. 연구용과는 달리 실제 산업현장에선 기계적 손상을 최소화 한 대량 처리가 가능하여야 하고 경제성이 있어야 한다. 일반적인 방식인 수화처리는 대량 처리 시 다량의 priming 용액의 제작이 필요하고 그 사용하고 남은 용액을 폐기해야 하는데서 한계가 있다. 반면 드럼식의 priming(그림 2)은 회전하는 드럼통 안에 수분을 첨가하면서 조절 가능한 방식으로 타 연구결과에서 기존의 수화처리 방식보다 필요한 용액의 양은 적으면서 발아율 향상효과가 있음이 입증되었다. 이에 본 연구기관은 수화처리 priming 기기를 보완하여 산업용에 맞게 사전실험으로 입증한 초음파 처리 와 수화처리를 할 수 있는 기기, 드럼식의 priming 기기를 나누어 제작하였다.

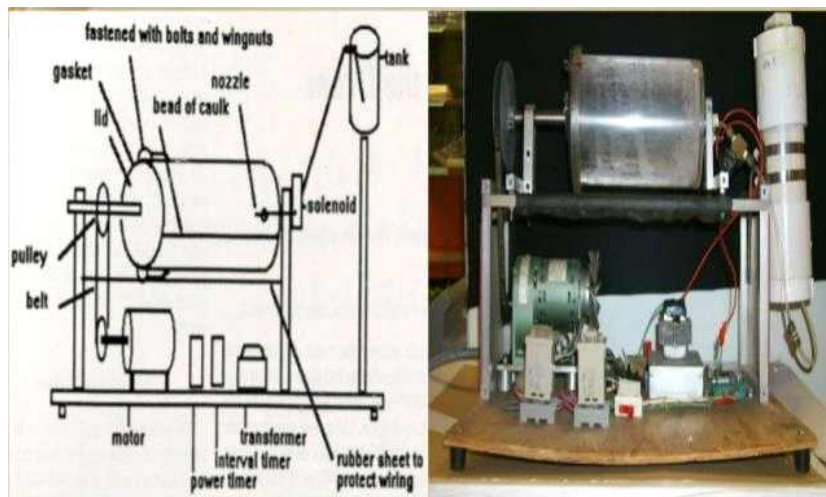


그림 2. 드럼 priming (DRUM PRIMING/HYDRO PRIMING-ROWSE 1996)

나. 5품목(무, 배추, 양배추, 양파, 당근)종자의 최적 프라이밍 기준 구축

1) 품목별 최적 priming 기술 개발 목적

- 현재의 priming 기술은 종자 크게 두 가지 목적으로 이용되는데 첫째, pellet 코팅 시 적용되는 전 처리 과정이며 둘째, 묵은 종자의 발아세 및 발아율 향상에 많이 이용되고 있다. priming 기술에 대한 연구는 이전부터 많이 다루어졌으나 현재 국내의 순수기술개발 및 상용화는 찾아보기 어렵고 일부 종자회사에서만 대외비로 실행되고 있다. 현재 정부의 지원확대와 더불어 각 산업/학술기관 간의 협력이 필요한 시점이므로 본 연구 과제를 통하여 국산기술의 개발을 촉진시키고 더 나아가 산업현장에서의 경제적인 효과로 발전시키고자 한다. 국내 대기업의 경우, 그 기술력이 개발에 의한 것인지 또는 해외기술을 유사하게 조합하여 적용하거나 수입기술/재료에 의존한 것인지에 대한 확실한 배경에 대해서는 확인할 수 없는 상황으로 이점을 고려하면 국내 기술은 선진국과 비교하였을 때 매우 뒤쳐져 있는 것이 현실이다. 본 연구기관은 앞서 설명한대로 priming 기술력(품목별 처리조건의 확립, 처리기술의 다양화)을 구축하여 종자 수출을 증대시키고자 한다. priming 조건에 대한 기술개발을 위해서 우선적으로 기존의 문헌조사를 통해 적용하고자 하는 품목의 연구결과를 토대로 가장 효과적이고 적합한 처리 물질을 찾고자 하였으며 본 연구기관에서 개발하는 기기(대용량(35L) 연구용 기기)에 적용하여 처리조건을 확립하고자 하였다.

다. 종자용 건조기 제작

- 일반적으로 가공처리에 앞서 활성이 떨어지지 않는 정도의 함수조건으로 건조된 종자를 사용해야 한다. 특히 우리 과제에서 사용하는 종자의 종류가 다양하고(십자화과, 박과, 가지과, 양파, 당근, 상추) 품종마다 종자의 활성을 유지하는 함수조건이 다르다. 그에 따라 각 품종별로 건조상태를 조절할 수 있는 방식이 필요하다. 기존의 세계적으로 널리 쓰이는 건조기는 종자 주변의 공기를 건조하게 만들어 종자에 간접적으로 수분을 증발시키는 방식이다. 때문에 적정한 함수조건까지의 수분이 골고루 증발시키기까지 시간이 상당히 소요되고 균일하게 건조되기가 어렵다.



그림 3. Holland사의 DRM-Conditioned Rotary Seed Dryer

- 이에 본 연구기관은 자사에서 개발했던 드럼 프라이밍기 방식에서 착안하여 열풍이 직접적으로 종자에 골고루 수분을 증발시킬수 있도록 하는데 초점을 두어 개발하는데 목적을 두었다. 가장 비슷한 형태의 건조기로 Holland사의 DRM (그림3) 이 있으나 이 제품 역시 앞서 설명한 간접적인 방식의 건조시키는 제품이라 차이가 있다. 본 연구기관은 실제 산업현장에서 다양한 품종에 활용 할 수 있고 건조시간을 단축 시킬 수 있는 건조기를 제작하기로 하였다.

2. 연구 방법

가. 실험용 Priming 향온수조 개발

1) Priming을 위한 소규모(12L) 연구용 기기 제작(개조)

- 일반적인 향온수조는 가온기능만을 보유하여 저온처리시나 상온의 온도가 높을 때 설정온도를 빠르게 유지하지 못하는 문제로 장시간 종자를 처리하기 위해서는 냉각기가 내장된 향온수조를 사용해야 한다. 제작한 용량의 향온수조를 구입하기 위해서는 특수제작과 가격의 문제로 인해 기존의 저가형 수조를 구입하여 개조하고 온부/ 냉각/ 산소 공급방식을 가진 기기를 제작하였다. (그림 4) 작동 방식은 일정한 수조에 플라스크를 넣고 외부에 priming 있는 물의 온도를 제어하는 방식이며 플라스크 입구에 실리콘마개를 막고 구멍을 뚫어 공기를 주입하였다. 제작기간은 총 3개월이 소요되었으며, 제작(개조)하는 향온수조의 사이즈와 최대 처리용량(1000ml 플라스크)에 맞게 기기내부에 holding rack을 만들어 처리용기를 고정할 수 있게 스프링을 교차시켜 움직이지 않도록 하였다. 또한 냉각부와 가온부가 있으나 위치별 온도 편차를 줄이고자 향온수조 내 순환 펌프를 별도로 설치하였다. 총 12개(1000ml 플라스크)의 실험군을 한번 에 처리할 수 있고 airation을 위해 air pump를 장착하여 플라스크 입구를 막아 호스 hole을 만들어 airation이 원활할 수 있도록 하였다. (주)신농이 제작/시험 후 보완사항을 확인 하였으며 추가 안전성 확보 후 제 1,2,3협동기관 동일한 기기로 각 품목에 대한 최적조건 실험을 진행 하였다.

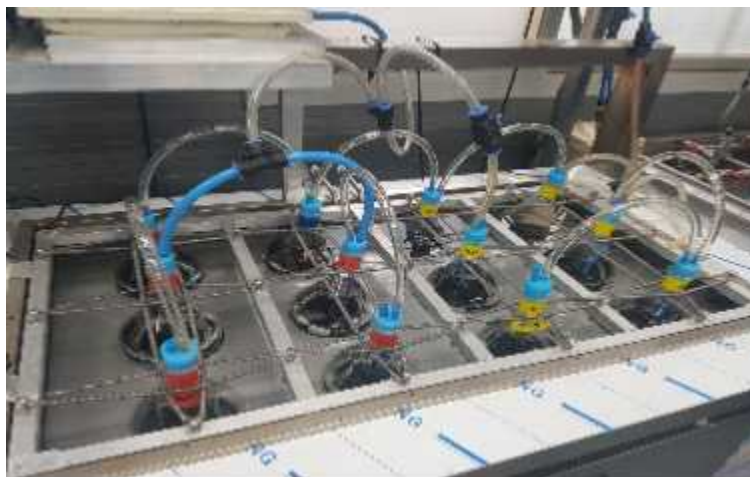


그림 4. 소형 priming 향온수조

나. 연구용 priming (초음파+광+수화) 기기 제작

1) Priming (초음파 + 광) 장비 설계

- 자사가 보유하고 있는 초음파 기기를 바탕으로 설계를 진행하였다. 초음파처리는 병균 및 이물질, 발아억제물질을 제거하여 발아세 상승효과를 (주)신농에서 실험하였고 그 상승효과를 검증한 있다. 실제로 종자에 적용하여 종자 회사를 대상으로 종자처리 서비스를 진행 중이며 기존기기를 바탕으로 초음파처리(그림 5)를 합쳐 자외선을 활용하여 농약을 사용하지 않고 종피에 부착된 병원균을 제거하여 종자가공 처리용으로 깨끗한 종자를 공급하고 발아율을 향상시키는 기술을 개발하며 공패물질 배출이 없고 화학물질처리 경비 없는 친환경적 처리 장비를 개발 하는데 초점을 두어 설계를 하였다.

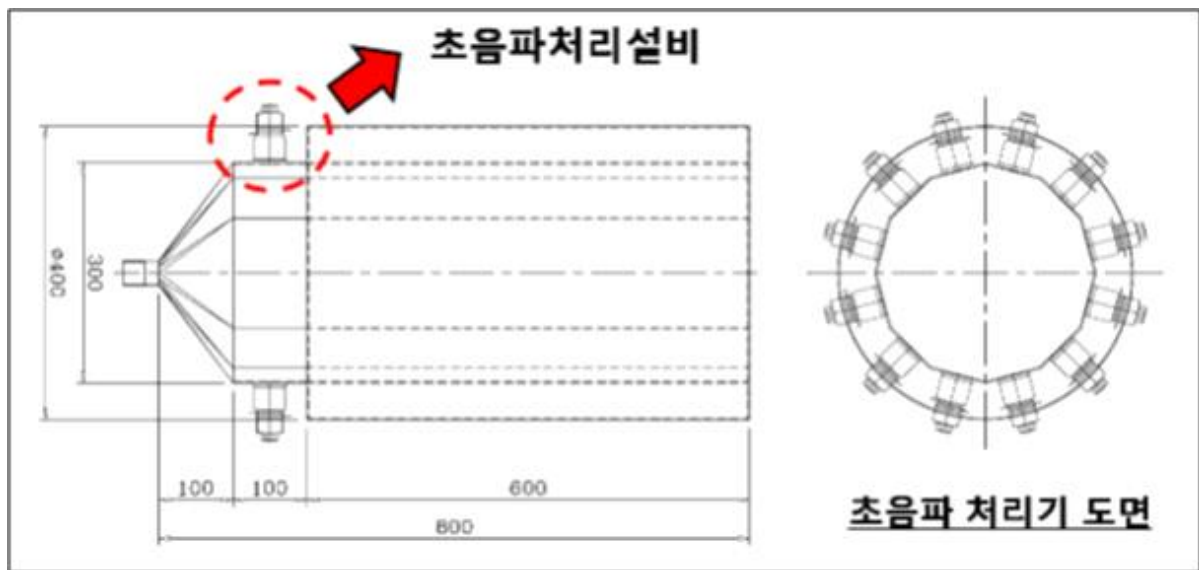


그림 5. 초음파 처리 도면

- 기존의 자사기기를 바탕으로 전체적인 틀을 잡았고 그 틀 안에 세부적으로 나누어 설계를 하였다. 컨트롤, 에어공급, 광 처리, 항온수조, 초음파처리, 처리구 까지 총 6개 부위로 나누었고 컨트롤은 한 부위를 컨트롤할 수 있는 컨트롤 패널을 부착하였고 에어공급은 priming 할 때 종자의 고른 순환을 위해 air pump를 설계하였으며, 항온수조는 전체적으로 처리온도가 일정할 수 있게 유지 할 수 있도록 가온부와 냉각부위를 모두 설치했다. 광 처리는 종자가 광을 받을 수 있게 윗부분인 처리구 입구에 설치하려고 하였고, 초음파는 처리구 바로 밑에 설치 되게 설계하였다. 처리구와 연결되어 있어 종자를 넣고 처리할 때 전체적으로 초음파의 영향을 받을 수 있도록 하였고 초음파의 강도를 조절할 수 있도록 컨트롤에 같이 부착할 수 있도록 하였다 . 총 여섯 개의 부분으로 나뉘어(그림 6) 이를 모두 합쳐 하나의 기기를 제작할 수 있도록 설계가 진행되어 제작이 이루어졌다.

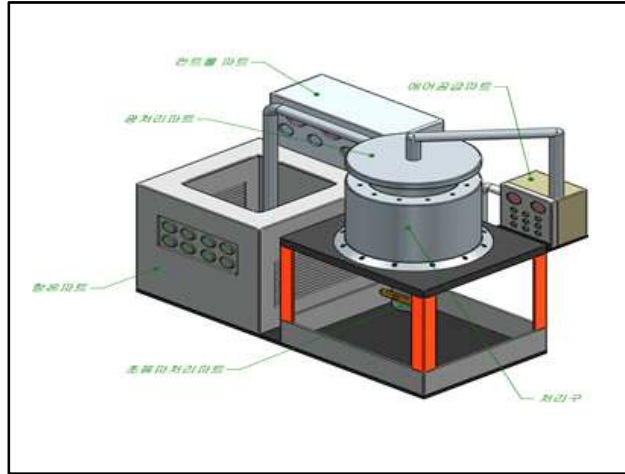


그림 6. 연구용 priming (초음파+자외선+수화) 장비 조감도

다. 필름코팅 기기 장비 개발

1) 소형 필름코팅장비 설계

- 종자 가공 처리 분야에 가장 유명한 <incotec>, <seed processing>, <satec> 세 업체에서 판매되는 장비(그림 7)를 기준으로 본 연구에 가장 적합한 형태와 규격을 찾아 설계를 진행하였는데 이 세군데 업체 모두 필름코팅기는 rotary type의 실험용 장비를 사용하는 것으로 보여 진다. (주)신농 에서도 rotary type의 필름코팅기를 제작하기로 설계를 진행하였는데 이는 작업자가 가장 쉽게 이용하고 편리하기 때문이다. 장비 설계에 있어 가장 중점을 둔 곳은 원판과 본체 사이의 정밀 가공인데 그 사이 간격이 넓으면 미립종자의 끼임 현상이 발생하기 때문에 사이의 간격을 0.1mm 이하로 가공 하는 것이 중요하며, 틈새 사이에 종자가 끼임 현상을 막을 수 있게 공기가 틈새 사이로 나오게 하였다. 원판의 뒤틀림을 줄이기 위해 본체 와 원판의 강판 규격이 크게 설계되었고, 원판의 길이는 360mm 와 500mm 두 가지를 처음에 설계했는데 360mm는 종자의 회전 시 선회 류 및 종자의 섞임 현상이 잘 구현되지 않아 500mm로 진행하고 원판의 속도 및 다른 작업에 필요한 요소들은 작업자의 의견 및 선행 연구로 나온 결과를 토대로 설계도면(그림 8)대로 기기제작을 진행하였다.



그림 7. A: <incotec> B: <seed processing> C: <satec>의 필름코팅기

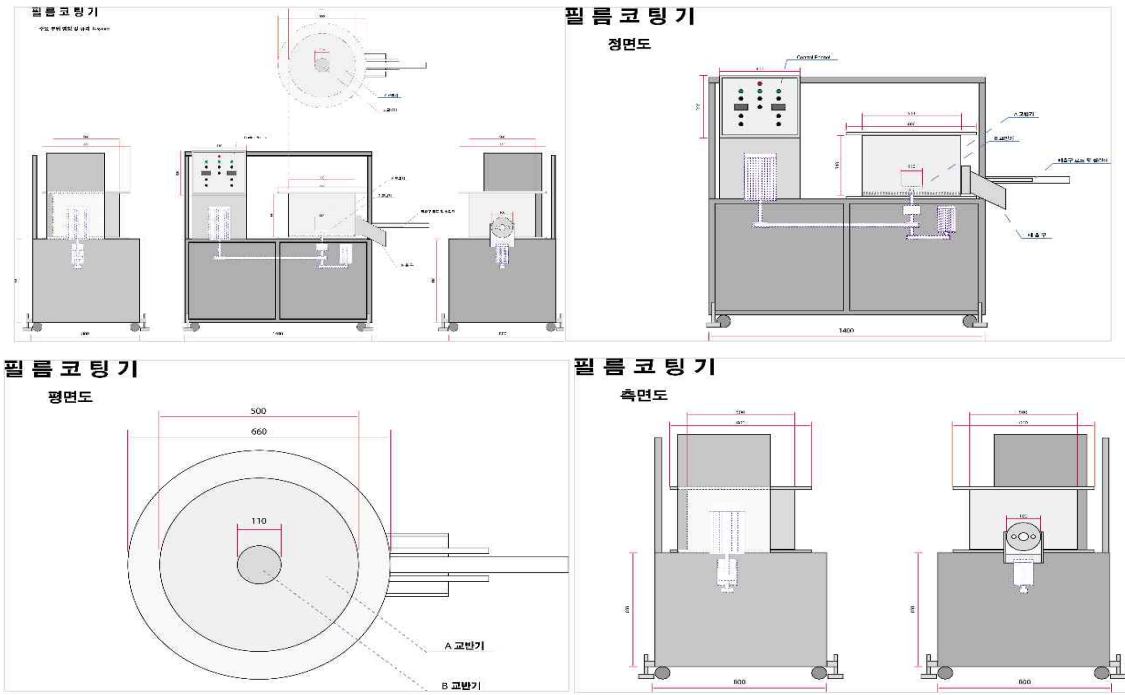


그림 8. 필름 코팅기 설계도면

라. 5품목(무, 배추, 양배추, 양파, 당근,)종자의 최적 priming 조건

1) Priming 선별 시약 및 처리방법

- 우선적으로 제작한 소규모(12L) 연구용 priming 기기를 이용하여 품목별로 priming 조건을 설정하고 실험에 적용한 결과를 자사 기준으로 받아검정을 먼저 실시하고 이를 토대로 선별된 시약을 재 실험 하여 국립종자원의 지도아래 ISTA 규정을 준수하여 기내발아 검사를 통해 다시 확인하였다. 우리의 최종 목표는 산업화이므로 대용량으로 priming이 가능하도록 적합한 시약 군(표 1)의 조건을 찾고자 하였고, 품목별로 시약, 농도, 시간을 다르게 설정 하여 많은 결과물을 도출 할 수 있도록 하였다. 추가로 3차년도인 당해연도에는 양파와 당근에 대해서 친환경물질인 맥반석과 게르마늄 용해액을 이용하여 priming 처리 실험을 진행하기로 하였다.

표 1. 적용 시약 리스트

no.	시약	no.	시약
1	PEG8000 (폴리에틸렌글리콜)	9	GA3 (지베레린)
2	PEG6000 (폴리에틸렌글리콜)	10	맥반석
3	KNO3 (질산칼륨)	11	게르마늄
4	MgSO4 (황산마그네슘)	12	보르도액4:4식제조 용액
5	NaCl (염화나트륨)	13	Na2CO3 (탄산나트륨)
6	K2SO4 (황산칼륨)	14	K2CO3 (탄산칼륨)
7	KH2PO4 (인산칼륨)	15	CuO (산화제2구리)
8	NaNO3 (질산나트륨)	16	Cu(OH)2 (수산화제2구리)

2) 무, 배추, 양배추, 양파 당근 종자의 priming 방법 및 발아조건

- 연구에 사용된 종자는 제 2협동기관인 (주)코레곤이 제공하고 주관기관인 국립종자원에서 ISTA규정으로 발아율을 확인 후 기준발아율에 못 미치는 종자를 우선 선택하였다. 연구용 priming 수조에 적용하여 한번 실험 실시할 때 총12개(1000ml 플라스크)의 실험균을 처리 하였으며, priming 조건을 찾기 위해 기존의 논문을 조사하여 총 9개의 시약을 선별 후 품목별 적용대상 시약을 사용하여 처리 하였고 priming 실험 시 온도는 같게 하고 농도 및 시약만 다르게 하여 시약마다 몇 가지의 농도로 나누어 진행하였다.

표 2. (주)신농 발아기준

품종	구분	용지	수분량 (ml)	온도 (°C)	광	립수	반복	종자취급	이상카운트	검사일
무	나종자	접이	11.0	20.0	암	50	2	발아제거	O	3 7
	필름코팅	접이	15.0	20.0	암	50	2	발아제거	O	3 7
배추	나종자	원형	4.5	20.0	명	50	2	제거불필	O	3 7
양배추	나종자	원형	4.5	20.0	명	50	2	제거불필	O	3 7
양파	나종자	원형	4.5	20.0	반암	50	2	제거불필	X	4 7
당근	나종자	원형	4.5	20.0	반암	50	2	제거불필	X	6 10

- 물량은 500g에 처리온도는 20°C로 하여 처리시간은 최소 5분 최대 48시간 수화처리로 하여 진행하고 처리기간 동안 플라스크안의 종자와 시약을 섞어주기 위해 airation 하여 종자가 원활하게 섞일 수 있도록 조절하였다. 처리 후 반출하여 흐르는 물에 1분간 세척하였으며 종자량에 맞는 차망에 구분하여 넣은 뒤 손으로 탈수 한 뒤 자사에 설치되어 있는 제습건조기에 넣어 35°C에 맞춰 15시간 건조 후 반출하여 샘플링 하였다. 처리 결과는 일단 자사 기준(표 2) 기내발아(그림 9)로 발아 시험을 진행 한 후 선별된 시약군만 다시 재 실험 하여 국립종자원과 같이 ISTA 규정(표 3) 기내발아(그림 9)로 진행하였다.
- 3차년도부터 추가로 들어간 시약에 대해 물량은 700g로 변경하였다. 처리온도는 3차년도는 20°C, 25°C로 하여 처리시간은 최소 1시간에서 최대 48시간 수화처리로 변경하여 진행하였고 4차년도에는 처리온도는 20°C 만 진행하여 양파는 3, 6, 15, 24시간, 당근은 양파와 동일한 조건에서 추가로 48시간을 더 진행하였다.

표 3. ISTA 발아기준

작물명	발아용지	온도°C	1차조사일	2차조사일	물의양(ml)
무	PP	(낮)20<=>30(밤) 16hr 8hr	5	10	45
배추	PP	(낮)20<=>30(밤) 16hr 8hr	5	10	45
양배추	PP	(낮)20<=>30(밤) 16hr 8hr	5	10	45
양파	PP	(낮)20<=>30(밤) 16hr 8hr	6	12	45
당근	PP	(낮)20<=>30(밤) 16hr 8hr	7	14	45



그림 9. A: (주)신농 기내발아 B: ISTA 기내발아

- (주)신농의 발아기준으로 발아조건을 보면 발아용지(PP용지)에 50립을 치상한 후 물량은 종자마다 조건에 맞게 투입하고 2반복하여 명.암 조건으로 20.0℃로 맞춰 진행하였으며 발아조사는 1차 조사일 2차 조사일로 나누어진다. 1,2차 조사일수에 맞춰 매일 조사한 후 종료 하였다. 종자처리 후 건조조건은 자사에서 현재 사용되고 있는 통풍건조기와 제습건조기로 자사의 건조조건으로 진행되었다. 종자 탈수 후 30분~1시간 이내 함수율이 10%미만이 되어야 하며 처리 후 종자 습윤 상태 통풍건조기에서 1시간 건조 이후 제습건조(그림 10)에서 15시간 이내 건조 후 함수율이 4.5%이하의 조건이다.



그림 10. 제습건조기

3) 5품목(무, 배추, 양배추, 양파, 당근) 종자의 priming 조건

- 품목별 적용 시약이 다르고 처리 시간 농도 등을 품종에 따라 선행 연구와 문헌을 통해 처리조건을 설정(표 4)하였다. 적용 시약군은 크게 다르지 않으나 처리시간이 품종별 종피의 두께 종자의 습윤 속도 등을 고려하여 실험을 실시하였으며, 특히 무, 배추, 양배추는 종피가 얇아 처리시간이 길어지면 종자의 습윤 속도가 빨라 종자가 팽창하여 종피가 벗겨져서 짧은 처리시간을 적용하고 품목별 초음파 처리(표 5)는 (주)신농에서 실험을 진행한 다음 종자원에서 먼저 발아를 검정하였다.
- 전년도 결과로 인해 양파와 당근의 최적 프라이밍 조건을 찾기 위해 처리 시간, 농도 등을 품종에 따라 선행 연구와 문헌을 통해 처리조건을 설정(표 1)하여 진행하였다.

표	4.	품목별	priming	조건
품종	시약	농도	시간	
무	WATER	0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	15min	
	PEG 8000	0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	15min	
	PEG 6000	0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	15min	
	KNO3	0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	15min	
	MgSO4	0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	15min	
	K2SO4	0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	15min	
	배추	WATER	0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	10min
KH2PO4		0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	10min	
PEG 8000		0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	10min	
KNO3		0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	10min	
NaNO3		0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	10min	
GA3		0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	10min	
양배추		WATER	0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	10min
	KH2PO4	0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	10min	
	PEG 8000	0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	10min	
	KNO3	0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	10min	
	NaNO3	0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	10min	
	GA3	0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	10min	
	양파	WATER	0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	12hr/ 24hr
PEG 8000		0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	12hr/ 24hr	
NaCl		0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	12hr/ 24hr	
KNO3		0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	12hr/ 24hr	
NaNO3		0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	12hr/ 24hr	
MgSO4		0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	12hr/ 24hr	
K2SO4		0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	12hr/ 24hr	
KH2PO4		0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	12hr/ 24hr	
당근		WATER	0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	12hr/ 24hr
	PEG 8000	0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	12hr/ 24hr	
	NaNO3	0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	12hr/ 24hr	
	K2SO4	0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 0.7% / 1.0%	12hr/ 24hr	
양파	WATER	100%	1hr/ 3hr/ 6hr/ 15hr	
	맥반석	0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 1.0%	1hr/ 3hr/ 6hr/ 15hr	
	게르마늄	0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 1.0%	1hr/ 3hr/ 6hr/ 15hr	
당근	WATER	100%	1hr/ 3hr/ 6h/ 15hr/ 24hr/ 48hr	
	맥반석	0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 1.0%	1hr/ 3hr/ 6h/ 15hr/ 24hr/ 48hr	
	게르마늄	0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 1.0%	1hr/ 3hr/ 6h/ 15hr/ 24hr/ 48hr	
당근	WATER	100%	3hr/ 6hr/ 15hr/ 24hr/ 48hr	
	보르도액4:4식	0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 1.0%	3hr/ 6hr/ 15hr/ 24hr/ 48hr	
	Na2CO3(탄산나트륨)	0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 1.0%	3hr/ 6hr/ 15hr/ 24hr/ 48hr	
	K2CO3(탄산칼륨)	0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 1.0%	3hr/ 6hr/ 15hr/ 24hr/ 48hr	
	CuO(산화제2구리)	0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 1.0%	3hr/ 6hr/ 15hr/ 24hr/ 48hr	
	Cu(OH)2(수산화제2구리)	0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 1.0%	3hr/ 6hr/ 15hr/ 24hr/ 48hr	
	양파	WATER	100%	3hr/ 6hr/ 15hr/ 24hr
보르도액4:4식		0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 1.0%	3hr/ 6hr/ 15hr/ 24hr	
Na2CO3(탄산나트륨)		0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 1.0%	3hr/ 6hr/ 15hr/ 24hr	
K2CO3(탄산칼륨)		0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 1.0%	3hr/ 6hr/ 15hr/ 24hr	
CuO(산화제2구리)		0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 1.0%	3hr/ 6hr/ 15hr/ 24hr	
Cu(OH)2(수산화제2구리)		0.1%/ 0.3%/ 0.5%/ 1.0%	3hr/ 6hr/ 15hr/ 24hr	

표 5. 초음파 조건

초음파 출력주파수 (26.0KHz)		
품종	출력(%)	시간
무	50/ 60/ 70/ 80	5min
배추	50/ 60/ 70	1hr/ 2hr/ 3hr
양배추	50/ 60/ 80	0.5hr/ 1hr/ 3hr
양파	50/ 60/ 70/ 80	0.5hr/ 1hr/ 2hr/ 3hr
당근	60/ 80	0.5hr/ 1hr

마. 산업용 priming(초음파+수화/드럼) 기기 설계

- 기존의 자사에서 개발한 연구용 priming 기기의 한계점으로 제기된 부분을 보완하여 실제 산업현장에서 priming 처리를 했을 때 보다 친환경적인 처리가 가능하며 대용량 (60L*3,14L)으로 처리가 가능한 기기 제작에 초점을 두었다. 자사의 보유기술로써 초음파 처리의 효과는 이미 입증되었으며 실제로 자사에서 사용하고 있기 때문에 이를 바탕으로 초음파 처리와 수화처리가 가능한 기기를 제작하였다. 또한 그 보완점으로써 드럼식 priming 처리는 타 연구결과로 일반적인 수화처리식 보다 환경오염의 문제도 적고 발아 상승효과가 입증되어 이미 일부의 회사에서 대용량 처리 설비를 구축하였기에 이번 산업용 priming 기기제작에 알맞게 별도로 제작하였다. 기존의 연구용 priming기에서 산업용으로 제작하기 위해 오로지 초음파와 수화처리만으로 기기를 구성(그림 12)하였다. 개략적으로 보면 본기기에 연결된 항온수조(그림 11)에서 온도 조절된 물을 처리구(그림 12)로 유입시켜 그 수온으로 온도를 유지하면서 수화처리를 할 수 있고 처리구 아래에 위치한 초음파 처리기를 통해 초음파를 처리할 수 있고 물만을 사용하여 처리하거나 수화처리용 용액을 동시에 사용해도 무방하게 하였다. 이때 초음파를 별도의 Control box(그림 13)에서 airation 과 초음파처리를 세부설정이 가능하게 하였다. 또한 대용량 처리를 목표로 제작하여 처리구의 크기가 크기 때문에 사용자의 편리함을 위해 이동식 발판과 처리구에 온도센서를 장착하여 항온 유지 온도를 쉽게 확인하여 사용자가 조절을 용이하게 할 수 있게 제작하였다. 별도로 제작한 드럼식 priming기(그림 14)는 항온항습기 안에 드럼통을 설치하여 기존의 방식과는 달리 회전하는 드럼통의 외부에서 온도와 습도, 회전속도를 경고등과 상태표시를 보며 사용자가 원하는 정도로 조절 할 수 있게 제작하였다.

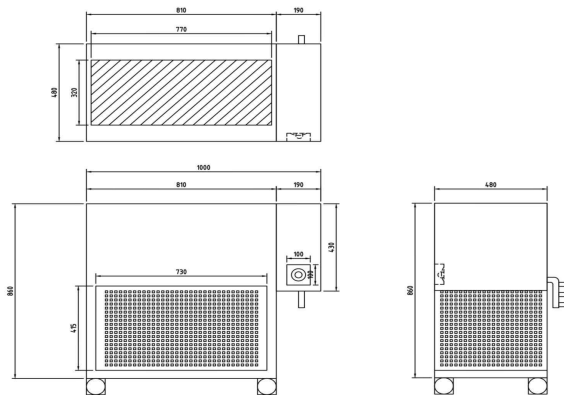


그림 11. 항온수조 도면 설계도면

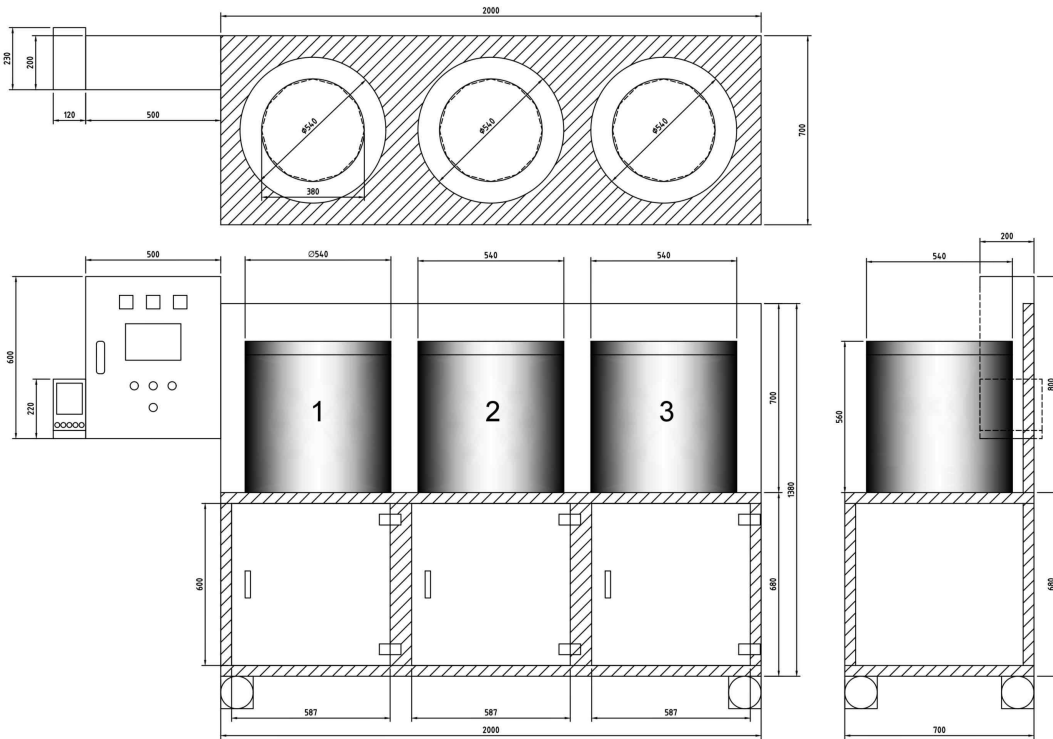


그림 12. 초음파&수화 처리구 설계도면

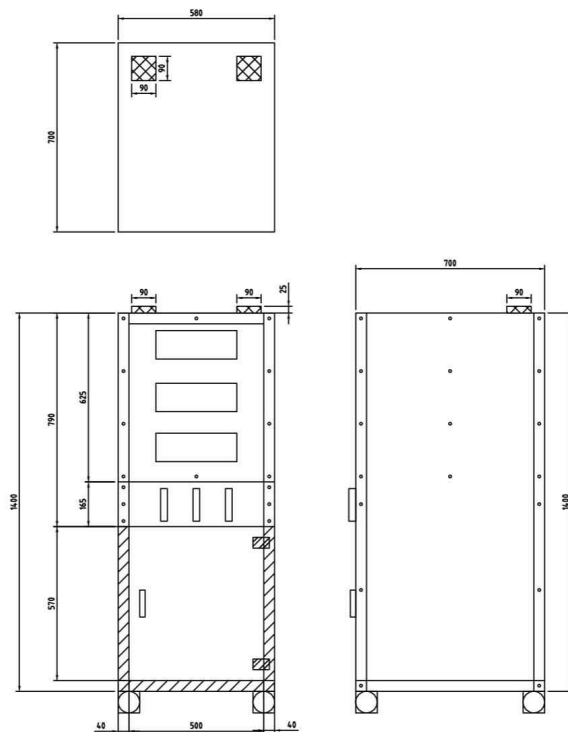


그림 13. 초음파&airation Control box 설계도면

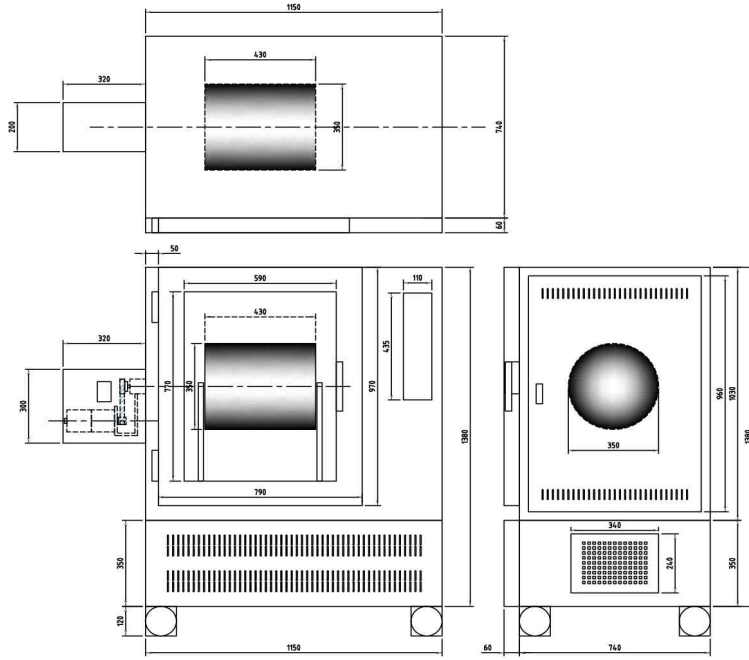


그림 14. 산업용 드럼 priming기 설계도면

바. 종자용 건조기 개발

- 소형과 대형 두가지 형태로 계획하고 순차적으로 소형, 대형순으로 개발에 착수했다. 자사에서 기존에 개발한 드럼 프라이밍기는 한번에 하나만 처리 할 수 있고 내부의 대류를 이용하여 온습도를 조절하는 방식이었다. 이번에 개발한 종자건조기는 열풍이 나오는 본체 내부에 기존의 드럼 프라이밍기의 통보다 크기가 다르고 형태도 개량한 통에 직접적으로 열풍을 가하는 방식으로, 소형은 동시에 6개까지, 대형은 2개까지 각각 구분하여 건조가 가능하도록 설계하였다.

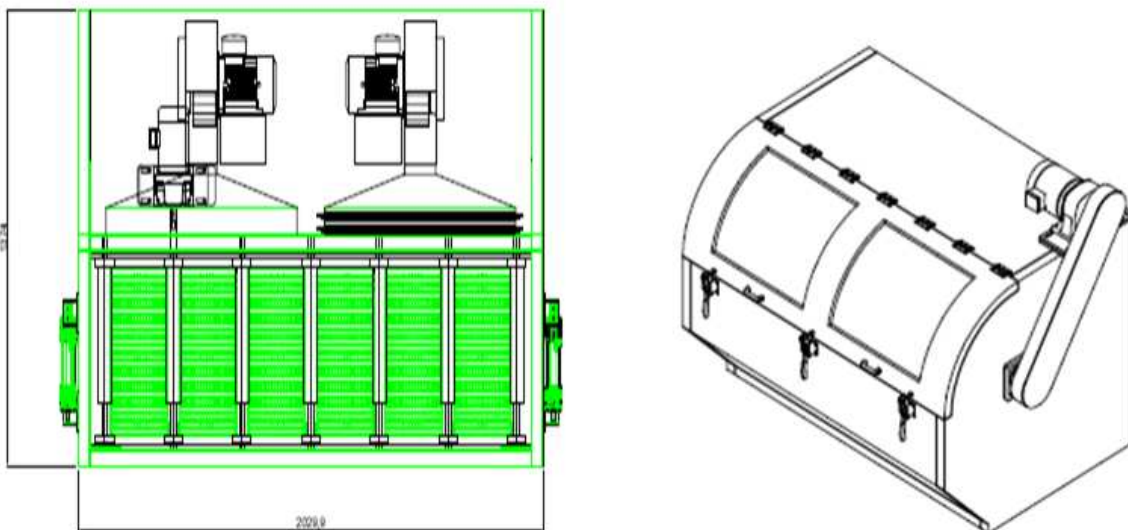


그림 15. 소형 종자 건조기(좌) 대형 종자 건조기(우)

- 소재는 스테인리스를 사용하고 기존 드럼 프라이밍기 의 통에서 통기성을 보완하였다. 기본적인 메인 전원 및 온도, 풍속 조작은 조절부를 따로 제작하여 편의성을 두었다. 문에 유리창을 내어 구동하는 상태나 종자 상태를 확인하며 열풍 세기를 조절 할 수 있게 제작하였다. 소형에서는 동시에 여러개를 건조할 수 있기 때문에 문 상부에 각각의 분 단위로 조절하는 타이머 와 마그네틱을 달아 각각을 구별이 가능하게 하고 개별로 맞춘 시간에 꺼낼수 있도록 하였다. 대형은 두 개 뿐이기 때문에 따로 설치하진 않고 조절부에 기본조작(메인 전원, 온도 및 풍속 조작) 외에 타이머를 추가로 설치하였다. 또한 내부 환기 설비와 통풍구의 크기를 확대하여 보다 빠르고 고르게 건조를 할 수 있도록 구성하였다.

3. 연구 결과 및 고찰

가. 연구용 priming (초음파+광+수화) 기기 제작

1) 처리 기기 제작

- 일반적으로 초음파란 사람이 들을 수 있는 주파수보다 더 높은 주파수를 말하며 통상적으로 성인일 경우 20.0 KHz 이상의 높은 소리는 듣지 못하는 것으로 알려져 있다. 나종자와 초음파처리를 한 후의 종자를 비교하였을 때 초음파처리를 하고난 후 발아율이 연구 수행 사전 자체 실험 결과 발아율이 상승효과를 보여 이러한 결과를 토대로 초음파를 종자에 적용 가능하고 종자 priming시 많은 양을 처리 할 수 있으며, 채소 종자의 처리 과정 중 적색 광 처리가 가능한 priming기기(그림 16)를 제작 하였고 본 시제품의 제품사양은 정격전원은 AC220V/60Hz 이고 소비전력은 1.8KW 처리용량은 35L 이다.



그림 16. 종자 처리기기

- 각각의 부위 별로 살펴보면 1.메인 컨트롤 Box: 모든 작동 장치의 전원을 on/off 2. 초음파 컨트롤 Box: 초음파의 세기를 조정 3.항온수조컨트롤Box: 수조와 처리구의 외부에 순환되는 물의 온도를 설정 4.항온수조부위: 수조안의 물이 순환되면서 처리온도를 제어 5.에어 발생장치: 처리구 안 종자priming 시 airation 발생 6.광 처리구: 적색 광 및 적외선 발생장치 7.종자 처리구: 종자priming시 용액을 담는 곳 8.에어컨트롤: airation 조절장치 9.초음파진동부위: 초음파 발생 진동자가 부착되어있는 곳 10.퇴수 처리구: 처리종료시 사용된 용액을 담아서 퇴수시킴 11. 항온수조 잠금 밸브: 처리종료 후 순환되는 물의 역류를 방지.
- 종자 처리기기는 총11부위로 나누어지고 기기 제작에 있어 크게 수화 처리를 기본으로 초음파처리(그림 17)와 광 처리(그림 18)로 구분된다.

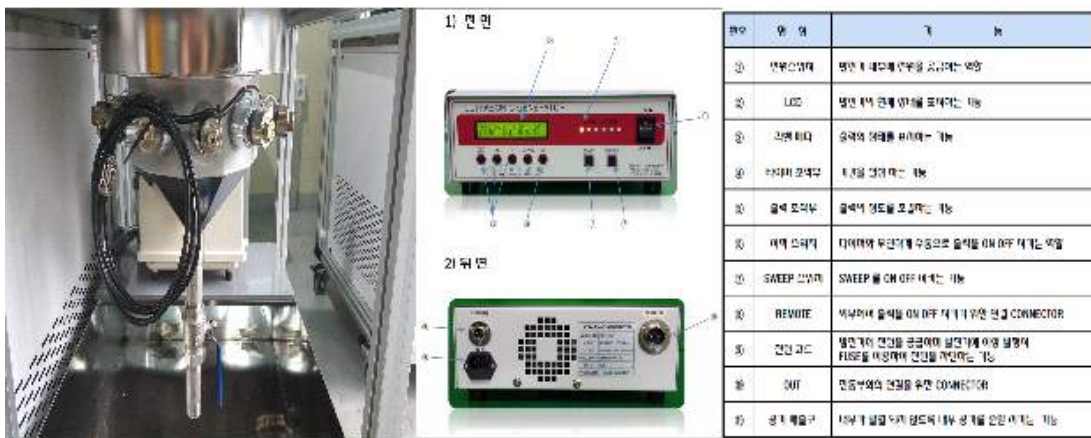


그림 17. 초음파 발생장치



그림 18. 광처리 구

나. 필름 코팅기 개발

1) 필름 코팅기 제작

- 종자 필름 코팅기(그림 19)는 크게 당의기방식(pill coating type)과 원판방식(rotary type)으로 나누어지는데 당사에서는 rotary type 으로 제작을 하였다. 제작을 하는데 앞서 작업 공정 1회분에 종자의 수량 최소량과 최대량을 고려하고 기기 안에서 종자 투입 후 종자가 회전을 시작하면 그 안의 종자 회전수가 적정하게 돌아가는지 여부를 가장 중점적으로 살펴본 결과를 토대로 규격을 정하여 제작한 코팅기의 원판 길이는 500∅(500mm)결정되었다.



그림 19. 종자 필름코팅기

- 부위별 기능을 살펴보면 1.컨트롤 패널: 주전원 및 각각의 부위별 전원 2.조명: 종자색상확인 3.건조기: 종자의 건조 4.에어건: 기기 청소 5. 열료탱크: 종자 소량(100g)가공 시 사용 6.배출구 로드: 종자 배출시 유압 라인 7.배출구 핸들: 배출구 개폐 8.교반기: 종자의 처리구 9.A교반기: 종자가 회전하는 원판 10.B교반기: 용액이 투입되는 곳 11.퇴수구(배수용): 작업 종료 후 기기 세척 시 물과 용액의 잔량을 배출 되는 곳 이렇게 총11 부위로 나누어지게 된다.

2) 기기 조작 방법

- 필름 코팅기는 종자처리기기와는 다르게 기기의 조작법을 협동 3곳 모두 같은 기준으로 작동하여야 해서 (주)신농에서 먼저 필름코팅기 안의 종자 회전모양(그림 20)을 확인 후 대략적인 최소량과 최대량을 설정하고 원판의 속도, 종자 투입 후 용액의 투입 방법, 용액 투입 후 건조 시점 및 시간 등 공정 전반적인 모든 것을 먼저 테스트 후 코레곤과 동아대에 인도 하였다. 공정의 순서는 다음과 같다.

- ① 기계의 좌측 Control Panel의 중앙에 있는 메인전원을 ON에 고정시키고, 상단 중앙에 있는 램프점등 확인 후 다음 전원을 켜다.
- ② AIR 전원을 ON에 고정시킨 후 사용.
- ③ 교반기 사용 시 A교반 전원을 ON에 고정시키고 볼륨을 오른쪽으로 회전시키면 A교반기가 작동됨 사용자가 원하는 RPM으로 조절. (적정 RPM: 600~700)

- ④ B교반기는 탱크 내부 중앙의 작은 교반기이다. 여기에 코팅용재를 투입하면 코팅이 이루어지고 B교반기 전원을 ON에 고정시킨 다음 1750 RPM으로 설정(고정).
- ⑤ 건조작업 시 드라이 전원을 ON에 고정 후 사용. 드라이(건조)작업은 50.0~80.0℃사이에서, 풍량은 1, 2, 3단으로 조절이 가능하고 주변 환경에 맞춰 온도와 풍량을 조절하면서 사용.
- ⑥ 코팅이 완료되면 우측하단의 배출구 핸들을 사용하여 코팅종자를 배출.
- ⑦ 작업 종료 시에는 물로 탱크내부를 세척하여 코팅용재를 완전히 제거하고 남아있는 코팅용재는 응고되므로 차후 작업 시 기기가 정상작동 되지 않을 수도 있음.
- ⑧ 탱크 세척 시 배수전원 ON, AIR전원 OFF, 드라이 전원 OFF, A교반기 RPM 150~200 설정 후 세척 시작.



그림 20. 필름코팅기 종자 회전 모양

3)산업용 필름코팅기 제작

- 기존 제작한 필름코팅기와는 달리 실제 산업에서 활용할 수 있도록 기존의 것과 동일한 원판방식(rotary type)에서 원판길이를 700 \varnothing (700mm)로 늘려 제작하였다. 추후에 시험해보면서 실제 산업용으로 활용할 수 있도록 보완해 나가고자 한다(그림 21).



그림 21. 신농제작 산업용 필름코팅기

-부위별 설명:

①컨트롤패널: 상부에는 교반기(A,B)의 속도, 물, 코팅제의 투입속도, 온풍 온도, 교반기에어 (종자끼임방지) 등을 조절 할 수 있는 조절부, 하부에는 전원, 전등, 배수, 노즐에어 의 온/오프 를 설정하는 조절부 로 구성되어 있다. ②노즐부: 물과 코팅제 투입 ③교반기 내부: 종자에 필름 코팅 처리구(바깥쪽 원판이A: 종자 회전, 안쪽원판이 B: 코팅제 투입) ④배출구(좌:閉우: 開): 완료된 종자 배출

다. 5품목(무, 배추, 양배추, 양파, 당근,)종자의 최적 priming 조건

1) 무 종자의 발아율 향상을 위한 priming 결과

- 코레곤에서 제공한 무종자의 priming 결과를 보면 나종자 상태일 때 1차 조사일 85%의 발아율 2차 조사일 에서는 최종 91%로 예상보다는 높은 발아 결과를 보였다. 선별된 시 약으로 처리를 한 결과는(표 6) PEG8000 시약 군에서 대체적으로 발아율과 발아세가 향 상되었고 나머지 시약군 에서는 나종자 보다 낮은 발아결과가 도출되었다.

표 6. 무 priming 결과(신농발아기준)

Condition	Priming condition		3 day(%)	7 day(%)
	wt.%	Period		
control			80	87
Water		15min	82	95
PEG8000	0.1	15min	99	100
	0.3	15min	99	100
	0.5	15min	97	97
	0.7	15min	96	98
	1.0	15min	97	100
PEG6000	0.1	15min	92	95
	0.3	15min	92	94
	0.5	15min	96	96
	0.7	15min	93	94
	1.0	15min	90	92
KNO3	0.1	15min	82	82
	0.3	15min	82	83
	0.5	15min	77	80
	0.7	15min	77	81
	1.0	15min	80	81
MgSO4	0.1	15min	86	86
	0.3	15min	84	85
	0.5	15min	79	82
	0.7	15min	80	80
	1.0	15min	81	84
K2SO4	0.1	15min	79	82
	0.3	15min	79	81
	0.5	15min	77	77
	0.7	15min	79	80
	1.0	15min	77	79

* Protocol for germination test. *Two layers of qualitative filter paper per petri dish, 11.0ml of water, 50 seeds per dish

- 같은 PEG이라도 PEG8000 높은 분자량에서 좀 더 좋은 결과가 나온걸 알 수 있었고 나중자와 물만으로 처리한 종자 보다는 시약으로 처리한 결과들이 1차 발아율과 최종 발아율의 차이(그림 22)가 적게 나타내었다. 당사에서 실시한 발아 결과를 토대로 선별된 조건 PEG8000 시약을 재 실험하여 ISTA 규정대로 발아실험(표 7)을 진행해서 비교(표 8)를 해보았다. 결과를 보면 신농 발아 결과나 ISTA 모두 시약PEG8000에서 발아율이 상승하는 것을 알 수 있었고 ISTA 규정의 발아시험결과가 신농의 규정보다는 전체적으로 다소 발아율이(그림 22) 떨어진 것으로 나타내었다.

표 7. PEG8000농도 및 처리일에 따른 발아결과

Condition	Priming condition		2 day(%)	3 day(%)	4 day(%)	5 day(%)	10 day(%)
	wt.%	Period					
control			88	89	90	90	90
PEG8000	0.1	15min	86	92	95	99	99
	0.3	15min	91	95	98	99	99
	0.5	15min	90	94	98	98	98
	0.7	15min	92	97	98	98	98
	1.0	15min	92	94	94	96	96

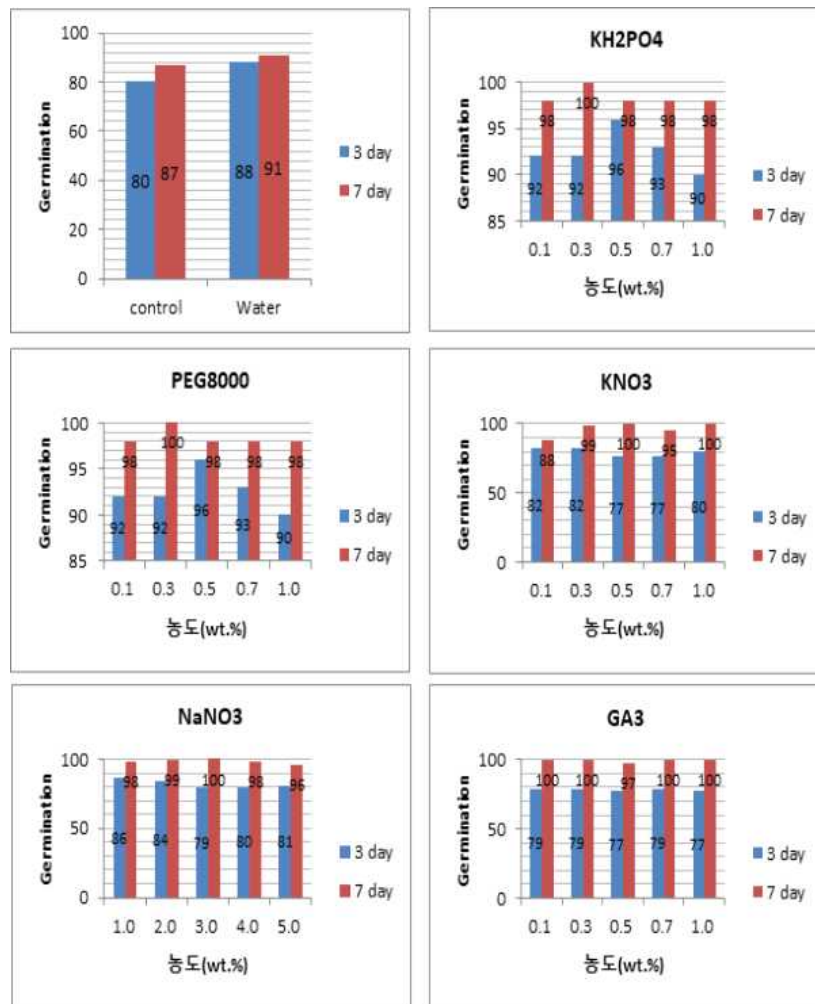


그림 22. Priming 처리 조건에 따른 무종자 발아율

표. 8 ISTA, 신농 PEG8000 priming 발아결과 비교

Condition	Priming condition		3 day(%)	End(%)
	wt.%	Period		
control 신농			80	87
control ISTA			89	90
신농	0.1	15min	99	100
	0.3	15min	99	100
	0.5	15min	97	97
	0.7	15min	96	98
	1.0	15min	97	100
ISTA	0.1	15min	92	99
	0.3	15min	95	99
	0.5	15min	94	98
	0.7	15min	97	98
	1.0	15min	94	96

- 재현 효과를 확인하기 위해 산업용프라이밍기를 활용 하여 PEG8000실험군 중에서 1.0% 수용액을 제조해 수화처리를 해보았다. 처리온도 20℃, 처리시간 15min 으로 동일한 조건의 단순 물로만 처리하는 Control군도 동시에 진행하였다. 추후 처리한것을 나누어 필름코팅을 하였다. 총 4가지 실험군으로 무처리종자, PEG8000 1.0%처리종자, Control종자, PEG처리+필름코팅 종자를 가지고 ISTA규정에 맞추어 발아실험을 진행하였다. 그 결과 PEG8000 1.0% 처리종자가 무처리 종자보다 평균 4.8% 더 높게 나왔고 Control 보다 6.1% 더 높았다. 코팅종자는 발아율이 처리와는 평균 10.0%, 무처리와는 5.1%, Control과는 3.8%로 가장 발아율이 떨어졌다.(표 9, 그림 23)

표 9. 무처리, Control, PEG8000 priming, PEG+코팅종자 발아결과

	1 day(%)	2 day(%)	3 day(%)	4 day(%)	5 day(%)	6 day(%)	7 day(%)
무처리	19	77	86	86	91	93	95
Control	8	75	83	90	94	94	94
PEG8000 1.0%	13	83	93	96	98	99	99
PEG+코팅	10	70	81	83	88	89	90

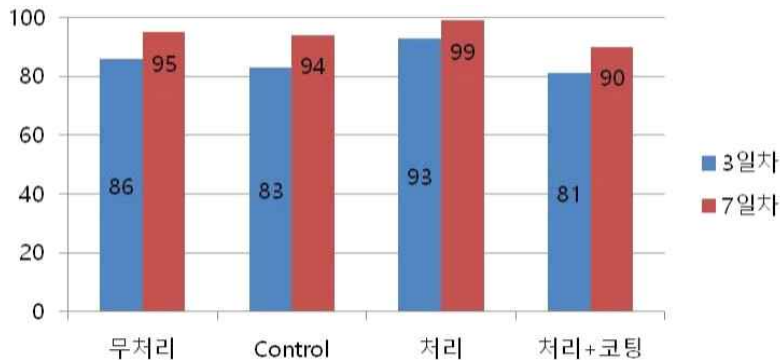


그림 23. 무 종자 무처리, Control, PEG8000 priming, PEG+코팅종자 발아결과 비교

2) 배추 종자의 발아율 향상을 위한 priming 결과

- 배추 종자의 priming 발아 결과(표 10)를 살펴보면 적용한 시약들 모두 나중자 상태보다 발아율 상승효과를 나타내고 있고 특히 GA3 시약이 최종 발아율(그림 24)이 가장 좋은 결과를 나타내었지만 초기 발아세는 가장 좋지 않았고 또한 GA3의 경우 종자의 생리에 문제를 줄 수 있다는 주장이 많이 제기되고 있어 최종 발아 상승효과는 제일 좋게 나타내었지만 적합한 시약 인지는 좀 더 많은 실험이 필요할 것으로 여겨진다. 발아세 및 최종 발아 결과를 종합해보면 KH₂PO₄ 시약이 적용 시약으로는 가장 적합하다고 판단되었다. 선별된 시약 KH₂PO₄를 재 실험 하여 ISTA규정의 발아 실험을 진행한 결과 나중자 및 처리된 종자 최종의 발아율은 신농 발아 결과와 비슷한 수준으로 나타내었으나 신농의 1차 조사 일수인 3일차의 발아율과 ISTA의 3일차 발아율이 차이가 많이 보였다. ISTA 발아조사일 4,5일차의 발아율이 신농의 3일차 발아율과 비슷한 수준 이었는데 이는 발아의 확인 기준 및 방식의 차이에서 나오는 결과일 것으로 보여 진다.

표 10. 배추 priming 결과(신농발아기준)

Condition	Priming condition wt.%	Period	3 day(%)	7 day(%)
control			81	84
Water		10min	88	91
KH ₂ PO ₄	0.1	10min	99	100
	0.3	10min	96	97
	0.5	10min	96	97
	0.7	10min	97	97
	1.0	10min	96	96
PEG8000	0.1	10min	92	98
	0.3	10min	92	100
	0.5	10min	96	98
	0.7	10min	93	98
	1.0	10min	90	98
KNO ₃	0.1	10min	82	88
	0.3	10min	82	99
	0.5	10min	77	100
	0.7	10min	77	95
	1.0	10min	80	100
NaNO ₃	0.1	10min	86	98
	0.3	10min	84	99
	0.5	10min	79	100
	0.7	10min	80	98
	1.0	10min	81	96
GA ₃	0.1	10min	79	100
	0.3	10min	79	100
	0.5	10min	77	97
	0.7	10min	79	100
	1.0	10min	77	100

* Protocol for germination test. *Two layers of qualitative filter paper per petri dish, 4.5ml of water, 50 seeds per dish

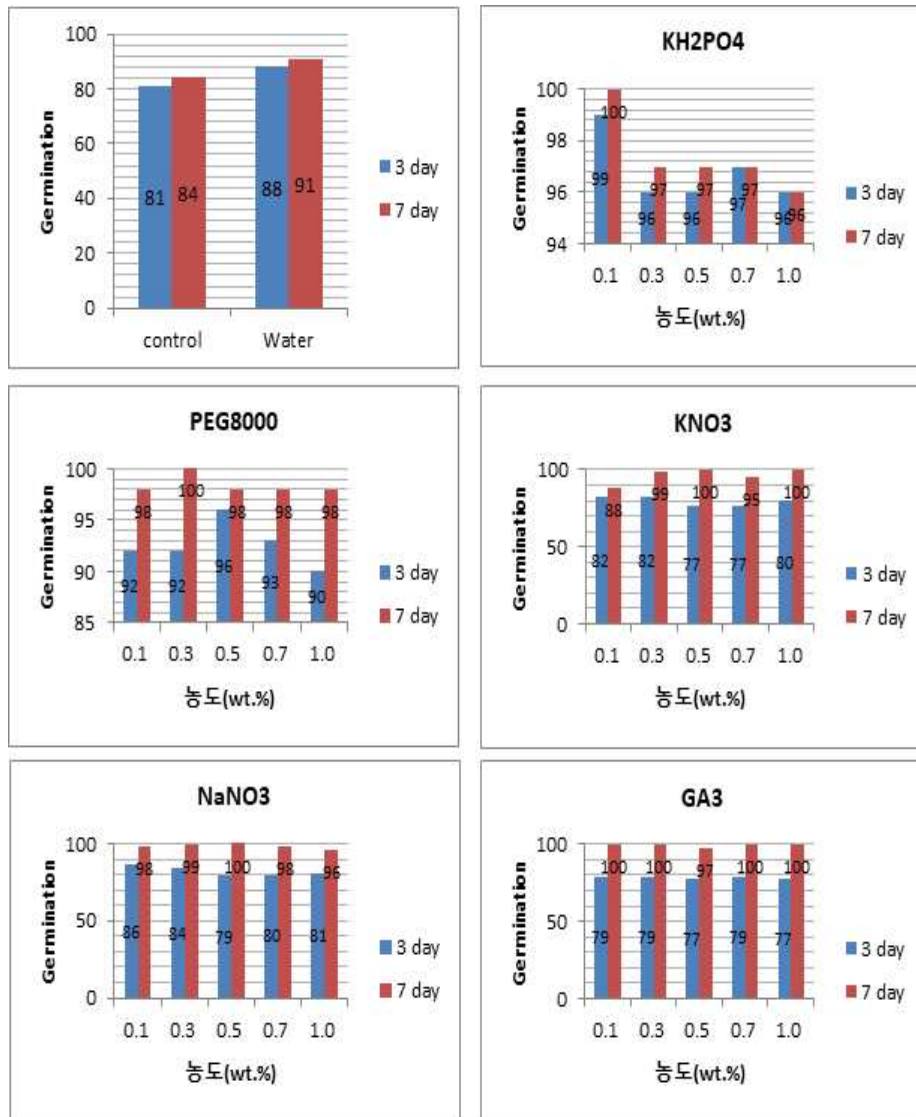


그림 24. 배추 발아 결과 그래프

표 11. 배추 종자 KH2PO4 priming ISTA 발아결과

Priming condition		2 day(%)	3 day(%)	4 day(%)	5 day(%)	10 day(%)
Condition	wt.% Period					
control		4	44	85	86	90
KH2PO4	0.1 10min	0.5	36	74	94	99
	0.3 10min	1	44	81	95	99
	0.5 10min	2	44	88	95	99
	0.7 10min	10	58	92	98	99
	1.0 10min	6	59	88	98	98

표 12. ISTA, 신농 KH₂PO₄ priming 발아결과 비교

Condition	Priming condition		3 day(%)	End(%)
	wt.%	Period		
control 신농			81	84
control ISTA			44	90
신농	0.1	10min	99	100
	0.3	10min	96	97
	0.5	10min	96	97
	0.7	10min	97	97
	1.0	10min	96	96
ISTA	0.1	10min	36	99
	0.3	10min	44	99
	0.5	10min	44	99
	0.7	10min	58	99
	1.0	10min	59	98

- 재현 효과를 확인하기 위해 산업용프라이밍기를 활용 하여 KH₂PO₄실험군 중에서 1.0% 수용액을 제조해 처리를 해보았다. 처리온도 20℃, 처리시간 10min 으로 동일한 조건의 단순 물로만 처리 하는 Control군을 동시에 진행하였다. 추후 처리한 것을 나누어 필름코팅 도 해보았다. 발아실험은 총 4가지 실험군으로 무처리종자, KH₂PO₄ 1.0%처리종자, Control종자, KH₂PO₄처리+필름코팅 종자를 가지고 ISTA규정에 맞추어 발아실험을 진행하였다. 그 결과 KH₂PO₄ 1.0% 처리종자가 3일차, 7일차 발아율이 가장 좋으나 전체 발아율의 평균을 비교 했을때 무처리 종자보다 평균 0.9%, Control 보다 1.4% 더 낮았다. 코팅종자는 발아율이 처리와는 1.1%, 무처리와는 0.3% 차이로 더 높았고 Control과는 발아율이 0.3% 더 낮았다. (표 13, 그림25)

표 13. 배추 종자 무처리, Control, KH₂PO₄ priming, KH₂PO₄+코팅종자 발아결과

	1 day(%)	2 day(%)	3 day(%)	4 day(%)	5 day(%)	6 day(%)	7 day(%)
무처리	0	30	82	94	97	97	99
Control	0	41	75	94	96	98	99
KH ₂ PO ₄ 1.0%	1	20	84	91	97	100	100
KH ₂ PO ₄ +코팅	0	35	79	91	98	99	99

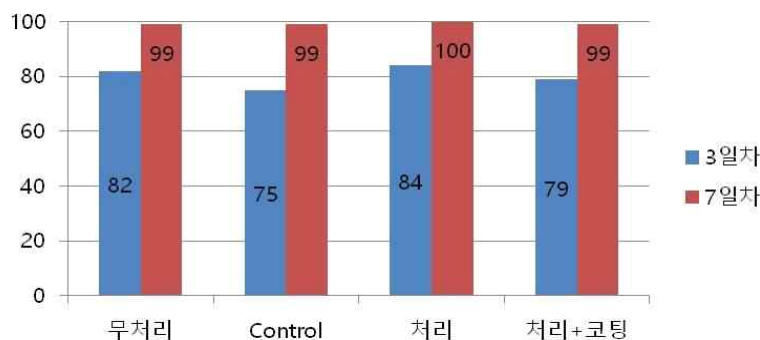


그림 25. 배추 종자 무처리, Control, KH₂PO₄ priming, KH₂PO₄+코팅종자 발아결과 비교

3) 양배추 종자의 발아율 향상을 위한 priming 결과

- 양배추 종자의 priming 결과(표 14)를 보면 같은 브라시카류인 배추와 비슷한 발아결과를 나타내었고 양배추 또한 KH₂PO₄ priming에서 가장 안정 적인 발아세 발아율 상승효과(그림 26)를 나타내었다. 발아율만 보면, GA₃에서 가장 좋은 결과를 보였지만 이 결과도 종자 생리에 문제가 제기됨에 따라 제외하였으며, 종합적으로 본 결과 양배추는 시약 KH₂PO₄로 재 실험을 결정하였다. 재 실험 후 ISTA 규정으로 발아실험 결과(표 15) 1차 조사일인 3일 차에는 다소 신평의 결과보다 떨어졌지만 최종 조사일 에는 별다른 차이(표 16)를 보이지 않았다. 양배추의 적합한 시약군은 KH₂PO₄ 처리가 가장 적합한 결과를 나타내었다.

표 14. 양배추 priming 결과(신평발아기준)

Condition	Priming condition		3 day(%)	7 day(%)
	wt.%	Period		
control			77	81
Water		10min	85	88
KH ₂ PO ₄	0.1	10min	84	86
	0.3	10min	87	92
	0.5	10min	94	96
	0.7	10min	89	90
	1.0	10min	88	91
PEG8000	0.1	10min	76	77
	0.3	10min	82	82
	0.5	10min	85	86
	0.7	10min	77	77
	1.0	10min	89	89
KNO ₃	0.1	10min	82	88
	0.3	10min	91	93
	0.5	10min	80	84
	0.7	10min	77	83
	1.0	10min	89	90
NaNO ₃	0.1	10min	83	85
	0.3	10min	79	80
	0.5	10min	80	86
	0.7	10min	73	73
	1.0	10min	75	76
GA ₃	0.1	10min	97	98
	0.3	10min	79	89
	0.5	10min	77	91
	0.7	10min	79	76
	1.0	10min	77	84

* Protocol for germination test. *Two layers of qualitative filter paper per petri dish, 4.5ml of water, 50 seeds per dish

표 15. 양배추 종자 KH₂PO₄ priming ISTA 발아결과

Condition	Priming condition		2 day(%)	3 day(%)	4 day(%)	5 day(%)	10 day(%)
	wt.%	Period					
control			15	65	84	85	85
KH ₂ PO ₄	0.1	10min	20	71	83	90	90
	0.3	10min	22	69	80	93	93
	0.5	10min	26	79	88	91	91
	0.7	10min	25	76	84	90	91
	1.0	10min	28	77	85	94	95

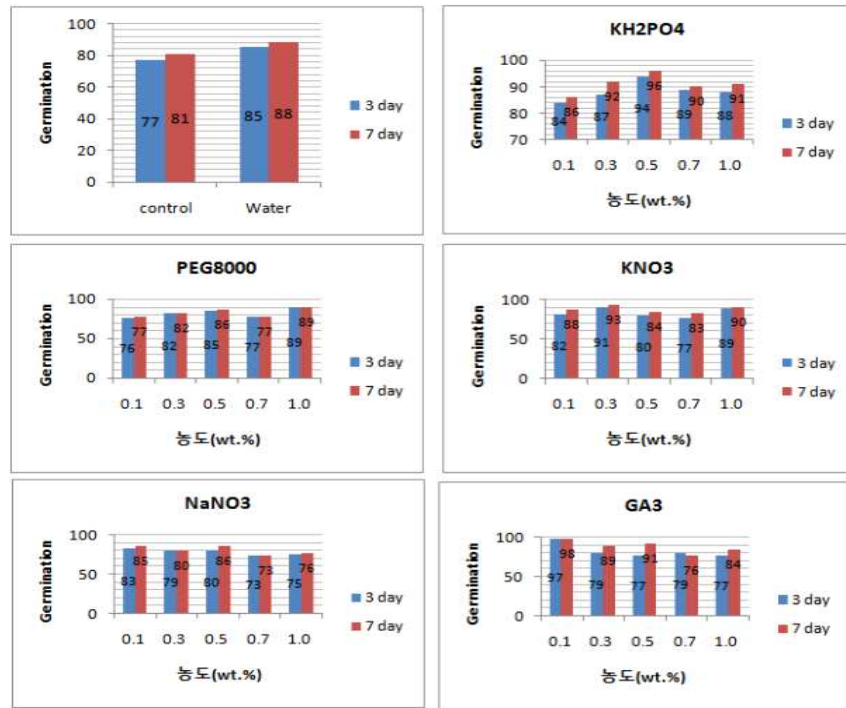


그림 26. 양배추 발아 결과 그래프

표 16. ISTA, 신농 KH₂PO₄ priming 발아결과 비교

Condition	Priming condition		3 day(%)	End(%)
	wt.%	Period		
control 신농			77	81
control ISTA			65	85
신농	0.1	10min	84	86
	0.3	10min	87	92
	0.5	10min	94	96
	0.7	10min	89	90
	1.0	10min	88	91
ISTA	0.1	10min	71	90
	0.3	10min	69	93
	0.5	10min	79	91
	0.7	10min	76	91
	1.0	10min	77	95

- 재현 효과를 확인하기 위해 산업용프라이밍기를 활용 하여 KH₂PO₄실험군 중에서 1.0% 수용액을 제조해 수화처리를 해보았다. 처리온도 20℃, 처리시간 10min 으로 동일한 조건의 단순 물로만 처리 하는 Control군을 동시에 진행하였다. 추후 처리한것을 나누어 필름코팅을 하였다. 총 4가지 실험군으로 무처리종자, KH₂PO₄ 1.0%처리종자, Control종자, KH₂PO₄처리+필름코팅 종자를 가지고 ISTA규정에 맞추어 발아실험을 진행하였다. 그 결과 KH₂PO₄ 1.0% 처리종자가 무처리 종자보다 평균 5.6% 더 높게 나왔고 Control 보다 6.6% 더 높았다. 코팅종자는 발아율이 처리와는 평균 9.0%, 무처리와는 3.4%, Control과는 발아율이 2.4% 더 낮았다(표 17, 그림 27).

표 17. 양배추 종자 무처리, Control, KH₂PO₄ priming, KH₂PO₄+코팅종자 발아결과

	1 day(%)	2 day(%)	3 day(%)	4 day(%)	5 day(%)	6 day(%)	7 day(%)
무처리	2	58	70	75	79	83	84
Control	6	51	64	79	82	81	81
KH ₂ PO ₄ 1.0%	0	60	76	87	87	89	91
KH ₂ PO ₄ +코팅	0	43	65	75	79	82	83

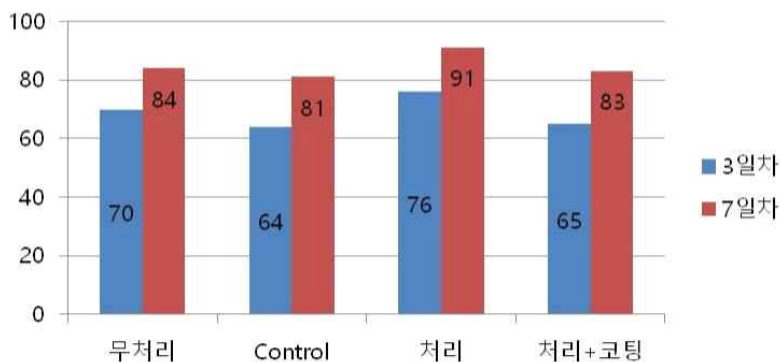


그림 27. 양배추 종자 무처리, Control, KH₂PO₄ priming, KH₂PO₄+코팅종자 발아결과 비교

4) 양파 종자의 발아율 향상을 위한 priming 결과

- 양파 종자 priming 결과(표 18)를 보면 이결과 역시 GA₃ 시약이 가장 안정적인 결과(그림 28)를 나타내었지만 생리적인 문제로 재 실험 군에서는 제외를 하였고 나머지 시약 처리를 보면 NaNO₃ 0.5wt.% 12hr 처리 최종발아결과 76%, MgSO₄ 0.7wt.% 12hr 처리 최종발아율 78%, K₂SO₄ 0.1wt.% 12hr 처리 76%의 결과가 가장 높게 나타내었고 모든 시약군의 24hr 처리군(표 19)은 오차 범위의 나중자와 같거나 못한 결과(그림 29)를 나타내었다. 12hr 처리결과 또한 GA₃를 제외한 모든 시약군 에서 발아가 향상 되었다고 볼 수 없다. ISTA 규정으로 다시 발아 평가를 위한 재 실험군은 NaNO₃ 0.5wt.% 12hr, MgSO₄ 0.7wt.% 12hr, K₂SO₄ 0.1wt.% 12hr의 실험만 실험하여 발아를 다시 평가하였다.

표 18. 양과 priming 12hr 결과(신농발아기준)

Condition	Priming condition		4 day(%)	7 day(%)
	wt.%	Period		
control			65	72
Water		12hr	66	71
PEG8000	0.1	12hr	60	66
	0.3	12hr	61	66
	0.5	12hr	57	64
	0.7	12hr	62	73
	1.0	12hr	49	56
KNO3	0.1	12hr	58	66
	0.3	12hr	60	64
	0.5	12hr	66	70
	0.7	12hr	57	65
	1.0	12hr	60	70
NaCl	0.1	12hr	62	68
	0.3	12hr	66	71
	0.5	12hr	57	64
	0.7	12hr	63	69
	1.0	12hr	61	64
GA3	0.1	12hr	70	76
	0.3	12hr	79	83
	0.5	12hr	70	78
	0.7	12hr	71	74
	1.0	12hr	69	74
NaNO3	0.1	12hr	61	69
	0.3	12hr	54	60
	0.5	12hr	67	76
	0.7	12hr	48	52
	1.0	12hr	69	72
MgSO4	0.1	12hr	49	56
	0.3	12hr	59	62
	0.5	12hr	65	67
	0.7	12hr	69	78
	1.0	12hr	50	56
KH2PO4	0.1	12hr	67	70
	0.3	12hr	61	71
	0.5	12hr	58	64
	0.7	12hr	63	67
	1.0	12hr	54	56
K2SO4	0.1	12hr	72	76
	0.3	12hr	63	72
	0.5	12hr	57	59
	0.7	12hr	38	46
	1.0	12hr	60	72

* Protocol for germination test. *Two layers of qualitative filter paper per petri dish, 4.5ml of water, 50 seeds per dish

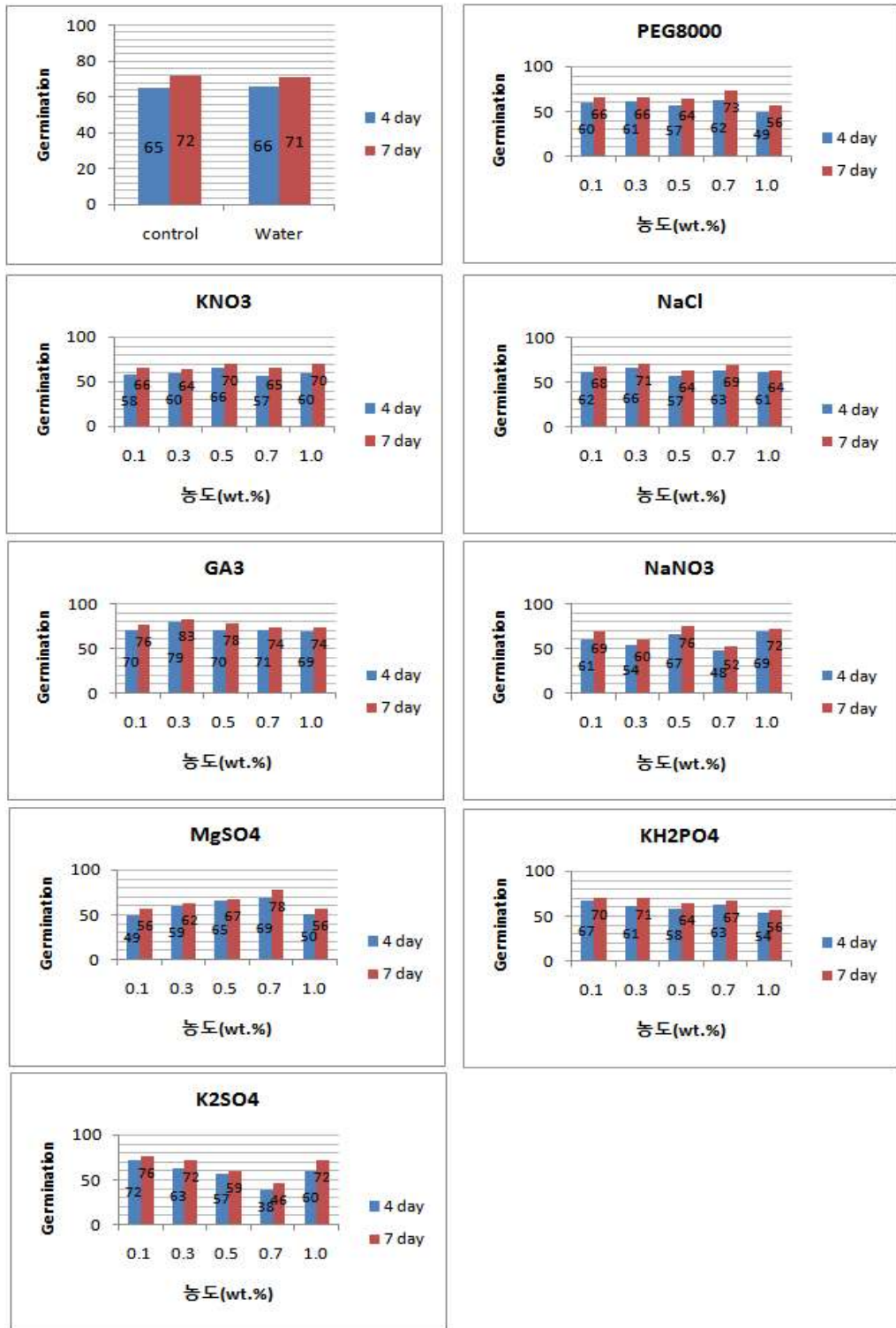


그림 28. 양파 발아 12hr 결과 그래프

표 19. 양과 priming 24hr 결과(신농발아기준)

Priming condition			4 day(%)	7 day(%)
Condition	wt.%	Period		
control			65	72
Water		24hr	62	66
PEG8000	0.1	24hr	51	56
	0.3	24hr	51	56
	0.5	24hr	59	67
	0.7	24hr	62	68
	1.0	24hr	59	69
KNO3	0.1	24hr	52	56
	0.3	24hr	62	65
	0.5	24hr	62	68
	0.7	24hr	62	71
	1.0	24hr	53	58
NaCl	0.1	24hr	55	59
	0.3	24hr	41	44
	0.5	24hr	42	50
	0.7	24hr	56	60
	1.0	24hr	61	64
GA3	0.1	24hr	58	62
	0.3	24hr	69	72
	0.5	24hr	69	74
	0.7	24hr	58	62
	1.0	24hr	68	74
NaNO3	0.1	24hr	59	65
	0.3	24hr	61	66
	0.5	24hr	57	58
	0.7	24hr	69	73
	1.0	24hr	52	54
MgSO4	0.1	24hr	60	63
	0.3	24hr	70	72
	0.5	24hr	57	64
	0.7	24hr	58	66
	1.0	24hr	55	58
KH2PO4	0.1	24hr	64	70
	0.3	24hr	68	72
	0.5	24hr	60	64
	0.7	24hr	61	65
	1.0	24hr	59	65
K2SO4	0.1	24hr	63	64
	0.3	24hr	62	63
	0.5	24hr	35	43
	0.7	24hr	43	52
	1.0	24hr	60	67

* Protocol for germination test. *Two layers of qualitative filter paper per petri dish, 4.5ml of water, 50 seeds per dish

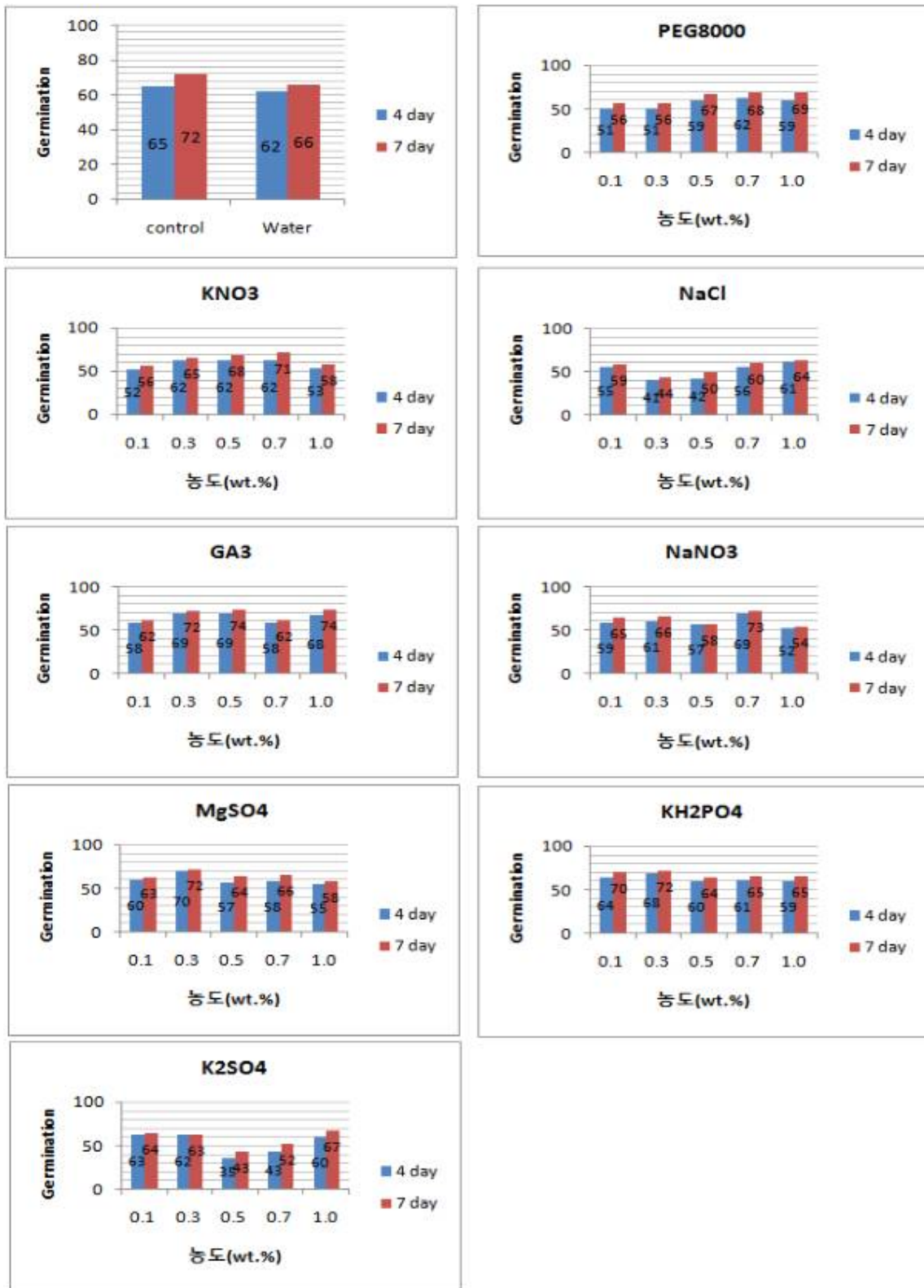


그림 29. 양파 발아 24hr 결과 그래프

- 재 실험 후 ISTA 규정 발아시험 결과(표 20)를 보면 NaNO₃ 0.5wt.% 12hr, MgSO₄ 0.7wt.% 12hr, K₂SO₄ 0.1wt.% 12hr 모두 신농의 발아 평가보다 높게 나온걸 알 수 있으며 가장 높은 발아율을 보인 시약군은 신농의 발아와 마찬가지로 MgSO₄ 0.7wt.%에서 가장 높은 발아 상승효과(표 21)를 나타내지만 4일차 조사일 에는 다소 차이가 보였고 최종적으로 나중자 발아 결과 역시 신농 기준보다 높게나와 뚜렷하게 시약처리가 양과 종자에 상승효과가 있었다고는 볼 수 없어 시약 군을 폭 넓게 선택하여 실험을 다시 진행 할 예정이다.

표 20. NaNO₃, MgSO₄, K₂SO₄ priming ISTA 발아결과

Condition	Priming condition		2 day(%)	3 day(%)	4 day(%)	5 day(%)	6 day(%)	12day(%)
	wt.%	Period						
control			1	16	48	52	69	74
NaNO ₃	0.5	12hr	3	17	52	57	73	78
MgSO ₄	0.7	12hr	0.5	18	49	52	75	83
K ₂ SO ₄	0.1	12hr	1.5	22	53	59	71	78

표 21. ISTA, 신농 NaNO₃, MgSO₄, K₂SO₄ priming 발아결과 비교

Condition	Priming condition		4 day(%)	End(%)
	wt.%	Period		
control 신농			65	72
control ISTA			48	74
신농	0.5	12hr	67	76
	0.7	12hr	69	78
	0.1	12hr	72	76
ISTA	0.5	12hr	52	78
	0.7	12hr	49	83
	0.1	12hr	53	78

표 22. 양과 무처리, Control 종자 priming ISTA 발아율 결과

구분	처리 온도 (°C)	처리 시간(hr)	2일				3일		4일		5일		종료일
			2일	3일	4일	5일	2일	3일	4일	5일			
무처리			4	8	81	93						93	
Control	20	1	2	13	82	94						95	
		3	3	14	89	93						93	
		6	5	33	87	94						94	
		15	19	47	93	94						94	
Control	25	1	8	25	91	93						94	
		3	5	14	90	92						92	
		6	6	44	91	92						92	

*25°C에서 15h 처리시 다수의 수발아가 일어남

- 2차년도 결과를 토대로 새로운 시약 선정의 필요성을 느껴 3차년도에는 맥반석 용해액과 게르마늄 용해액을 각각 처리 온도, 처리 시간, 농도를 달리하여 진행하였다. 실험 과정에서 원 계획과는 달리 25℃ 처리 조건 중에서 15h, 24h의 양과 종자들이 Control을 포함 다수의 수발아가 일어났다.(그림 30,31) 또한, 20℃의 처리조건의 15h에서 일부 수발아가 일어났으나(그림 32) 25℃에서 보다 그 양이 현저히 적어 발아시험을 진행하였다. 발아율 결과를 살펴보면 20℃의 처리온도 조건에서 가장 효과가 좋았던 게르마늄 용해액(1h 0.1)의 처리가 무처리에 비해 7.53%, 같은 조건의 control에 비해 7.53% 높았고 25℃의 처리온도 조건에서 가장 효과가 좋았던 맥반석 용해액(1h 0.5%)은 무처리에 비해 7.53%, 동일한 조건의 control에 비해 6.38%, 게르마늄 용해액(3h 0.1%)은 무처리에 비해 7.53%, 같은 조건의 control에 비해 8.70%이 높았다(표 25). 이러한 결과를 통해 맥반석과 게르마늄의 처리가 발아율에 영향을 준다는 것을 가정할 수 있다. 그러므로 맥반석과 게르마늄의 효과가 기대되는 만큼 정확한 기준의 규명을 위해 재실험이 필요할 것으로 보여 차후 진행할 예정이다.

표 23. 양파 맥반석 종자 priming ISTA 발아율 결과

처리 시간(hr)	처리 온도(℃)	농도(%)	2일(%)	3일(%)	4일(%)	5일(%)	종료일(%)
1	20	0.1%	11	34	88	98	99
		0.3%	6	18	93	99	99
		0.5%	6	21	99	100	100
		1.0%	4	18	92	100	100
	25	0.1%	5	24	97	99	99
		0.3%	2	19	93	99	99
		0.5%	4	24	87	99	100
		1.0%	4	34	87	96	97
3	20	0.1%	7	18	89	100	100
		0.3%	4	21	94	100	100
		0.5%	5	22	92	95	95
		1.0%	4	18	93	99	99
	25	0.1%	6	41	96	97	97
		0.3%	2	23	91	97	98
		0.5%	4	27	95	99	99
		1.0%	2	22	94	99	100
6	20	0.1%	16	51	89	97	97
		0.3%	11	41	93	98	98
		0.5%	11	34	93	97	97
		1.0%	13	39	94	99	99
	25	0.1%	6	30	95	98	98
		0.3%	3	28	96	99	99
		0.5%	1	28	98	100	100
		1.0%	1	25	94	100	100
15	20	0.1%	24	47	95	96	96
		0.3%	24	52	95	96	96
		0.5%	25	52	94	97	97
		1.0%	23	55	91	96	96

*25℃에서 15h 처리시 다수의 수발아가 일어남

표 24. 양파 게르마늄 종자 priming ISTA 발아율 결과

처리 시간(hr)	처리 온도(°C)	농도(%)	2일(%)	3일(%)	4일(%)	5일(%)	종료일(%)
1	20	0.1%	8	25	98	100	100
		0.3%	4	15	95	99	99
		0.5%	1	12	90	97	98
		1.0%	5	25	93	99	100
	25	0.1%	13	47	87	97	97
		0.3%	4	31	95	99	99
		0.5%	4	32	90	98	98
		1.0%	10	34	93	99	99
3	20	0.1%	4	19	89	97	97
		0.3%	8	21	90	97	97
		0.5%	3	15	91	99	99
		1.0%	9	25	91	98	98
	25	0.1%	0	29	96	100	100
		0.3%	4	37	97	98	98
		0.5%	3	27	93	99	99
		1.0%	5	37	92	98	98
6	20	0.1%	4	18	93	98	98
		0.3%	15	37	86	96	96
		0.5%	3	19	83	94	94
		1.0%	2	14	85	98	98
		0.1%	1	25	92	98	98
		0.3%	6	24	93	97	97
		0.5%	2	27	94	96	97
		1.0%	3	29	98	99	99
15	20	0.1%	27	49	93	97	98
		0.3%	19	51	96	97	97
		0.5%	21	45	93	94	94
		1.0%	15	46	89	95	96

*25°C 에서 15h 처리시 다수의 수발아가 일어남

표 25. 양파 무처리, Control 종자, 맥반석, 게르마늄 priming ISTA 발아율 비교

구분	처리 온도 (°C)	처리 시간 (hr)	2일(%)	3일(%)	4일(%)	5일(%)	종료일(%)
무처리			4	8	81	93	93
Control	20	1	2	13	82	94	95
게르마늄(0.1%)			8	25	98	100	100
Control	25	1	3	25	91	93	94
맥반석(0.5%)			4	24	87	99	100
Control		3	0	14	90	92	92
게르마늄(0.1%)			0	29	96	100	100



그림 30. 양파 25℃ 조건 15h 처리 수발아

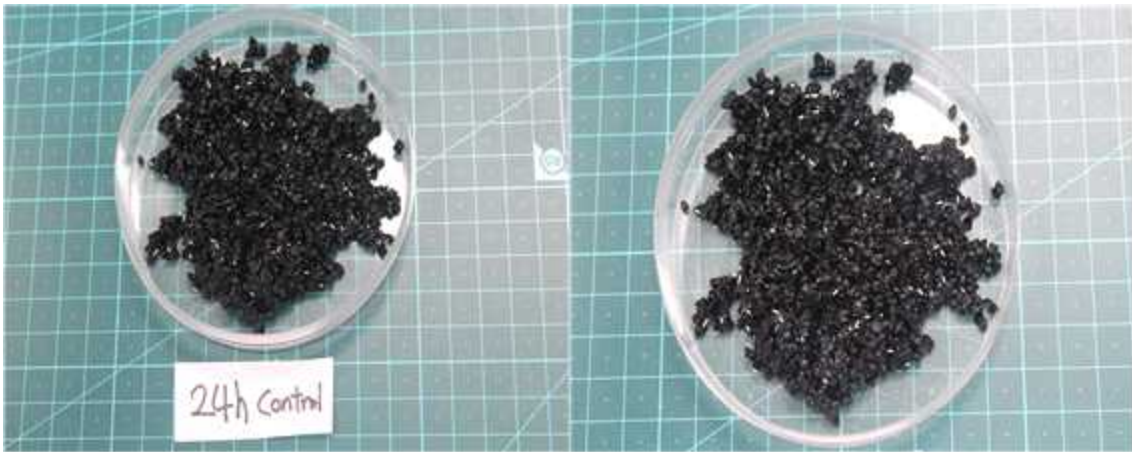


그림 31. 양파 25℃ 조건 24h 처리 수발아

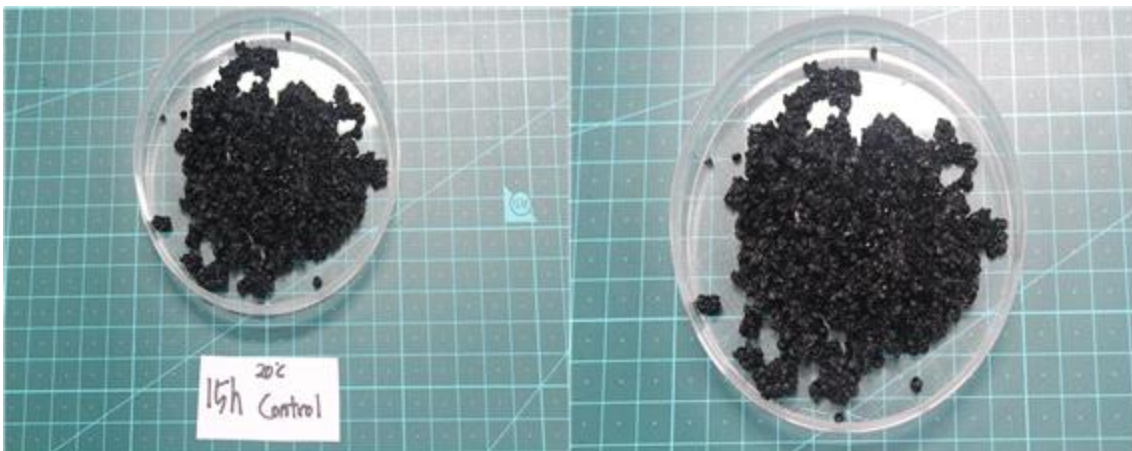


그림 32. 양파 20℃ 조건 15h 처리 수발아

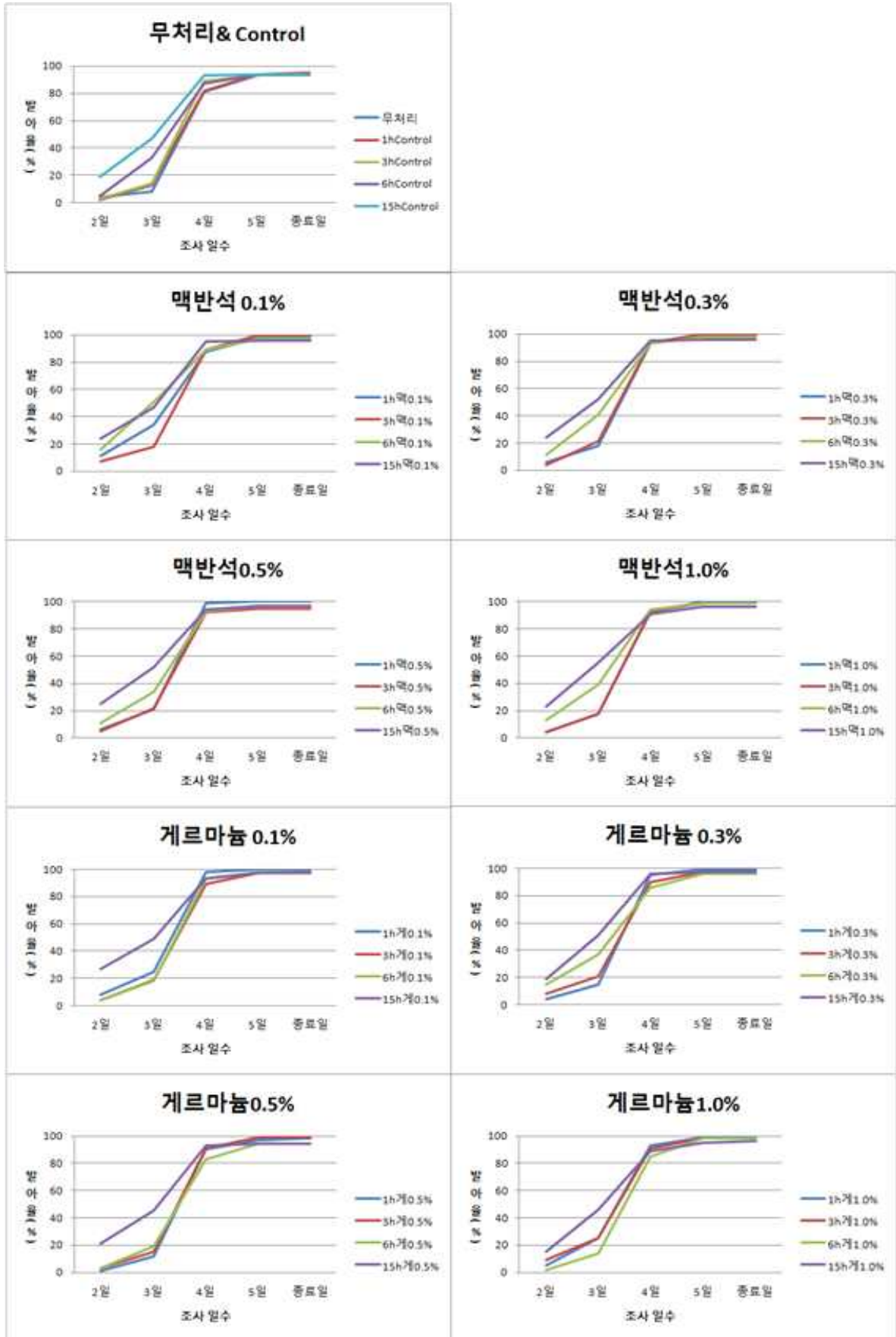


그림 33. 양과 20°C 조건 발아율

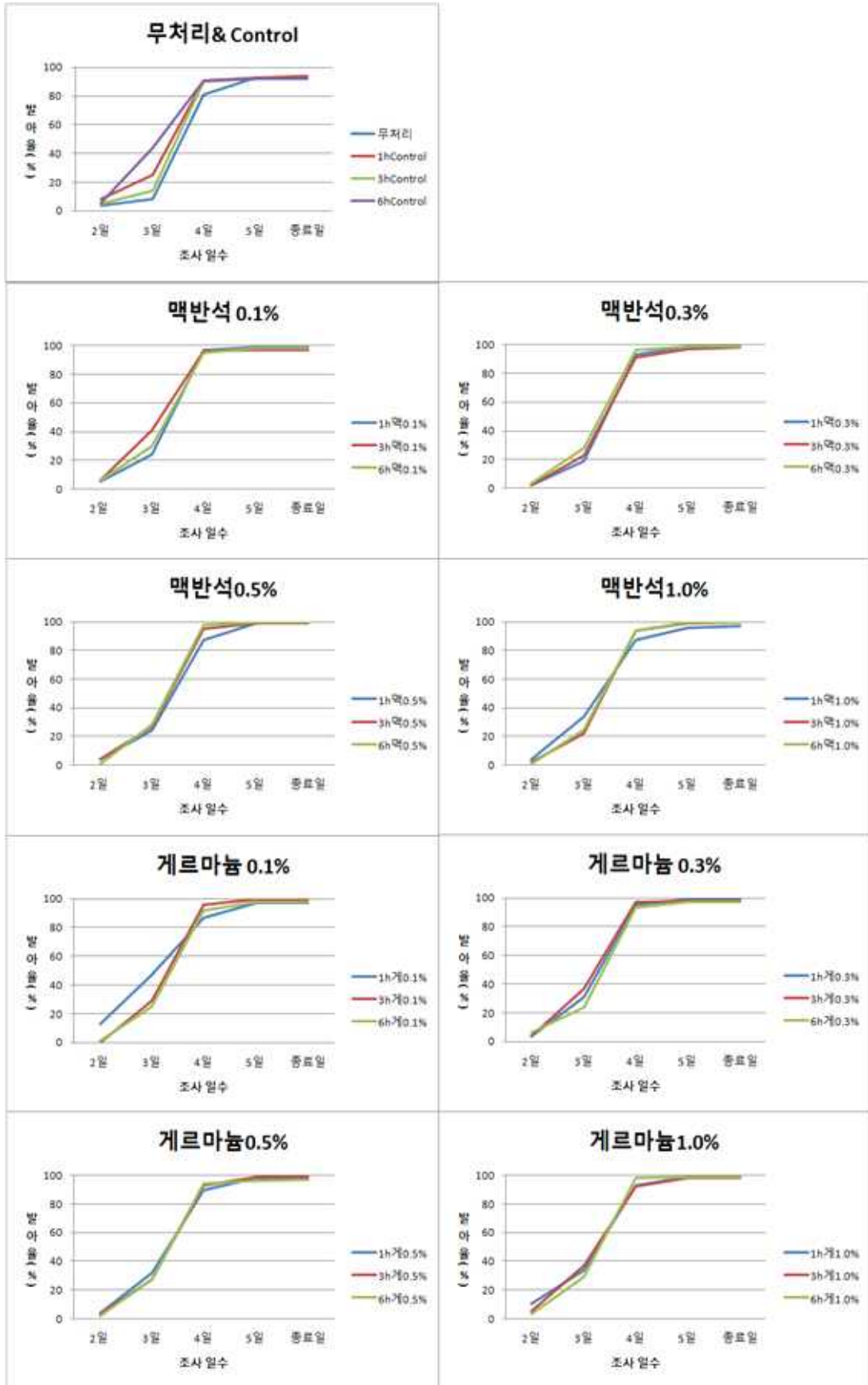


그림 34. 양과 25°C 조건 발아율

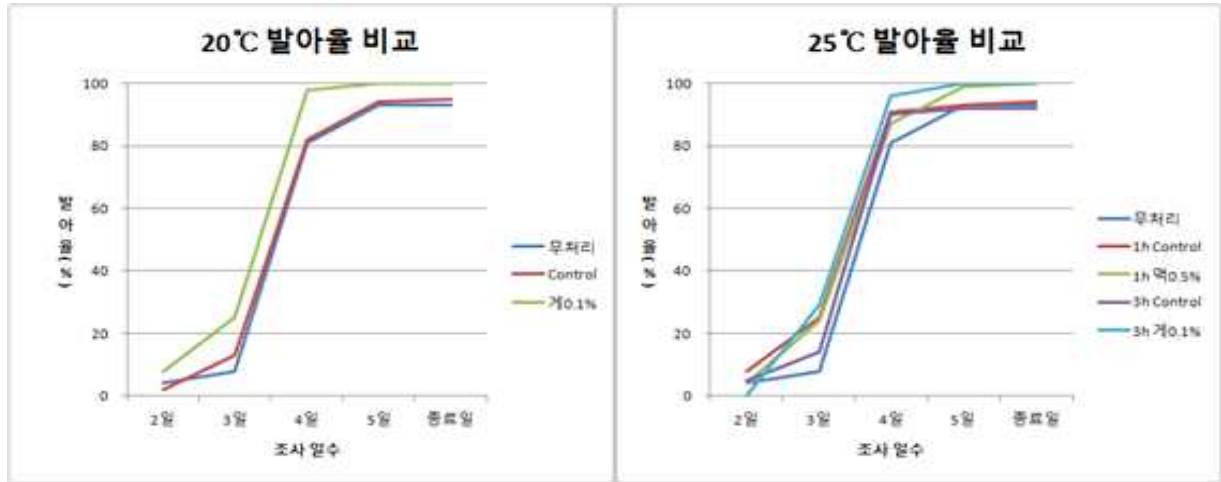


그림 35. 양파 발아율 비교

- 4차년도에는 현행법상 유기농업에서 사용가능한 자재중에 소독효과가 있는 제제들을 5종 선정하여 처리했을 때 발아개량 효과를 알아보려고 하였다. 보르도액은 가장 기본이 되는 4.4식으로 제조하여 사용하고 나머지는 분말제제를 수용액화 시켜 사용하였다. 처리 시간은 3, 6, 15, 24h으로 20°C에서 각각 0.1%, 0.3%, 0.5%, 1.0%로 처리하였다. 전체적으로 발아율 결과를 살펴보면 3일째부터 효과가 있음을 볼 수 있었다. 각 처리 시간별로 보면 3h에서는 탄산나트륨0.1%, 6h에서는 탄산나트륨0.5%, 15h에서는 탄산칼륨0.3%, 24h에서는 탄산칼륨0.1%가 좋았다(표28,그림 35). 그 중 24h 탄산칼륨0.1%의 처리가 무처리 종자에 비해 15%, 같은 24h처리의 control 보다 5%의 높은 발아율을 보였다. 이러한 결과들을 통해 저농도의 탄산칼륨 과 탄산나트륨 수용액들이 발아세에 효과가 있다는 것을 가정 할 수 있었다. 이러한 결과들을 토대로 양파종자에 탄산칼륨과 탄산나트륨의 효과가 기대되기에 향후 재실험을 진행할 예정이다.

표 26. 양파 무처리, Control 종자 ISTA 발아율 결과

구분	2일(%)	3일(%)	4일(%)	5일(%)	종료일(%)
G(나종자)	3	54	91	95	97
3H Control	1	51	94	95	95
6H Control	0	35	92	93	93
15H Control	0	62	95	95	95
24H Control	2	59	95	96	96

표 27. 양과 각 시약별 3h처리 종자 ISTA 발아율 결과

구분	2일(%)	3일(%)	4일(%)	5일(%)	종료일(%)
보르도액0.1%	0	34	87	91	93
보르도액0.3%	1	34	89	92	96
보르도액0.5%	0	29	99	99	100
보르도액1.0%	1	25	94	96	97
탄산나트륨0.1%	2	63	92	95	96
탄산나트륨0.3%	0	61	90	95	96
탄산나트륨0.5%	0	53	95	97	97
탄산나트륨1.0%	1	52	92	96	97
탄산칼륨0.1%	3	45	89	93	96
탄산칼륨0.3%	2	53	95	96	96
탄산칼륨0.5%	2	41	89	96	96
탄산칼륨1.0%	3	51	93	97	98
산화제2구리0.1%	1	35	91	97	97
산화제2구리0.3%	0	31	93	98	99
산화제2구리0.5%	1	25	97	97	97
산화제2구리1.0%	2	24	96	96	96
수산화제2구리0.1%	1	35	96	97	97
수산화제2구리0.3%	0	28	90	95	98
수산화제2구리0.5%	0	33	89	95	96
수산화제2구리1.0%	1	23	93	95	96

표 28. 양과 각 시약별 6h처리 종자 ISTA 발아율 결과

구분	2일(%)	3일(%)	4일(%)	5일(%)	종료일(%)
보르도액0.1%	1	34	93	94	94
보르도액0.3%	0	40	99	99	99
보르도액0.5%	1	35	96	98	99
보르도액1.0%	0	33	92	94	94
탄산나트륨0.1%	0	55	94	95	95
탄산나트륨0.3%	2	58	93	95	95
탄산나트륨0.5%	1	60	94	99	99
탄산나트륨1.0%	0	56	96	98	98
탄산칼륨0.1%	1	50	91	98	98
탄산칼륨0.3%	0	55	93	96	97
탄산칼륨0.5%	0	48	94	97	98
탄산칼륨1.0%	0	52	91	97	98
산화제2구리0.1%	0	34	95	96	96
산화제2구리0.3%	1	31	93	98	98
산화제2구리0.5%	1	19	94	98	98
산화제2구리1.0%	0	14	91	97	97
수산화제2구리0.1%	2	38	90	96	97
수산화제2구리0.3%	0	25	94	98	98
수산화제2구리0.5%	0	35	94	99	99
수산화제2구리1.0%	0	33	91	97	98

표 29. 양과 각 시약별 15h처리 종자 ISTA 발아율 결과

구분	2일(%)	3일(%)	4일(%)	5일(%)	종료일(%)
보르도액0.1%	1	45	100	100	100
보르도액0.3%	0	40	97	98	99
보르도액0.5%	0	39	90	90	91
보르도액1.0%	0	39	92	94	95
탄산나트륨0.1%	0	51	94	95	97
탄산나트륨0.3%	0	41	91	96	96
탄산나트륨0.5%	0	51	93	97	98
탄산나트륨1.0%	0	47	93	95	95
탄산칼륨0.1%	0	57	92	94	95
탄산칼륨0.3%	1	62	97	99	99
탄산칼륨0.5%	0	62	92	96	96
탄산칼륨1.0%	0	54	90	97	97
산화제2구리0.1%	0	17	93	96	98
산화제2구리0.3%	0	16	92	97	98
산화제2구리0.5%	0	17	93	98	99
산화제2구리1.0%	0	18	90	92	93
수산화제2구리0.1%	0	36	91	96	96
수산화제2구리0.3%	0	23	94	98	99
수산화제2구리0.5%	0	33	95	98	99
수산화제2구리1.0%	1	17	92	95	96

표 30. 양과 각 시약별 24h처리 종자 ISTA 발아율 결과

구분	2일(%)	3일(%)	4일(%)	5일(%)	종료일(%)
보르도액0.1%	2	42	95	98	98
보르도액0.3%	0	45	92	93	93
보르도액0.5%	1	50	94	96	96
보르도액1.0%	0	46	94	96	97
탄산나트륨0.1%	1	62	94	94	95
탄산나트륨0.3%	0	63	92	93	96
탄산나트륨0.5%	0	64	97	97	97
탄산나트륨1.0%	0	69	90	93	94
탄산칼륨0.1%	2	71	94	97	98
탄산칼륨0.3%	1	62	93	96	97
탄산칼륨0.5%	1	61	91	94	94
탄산칼륨1.0%	0	56	92	95	95
산화제2구리0.1%	1	15	86	91	92
산화제2구리0.3%	0	14	86	92	92
산화제2구리0.5%	1	24	91	96	97
산화제2구리1.0%	1	13	90	95	96
수산화제2구리0.1%	0	39	94	95	96
수산화제2구리0.3%	1	44	89	92	95
수산화제2구리0.5%	1	36	94	94	95
수산화제2구리1.0%	0	30	87	94	94

표 31. 각 처리 시간별 발아율 비교

구분	2일(%)	3일(%)	4일(%)	5일(%)	종료일(%)
G(나종자)	3	54	91	95	97
3H Control	1	51	94	95	95
6H Control	0	35	92	93	93
15H Control	0	62	95	95	95
24H Control	2	59	95	96	96
3H나0.1%	2	63	92	95	96
6H 나0.5%	1	60	94	99	99
15H 칼0.3%	1	62	97	99	99
24H 칼0.1%	2	71	94	97	98

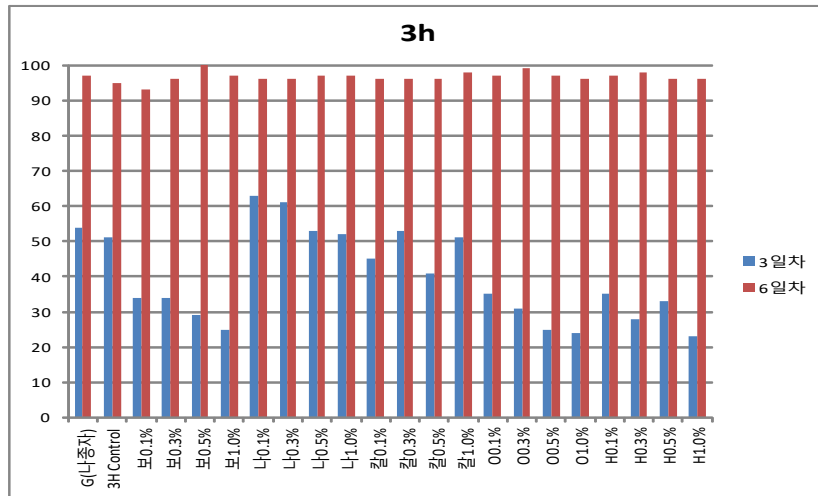


그림 36. 양과 발아 3h 결과 그래프

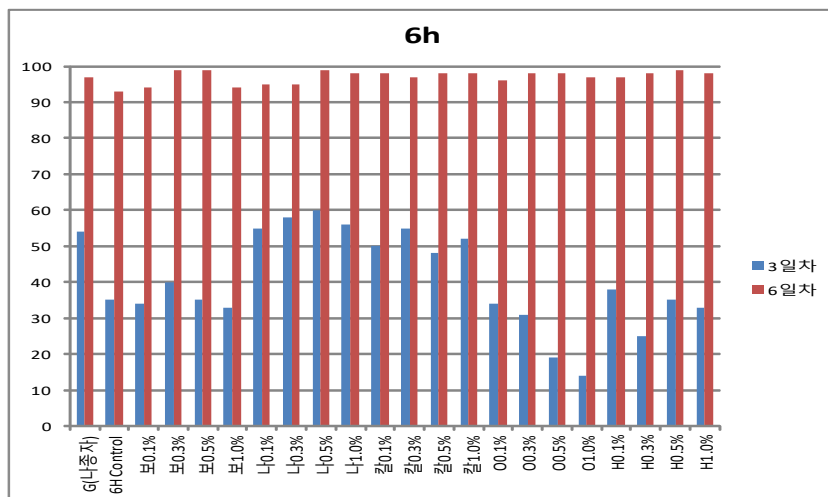


그림 37. 양과 발아 6h 결과 그래프

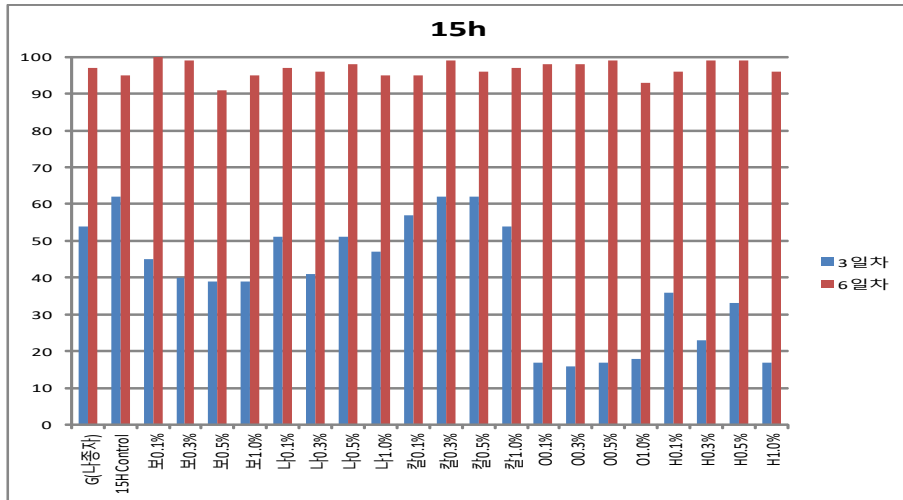


그림 38. 양과 발아 15h 결과 그래프

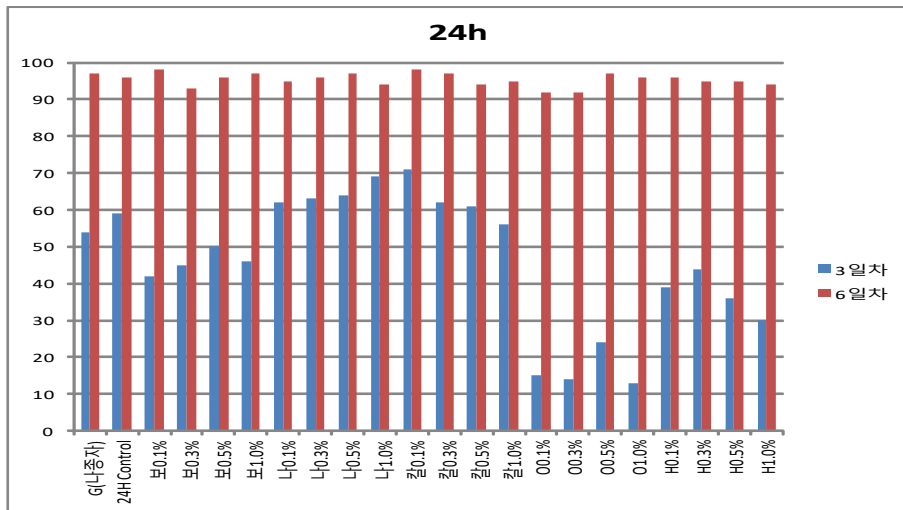


그림 39. 양과 발아 24h 결과 그래프

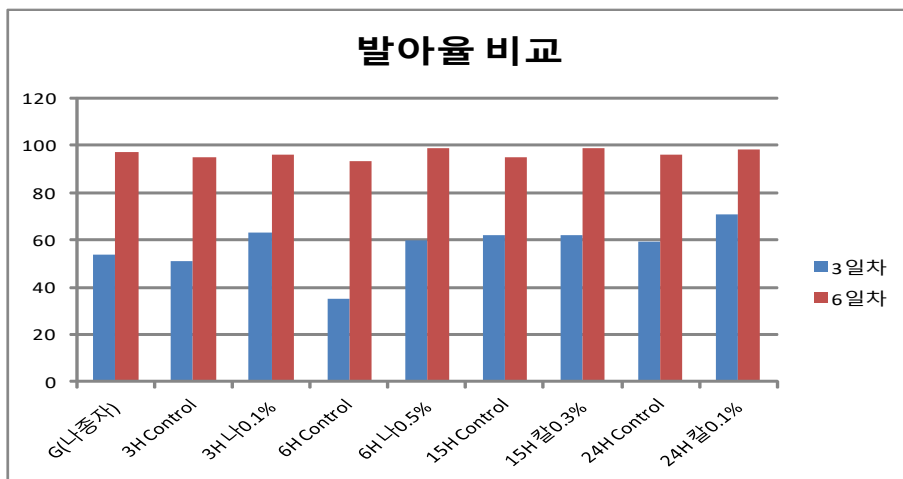


그림 40. 양과 발아 결과 비교 그래프

- 재현 효과를 확인하기 위해 산업용프라이밍기를 활용 하여 맥반석 실험군 중에서 1.0% 수용액을 제조해 프라이밍처리를 해보았다. 처리온도 20℃, 처리시간 15h 으로 동일한 조건의 단순 물로만 처리 하는 Control군을 동시에 진행하였다. 추후 처리한것을 나누어 필름코팅 도 해보았다. 발아실험은 총 4가지 실험군으로 무처리종자, 맥반석 1.0%처리종자, Control종자, 맥반석처리+필름코팅 종자를 가지고 ISTA규정에 맞추어 발아실험을 진행하였다. 그 결과 맥반석 1.0% 처리종자가 무처리 종자보다 평균 3.1% 더 높게 나왔고 Control 보다 0.7% 더 높았다. 코팅종자는 발아율이 처리와는 25.3%, 무처리와는 22.1%, Control과는 발아율이 24.6% 더 낮았다. (표 32,그림 41)

표 32. 양과 종자 무처리, Control, 맥반석 priming, 맥반석+코팅종자 발아결과

	1 day(%)	2 day(%)	3 day(%)	4 day(%)	5 day(%)	6 day(%)	7 day(%)
무처리	0	22	89	96	96	96	96
Control	1	30	93	97	97	97	97
맥반석1.0% 15h	0	21	97	99	100	100	100
맥반석+코팅	0	3	55	65	69	73	75

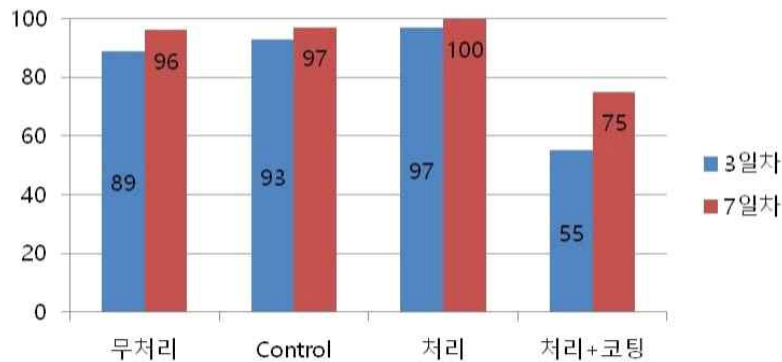


그림 41. 양과 종자 무처리, Control, 맥반석 priming, 맥반석+코팅종자 발아결과 비교

5) 당근 종자의 발아율 향상을 위한 priming 결과

- 당근 종자 priming 결과(표 33,34)를 보면 처리 시약군 모두 나종자 보다 좋지 않은 결과가 도출되었고 NaNO₃ 12hr 처리군 에서 발아세 상승효과(그림 42)만 나타내고 최종 발아율은 나종자 보다 낮았으며 24hr 시간처리(그림 43)는 발아세 상승효과도 없었다. ISTA 발아 검정 위한 실험진행은 시약군의 재 실험은 의미가 없다고 판단되어 나종자의 발아 비교 실험(표 35)만 진행한 결과 나종자의 최종 발아율은 비슷했으나 4일차 발아율은 실험 기준이 높게 나타내었다 실험종자들을 보면 실험 발아기준이 대체적으로 1차조사일에는 ISTA 발아규정 보다 높게 나오는 경향이 있는데 이는 발아의 판단 기준이 달라서 발아율의 차이가 발생된 듯하다. 이러한 결과들을 바탕으로 당근종자 처리는 시약 목록을 다시 설정하고 처리 방법 도 바꾸어 연구를 다시 진행 할 것이다.

표 33. 당근 priming 12hr 결과(신농발아기준)

Condition	Priming Condition		6 day(%)	10 day(%)
	wt.%	Period		
control			55	70
Water		12hr	48	65
PEG8000	0.1	12hr	52	55
	0.3	12hr	50	58
	0.5	12hr	49	51
	0.7	12hr	50	52
	1.0	12hr	51	55
NaNO ₃	0.1	12hr	55	60
	0.3	12hr	59	65
	0.5	12hr	62	66
	0.7	12hr	55	62
	1.0	12hr	59	67
K ₂ SO ₄	0.1	12hr	40	41
	0.3	12hr	38	43
	0.5	12hr	33	38
	0.7	12hr	34	40
	1.0	12hr	36	39

표 34. 당근 priming 24hr 결과(신농발아기준)

Condition	Priming Condition		6 day(%)	10 day(%)
	wt.%	Period		
control			55	70
Water		24hr	45	62
PEG8000	0.1	24hr	40	50
	0.3	24hr	43	51
	0.5	24hr	39	51
	0.7	24hr	44	49
	1.0	24hr	40	44
NaNO ₃	0.1	24hr	46	56
	0.3	24hr	41	53
	0.5	24hr	49	60
	0.7	24hr	55	61
	1.0	24hr	50	65
K ₂ SO ₄	0.1	24hr	30	39
	0.3	24hr	31	39
	0.5	24hr	33	42
	0.7	24hr	22	34
	1.0	24hr	28	35

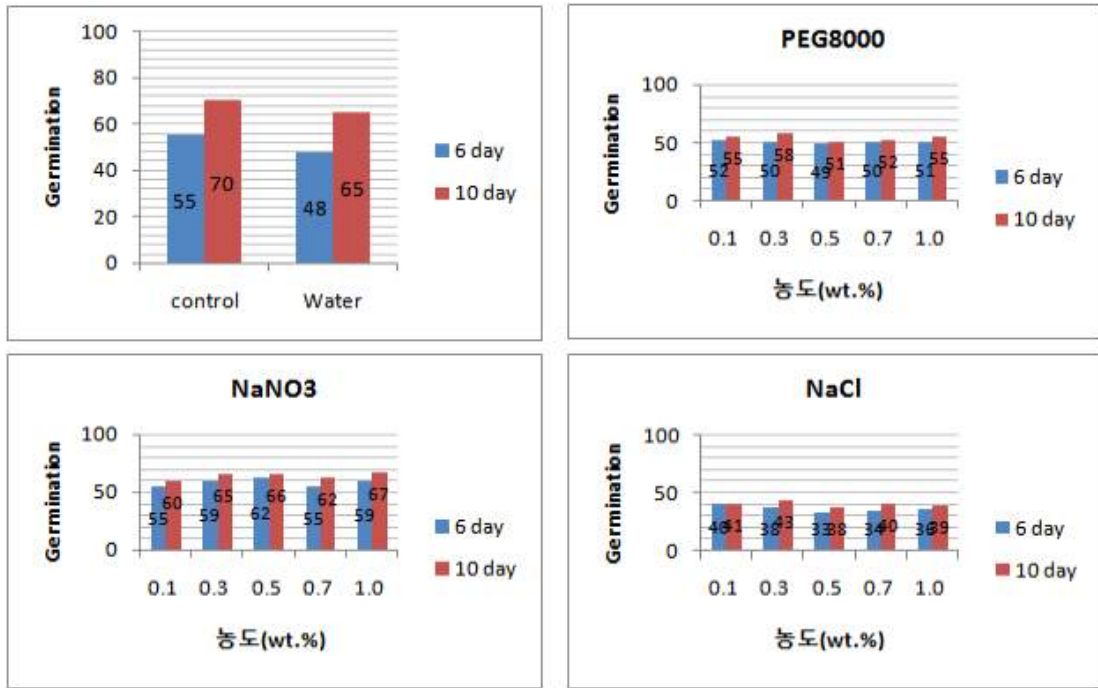


그림 42. 당근 발아 12hr 결과 그래프

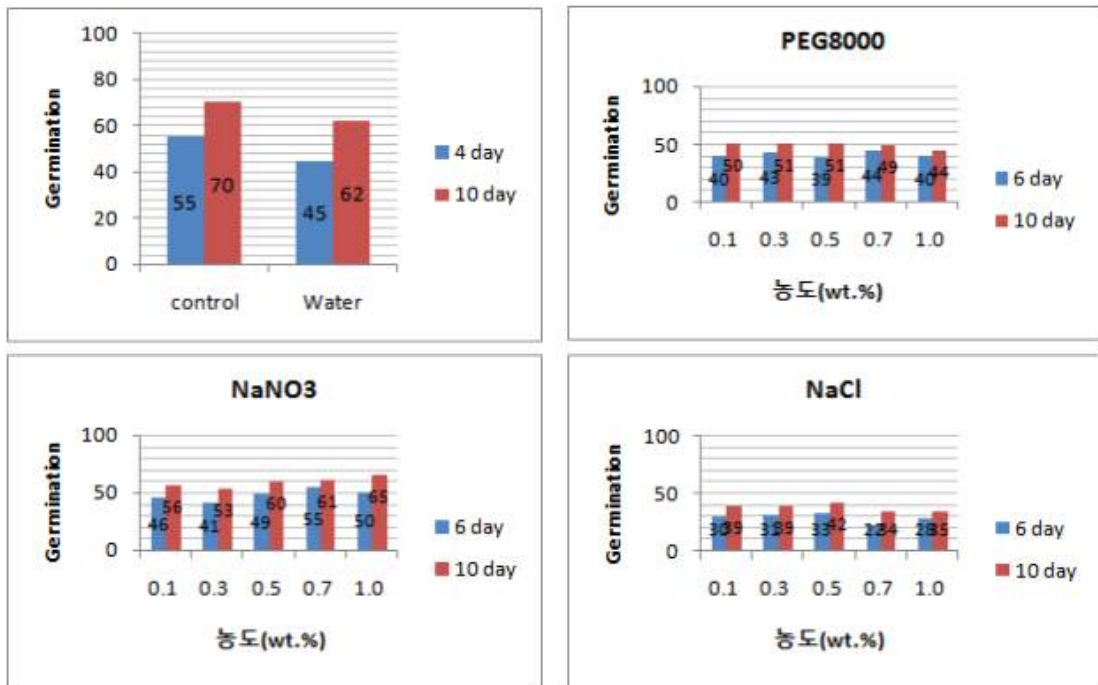


그림 43. 당근 발아 24hr 결과 그래프

표 35. 신농, ISTA 당근 나종자 발아결과 비교

Condition	Priming condition		4 day(%)	End(%)
	wt.%	Period		
control 신농			65	72
control ISTA			48	74

- 전년도 결과로 인해 당근종자에 맥반석 용해액 과 게르마늄 용해액을 각각 처리 온도, 처리 시간, 농도를 달리하여 진행하였다. 발아율 결과를 살펴보면 발아율을 비교해 보았을 때 20℃의 처리온도 조건에서 가장 효과가 좋았던 맥반석 용해액(15h 0.5%)은 무처리에 비해 12.94%, 동일 조건의 control에 비해 17.07% 높았고 25℃의 처리온도 조건에서 가장 효과가 좋았던 맥반석 용해액(6h 0.3%)은 무처리에 비해 7.06%, 동일한 조건의 control에 비해 8.33%가 높았다.(표 36,그림 44) 이러한 결과를 통해 맥반석과 게르마늄의 처리가 발아율에 영향을 준다는 것을 가정할 수 있다. 그러므로 맥반석과 게르마늄의 효과가 기대되는 만큼 정확한 기준의 규명을 위해 재실험이 필요할 것으로 보여 차후 진행할 예정 이다.

표 36. 당근 무처리, Control 종자 priming ISTA 발아율 결과

구분	처리 온도 (°C)	처리 시간 (hr)	2일(%)	3일(%)	4일(%)	5일(%)	6일(%)	종료일(%)
무처리			0	42	70	84	85	85
Control	20℃	1	0	46	79	82	82	82
		3	1	41	84	84	86	87
		6	2	51	80	81	82	85
		15	3	59	78	80	80	82
		24	0	45	85	88	88	88
		48	1	31	82	84	85	85
Control	25℃	1	3	54	73	76	78	78
		3	3	53	73	79	80	81
		6	3	47	80	81	83	84
		15	10	67	83	88	89	89
		24	7	65	82	87	88	88
		48	5	66	77	79	80	80

표 37. 당근 맥반석 종자 priming ISTA 발아율 결과\

처리시간 (hr)	처리온도 (°C)	농도(%)	2일(%)	3일(%)	4일(%)	5일(%)	6일(%)	종료일(%)
1	20	0.1%	0	34	88	93	95	95
		0.3%	0	32	79	86	88	88
		0.5%	2	27	76	81	84	85
		1.0%	3	39	86	89	91	91
	25	0.1%	1	55	83	88	89	89
		0.3%	6	59	87	89	91	93
		0.5%	2	43	75	81	84	85
		1.0%	1	45	77	83	86	86
3	20	0.1%	0	27	79	88	89	89
		0.3%	1	46	80	91	91	91
		0.5%	1	33	84	91	91	91
		1.0%	0	44	79	82	85	85
	25	0.1%	6	67	87	89	90	90
		0.3%	7	61	80	84	90	91
		0.5%	5	63	86	94	94	94
		1.0%	4	64	84	91	93	93
6	20	0.1%	0	43	78	85	87	89
		0.3%	1	45	75	84	84	85
		0.5%	1	43	74	89	91	92
		1.0%	0	44	78	88	90	93
	25	0.1%	6	61	79	80	85	86
		0.3%	6	69	86	88	98	98
		0.5%	7	61	83	92	95	96
		1.0%	1	53	81	87	87	87
15	20	0.1%	2	62	90	91	93	93
		0.3%	10	70	87	90	90	91
		0.5%	4	72	91	94	95	96
		1.0%	4	61	88	92	92	93
	25	0.1%	4	69	86	88	89	90
		0.3%	6	63	85	89	91	91
		0.5%	7	66	84	86	86	87
		1.0%	5	47	74	78	78	79
24	20	0.1%	3	65	83	90	90	91
		0.3%	3	71	90	92	93	93
		0.5%	0	69	84	88	90	90
		1.0%	4	57	89	90	90	91
	25	0.1%	9	74	85	88	91	91
		0.3%	8	60	81	89	89	90
		0.5%	12	59	74	82	83	83
		1.0%	6	55	76	82	85	85
48	20	0.1%	0	42	73	85	89	90
		0.3%	1	56	81	84	86	86
		0.5%	1	49	80	89	90	90
		1.0%	5	55	81	85	86	87
	25	0.1%	6	54	81	90	92	92
		0.3%	8	56	83	85	87	87
		0.5%	7	53	81	87	88	89
		1.0%	4	58	85	90	90	91

표 38. 당근 게르마늄 종자 priming ISTA 발아율 결과

처리시간 (hr)	처리온도 (°C)	농도(%)	2일(%)	3일(%)	4일(%)	5일(%)	6일(%)	종료일(%)
1	20	0.1%	0	40	84	88	92	92
		0.3%	1	37	83	88	89	90
		0.5%	1	47	76	84	88	88
		1.0%	4	46	81	84	87	91
	25	0.1%	3	55	87	90	90	91
		0.3%	4	57	77	85	88	88
		0.5%	5	51	79	84	86	86
		1.0%	5	47	84	86	88	89
3	20	0.1%	1	55	84	87	89	89
		0.3%	5	36	80	84	87	90
		0.5%	2	49	88	90	90	91
		1.0%	1	48	86	92	93	95
	25	0.1%	7	57	81	86	88	88
		0.3%	9	65	82	86	90	91
		0.5%	6	53	88	94	95	95
		1.0%	5	51	76	83	85	85
6	20	0.1%	0	53	85	90	91	91
		0.3%	1	43	80	90	91	91
		0.5%	1	48	81	87	88	89
		1.0%	1	51	77	81	84	84
	25	0.1%	7	60	84	92	94	94
		0.3%	4	57	87	91	93	93
		0.5%	6	59	94	94	95	95
		1.0%	5	50	83	88	92	92
15	20	0.1%	3	51	82	83	83	86
		0.3%	7	75	90	91	91	92
		0.5%	1	63	85	89	89	90
		1.0%	0	56	86	90	92	92
	25	0.1%	18	78	87	87	88	88
		0.3%	26	88	91	91	92	92
		0.5%	22	84	90	93	94	94
		1.0%	15	72	87	90	90	90
24	20	0.1%	0	59	86	90	91	91
		0.3%	1	62	84	90	91	91
		0.5%	1	62	87	91	91	91
		1.0%	0	50	85	90	91	91
	25	0.1%	19	78	87	92	94	94
		0.3%	11	74	84	87	87	87
		0.5%	12	71	84	85	87	87
		1.0%	10	71	81	84	88	88
48	20	0.1%	1	55	82	86	86	87
		0.3%	1	42	76	82	83	84
		0.5%	0	46	83	88	91	91
		1.0%	0	61	84	86	86	89
	25	0.1%	4	34	73	82	88	88
		0.3%	9	65	87	90	90	92
		0.5%	5	57	82	87	89	90
		1.0%	8	53	81	86	89	90

표 39. 당근 무처리, Control 종자, 맥반석, 게르마늄 priming ISTA 발아율 비교

구분	처리온도 (°C)	처리시간 (hr)	2일(%)	3일(%)	4일(%)	5일(%)	6일(%)	종료일(%)
무처리			0	42	70	84	85	85
Control	20°C	15	3	59	78	80	80	82
맥반석(0.5%)			4	72	91	94	95	96
Control	25°C	6	3	47	80	81	83	84
맥반석(0.3%)			1	43	80	90	91	91

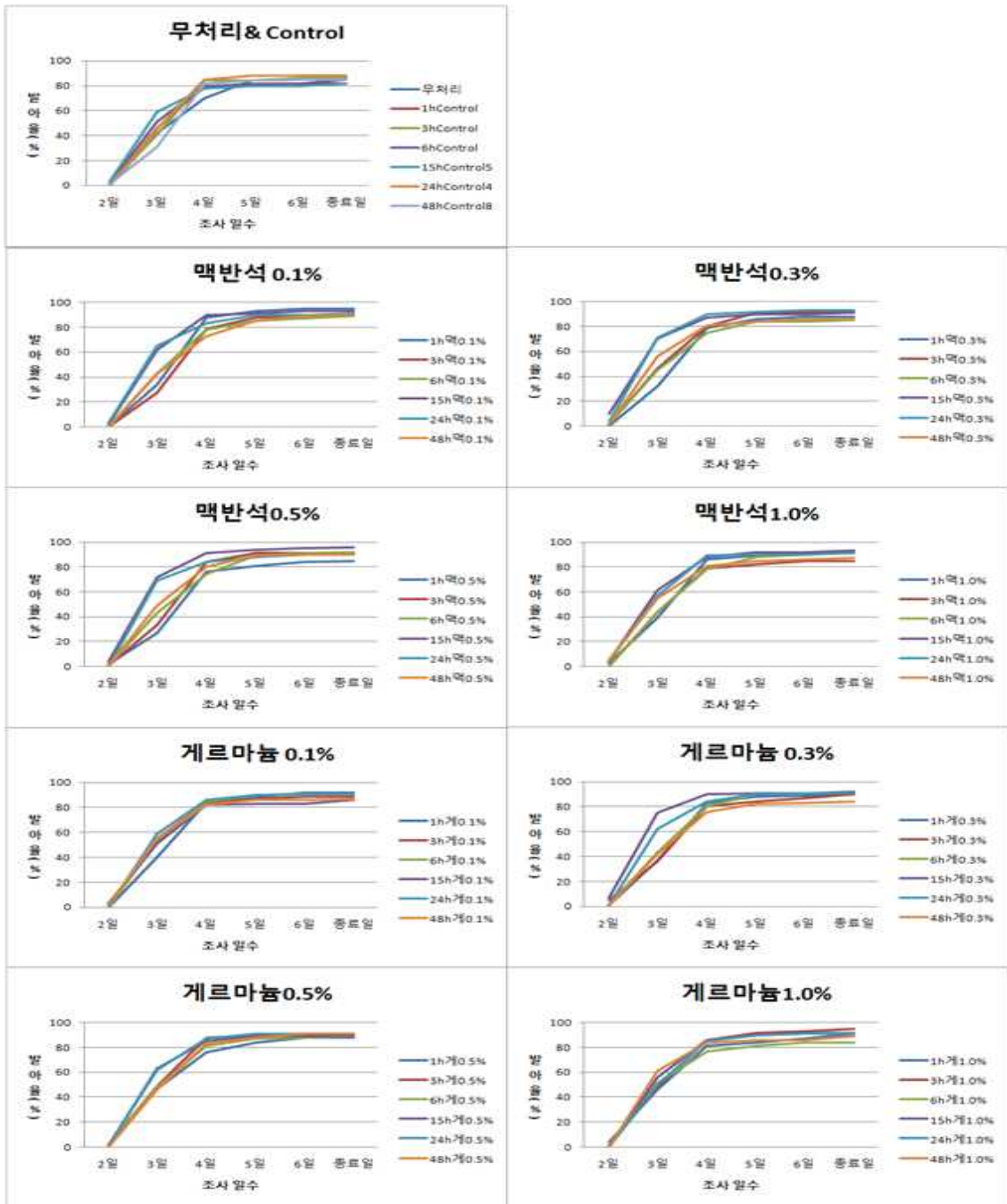


그림 44. 당근 20°C 조건 발아율

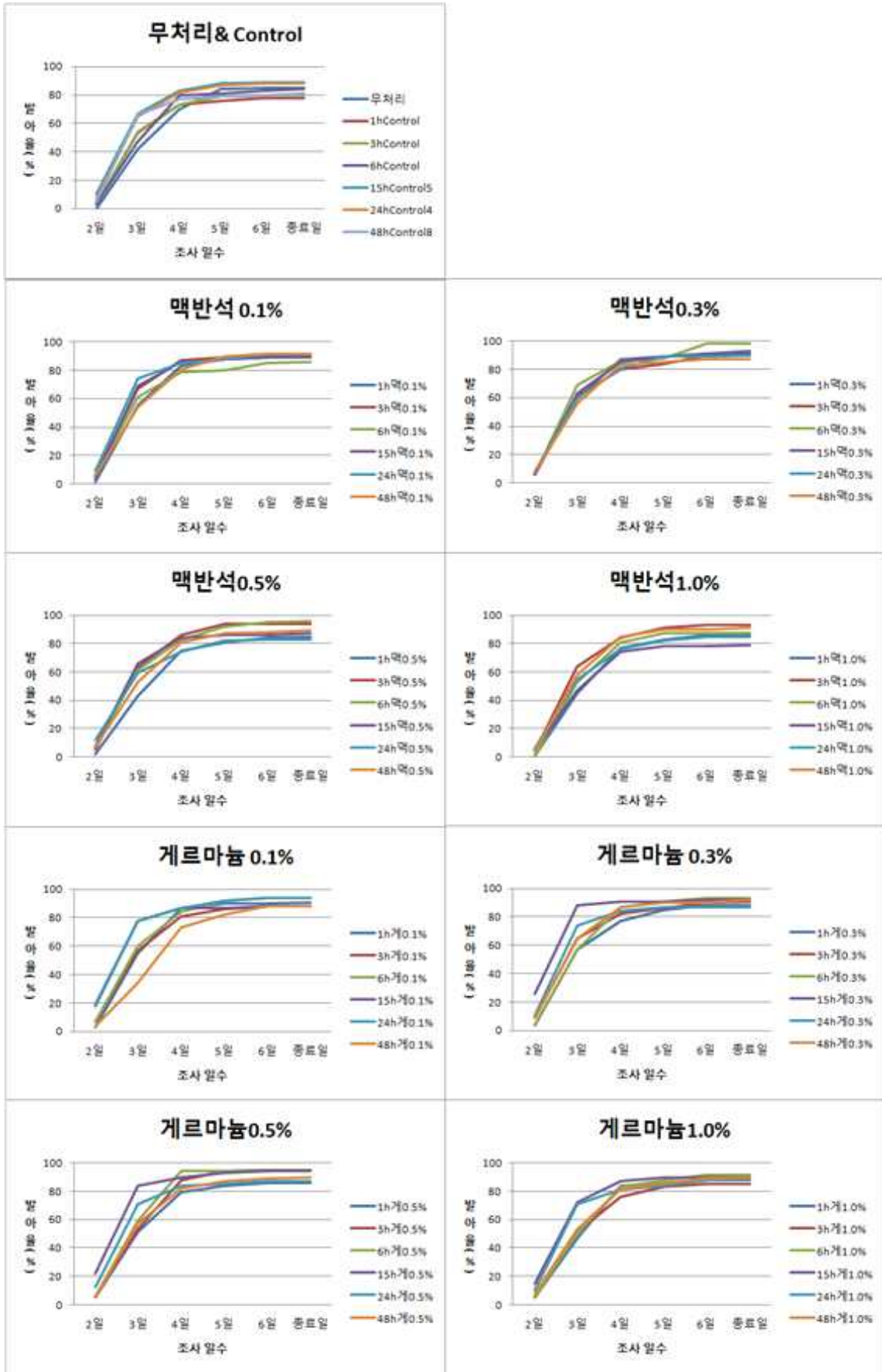


그림 45. 당근 25°C 조건 발아율

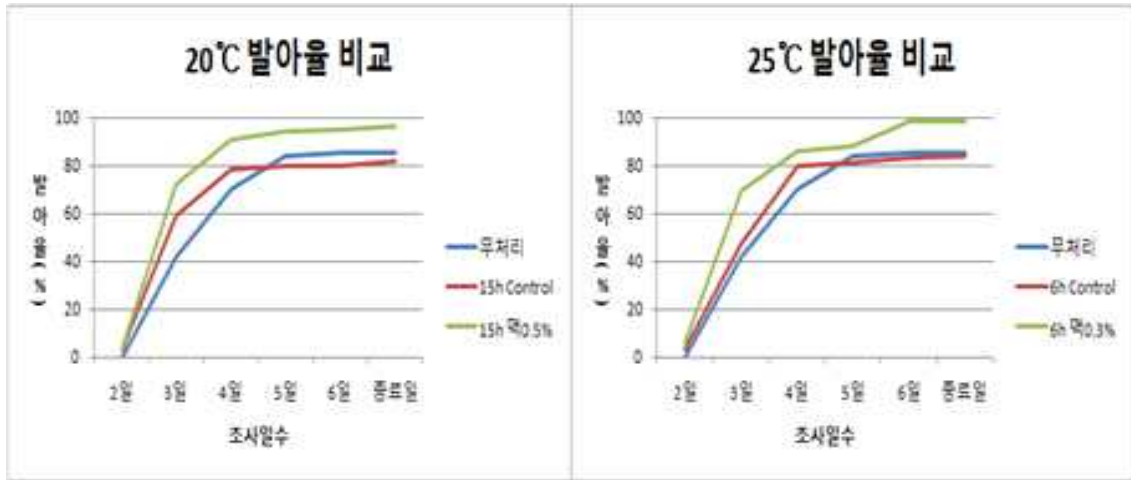


그림 46. 당근 발아율 비교

- 4차년도에는 현행법상 유기농업에서 사용가능한 자재중에 소독효과가 있는 제제들을 5종 선정하여 처리했을 때 발아개량 효과를 알아보려고 하였다. 보르도액은 가장 기본이 되는 4.4 식으로 제조하여 사용하고 나머지는 분말제제를 수용액화 시켜 사용하였다. 처리 시간은 3, 6, 15, 24, 48h으로 20°C에서 각각 0.1%, 0.3%, 0.5%, 1.0%로 처리하였다. 전체적으로 발아율 결과를 살펴보면 2일째부터 발아율에 효과가 있음을 볼 수 있었다. 각 처리 시간별로 보면 3,6,24h에서는 수산화제2구리 0.3%, 15h에서는 탄산칼륨0.3%, 48h에서는 보르도액0.1%가 좋았다(표 42, 그림 46). 그 중 3h 수산화제2구리 0.3%의 처리가 무처리 종자에 비해 444%, 같은 24h처리의 control 보다 345%의 높은 발아율을 보였다. 이러한 결과들을 통해 저농도의 수산화제2구리 수용액이 발아세에 효과가 있다는 것을 가정 할 수 있었다. 이러한 결과들을 토대로 당근종자에 수산화제2구리의 효과가 기대되기에 향후 재실험을 진행할 예정이다.

표 40. 당근 무처리, Control 종자 priming ISTA 발아율 결과

구분	2일(%)	3일(%)	4일(%)	5일(%)	6일(%)	종료일(%)
G(나종자)	9	61	88	93	95	96
3H Control	11	67	78	83	85	85
6H Control	37	75	88	90	91	91
15H Control	28	78	82	84	85	86
24H Control	30	78	86	87	87	87
48H Control	11	76	90	93	94	94

표 41. 각 시약별 3h처리 종자 ISTA 발아율 결과

구분	2일(%)	3일(%)	4일(%)	5일(%)	6일(%)	종료일(%)
보르도액0.1%	19	70	85	87	89	91
보르도액0.3%	12	77	88	92	92	93
보르도액0.5%	11	72	83	85	91	91
보르도액1.0%	8	71	85	87	87	87
탄산나트륨0.1%	20	76	91	94	95	95
탄산나트륨0.3%	14	76	81	83	85	88
탄산나트륨0.5%	11	69	86	88	88	90
탄산나트륨1.0%	13	71	85	89	90	92
탄산칼륨0.1%	31	80	90	93	95	95
탄산칼륨0.3%	31	78	89	91	92	96
탄산칼륨0.5%	29	78	90	92	93	94
탄산칼륨1.0%	25	72	83	86	86	88
산화제2구리0.1%	21	71	81	87	87	87
산화제2구리0.3%	19	72	82	85	88	90
산화제2구리0.5%	16	76	89	91	92	92
산화제2구리1.0%	22	72	84	89	90	92
수산화제2구리0.1%	30	73	82	84	84	84
수산화제2구리0.3%	49	79	87	87	88	88
수산화제2구리0.5%	39	77	83	88	91	91
수산화제2구리1.0%	42	76	86	88	89	90

표 42. 각 시약별 6h처리 종자 ISTA 발아율 결과

구분	2일(%)	3일(%)	4일(%)	5일(%)	6일(%)	종료일(%)
보르도액0.1%	33	80	89	89	90	91
보르도액0.3%	22	74	91	92	93	94
보르도액0.5%	17	80	86	88	90	91
보르도액1.0%	12	66	79	84	87	87
탄산나트륨0.1%	18	78	85	89	90	90
탄산나트륨0.3%	19	71	84	90	90	92
탄산나트륨0.5%	19	67	81	81	83	84
탄산나트륨1.0%	23	81	90	92	92	93
탄산칼륨0.1%	35	73	86	88	89	90
탄산칼륨0.3%	35	82	91	93	95	96
탄산칼륨0.5%	27	71	83	86	92	94
탄산칼륨1.0%	31	73	84	89	91	91
산화제2구리0.1%	19	73	84	86	87	87
산화제2구리0.3%	12	68	84	87	89	90
산화제2구리0.5%	9	70	84	85	86	88
산화제2구리1.0%	16	73	84	87	87	87
수산화제2구리0.1%	33	76	85	87	88	91
수산화제2구리0.3%	47	87	89	91	91	91
수산화제2구리0.5%	32	81	86	88	91	91
수산화제2구리1.0%	39	80	84	89	90	90

표 43. 각 시약별 15h처리 종자 ISTA 발아율 결과

구분	2일(%)	3일(%)	4일(%)	5일(%)	6일(%)	종료일(%)
보르도액0.1%	14	67	85	91	92	94
보르도액0.3%	10	78	92	95	95	95
보르도액0.5%	10	77	90	93	93	93
보르도액1.0%	5	70	88	88	89	89
탄산나트륨0.1%	10	74	85	87	87	87
탄산나트륨0.3%	5	79	89	90	92	92
탄산나트륨0.5%	10	75	81	87	90	90
탄산나트륨1.0%	5	66	75	83	89	89
탄산칼륨0.1%	37	71	84	86	86	87
탄산칼륨0.3%	39	73	88	91	91	91
탄산칼륨0.5%	28	63	82	83	83	84
탄산칼륨1.0%	23	63	74	78	79	80
산화제2구리0.1%	11	77	87	92	93	93
산화제2구리0.3%	13	69	83	86	86	87
산화제2구리0.5%	14	78	84	92	92	92
산화제2구리1.0%	11	77	83	86	88	89
수산화제2구리0.1%	33	79	84	84	84	86
수산화제2구리0.3%	36	76	86	86	87	88
수산화제2구리0.5%	21	80	86	90	91	91
수산화제2구리1.0%	33	76	87	88	90	90

표 44. 각 시약별 24h처리 종자 ISTA 발아율 결과

구분	2일(%)	3일(%)	4일(%)	5일(%)	6일(%)	종료일(%)
보르도액0.1%	39	82	88	92	92	92
보르도액0.3%	28	80	91	91	91	92
보르도액0.5%	21	70	86	89	89	89
보르도액1.0%	13	76	90	94	96	96
탄산나트륨0.1%	31	76	87	90	94	94
탄산나트륨0.3%	5	78	91	92	93	93
탄산나트륨0.5%	9	73	83	89	90	93
탄산나트륨1.0%	3	53	75	82	87	87
탄산칼륨0.1%	20	75	89	91	93	93
탄산칼륨0.3%	28	66	80	87	88	90
탄산칼륨0.5%	29	65	78	79	83	83
탄산칼륨1.0%	23	66	91	91	91	91
산화제2구리0.1%	25	91	91	94	94	94
산화제2구리0.3%	36	81	88	90	90	91
산화제2구리0.5%	16	70	86	89	90	90
산화제2구리1.0%	18	71	82	86	88	88
수산화제2구리0.1%	41	81	86	87	87	88
수산화제2구리0.3%	47	81	87	90	90	91
수산화제2구리0.5%	39	76	88	88	90	90
수산화제2구리1.0%	28	74	86	88	89	89

표 45. 각 시약별 48h처리 종자 ISTA 발아율 결과

구분	2일(%)	3일(%)	4일(%)	5일(%)	6일(%)	종료일(%)
보르도액0.1%	34	81	89	89	89	89
보르도액0.3%	29	74	83	83	84	85
보르도액0.5%	22	70	90	91	94	94
보르도액1.0%	17	71	86	89	91	91
탄산나트륨0.1%	11	74	83	86	86	89
탄산나트륨0.3%	31	84	89	89	89	90
탄산나트륨0.5%	33	73	88	93	93	93
탄산나트륨1.0%	12	63	67	71	71	75
탄산칼륨0.1%	14	59	73	76	77	79
탄산칼륨0.3%	17	65	85	87	91	91
탄산칼륨0.5%	26	67	82	85	85	86
탄산칼륨1.0%	16	57	79	82	85	86
산화제2구리0.1%	10	62	84	86	87	87
산화제2구리0.3%	6	55	73	82	85	85
산화제2구리0.5%	13	73	83	89	89	91
산화제2구리1.0%	4	68	82	85	88	88
수산화제2구리0.1%	29	72	83	83	86	88
수산화제2구리0.3%	15	72	80	84	87	89
수산화제2구리0.5%	16	65	84	88	89	90
수산화제2구리1.0%	14	63	84	86	86	88

표 46. 각 처리 시간별 발아율 비교

구분	2일(%)	3일(%)	4일(%)	5일(%)	6일(%)	종료일(%)
G(나종자)	9	61	88	93	95	96
3H Control	11	67	78	83	85	85
3h 수산화제2구리0.3%	49	79	87	87	88	88
6H Control	37	75	88	90	91	91
6h 수산화제2구리0.3%	47	87	89	91	91	91
15H Control	28	78	82	84	85	86
15h 탄산칼륨0.3%	39	73	88	91	91	91
24H Control	30	78	86	87	87	87
24h 수산화제2구리0.3%	47	81	87	90	90	91
48H Control	11	76	90	93	94	94
48h 보르도액0.1%	34	81	89	89	89	89

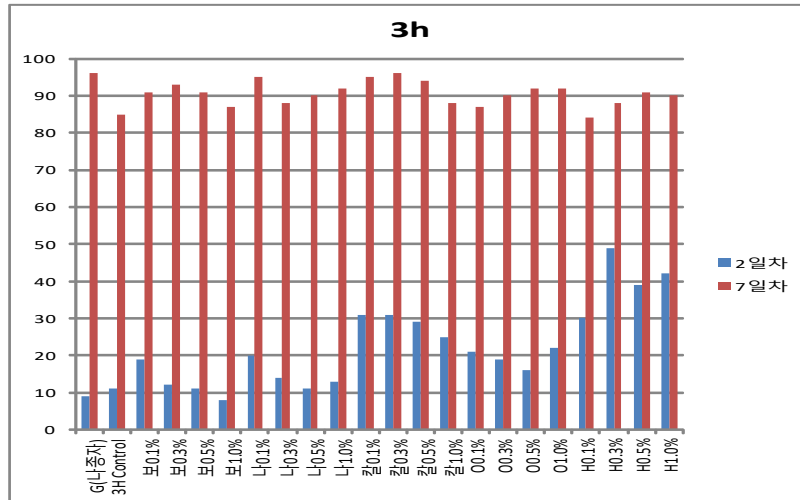


그림 47. 당근 발아 3h 결과 그래프

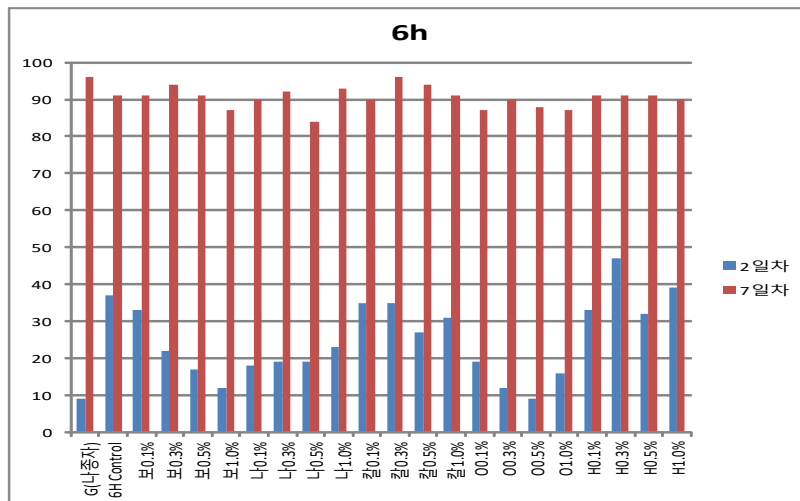


그림 48. 당근 발아 6h 결과 그래프

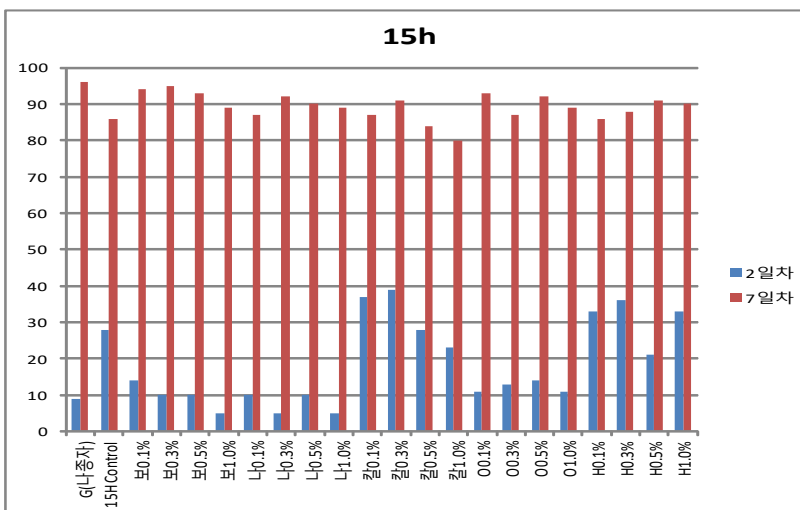


그림 49. 당근 발아 15h 결과 그래프

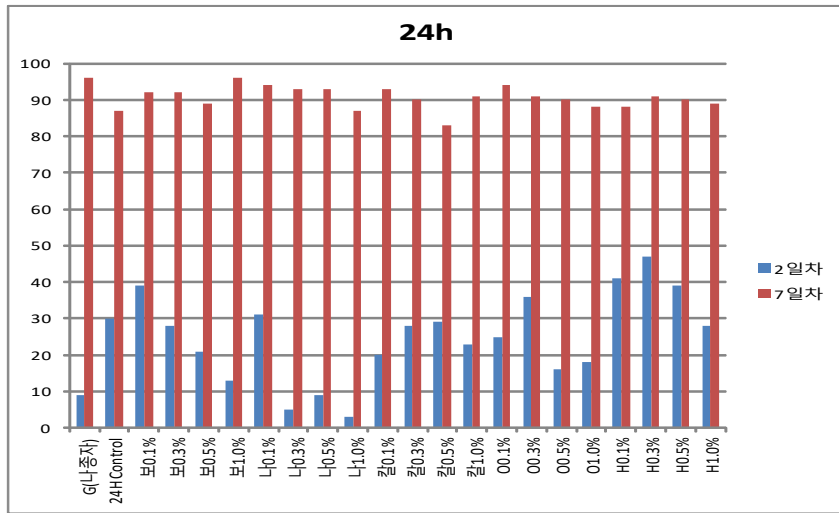


그림 50. 당근 발아 24h 결과 그래프

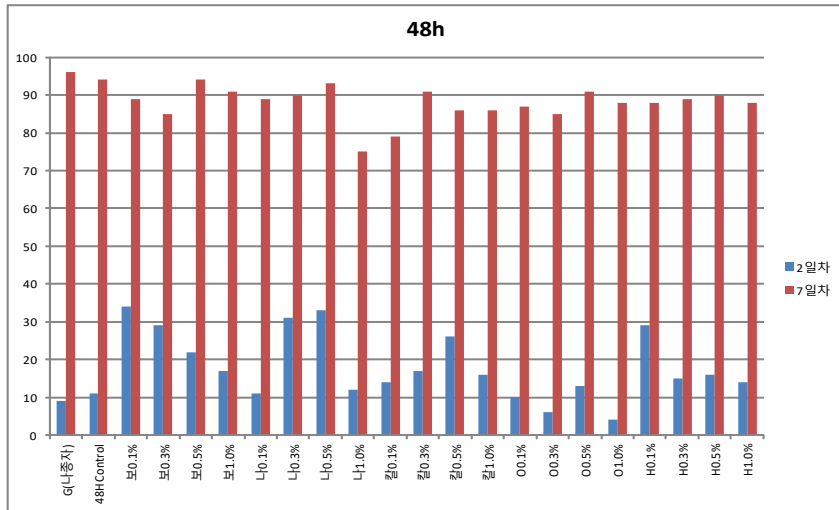


그림 51. 당근 발아 48h 결과 그래프

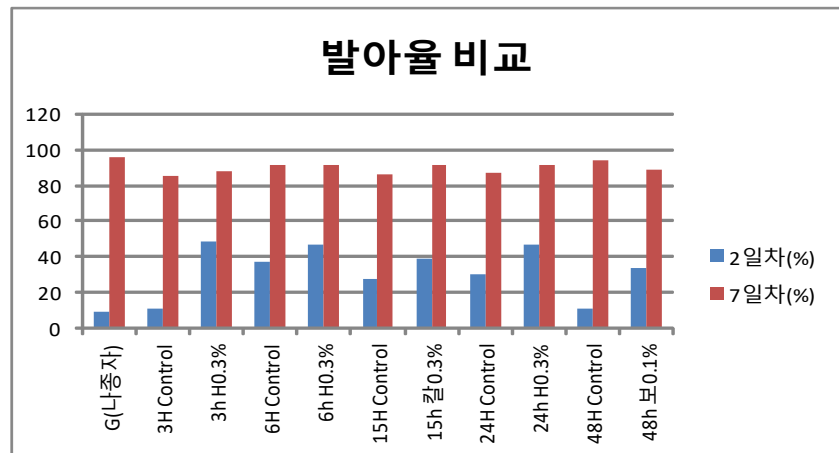


그림 52. 당근 발아 결과 비교 그래프

- 재현 효과를 확인하기 위해 산업용프라이밍기를 활용 하여 게르마늄실험군 중에서 0.3% 수용액을 제조해 프라이밍처리를 해보았다. 처리온도 25℃, 처리시간 15h 으로 동일한 조건으로 단순 물로만 처리 하는 Control군을 동시에 진행하였다. 추후 처리한것을 나누어 필름코팅 도 해보았다. 발아실험은 총 4가지 실험군으로 무처리종자, 게르마늄 0.3%처리종자, Control종자, 게르마늄처리+필름코팅 종자를 가지고 ISTA규정에 맞추어 발아실험을 진행하였다. 그 결과 게르마늄 0.3% 처리종자 가 무처리 종자보다 평균 11.3% 더 높게 나왔고 Control 보다 5.3% 더 높았다. 코팅종자는 발아율이 처리보다 5.6%, Control 보다 0.3% 더 낮았고 무처리 보다는 5.7% 차이로 높았다. (표 47,그림 53)

표 47. 당근 종자 무처리, Control, 게르마늄 priming, 게르마늄+코팅종자 발아결과

	1 day(%)	2 day(%)	3 day(%)	4 day(%)	5 day(%)	6 day(%)	7 day(%)
무처리	0	2	23	79	90	91	91
Control	0	6	59	84	89	90	90
게르마늄0.3% 15h	0	10	68	92	95	95	95
게르마늄+코팅	0	2	56	83	91	91	93

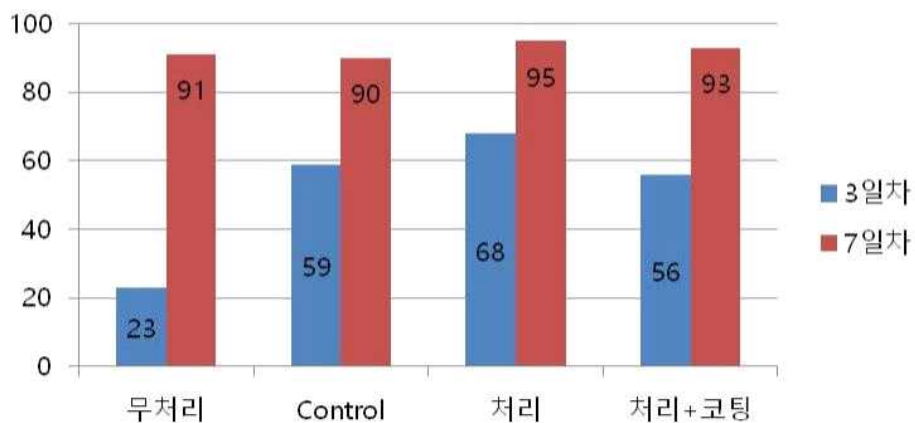


그림 53. 당근 종자 무처리, Control, 게르마늄 priming, 게르마늄+코팅종자 발아결과 비교

라. 5품목(무, 배추, 양배추, 양파, 당근) 종자의 최적 필름 코팅 조건 및 발아율결과

1) 필름코팅 최적 조건

- 당사에서 제작한 필름코팅기를 이용하여 5가지 품목(무, 배추, 양배추, 양파, 당근)종자의 최적 필름 코팅 조건을 실험을 통하여 찾아내고 노루기반에서 제공된 마지막 코팅용제와 타 회사<incotec>의 제품을 품질 비교 실험을 진행하였다. 실험을 통해 찾아낸 품목별 적정 코팅 물질의양은 종자량 500ml 기준으로 하였고 필름코팅기 투입 적정 종자량은 소량 100ml 부터 투입하여 기기안의 종자가 회전하는 모양을 보며 적정 투입량을 결정하였다. 투입 용액의 양은 5ml부터 시작점을 잡았으며 용액을 공급한 후 용액이 모자란 부분이 있으면 추가로 투입을 하였는데 이때 문제가 발생한 점은 추가 투입 시 이미 종자의 표면에 용액이 건조되어 잘 입혀지지 않는 문제가 발생되어 용액의 투입 시 한번 에 적정량을 투입하는 것이 중요했다. 실험 결과(표 43) 두 회사 모두 발색(그림 47)은 좋았으며 발아율 또한 나종자 에 미치는 영향을 보면 양파를 제외한 품종에서는 발아가 약간 향상 되는 결과를 보인 반면 두 회사 제품모두 양파에서는 발아가 떨어지는 양상을 보이고 있어 품질 차이는 없다고 여겨진다.

표 48. 필름코팅 발아결과 (ISTA 기준)

Film coating condition		2day	3day	4day	5day	6day	7day	10day	12day	14day
variety	Input(ml)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
control	무	88	89	90	90			90		
	배추	4	44	85	86			90		
	양배추	15	65	84	85			85		
	양파	1	16	48	52	69			74	
	당근	0	0	17	21	48	49			74
노루기반	무	15.0	86	90	91			94		
	배추	15.0	13	59	87			99		
	양배추	30.0	54	84	88			92		
	양파	45.0	0	5	7	8	13		31	
	당근	30.0	0	20	34	41	57	70		74
Incotec	무	15.0	82	88	90			95		
	배추	15.0	7	47	80			99		
	양배추	30.0	43	79	87			93		
	양파	45.0	0.5	2	12	13	19		33	
	당근	30.0	0	15	35	42	57	62		63

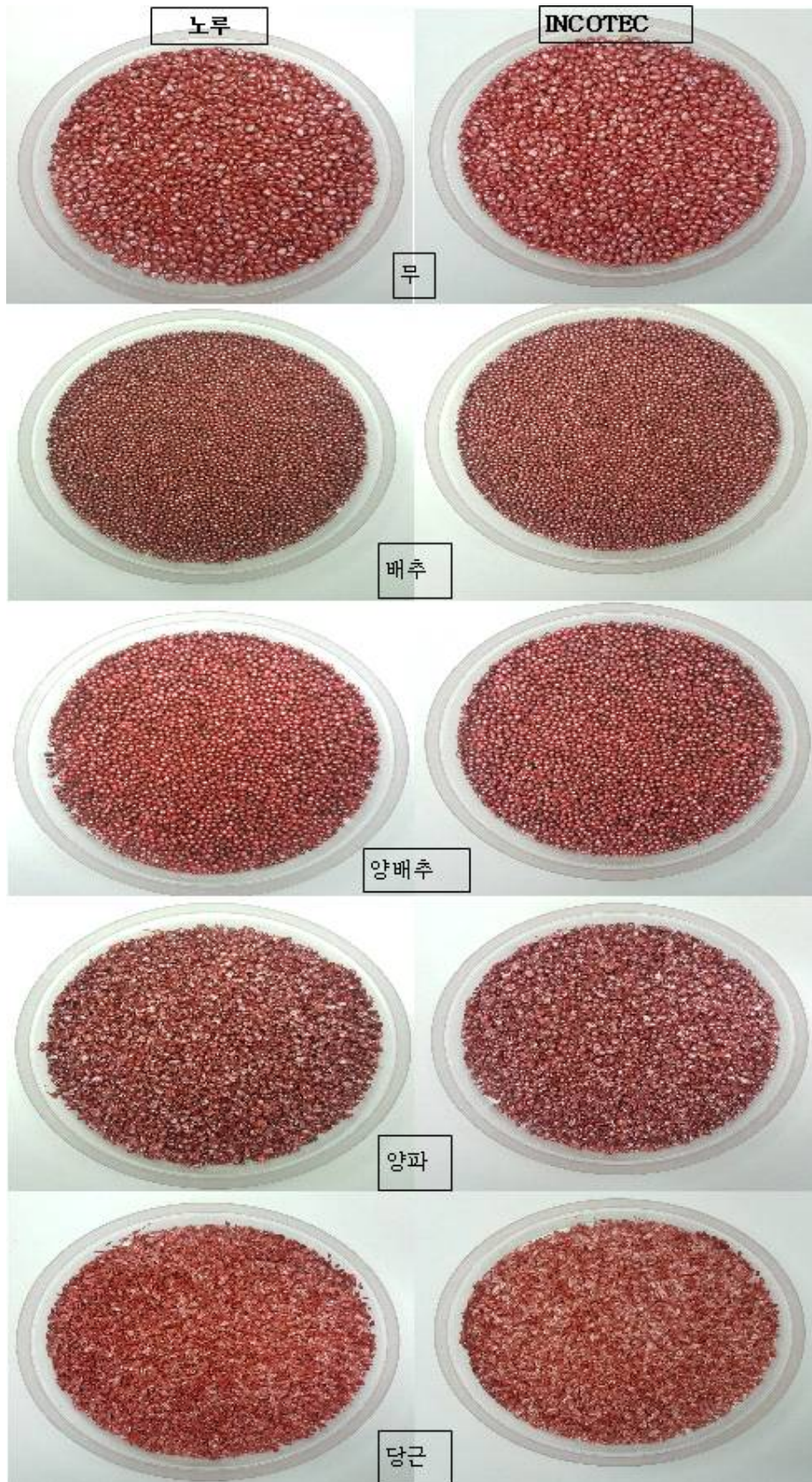


그림 54. 노루. INCOTEC 필름 코팅비교

마. 산업용 priming(초음파+수화/드럼) 기기 제작

1) 산업용 priming(초음파+수화/드럼) 기기 제작

- 모든 기기의 정격전원은 AC220 이다. 이번 산업용 priming기기는 수화처리뿐 아니라 초음파 처리를 통해 보다 친환경적인 처리가 가능하며 1개의 처리구에서 최대 60L까지 처리 가능하도록 하였다. 총 3개의 처리구를 사용해 대량의 처리가 가능하고 별도의 드럼식 priming기를 추가로 사용할 수 있다. 또한 드럼식 priming기의 내부 드럼통 회전속도는 기본값 설정 시 분 당 최대1760rpm까지 조절 할 수 있으며 최대 14L의 용량의 처리가 가능하다.
- 이번에 제작한 기기는 크게 2개의 기기로 향온수조&초음파+수화처리기(그림 55), 드럼식 priming기이다. 향온수조&초음파+수화처리기는 크게 총 4개의 부위 - main control box(그림 56), 초음파+airation control box(그림 57), 향온수조, 처리구(그림 58) 로 나눌 수 있다.



그림 55. 향온수조&초음파+수화처리기 전면

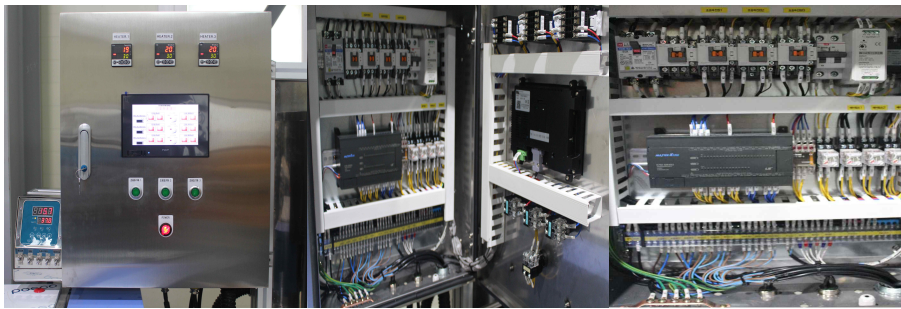


그림 56. Main Control box (외부&내부)



그림 57. 초음파+airation Control box 상세(조절부/ 세부 조절화면/후면 배선)



그림 58. 처리구 상세(초음파 처리기&내부+온도 센서)

먼저 향온수조&초음파+수화처리기의 각 부위별 기능을 살펴보면 다음과 같다.

- ①main control box: 전원 on/off, 향온수조의 온도 조절
- ②초음파+airation control box: 초음파 와 airation의 조절
- ③향온수조: 수화처리시 처리온도 유지용 물 가열 및 냉각
- ④처리구: 초음파/수화 priming 처리



그림 59. 드럼식 priming 기기

- 드럼식 priming기의 각 부위별 기능을 살펴보면 기기 전면 오른쪽 상단에 control panel이 있고 기기 왼쪽에 회전rpm조절기가 있다. control panel에서 전원 on/off 와 향온항습기 의 온도/습도를 조절 할 수 있는데 센서를 장착했기 때문에 경고등으로 가열, 냉각, 습도 조절 용 물의 부족을 확인하여 알맞게 조절할 수 있다. 회전rpm조절기 에서는 향온항습기 내부의 종자처리용 드럼의 회전rpm을 조절한다. 내부의 종자처리용 드럼은 단단하게 여닫게 되어 있어 드럼 안에 종자를 넣고 향온항습기 안의 온도와 습도를 사용하여 priming 처리를 한다.

2) 기기 조작 방법

-항온수조&초음파+수화처리기기를 다루는 순서는 다음과 같다.

- ① 항온수조의 Main 스위치를 위로 올리고 Main Control box의 빨간 스위치를 오른쪽으로 돌려 항온수조와 초음파처리기+airation을 켜준다.
- ② 초음파+airation Control box에서 초음파, airation의 원하는 초음파 출력정도 와 airation의 air 공기분사량을 조정해준다.
- ③ 사용자의 필요에 따라 Main Control box의 터치 패널 에서 각 처리구의 초음파기동 과 에어 콤프를 on/off 시켜 사용한다.
- ④ priming 처리가 완료되면 각 처리구 아래의 밸브를 열어 퇴수 시켜준다.

바. 종자용 건조기 기기 제작

1) 소형 종자 건조기

-소형 종자건조기는 동시에 소량 의 나종자 여러개를 처리하는데 목표를 두어 개발하였다. 열풍이 나오는 본체 내부에서 회전하며 통에 직접적으로 열풍이 가해져야 하기에 스테인리스 소재를 사용하고 철망으로 통기성을 높이고 버튼식 매미고리를 사용해 구동시 나종자의 이탈을 방지하였다. 용량은 한번에 최대 5L의 나종자를 6개까지 처리 할 수 있게 하였는데 각각 다른 조건으로 처리 할 때 문 상부에 각각의 분 단위로 조절하는 타이머와 마그네틱을 통해 구별해서 처리가 가능하게 하였다.(그림 60) 전원은 380V를 사용하며 바람의 세기는 80Hz까지, 온도는 20~70℃까지 조절 가능한데 나종자 건조에는 적정온도를 30~40℃으로 보고 있다.



그림 60. 소형 종자 건조기



그림 61. 소형 종자 건조기 내부



그림 62. 타이머 와 마그네틱(좌) 소형 종자 건조기 조작부(우)

먼저 소형 종자 건조기의 부위별 기능을 크게 나누어 간단히 설명해보자면 다음과 같다.

- ①조절부: 메인 전원 및 온도 와 풍속을 조절(그림 62 우)
- ②내부: 열풍 송풍 및 롤러를 통한 건조통 회전(그림 61)
- ③문: 내부 확인 가능 및 타이머, 종자 구별용 마그네틱(그림 62 좌)

- 소형건조기를 완성하고 실제 성능 확인을 위해 고추, 수박, 호박, 대목 종자를 각 1kg 씩을 사용해 15h 이상 침지하여 1시간 간격에 따라 건조 된 종자들의 샘플을 채취해 6%대의 함수율에 도달할때까지 측정하는 실험을 진행하였다. 그 결과 고추는 2h 만에 5.5%, 호박은 4시간 만에 6.0%, 수박 과 대목은 3시간만에 각각 6.4%, 5.7%의 함수율에 도달하였다. 기존의 자사가 보유한 제습건조기로 동일한 조건으로 실험을 진행 했을때 고추는 6시간 만에 5.8%, 호박은 4시간 만에 6.2%, 수박 과 대목은 5시간 만에 둘 다 6.0%의 함수율에 도달하였다. 호박 종자의 경우 동일한 시간이 걸렸으나 그 최종 건조전 1시간 간격으로 함수율을 측정했을 때의 결과 차이가 확연히 구별되었다. 그러므로 건조 시간을 효율적으로 줄일 수 있음을 확인할 수 있었다.

표 49. 소형 종자 건조기 성능 실험 결과

품목	15h 이상 침지	1h 경과	2h 경과	3h 경과	4h 경과
고추	54.4%	9.8%	5.5%		
호박	46.4%	17.1%	10.9%	7.5%	6.0%
수박	52.9%	21.2%	9.7%	6.4%	
대목	53.6%	14.4%	8.6%	5.7%	

표 50. 자사 보유 제습건조기 성능 실험 결과

품목	15h 이상 침지	1h 경과	2h 경과	3h 경과	4h 경과	5h 경과	6h 경과
고추	55.4%	54.1%	48.6%	23.2%	20.0%	7.4%	5.8%
호박	48.8%	35.6%	17.8%	8.9%	6.2%		
수박	53.5%	51.9%	30.9%	25.7%	11.6%	6.0%	
대목	51.6%	50.2%	42.8%	23.2%	8.6%	6.0%	

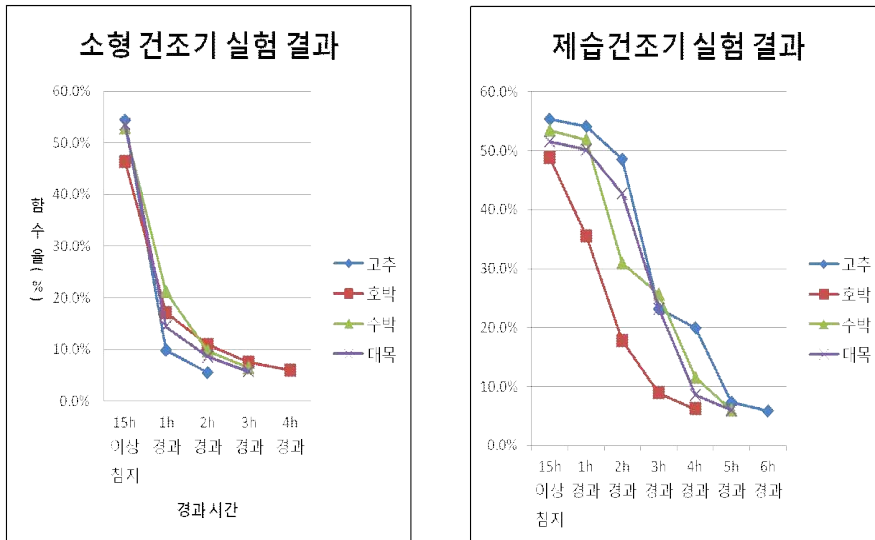


그림 63. 소형 종자 건조기 성능 실험 결과: (좌)소형건조기 (우)제습건조기

2) 대형 종자 건조기

- 대형건조기는 소형건조기와 마찬가지로 직접적으로 열풍을 가하는 방식으로 제작하였다. 다량의 종자를 건조시켜야 하기 때문에 건조기 통이 소형과 달리 크기가 매우 커 통을 고정시켜 회전하게 하였다. 또한 통에 잠금장치를 통 하나 당 3개씩 버튼식 매미고리를 달아 종자의 이탈을 방지했다. 문의 개폐는 버튼을 계속 돌리고 있어야 여닫을 수 있도록 제작하였는데 이는 여닫을 때 한번 더 상태를 점검하기 위함이다. 한번에 두 개의 큰 통에 각각 최대 85L의 다량의 나종자의 건조가 가능하기 때문에 종자의 투입과 반출시 작업자의 편의를 위해 추가 보조기기도 개발하였다. 사용하는 전원은 380V를 사용하며 바람의 세기는 60Hz까지, 온도는 최대 20~100℃까지 조절 가능한데 나종자 건조에는 적정온도를 30~40℃으로 보고 있다.



그림 64. 대형 종자 건조기

- 대형 종자 건조기의 부위별 기능을 크게 나누어 간단히 설명해보자면 사진(그림 64)의 오른쪽에 보이는 조절부에서 메인 전원 및 온도와 풍속을 조절 및 타이머를 설정하고 내부에는 통을 회전시키면서 바닥의 통풍구를 통해 송풍되는 열풍으로 내용물인 종자가 보다 빠르고 고르게 건조되는 것이다. 종자를 다량으로 다루기 때문에 작업자의 편의를 위해 구동시 투입은 종자 투입기를 통해 투입하고 반출시 종자 반출기를 통해 반출한다(그림 65). 추후에 산업용으로 보다 잘 활용할 수 있도록 보완해 나가고자 한다.



그림 65. 대형 종자 건조기 보조기기: 종자 투입기(좌) 종자 반출기(우)

[제2협동 : 주요 수출채소(박과)종자의 종자가공처리 기술 및 장비 개발]

1. 프라이밍 종자처리 개발

가. 프라이밍 처리 연구내용

A) 1차년도(2016.07.01. - 2016.12.31)

수박/대목 종자의 프라이밍 처리 기기 개발 및 처리 조건 확립

- 프라이밍 처리 기술을 확립하기 위해서는 실험에 적합한 기기 제작/개발이 필수적이거나 본 연구과제에서 개발된 초음파 프라이밍 기기는 현장에서 사용가능한 중형(40L)급으로서 다양한 처리 조건을 통해 최적의 기술을 선별해 내기에는 시약 소모량 등이 많아 소형(Lab scale) 프라이밍 처리기기를 우선 적용하기로 하였다. 문헌적인 실험방법(Petri dish / Falcon tube)으로 진행할 수도 있으나 이를 산업화(대용량)에 적용하기에는 어려움이 있을 것으로 예상되었다. 따라서 논문에서 시행하는 실험실 규모의 실험조건이 아닌 산업화가 가능한 범위의 소형(Lab scale) 프라이밍 처리장비가 필요하여 (주)신농과 함께 기기를 제작하였다.

- 본 협동과제의 박과종자 프라이밍 처리기술 확보를 위하여 국내/외 문헌을 통해 처리에 적용하고자 하는 시약 및 농도, 그 외의 조건을 선별하였다. 수박, 박, 멜론, 오이 등에 대한 논문(Kumari, 2014; Marcos, 2003; Noh, 2015)들 중, 수박의 경우는 3/4배체 수박 발아율 향상에 대한 연구가 있으나 산업화로의 가능성 및 적용 여부에 대하여 확인되지 않았으며, 최근 해외논문이 발행되는 국가로는 개발도상국의 연구가 대부분이었다. Moisturizing Priming(Hydro/Osmo/Halo-priming)과 관련된 국내/외 논문조사를 박과 이외의 품목으로도 확대하여 확인한 바에 따르면, 프라이밍은 Moisturizing과 Matrix방식으로 분류되고, 본 연구과제에서 적용되는 Moisturizing 프라이밍 방식은 Osmo-priming이라고 하여 그 의미를 통합하여 사용한다. Moisturizing priming에 대하여 이론적(세부적)으로 구분을 하면 Hydro-priming은 물(water)로 처리하는 방식(Pill and Necker, 2001)이나 화학적 처리를 이용한 Priming을 포함하여 표현하기도 한다. 그러나 화학적 Priming처리의 경우, 1. Halo-priming이라고 하여 무기염류(i.e. NaCl, KNO₃, CaCl₂, CaSO₂ etc.)에 대한 부분을 따로 구분(Malnassy, 1971; Khan, 2009)하였고, 2. Osmo-priming은 PEG, Glycerol, Sorbitol, Mannitol 등(Bennett et al., 1992; McDonald, 2000; Pill and Necker, 2001)을 적용하였을 때에 구분하여 논문에 표기되었다. 그 외에 Hormonal priming이라고 하여 Salicylic acid, Ascorbate, Kinetin, Gibberellic acid 등을 적용하였을 경우로 구분한다(Hamada and al-Hakimi, 2001). 이와 같이 다양한 방식의 프라이밍 처리조건(Hydro/Halo/Osmo/Hormone)을 본 연구에 적용해보고자 하였다. 박과종자처리 논문에 적용된 시약도 있으며, 아직 적용되지 않은 타 품목(양파, 당근 등)종자처리에 적용된 시약들도 모두 포함하여 11종류의 시약을 선정하고 각 품목에 적용하였을 때 가장 효과적인 조건을 찾고자 하였으며, 1차년도에는 수박/대목에 대하여 프라이밍 예비처리실험을 진행하여 기기적용성 및 프라이밍 처리를 위한 1차조건(처리 온도/시간 등)을 선별하고자 하였다. 실험과정과 시스템상의 문제점/안정성 등을 먼저 확인하기 위하여, 수박/멜론/박 등의 논문에서 발췌된 시약들(KNO₃, PEG8000, PED6000)을 1차시약군으로 선별하여 예비실험에 적용하였다(표 1).

표1. 프라이밍처리 논문 조사 및 시약선정

No.	Group	Reagent	Variety	Author
1	Hydro-priming	Water	4n watermelon	T.V. Kumari, 2014
2	Halo-priming	KNO3	watermelon	Ibrahim(2004), Mohammad(2010), Kang(2000, 2015)
3	osmo-priming	PEG8000	watermelon, onion	Barbara, 2015
4	osmo-priming	PEG6000	watermelon, onion	Barbara, 2015
5	Halo-priming	NaCl	pepper	Khan, 2009
6	Halo-priming	KCl	onion	Iqbal(2006), Chang(2002)
7	Halo-priming	NaN ₃	tomato, onion	W.G. Pill, 1991
8	osmo-priming	D-mannitol	muskmelon	warley, 2003
9	Halo-priming	Ca(NO ₃) ₂	onion	Cho, 2006
10	Halo-priming	K ₃ PO ₄	onion, carrot	Cho, 2000
11	Hormonal-priming	GA ₃	watermelon, chicory	Jung(2015), Ghodrat(2012)

B) 2차년도(2017.01.01. - 2017.12.31)

수박/대목/호박/오이/멜론 종자의 프라이밍 처리 조건 확립

- 1차년도에 진행된 수박/대목 예비실험과정을 통하여 경제적 효율성을 감안하여 1차조건(20°C, 24hr)을 선발하였으며, water를 포함한 총 11가지 시약군 중 K₃PO₄, GA₃는 검토과정에서 경제성 문제로 상용화에 어려움이 있어 후보군으로 적합하지 않아 시약 처리군에서 제외하였다. 2차년도에는 수박/대목/호박/오이/멜론에 water를 포함한 총 9가지 시약군/농도별(4가지) 프라이밍 조건으로 진행하였으며, 1차로 선발된 시약군으로 처리된 시료를 국립종자원에 전달하여(각 시료당 350g-450g씩) ISTA 발아검사를 통해 교차검사를 하였다.

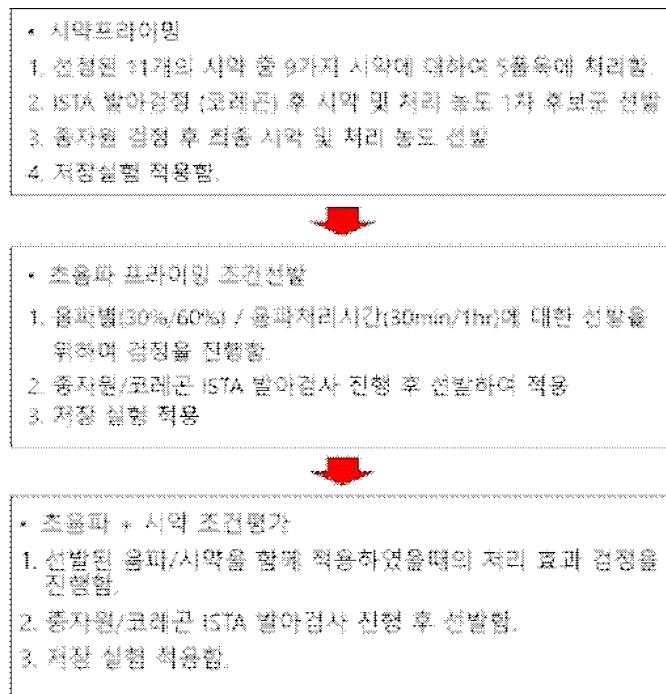


그림 1. 프라이밍 처리 연구내용

- 시약 스크리닝에서 최종 선발된(국립종자원-(주)코레콘 검정선발) 시약 처리군을 (주)신농이 개발한 초음파 프라이밍처리 기기(40L)에 적용하여 음파처리/음파 +선발시약의 처리를 진행하여 그 효과를 확인하고자 하였다. 본 협동과제에서 처리된 시료는 국립종자원과 교차로 확인/선발하였으며, 선발된 종자는 종자원에서 보관저장실험에 적용하였다. 일반적으로 종자업계에서는 프라이밍 처리 종자의 효력은 6개월에서 1년으로 그 이상 지속이 어려운 것으로 알려져 있다. 본 연구과제의 최적 프라이밍 처리 기술 확보를 위하여 처리종자활력유지 기간을 확인하고자 하였다. 저장실험에 적용된 종자는 국립 종자원에서 보관용기별/기간별로 실험군을 나누어 ISTA 발아검사를 통해 프라이밍 효과의 지속성을 확인할 예정이며, 본 협동 기관에서도 10℃ chamber에서 보관하여 1년 뒤 발아검사를 진행하였다(그림 1).

C) 3차년도(2018.01.01. - 2018.12.31)

수박/호박 종자의 프라이밍 처리 조건 확립

- 2017년에 진행된 프라이밍 처리 종자(1년경과)의 음파(15.66kHz) +시약처리의 지속효과를 확인하기 위하여 기내발아 검사 및 상토발아검사를 진행하였다. 결과를 확인하는 기간 동안에 기존에 개발된 프라이밍 처리 기기의 최대출력이 초음파(26.1kHz)를 이상)의 출력을 낼 수 있는 있었으나 소음, 발열 등의 문제로 장시간 기계를 가동하는데 무리가 있다 판단되어 기존의 대용량 프라이밍처리 기기를 회수하여 기기변경 및 추가수리를 진행하기로 하였다. 2018년 4월경에 출력이 개선된 대용량 기기가 입고되어 다시 예비실험을 거쳐 7월부터 본격적인 실험에 착수하였으며, 2품목(수박/호박)을 12월까지 마무리하고, 처리효과를 확인하기 위하여 선발조건의 종자를 종자원으로 발송하고 기내 및 상토발아검정을 진행하였다(표 2).

표 2. 2016년부터 2018년까지의 프라이밍 연구내용 및 진행과정

	프라이밍 조건연구	진행상황 및 최종의견
1차년도 (2016년)	<ul style="list-style-type: none"> 처리조건예비실험용 기기개발 및 셋팅 시약 선발 후 및 세부조건(온도/처리시간 등) 예비실험 (수박, 호박, 오이, 멜론, 대옥) 	<ul style="list-style-type: none"> 프라이밍 처리 예비실험은 2017년초까지 진행필요.
2차년도 (2017년)	<ul style="list-style-type: none"> 2016~2017 시약선발 및 농도선발 예비실험 (수박, 호박, 오이, 멜론, 대옥) 중대형 음파(15.66kHz) 프라이밍 기기를 이용한 박과 종자처리 실험조건 연구 진행 (2016 예비실험조건참고하여 조건 설정) 	<ul style="list-style-type: none"> 중대형 음파(15.66kHz)를 적용하여 2차년도 프라이밍 처리조건을 설정하였음. 개발된 1차 기기의 출력을 최대로 높일 경우(26.1kHz)에 온도가 상승하여 장시간 처리가 어려움. 따라서 기존의 연구 계획 조건과 다르게 적용하게되어 기기수리를 통해 3차년도에 추가적으로 재실험을 진행하기로 하였음.
3차년도 (2018년)	<ul style="list-style-type: none"> 2017 음파(15.66kHz)프라이밍 처리 결과 확인(저장1년후 발아검사 진행) 2018 4월 대용량 초음파 프라이밍처리 기기 수리 완료하여 입고됨. 예비실험 후 본격적인 연구은 7월에 착수 12월 까지 수박/호박에 대한 조건 실험을 진행하였음. 기내 및 상토발아검사를 통해 프라이밍 조건 선발을 하고자 하였음. 	<ul style="list-style-type: none"> 수리된 중대형 초음파 프라이밍(36.3kHz)을 100% 처리하였으며, 온도변화를 최소화하기 위하여 35L로 처리시약용량을 증량하여 진행하였음. (수박, 호박)

D) 4차년도(2019.01.01. - 2019.12.31)

오이/멜론/대목 종자의 프라이밍 처리 조건 확립

- 3차년도 수박/호박에 적용된 초음파(36.3kHz)조건을 오이/멜론/호박에 적용하여 처리한 뒤 기내 및 상토발아를 통해 초음파 및 시약처리의 효과를 확인하고자 하였으며, 저장실험도 함께 진행하였다. 뿐만 아니라 3차년도 프라이밍 처리에 대한 분석을 진행한 결과, 초음파 처리 강도를 낮춰서 적용하는 것이 효과적일 것으로 확인되어 우선적으로 수박 품목에 대해 9월 말부터 추가실험을 진행하였다. 그러나 중대형 프라이밍 기기에서만 초음파 처리가 가능한 제한적인 환경요건 안에서 추가실험을 지속적으로 반복하여 최적의 조건을 확인해 나가야 하는 본 연구의 특성상 시약의 사용량과 실험에 적합한 발아율(약 70%대)을 가진 종자 및 해당 종자의 사용량을 매 실험 시에 적용하기란 매우 어려운 상황이다. 고가의 박과종자이기에 매년 실험종자를 직접 생산하여 적용하고 있으나 연구에 적합한 최적 실험발아율 요건까지는 맞추기 어려운 실정으로 이를 최대한 고려하면서 연구결과에 대해 변별력을 가지고 판단하고자 하였다(표 3).

수박 종자의 프라이밍 처리 조건 확립(추가실험)

- 3-4차년도에 진행된 중대형(36.3kHz)프라이밍 처리 결과 분석 후 조건을 수정하여 추가 실험을 설정하였으며, 예비실험이므로 수박품종에 대하여 우선적으로 실험을 진행하여 효과적인 조건을 확보하고자 하였다(표 3).

표 3. 2019년 프라이밍 연구진행 과정 및 수정내용

	중대형초음파	3차년도	4차년도
프라이밍 처리조건 (2019년)	36.3kHz (100%)	수박/호박	오이/멜론/대목
	25.41		수박(추가실험)

E) 5차년도(2020.01.01 - 2020.12.31)

2019년 프라이밍 처리된 수박/호박/오이/멜론 종자의 저장후 결과 확인

- 3-4차년도에 설정된 조건으로 프라이밍 처리된 수박/호박/오이/멜론 종자의 저장 후 결과를 확인하고, 프라이밍 처리 직후와 저장 후의 결과를 분석하여 조건선발분석을 하고자 하였다.

수박종자의 프라이밍 조건 추가연구(1차) 저장

- 4차년도 후반기에 추가실험(수박종자)을 진행하였으며, 이후 5차년도 연구기간 내에 처리결과를 확인하여 프라이밍처리의 지속성을 분석하고자 하였다. 특히, 다양한 조건처리를 통하여 종자에 미치는 효과적인 프라이밍 처리범위를 설정하고 보다 현장에 맞는 실질적인 프라이밍처리의 조건을 찾고자 하였다.

수박/호박/오이/멜론/대목 종자의 프라이밍 조건 추가연구(2차)

- 앞서 진행된 프라이밍 처리 조건을 최대한 다양한 종자와 여러 범위 안에서 설정하여 진행하고자 하였다. 그러나 정해진 연구기간 내에 물리적인 한계성(프라이밍처리기기 1대, 최대 가능용량(30L부피/2.8kg))을 가지고 다양한 결과를 확보하는 것에 어려운 부분이 있으므로 종자품목을 따로 선별하여 예비조건실험을 거쳐 조건 분석에 신뢰성을 높이고자 하였다(표 4).

표 4. 2020년 프라이밍처리조건 연구진행내용

	프라이밍 처리조건		1차년도	4차년도	5차년도
4차년도 (2019년)	36.3kHz (100%)	0.1%, 3%	수박/호박	오이/멜론	
	21.78kHz	0.3%		수박(추가실험)	
5차년도 (2020년)	21.78kHz	0.5%			수박, 호박, 오이, 멜론, 대목

나. 프라이밍 처리 연구방법

A) 1차년도(2016.07.01. - 2016.12.31)

박과종자처리를 위한 소형(Lab scale) 프라이밍 기기제작 및 적용

- 기존의 프라이밍 처리 기기(항온수조)를 구입하여 (주)신농과 함께 제작(개조)작업을 통해 다양한 실험군의 실험이 가능한 소규모 연구용 프라이밍 기기를 제작하였다. 제작(개조)기간은 총 2개월이 소요되었으며, 개조된 프라이밍 기기의 처리 용량은 1000ml 플라스크 12개 샘플을 한번에 진행할 수 있다. Airation은 각 플라스크에 호스로 연결하여 처리하는 방식으로 되어있고, Silicone stopper로 각 플라스크에 입구를 막아 유압호스로 Airation이 원활히 되도록 하였다. 호스의 재질은 대부분 많이 사용하는 부드러운 재질의 Tubing보다 단단한 재질의 유압호스를 사용하였다. 플라스크의 용량은 1000ml로 박과종자에 사용하였을 때에 처리 가능한 플라스크 샘플수가 12개로 최대 사용할 수 있으나 각 플라스크당 처리 종자량은 품목별로 차이가 있다.



그림 2. 1차년도(2016년) 예비실험에 적용되고 있는 Lab scale의 프라이밍기기 (좌: 대목 프라이밍 처리 중인 모습, 우: Airation 주입시스템)

- 종자크기가 큰 박과(대목/호박)의 경우는 종자량이 매우 부족할 시에 기기내부에 있는 Holding lack을 꺼내어 최대 2000ml를 적용해 실험 1회당 총 8샘플의 실험이 가능하나 이렇게 적용할 경우에는 실험처리조건이 줄어들어 실험해야하는 총 횟수가 늘어나기 때문에 본 연구에서는 1000ml 플라스크를 사용하여 실험균을 최대로 확보하고 처리 종자량을 증가(박과 품목별로 최대량이 차이가 있음. ex. 대목 250g)시키고자 하였다.
- 현재 사용하는 항온수조의 규격은 Out: Width 120cm - Length 70cm, Inner: Width 95cm - Length 51cm이며, 온도오차는 6개 지점 측정 시 $\pm 0.5-1^{\circ}\text{C}$ 이내로 확인되었다. 해외 프라이밍 처리기구를 구입하는 방안도 있으나 비용이 매우 비싸며, 원하는 실험의 용도로 수정하여 사용하기에도 적절치 않은 부분이 있어 개조작업이 불가피하므로 실험에 적합하지 않아 국내 항온수조 제품을 구입하여 냉온으로 개조/사용하는 것으로 최종 결정되었다(그림 2). 프라이밍 처리과정 중의 Airation처리는 종자에 있는 발아억제물질의 불활성 및 종피 밖으로의 배출촉진을 유도하여 발아가 촉진되므로(Khan, 1983) 본 연구과제의 기기에는 Airation system이 적용되었다. Airation은 종자를 처리물질에 노출시켰을 때에 액체의 흐름을 정체되어 있게 하는 것이 아닌 지속적으로 산소를 주입하므로 종자를 움직여 주었을 때에 프라이밍처리가 균일하게 하는 역할로서 프라이밍 조건처리 시에 반드시 필요한 조건으로 판단하여 본 예비연구실험에 적용하였다.

박과(수박/대목)에 적합한 프라이밍 기기의 예비실험

- 기기의 실험안정성을 확인하기 위하여 예비실험을 진행하였다. 예비실험은 1차 시약군 (Water, KNO_3 , PEG6000, PEG8000)에 대하여 플라스크 12개로 모두 진행하였으며, 예비실험 시의 과정은 아래(그림 3)와 같다. 각 플라스크마다 Airation을 추가하였으며, 기기의 특성상 1회 실험진행시 1가지 온도만을 설정할 수 있었다. 1차년도에는 수박과 대목에 대하여 실험을 진행하였으며, 기기의 안정성 검사를 위하여 water 프라이밍 처리된 종자의 ISTA 발아검사결과를 확인하였다.

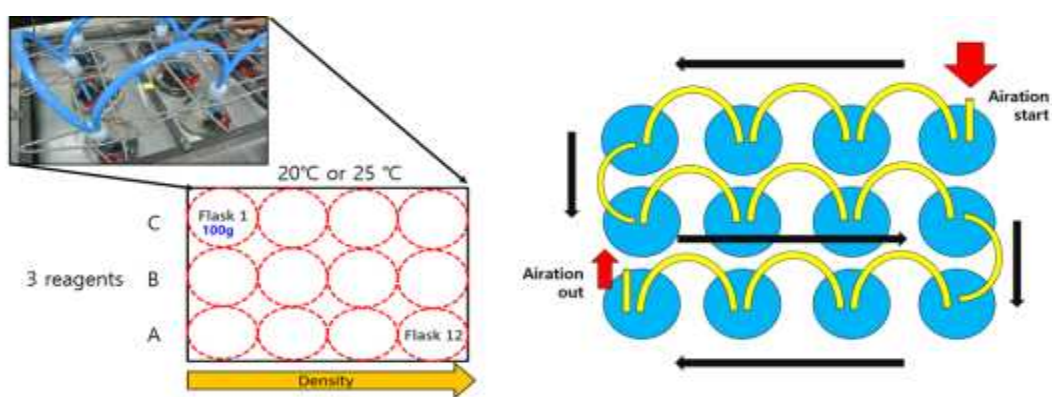


그림 3. 소형 프라이밍 처리 기기의 실험진행과정

- 기기 안정성 확인과정을 거친 후 1차 시약군 처리를 진행하였다. 프라이밍처리 과정은 그림 3.과 같으며 1회 실험 시, 각 시약(KNO_3 , PEG8000, PEG6000)당 처리되는 다양한 농도배치가 한번에 진행 될 수 있도록 플라스크 최대한 설정하여 진행하였고 이러한 예비실험 결과를 통하여 실험과정상의 문제점과 기기 내 수정사항들을 점검하고자 하였다.

박과(수박/대목) 종자의 프라이밍 처리 조건 설정

- 프라이밍 연구논문에 많이 적용되고 있는 Osmo-priming의 대표적인 물질인 PEG(Polyethylene glycol)는 -0.5MPa(Sweet corn, Ghiyasi et al., 2008)에서 -2Mpa (Sunflower, Bailly et al., 2000; Sugarb beet, Capron et al.,) 사이의 농도 값에서 효과가 있다는 연구결과가 있었으며, 박(Gourd seed)종자에 PEG -0.3MPa, 0.5MPa(100ml/종자량 15g)로 프라이밍 처리한 경우도 있었다(Kang, 2000). 본 연구에서는 플라스크 1000ml 용기에 처리제 용량 500ml(종자량, 50-100g)로 소규모 시약 스크리닝을 진행하였다. 그러나 PEG계열 시약을 적용하기 위해 관련문헌들에서 처리되는 용량은 본 과제에서 상용화를 목표로 개발되는 프라이밍처리기기(중대형, 40L)의 처리용량(ml)과는 현실적인 차이가 있으므로 경제적 사용량과 작업자의 편의성 등을 고려하여 연구계획을 다각도로 설정하였다. 현장사용자들의 사용적용성이 가장 좋은 단위는 %로 적용하는 것이나 연구논문에서 적용되어진 범위에서도 진행을 해야 할 필요성이 있어 PEG에 적용할 농도를 4가지로 나누어 선정하였다. MPa로 적용할 경우, -0.1MPa이 본 실험에서는 가장 적합한 최대 사용량(g)으로 0.3% / 0.7% / 1% / -0.1MPa로 적용하였다. KNO₃ 의 경우에는 3%(Ibrahim, 2004; Kwon, 2005), 200mM(Kang, 1996) 등 KNO₃가 수박(diploid or Triploid) / 박(Gourd) 등의 발아에 영향에 대한 결과를 통하여 50mM, 100mM, 200mM로 나누어 진행하고자 하였다. 농도를 설정하는데 있어서는 산업화를 최우선으로 염두하여 가장 현실적인(경제적 효율성) 부분을 감안하여 선택하고자 하였다.

표 5 예비실험을 위한 1차 시약군 선발 농도

실험군	농도
Water	-
KNO ₃	50mM/100mM/200mM
PEG 6000	0.3% / 0.7% / 1% / -0.1MPa
PEG 8000	0.3% / 0.7% / 1% / -0.1MPa

6000 Calculation:

$$OP = (-1.18 \times 10^{-2}) \times C - (1.18 \times 10^{-4}) \times C^2 + (2.67 \times 10^{-4}) \times C \times T + (8.39 \times 10^{-7}) \times C^2 T, \text{ where}$$

C=PEG concentration, T=Temperature.

According to :
Michel B.E. and Kaufmann M.R. 1973.
The osmotic potential of polyethylene glycol 6000.
Plant Physiol. 51:914, 1973.

8000 Calculation:

$$OP = 1.29 \times C^2 \times T - 140 \times C^2 - 4.0 \times C$$

According to
Michel B.E. 1983. Evaluation of the Water Potentials
of Solutions of Polyethylene Glycol 8000. Plant
Physiol. 72:66-70.

그림 4. 프라이밍 처리를 위한 시약농도 설정

- 그림 4.에서 1차 시약군의 PEG계열의 경우, 농도의 단위가 MPa로 표현되어지는데 PEG라는 시약의 무게측정 기준이 우리가 흔히 알고 있는 Mw(Molecular weight, 분자량)의 개념이 아닌 Mn(Number-averaged molecular weight, 수평형분자량)으로 되어있기에 해외문헌에서도 MPa(Megapascal, Mohammad armin, 2010)의 농도단위를 실험에 적용하여 결과를 확인하고 있다. Mw는 분자량이 클수록 카운트하는 것이 매우 어려워지기에 어떤 polymer의 평균고분자량보다 더 큰 고분자일수록 Mw값이 더욱 커지게 되어 가능한 정확한 Composition을 알기위해 Mn값을 우선시하게 되어 시약의 농도값 계산을 MPa로 하는 것이다. 따라서 실험에 적용되는 PEG 6000, 8000의 경우는 MPa로 계산하는 수식이 Michel에 의해 발표되어 PEG를 이용한 수많은 논문들에서 PEG 8000, 6000의 농도 계산 수식(그림 4)이 인용되고 있으며, 본 연구의 예비실험에서도 이를 참고하였다(Michel, 1973, 1983).
- 위와 같이(표 5, 그림 4) 선정된 시약별/농도별로 24hr/48hr의 조건에서 프라이밍 처리되었고 종료 후 수세 5-10분, 탈수 5분, 열풍 건조기 35°C/4-6시간으로 프라이밍 처리 후 건조 과정을 거쳤다. 처리종자의 함수량이 4% 이하가 되는 지점에 따라 건조시간을 완료하였다. 건조된 종자는 수분증량차이를 확인한 뒤 10°C 종자 저장고에 보관하였다(그림 5)

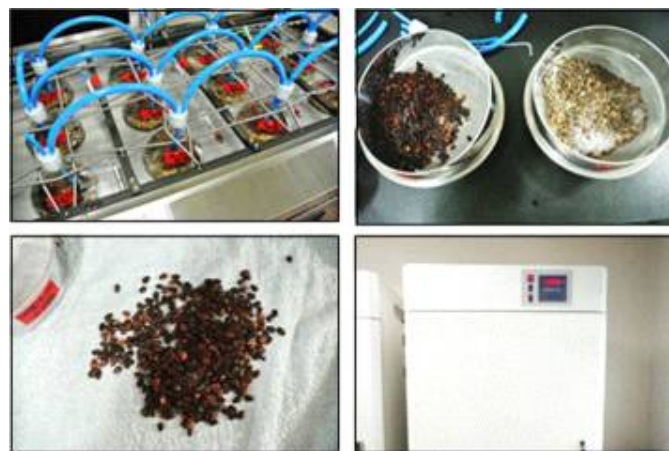


그림 5. 종자처리 및 수세/건조과정

박과(수박/대목) 종자의 프라이밍 처리 결과확인을 위한 ISTA 검정

- 예비실험의 결과확인에는 국립종자원의 지도아래 ISTA 규정을 준수하였으며, 박과(수박/대목)의 발아검사는 실험 샘플당 2반복(품목당 50립 또는 100립)으로 진행하였다. ISTA에서는 4반복 검정을 원칙으로 하고 있으나, 예비실험과정에서는 조건수가 많은 관계로 2반복으로 우선 진행하고 본 실험에서는 4반복으로 적용하기로 하였다. 본 과제는 수박과 대목 종자의 프라이밍처리 예비실험을 시작으로 4차년도까지 프라이밍처리 실험 및 결과확인을 순차적으로 진행하며 처리된 종자의 활력유지 기간(6개월 또는 1년)을 확인할 예정이다.
- 본 실험에 적용되는 박과 종자의 경우 단가가 높은 작물로 대부분 재고를 남기지 않는 것을 목표로 생산/판매되기 때문에 본 협동기관에서 연구기관에 제공하는 종자도 발아율이 높은 판매 가능한 종자들로서 종자회사에서 자연 퇴화된 종자를 확보하는 것에 매우 어려움이 있었다. 따라서 프라이밍 결과선발을 위해 발아율과 발아속도차이를 함께 분석할 필요성이 있으므로 발아속도(Germination rate, R)에 대해 그림 6과 같이 적용하여 결과에 나타내었다(Ellis, 1987; G. R. Mohammadi, 2009). ISTA 규정 내에서 박과의 경우, 1차 조사일(5일째)과

최종조사일(14일째)로 확인하게 되어 있으나 총 기간을 모두 유지하기에는 실험이 지체되는 상황이 발생되므로 최대한 마무리되는 시점 8-9일 정도에 마무리 하는 것으로 국립종자원과 상의하여 진행하였다. 본 협동기관에서 사용하는 종자는 (주)코레콘에서 보유하고 있는 종자를 현 연구과제 기관들에 제공하였으며, 국립종자원에서 1차 발아율 검사가 진행되었다. 보다 다양한 검정 방법을 적용하고자 기내상토발아검사를 실시하여 프라이밍처리 효과 중 발아균일성과 상토발아결과를 함께 확인하고자 하였다. 기내상토발아검사는 기내에서 진행되는 것 외에는 육묘장에서 실질적으로 이루어지는 파종(줄뿌림, 포트 방식 선택가능)/발아조건을 적용하였다. 2반복/50립씩 이루어졌으며 조건은 수박발아/육묘 시에 적용되는 28-30℃의 온도에서 발아를 진행하고 발아가 진행된 묘상에 20-25℃사이(외부온도에 따라 선택)로 온도를 낮추어 웃자람을 방지하는 일반적인 조건을 적용하였다(그림 6).



그림 6. 프라이밍처리 결과 확인을 위한 ISTA 발아검정 및 분석

B) 2차년도(2017.01.01. - 2017.12.31)

소형(Lab scale) 프라이밍 기기를 이용한 박과종자처리 연구 및 조건선발

- 1차년도에 선정된 11개의 선정시약 중 경제적 효율성 부분을 고려하여 9가지의 시약을 최종 선정하고 예비실험을 통해 선발전 조건(20℃/24hr)을 적용한 소규모 프라이밍 처리 연구를 진행하였다. 2차년도에 진행된 소규모 프라이밍은 1000ml 플라스크에 각 품목의 종자량을 최대 용량(250g)으로 일정하게 확보하며, 3반복으로 진행되는 플라스크의 Airation이 같은 실험군으로만 구성되어 심각한 문제점이었던 역류현상을 해결함으로 처리샘플의 신뢰성을 높였다.

표 6. 시약프라이밍 처리 선정농도

No.	Group	Reagent	Concentration
1	Hydro-priming	Water	
2	Halo-priming	KNO3	10mM / 50mM / 100mM / 200mM
3	osmo-priming	PEG8000	0.3% / 1% / 3% / 5%
4	osmo-priming	PEG6000	0.3% / 1% / 3% / 5%
5	Halo-priming	NaCl	
6	Halo-priming	KCl	
7	Halo-priming	NaN ₃	50mM / 100mM / 150mM / 200mM
8	osmo-priming	D-mannitol	
9	Halo-priming	Ca(NO ₃) ₂	

- 이러한 과정을 통해 5가지 품목(수박/대목/호박/오이/멜론)에 대하여 총 180개(9시약 x 4 농도 x 5품목)의 시약처리샘플을 확보하였다. 각 실험샘플 당 플라스크 3반복으로 진행한 뒤 하나의 샘플로 합쳐 건조/보관/발아검정을 진행하였다. 수세하는 방법에 대하여 문헌들의 경우 흐르는 물에 장시간 두어 진행하였으나, 현장 내에서는 매번 그렇게 진행할 수 없으므로 약 15분간 흐르는 물에서 손으로 직접 수세한 뒤 세탁 탈수과정을 거쳐 35℃ 열풍건조기에서 6hr 건조하였고 함수량은 5%이하로 10℃ cold chamber에 보관하였다.

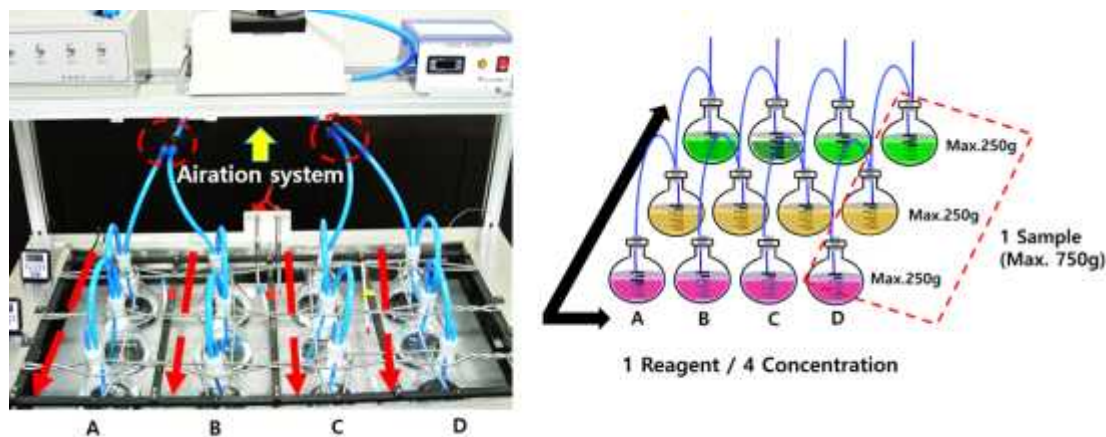


그림 7. 2차년도 Lab scale 프라이밍 처리 시스템

- 이러한 과정을 통해 5가지 품목(수박/대목/호박/오이/멜론)에 대하여 총 180개(9시약 x 4 농도 x 5품목)의 시약처리샘플을 확보하였다. 각 실험샘플 당 플라스크 3반복으로 진행한 뒤 하나의 샘플로 합쳐 건조/보관/발아검정을 진행하였다. 수세하는 방법에 대하여 문헌들의 경우 흐르는 물에 장시간 두어 진행하였으나, 현장 내에서는 매번 그렇게 진행할 수 없으므로 약 15분간 흐르는 물에서 손으로 직접 수세한 뒤 세탁 탈수과정을 거쳐 35℃ 열풍건조기에서 6hr 건조하였고 함수량은 5%이하로 10℃ cold chamber에 보관하였다. 모든 발아검정조건은 ISTA 방식(Pleated paper substrate)으로 진행되나 수박/대목의 경우는 총 발아기간(14일)보다 앞당겨 조기완료(총 발아기간, 8일)하였다. 대목과 호박의 경우만 50립씩 4반복으로 진행되고 수박/오이/멜론은 100립씩 4반복을 적용하였다. 한번 실험 시 1시약/4농도로 진행되며(표 6), 건조까지 2-3일의 시간이 소요되었다. 한 시약의 프라이밍 처리가 완료되고 수세 후 건조기로 이동된 뒤 바로 다음 시약의 프라이밍 처리를 시작하게 되므로 소요시간이 3일까지 진행되기도 한다. 각 처리군의 총 종자량은 최대 750g으로 발아검사를 통해 1차로 선발된 시약처리샘플 350g은 종자원으로 전달되어 교차 발아검사 및 저장실험에 적용(그림 7)되었으며, 국립종자원에서 샘플을 추가로 요청하는 경우는 추가실험을 통해 전달하였다. 국립종자원에서 검정된 2차 선발 시약 처리군에 대하여 본 연구과제에서 개발된 초음파(최대출력 26.1kHz) 처리기기를 이용하여 음파+시약처리군의 프라이밍 효과를 함께 확인하고자 하였다.

중대형(Lab scale) 음파 프라이밍 기기를 이용한 박과종자처리연구

- 이러한 과정을 통해 5가지 품목(수박/대목/호박/오이/멜론)에 대하여 총 180개(9시약 x 4 농도 x 5품목)의 시약처리샘플을 확보하였다. 각 실험샘플 당 플라스크 3반복으로 진행한 뒤 하나의 샘플로 합쳐 건조/보관/발아검정을 진행하였다. 수세하는 방법에 대하여 문헌들의

경우 흐르는 물에 장시간 두어 진행하였으나, 현장 내에서는 매번 그렇게 진행할 수 없으므로 약 15분간 흐르는 물에서 손으로 직접 수세한 뒤 세탁 탈수과정을 거쳐 35℃ 열풍건조기에서 6hr 건조하였고 함수량은 5%이하로 10℃ cold chamber에 보관하였다. 개발된 음파(최대출력 26.1kHz) 프라이밍처리기의 조건설정을 위하여 음파출력범위를 선정하고자 하였다.

- 음파출력범위는 용액의 부피를 몇으로 설정할 것인지가 중요하므로 처리 연구에 적용될 선발된 시약의 사용량 및 한번 처리시의 종자의 중량 등을 고려해야 했다. 뿐만 아니라 가장 중요한 것이 음파출력이 진행되었을 시의 용액(water 및 시약용액)내의 온도변화가 없거나 최소인 경우를 확인하는 과정이 필요하였다. 처리하고자 하는 온도설정은 시약 프라이밍에서 확인된 20℃조건을 적용하여 진행하였다.

표 7. 음파(중대형)기기를 이용한 프라이밍 처리연구내용

중대형(음파, 26.1kHz) + 시약 프라이밍처리연구		
대조군	<ul style="list-style-type: none"> • 무처리 • 음파만 처리실험 (water base), (30min / 1hr / 2hr / 3hr), (30% / 50%) • Water로만 프라이밍처리 (24hr) 	
시약농도선발	시약처리만 (음파x)	Lab scale 플라스크수조실험 • PEG6000/8000 (0.1%, 1%, 1%, 5%) • 그외 시약 (10mM, 50mM, 150mM, 200mM)
음파 + 시약조건	60% (선발용액) 15.66kHz	<ul style="list-style-type: none"> • 음파 처리시간 (30min / 1hr / 2hr / 3hr) • 음파 처리 포함 할 프라이밍 시간 (24hr) • 시약 농도 실험에서 산발된 조건만 적용 • 효과적인 2018년도에 진행하고자 했으나, 기기편견으로 실험진행하지 않음.

- 선정된 부피조건에서 20℃를 설정하여 음파출력을 진행하였을 때 온도변화가 일어나는 지점을 최대 출력지점으로 하여 실험처리범위를 산정하고자 하였다. 최대 용량이 40L인 프라이밍처리 원통의 경우 국립중자원과 (주)코레곤의 처리중자검정에 모두 충분한 중자량과 초음파 및 시약처리가 모두 가능한 범위를 고려하여 각 처리군 당 700g으로 최대 4조건(700g x 4ea)을 한번에 진행하는 것을 최대한계치로 설정하였다.

- 약 W30cm x D70cm 되는 입구의 프라이밍처리기에 2.8kg정도의 종자를 넣으면 30cm 둘레의 기기내부에 종자시료가 가득 차게 되며 프라이밍 처리시의 Airation이 적정하게 이루어지는 지점으로 35L/min로 정하였다. 70cm깊이의 초음파(음파)기기에 물/시약 20L(약 35cm)을 채우고 Airation을 35L/min으로 설정하여 음파출력 50%-80%까지 안정성 확인 결과 60%에서는 온도변화가 나타나지 않았으며, 70%에서는 1-2℃의 온도변화가 나타나기 시작했다. 따라서 음파출력을 30%(7.83kHz)와 60%(15.66kHz)으로 설정하고 처리시간은 30min/1hr으로 예비 실험을 진행하였다(표 7, 그림 8).

- 우선적으로 중대형 프라이밍처리 실험에 적용할 처리출력(% , kHz)을 결정하고자 음파출력 및 프라이밍 처리시간에 대한 사전예비실험을 진행한 뒤, 선발된 시약조건을 적용하여 “음파+시약” 프라이밍 처리효과에 대한 다음단계로 실험을 진행하였다. 처리방법은 다음과 같이 설정하였다. 첫 번째 방식은 단시간처리로서 앞선 예비실험에서 선발된 각 시약별/농도별로

조제된 시약베이스(water처리균 포함)용액에 종자를 담근 후 총 프라이밍처리시간을 음파노출시간에 맞추어 진행하고, 두 번째는 장시간(총 노출시간 24hr) 프라이밍처리방식으로 종자를 용액에 담근 후 음파처리(30min/1hr) 진행시간을 포함하여 총 프라이밍 처리를 24시간 진행하게 되는 과정으로 나누어 설정하였다. 이러한 과정을 통하여 음파와 시약을 이용한 프라이밍 처리의 효과 및 시너지 효과가 발생하는지 여부를 확인하고자 하였다(그림 8).



그림 8. 음파(중대형) 프라이밍처리 시스템

C) 3차년도(2018.01.01. - 2018.12.31)

중대형 음파+시약 프라이밍(15.66kHz)처리된 저장효과 확인

- 2017년 중대형 음파(15.66kHz)+시약 프라이밍된 종자를 처리직후 확인하고, 6개월-1년이상 저장된 후의 종자의 프라이밍 처리효과 및 지속성 판단을 하고자 ISTA 조건하에서 기내와 상토발아검정을 결과의 신뢰성을 높이고자 하였다. 아래 표 8과 같이 총 실험 처리균은 248 개체이며 실험에 사용된 종자의 총사용량은 164kg으로서 각 실험개체군당 발아 검정량이 매우 많아 프라이밍 실험과 저장종자의 발아결과확인을 병행하기에는 어려움이 있어 시기가 중요한 저장효과검정부터 3차년도 연구를 시작하였다.

표 8. 2차년도 프라이밍 처리 종자량 및 저장성 결과확인 실험 개체수

2017년 프라이밍 처리실험량 및 사용종자량

*처리시약 기준 9개에서 7개로 수정		(예비실험시용 종자량 제외, 종자원 재출량 포함)				
	수박	호박	오이	멜론	대목	비고
대조군 (무처리)	1.2kg	1.2kg	900g	900g	1.2kg	물리스크control도 포함.
대조군 (음파)	1.2kg	1.2kg	900g	900g	1.2kg	30% / 60% (30min, 1hr)
음파세부조건선행발 (총 6개군)	4.8kg	4.8kg	3.6kg	3.6kg	4.8kg	30% / 60% (30min, 1hr) x (24hr/48hr)
시약농도선행발 (물리스크당 200-250g) (7개시약 x 4개농도 x 3반복)	21kg	21kg	21kg	21kg	21kg	250g씩 x3반복 = 750g 으로 용량을 맞춤.
음파+시약 조건선행발 (중대형 음파처리기) (음파 조건별+선행시약) W: water	W 시약2개	-	W 시약3개	W 시약2개	W 시약1개	물리스크실험에서 선행된 시약과 농도조건만 대용량으로 들어감. 음파+시약조건별 (30min / 1hr / 2hr / 3hr)
	7.2kg	-	7.2kg	5.4kg	4.8kg	
총실험처리군	248개					
총 종자사용량	164kg					

수박/호박 프라이밍 처리조건(36.3kHz)연구

- 본 연구에서 처리하고자 계획되었던 초음파조건에 맞추어 중대형초음파프라이밍 시스템을 다시 (주)신농으로 보낸 후 종자처리를 위한 water jacket과 초음파 모듈을 모두 교체하는 재수리과정을 거쳐 2차년도에 진행된 중대형 음파처리기기(최대출력 26.1kHz)에서 최대 36.3kHz 초음파 프라이밍 처리가 가능하도록 하였으며, 수리가 완료된 프라이밍 처리기기가 2018년 4월에 입고되었다.

표 9a. 3차년도 프라이밍 처리조건

중대형(초음파, 36.3kHz) + 시약 프라이밍처리연구	
대조건	<ul style="list-style-type: none"> • 무처리 • 초음파만 처리 실험 (water base), (30min / 1hr), (출력 100%) • Water만 처리 (24hr / 48hr)
초음파 + 시약조건	<p>출력 100%</p> <ul style="list-style-type: none"> • 초음파 처리시간 (30min / 1hr) • 초음파 처리 포함 총 프라이밍 시간 (24hr / 48hr) • 기기변경(4월) 후 모든 실험용 재와 다시 시작함. • 시약농도조건은 2016-2017 실험을 참고하여 2가지 농도를 선별하여 진행함. (연구수계량상 축소는 불가피함) • 2018년 7월 본격시작 -> 10월까지 2품목(수박/호박) 프라이밍 처리가 완료됨. • 12월중순까지 발아검사완료(71대/실험)

- 기기가 변경됨에 따라 초음파(최대출력 36.3kHz)시스템 내에서 박과 5품목 종자에 대하여 모든 실험을 예비실험부터 본 실험까지 처음부터 진행해야하는 상황에 직면하였다. 그러나 연구기간 내에서 실험 개체수(그룹수) 및 발아검정(기내/상토) 일정 등을 고려하였을 때 순차적으로 연구가 진행되기에는 물리적/시간적으로 어려움이 많아 세부조건선발을 위한 예비실험을 거치지 않고 이전 음파실험결과내용을 토대로 2018년 7월부터 바로 본 실험에 착수하였다. 프라이밍 처리 조건은 표 9a와 같이 적용하였고, 10월까지 수박/대목에 대하여 프라이밍 처리를 완료하고 12월까지 발아검사결과를 확인을 목표로 진행하였다.

표 9b. 3차년도 프라이밍 실험종자처리량

2018년 프라이밍 처리실험량 및 사용종자량

* (예비실험사용 종자량 제외, 종자원 계량량 포함)

		수박	호박	오이	멜론	대목	비고
대조건	무처리	600g	600g	450g	450g	600g	
	초음파만 (Water base)	1.2kg	1.2kg	900g	900g	1.2kg	30min / 1hr
	Water만	1.2kg	1.2kg	900g	900g	1.2kg	24hr / 48hr
초음파+시약	40.8kg	40.8kg	30.6kg	30.6kg	40.8kg	<ul style="list-style-type: none"> • 초음파조건(30min/1hr, 2개) • 시약농도(2가지) • 처리시약(7개, water) • 총 프라이밍처리시간(2개) 	
총실험처리군					112개(309개)		
총 종자사용량					87.6kg(197.1kg)		

- 나머지 품목에 대해서는 4차년도(2019년)에 연이어 진행하며, 수박과 호박의 결과에 따라 추가실험여부를 결정하여 연구기간(2020년, 5차년도) 내에 최적의 결과를 확보할 수 있도록 지속적인 연구를 할 예정이다. 수박/대목의 총 실험 처리군은 112개이며, 87.6kg의 종자를 사용하였다(표 9b).

D) 4차년도(2019.01.01. - 2019.12.31.)

오이/멜론/대목에 대한 중대형 초음파 프라이밍(36.3kHz) 처리조건 연구

- 3차년도에 이어서 오이/멜론/대목에 대한 초음파 +시약 실험을 진행하였으며, 최대한 기준에 미리 계획된 사용량(표 9b)으로 처리하기 위하여 오이/멜론/대목의 경우도 수박/호박과 마찬가지로 직접 종자생산까지 진행하였으나, 2018년 이상기후에 따른 채종문제로 확보된 양이 부족하여 2019년도 추가생산을 결정하여 최대한 실험에 차질이 없도록 하였다. 오이/멜론/대목의 프라이밍 처리는 2019년 09월까지 처리 완료하였으며, 본 연구기관에서 1차 선발 후 종자원으로 시료를 발송하였고, 전 시료에 대하여 기내 및 상토발아를 2019년 12월까지 완료 후 결과확인 및 분석을 진행하였다.

수박에 대한 중대형 음파 프라이밍(25.41kHz) 처리조건 추가연구

- 3차년도의 수박/호박의 결과를 통해 초음파 조건을 변경한 추가실험을 결정하였으며, 우선적으로 수박에 대해서만 진행하여 2019년 12월까지 그 결과를 확인하고자 한다. 효과적인 조건을 확보하여 타 품목에 대해서도 2019년 안으로 추가실험을 시작하여 2020년 9월까지 처리 및 결과확인을 마무리 하고 프라이밍 처리 조건에 대한 최종결론을 확정하고자 한다.

E 5차년도(2020.01.01. - 2020.12.31.)

수박/호박/오이/멜론에 대한 중대형 초음파 프라이밍(36.3kHz) 처리 1년 후 결과확인

- 장비를 초음파기기로 교체 후 세부조건연구(예비실험)를 진행해야했으나 처리량 및 결과확인 시간을 고려하였을 때 연구기간 내에 결과를 확인하기가 어려울 것으로 판단되어 바로 본 실험에 착수하였다. 초음파 처리의 영향을 확인하기 위하여 처리출력을 100%(36.3kHz)로 설정하고 프라이밍 처리 용액량을 20L에서 30L로 최대한 증량하여 초음파 처리에 의한 열발생이 프라이밍 용액의 처리 온도에 영향을 주는 것을 최소화하였다. 이전 연구 결과를 통해 초음파출력 및 시약농도를 변경하여 다양한 조건의 범위를 찾는 방향으로 연구설정을 하여 진행하였으며, 2019년 36.3kHz 초음파 +시약처리 조건으로 처리직후 1년간 저장된 종자의 발아결과를 확인하여 프라이밍 처리결과를 확인하였다. 대목의 경우 실험을 진행하고자 하였으나 Control 종자 자체의 발아율이 매우 낮고 기존에 이미 종자코팅처리가 된 재고종자 밖에 없었기에 실험에 적합하지 않아 제외하였다. 추후 추가연구에 적용하는 종자들은 자체 생산하고 수확시기를 조절하여 Control 발아율을 의도적으로 발아율을 낮추는 조절방법을 적용해 실험하고자 한다.

수박에 대한 중대형 음파 프라이밍(21.78kHz) 처리조건 추가연구(1차)

- 2019년 후반기에 처리한 뒤 1년간 저장된 종자의 발아결과를 확인하여 프라이밍 처리의 최

종선발하기 위하여 결과를 분석하였다(표 10).

표 10. 5차년도 프라이밍 처리조건

중대형(초음파, 21.78kHz) + 0.3%(수박), 0.5% 시약 프라이밍처리연구	
Control	무처리
	<ul style="list-style-type: none"> • 초음파조건설정 (water tap), (30min / 1hr), (출력 60%) • 중대형 프라이밍 작용 (총 처리시간 24hr)
초음파 + 시약조건 (중대형 초음파) "water 포ष" 출력60%	<ul style="list-style-type: none"> • 초음파 처리시간 (30min / 1hr) • 초음파 처리 포ष 총 프라이밍 시간 (24hr) • 기기변경(시약) 후 모든 실험을 새로 다시 시작함. • 시약농도조건은 2015년 결과를 참고하여 초음파출력 제거와 시약농도를 수정하여 수박농도의 조건에서 실험을 진행하였으며, 이후에 수박/호박/오이/멜론/대목에 대하여 마지막 조건 실험을 진행하였음.

수박/호박/오이/멜론/대목에 대한 중대형 초음파 프라이밍(21.78kHz) 처리 추가연구(2차)

- 2020년 마지막 조건연구를 진행하여 최대한 다양한 범위 내에서 프라이밍 처리의 영향을 확인하였다. 최대 36.3kHz에서 60%(21.78kHz)로 출력을 감소하고 시약처리농도를 조절하여 적절한 처리농도범위를 선별하고자 하였다(표 10).

다. 연구결과

A) 1차년도(2016.07.01. - 2016.12.31)

박과종자처리를 위한 소형(Lab scale) 프라이밍 기기적용 및 수정방안

- 예비조건실험에서는 각 플라스크 당 실험 시에 500ml의 처리용액에 50g의 종자(종자크기에 따라 50-100g)를 적용하여 실험을 진행하였다. 기기 및 실험과정의 안정성을 확인하기 위해 처리 종자의 양을 급격히 늘린 상태에서 진행할 수는 없었으며, 예비조건실험이기에 종자 원으로 샘플을 보내지 않아도 되는 과정이어서 종자량을 줄여서 진행하였다. 1회 실험 시(1시약/4농도/각 실험군당 3반복), 각 샘플 당 최대 총 150-300g(3반복 총량)을 확보하였으나 24hr 처리지점에서 총 종자량의 반(각 플라스크 당)을 덜어내 나머지 종자를 48hr까지 처리하여 이중으로 실험을 진행하였다.

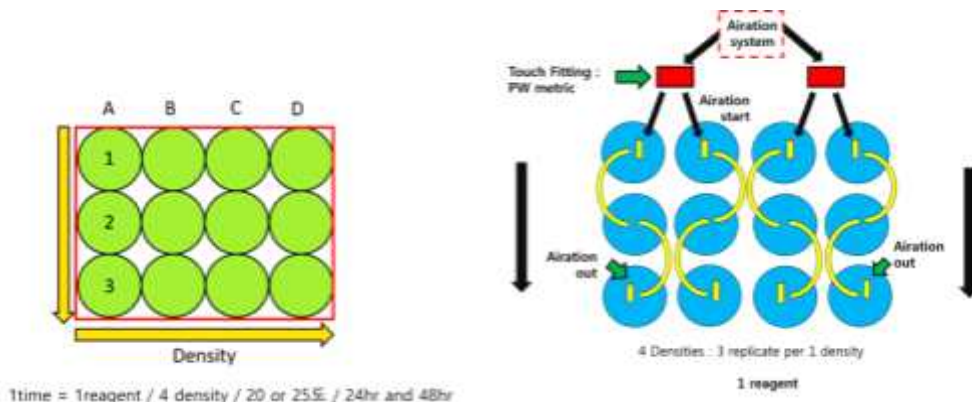


그림 9. 소규모 프라이밍 처리 기기의 실험과정(변경후)
(좌: 실험조건설정, 우:Airation 처리과정)

- 이러한 방법은 처리작업도 번거롭고 처리시간도 오래 걸리는 어려운 상황에서 Airation의 역류도 심각하여 샘플량의 한계와 작업시간의 지체로 이어졌으며, 각 실험군의 오차가 발생될 수 있는 여지가 있었다. 1차년도 연구방법에 기술한 대로 프라이밍 기기를 예비 조건표와 같이 진행한 결과, 본 연구가 진행될 때에 종자량을 최대로 늘려서 실험하는 과정에서 역류 현상이 심각하게 발생하였고 이로 인하여 종자를 충분히 처리하지 못해 결과 추후에 확인 시에 필요한 종자량 확보(코레곤 및 종자원 두곳이 함께 확인할 수 있는 종자량)가 어려울 것으로 확인되었다.
- 따라서 각 실험군의 종자량 확보 및 샘플의 기기 및 과정에 대한 수정이 필요하다 판단되어, 그림 9와 같이 각 실험군(플라스크)에 대한 배치 및 Airation 호스주입설계를 변경하여 본 연구에 적용하였다. 수정된 Airation 기기방식을 적용하게 되면 호스로 전체를 연결하는 방식보다 훨씬 실험처리의 안정성이 높아질 것이며, 1회 실험조건(1시약)에서 각 실험군당 3반복으로 각 실험군당 최대 확보 종자량(750g)을 품목별로 동일하게 확보가 가능하며, 각 실험군으로 연결된 Airation 호스는 역류현상을 줄이고, 역류가 일어나더라도 같은 샘플군으로 실험처리군 간의 오염요소를 배제하게 되어 결과의 신뢰성을 확보할 수 있을 것으로 생각됨으로 2차년도에는 수정된 방식으로 적용하고자 한다(그림 9).

프라이밍 처리 조건에 따른 수박 종자의 발아결과

- 본 연구에 사용된 수박A 종자에 대하여 국립종자원의 기내발아검사를 1차적으로 진행하였다. 그 결과, 치상 후 1차 조사일(5일째)에 발아율 34%, 2차 조사일(10일째) 발아율 77%, 최종발아율(14일째)이 96%의 결과를 보였다. 발아율이 자연적으로 저하된 종자를 찾아 프라이밍 실험을 통해 발아율 향상을 확인하는 것이 당초의 예상목표였으나, 자연적으로 발아율이 퇴화된 종자를 확보하는 것은 사실상 매우 어려워 현재의 조건에서 프라이밍 처리변화를 확인하는 기준은 프라이밍 처리된 종자의 발아세를 치상 후 최종 발아일까지 매일 확인하여 처리효과에 대한 분석을 하고자 하였다.
- 이와 더불어 조건별로 나타나는 비정상묘의 출현 비율에 대한 확인도 함께 진행되었다. 1차년도에 진행된 실험은 예비조건실험으로서 프라이밍 처리시의 기본적인 조건(처리시간, 온도 등)을 확보하고자 하였으며, ISTA 발아율을 확인하는 기준도 국립종자원과 지속적으로 맞추어 나가야하는 과정이 필요하였다. 종자원의 경우, 수박 A종자의 최종 발아율은 96%(14일 기준), 77%(10일 기준)였으나, 본 연구기관에서 ISTA(Pleated paper)방식을 똑같이 적용하여 완전묘만을 확인한 결과 표 11과 같이 85%(10일)를 보여 검사자에 따라 육안으로 검정하는 평가기준이 달라질 수 있는 차이를 맞추어 나갈 예정이다. 발아검사의 편차를 줄여나가면서 앞으로의 실험과 검정이 원활히 진행되기 위하여 발아검정에 소요되는 총 시간을 앞당겨 조기에 완료하기로 하였다. 수박과 대목의 총 발아기간은 14일인 품목에 대해서 8일로 조기 완료하여 진행하는 방식을 채택하였다.
- 적정 프라이밍 처리 시간을 선별하기 위하여 수박을 KNO₃, PEG6000, PEG8000의 예비 선정 농도로 프라이밍 처리하고 발아세/발아율로 처리군 간에 차이를 확인하였다(표 11). 그 결과, 24hr 처리하였을 때의 각 시약 및 농도별에서 Control(최종발아율, 85%)과 비교하였을 때, 최소 2%(PEG 6000, -0.1MPa)에서 최대 10%(KNO₃ 처리군, PEG6000, 0.3%)까지의 최종 발아율의 증가를 보였으며, 대체로 프라이밍 처리 시에 발아율이 증가되는 양상을 나타냈다.

48hr의 경우, Water 처리군의 발아율 변화가 나타나지 않았으며, KNO₃에서는 발아율이 최대 10%로 감소하였다. PEG6000의 경우, 0.3% 처리군에서 10% 증가되는 양상을 보였으나 Germination rate(R)에서 Control과 비교하였을 때 큰 변화가 나타나지 않았다. PEG8000에서도 프라이밍 처리 시 최종 발아율이 증가되는 양상을 보였으나 R값의 변화가 크게 나타나지 않았다. 결과적으로, 프라이밍 처리는 종자활력에 영향을 미치고, 발아율을 증가시키는 효과를 나타낼 것으로 생각되어지며, 특히 24hr에서 처리하였을 때에 발아세도 함께 증가될 것으로 예측된다(표 11).

- 이와 더불어 20°C에서 24hr처리가 종자에 긍정적인 영향을 미칠 것으로 생각되어지는 결과가 프라이밍 처리시간에 따른 비정상묘 출현율에서 나타났다. 24hr의 실험군에서 48hr을 처리했을 때 보다 비정상묘의 출현이 적게 나타났다. 뿐만 아니라 Control에서 비정상묘 출현율이 1.1%-1.2% 정도로 나타난 것과 비교해 프라이밍 처리 시(24hr)에 비정상묘의 출현이 줄어드는 양상을 보였다. 48hr에서는 24hr과 비교하여 비정상묘 출현이 증가되므로 결과적으로 프라이밍 24hr처리가 효과적으로 판단된다. PEG6000과 PEG8000의 경우는 -0.1MPa의 농도에서 경제적 효율성 및 처리 효과에서도 큰 변화를 확인하기 어려웠으며, KNO₃의 경우 선정된 농도에서 대부분 효과적일 것으로 판단되어 농도 범위를 낮추는 방안으로 하여 시약의 농도범위를 다시 고려하였다. 결론적으로 48hr시간에서는 단기적인 측면에서는 발아율 상승에 효과적인 부분이 있을 수도 있으나, 비정상묘 출현율 상승 및 처리효율성 측면에서는 적합하지 않아 배제하고자 한다 (표 12, 그림 10).

표 11. 시약프라이밍 처리시간(20°C)에 따른 발아율 변화 결과

Seed treatment		20°C			
		24hr		48hr	
Priming chemical		GP ^z (%)	R ^y (per day)	GP (%)	R (per day)
KNO ₃	50mM	95 ^a	0.07	81 ^b	0.05
	100mM	95 ^a	0.08	84 ^b	0.06
	200mM	95 ^a	0.08	75 ^b	0.05
PEG6000	0.3%	95 ^a	0.08	82 ^b	0.05
	0.7%	93 ^a	0.07	94 ^a	0.05
	1.0%	94 ^a	0.07	95 ^a	0.06
	(-0.1MPa)	87 ^b	0.06	91 ^a	0.05
PEG8000	0.3%	94 ^a	0.08	94 ^a	0.06
	0.7%	93 ^a	0.07	92 ^a	0.06
	1.0%	91 ^{ab}	0.07	95 ^a	0.06
	(-0.1MPa)	90 ^{ab}	0.07	82 ^b	0.05
Control		85	0.06	85	0.06
Water		94	0.08	85	0.06
Significant			*		*

z : Germination percentage(GP)

y : Germination rate(R)

* Significant at the 0.05 level of probability

Means separation within columns by One way ANOVA and

Duncan's multiple range test, P=0.05

표 12. 프라이밍 처리 시간에 따른 비정상묘 출현율

Seed treatment		20°C			
		24hr		48hr	
Priming chemical		GP ^z (%)	Abnormal (%)	GP (%)	Abnormal (%)
KNO ₃	50mM	95 ^a	0.4	81 ^b	5
	100mM	95 ^a	0	84 ^b	2.5
	200mM	95 ^a	0	75 ^b	0.3
PEG6000	0.3%	95 ^a	1	82 ^b	1.1
	0.7%	93 ^a	0	94 ^a	1
	1.0%	94 ^a	0.4	95 ^a	2.2
	(-0.1MPa)	87 ^b	0	91 ^a	3
PEG8000	0.3%	94 ^a	0	94 ^a	0.5
	0.7%	93 ^a	0	92 ^a	1.5
	1.0%	91 ^{ab}	0.4	95 ^a	0.7
	(-0.1MPa)	90 ^{ab}	0	82 ^b	15.4
Control		85	1.2	85	1.1
Water		94	0	85	5.3
Significant			*		*

z : Germination percentage(GP)

y : Abnormal seedling percent

* Significant at the 0.05 level of probability

Means separation within columns by One way ANOVA and Duncan's multiple range test, P=0.05

그림 10. 프라이밍 처리(48hr)된 수박종자의 발아검사과정



수박 2차 기내상토발아검사 결과

- 프라이밍 처리에 적합한 조건으로 선발된 20°C/24hr에 대한 기내상토발아검사를 처리군당 50립씩 2반복으로 총 4일간(2016.10.17. ~ 2016.10.21.) 진행하였다. 그 결과, Control과 비교하여 모든 처리군의 발아세가 향상되었으나 PEG8000 (0.3%)를 제외하고는 발아율 향상으로까지 최종적으로 그 효과를 확인할 수 없었다. 기내상토발아에서 파종 립수 및 반복수를 늘려 상토조건에서의 발아율 및 균일성을 확인하는 과정을 통해 프라이밍 조건 선발에 보다 효과적으로 활용하고자 하였다(표 13, 그림 11).

표 13. 프라이밍 처리 조건(20°C/24hr)에 따른 기내상토발아율

Seed treatment		20°C/24hr	
		Day 3	Day 4
Priming chemical		GP ^z (%)	GP (%)
KNO ₃	50mM	24	90
	100mM	21	89
PEG6000	0.3%	16	68
	0.7%	17	90
	1.0%	16	90
PEG8000	0.3%	24	99
	0.7%	16	80
	1.0%	14	85
Control		9.5	93
Water		22	90

z : Germination percentage(GP)

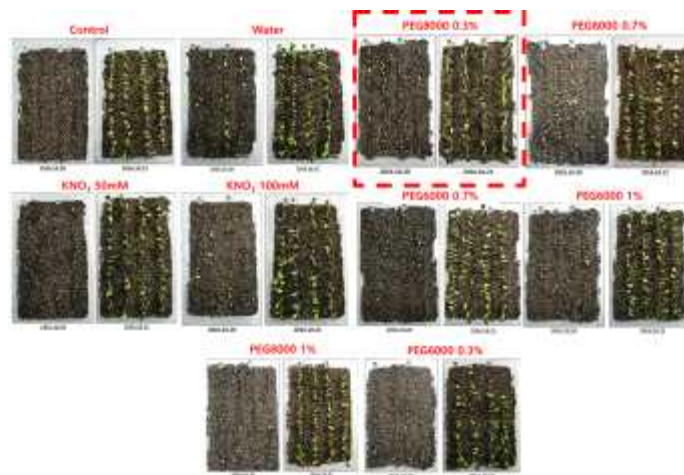


그림 11. 기내상토발아검사결과(20°C/24hr)

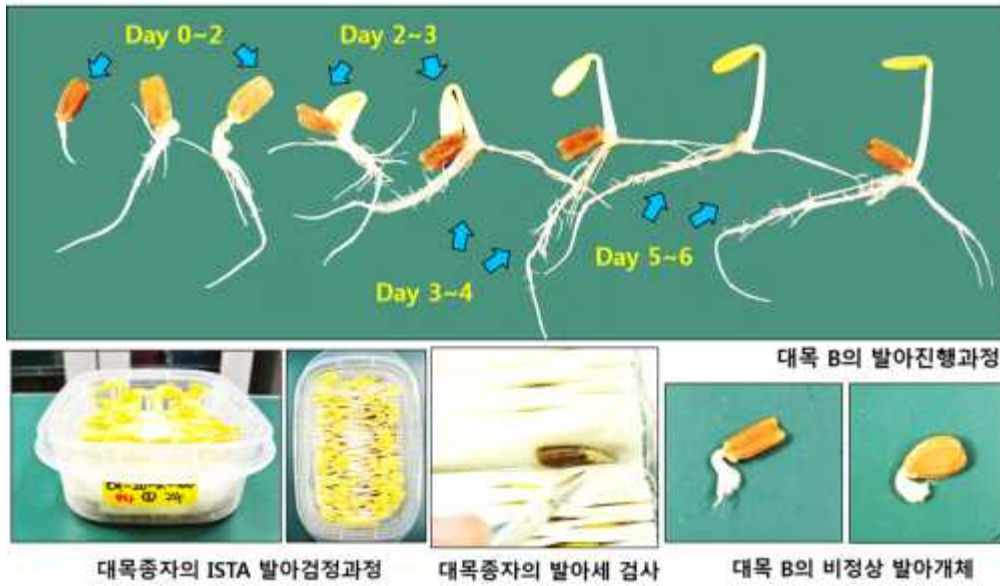


그림 12. 대목의 기내발아검사과정(20℃/24hr)

표 14. 대목의 프라이밍 처리 조건에 따른 기내 상토발아검사결과

Seed treatment		20℃/24hr	
		Day 5	Day 6
Priming chemical		GP ^z (%)	GP (%)
KNO ₃	50mM	73	97
	100mM	69	95
	200mM	63	96
PEG6000	0.3%	53	96
	0.7%	43	94
	1.0%	42	90
	(-0.1MPa)	27	77
PEG8000	0.3%	57	95
	0.7%	69	89
	1.0%	64	95
	(-0.1MPa)	33	78
Control		39	92
Water		54	99

z : Germination percentage(GP)

프라이밍 처리(25℃) 조건에 따른 수박 종자의 발아결과

- 위의 결과에 따라 1차 시약군의 처리 농도 범위를 수정하여 적용하였다. KNO₃의 경우 전반적으로 농도에 따른 발아율 향상이 증가되어 10mM의 농도를 추가하여 농도처리의 최소한 계치를 확인하고자 하였으며, PEG6000과 8000의 경우 0.3%-1%의 농도범위에서 효과적인 측면이 있어 -0.1MPa농도를 제외하고, 0.3%, 1%, 3%, 5%의 범위로 재설정하여 적용하였다(표 15, 그림 13). 수정된 1차 시약군에 대하여 수박 종자를 25℃/24hr에서 처리한 결과, Control (non-primed)과 비교하여 KNO₃를 제외한 Water, PEG6000, PEG8000 처리군에서 발아율이 떨어지는 결과를 나타내었으며 수발아가 모든 처리군에서 전반적으로 나타나 본 연구과제의 조건에서 25℃ 처리군은 적합하지 않은 것으로 판단하고 조건에서 배제하기로 결정하였다.



그림 13. 25℃/24hr 처리군에서 나타나는 수발아 현상

표 15. 프라이밍 처리 조건(25℃/24hr)에 따른 발아율

프라이밍 처리 결과 25℃									
KNO ₃			PEG6000			PEG8000			
Concentration	GP ^z (%)	R ^y (per day)	Concentration	GP ^z (%)	R ^y (per day)	Concentration	GP ^z (%)	R ^y (per day)	
10mM	93 ^{ab}	0.1	0.3%	92 ^{bc}	0.08	0.3%	92 ^{ab}	0.09	
50mM	94 ^a	0.09	1.0%	89 ^e	0.08	1.0%	90 ^{a-c}	0.08	
100mM	95 ^a	0.09	3.0%	80 ^e	0.08	3.0%	87 ^{cd}	0.08	
200mM	94 ^{ab}	0.08	5.0%	83 ^e	0.08	5.0%	84 ^{de}	0.08	
			GP				R		
Control			92			0.08			
Water			88.5			0.08			
Significant					*				

z : Germination percentage(GP)

y : Germination rate(R)

* Significant at the 0.05 level of probability

Means separation within columns by One way ANOVA and Duncan's multiple range test, P=0.05

박과종자처리를 위한 프라이밍 처리 조건 설정

- 1차시약군(KNO₃, PEG6000, PEG8000)에 대하여 수박 프라이밍 처리를 조건별(20℃, 24hr/48hr)로 진행하였다. 24hr처리군과 48hr처리군 모두 Control 보다 발아율이 향상되었고 24hr 조건이 48hr보다 발아세/발아율이 증가되고 비정상묘 출현율이 감소하였다. 이에 따라 본 연구과제에서는 위의 결과와 더불어 경제적 효율성 및 작업용이성을 고려하였을 때 24hr 처리조건을 선발하였다. 프라이밍 처리를 하는 과정에 있어서 KNO₃와 PEG 시약군은 가시적인 차이가 확실히 나타났다. 비이온성 계면활성제의 특성상 처리시간이 경과될수록 플라스크 안에 거품이 발생되고, 미끌거리는 시약의 특성 때문에 세척 시에 매우 세밀하게 수세하는 과정이 필요하였다. 일반적으로 종자처리(프라이밍, 필름코팅 등) 후의 과정은 최대한 빨리 건조시키는 것이 종자처리효과를 유지하는데 중요한 부분이다. 즉, 거품발생이 많이 생겨나면 수세하는 과정이 길어지게 되고 결과적으로 현장에서의 처리과정이 번거로워지게 된다. 이러한 경우 소포제(Defomer)를 추가로 적용해 사용하기도 하지만 가급적 본 연구에서는 종자에 시약간의 혼재처리는 배제하고자 한다. 따라서 최대한 PEG6000, 8000의 시약처리농도는 거품이 적게 발생되고 시약사용소비량을 최대한 줄여 환경적 피해발생 및 물소비량을 줄이고자 하였다. 재설정된 농도는 KNO₃: 10mM, 50mM, 100mM, 200mM / PEG6000/8000: 0.3%, 1% 3% 5%이며, 그 외 조건은 앞서 선발된 20℃/24hr을 적용하여 소규모(Lab scale) 실험 및 음파처리 실험에도 함께 적용하였다.

B) 2차년도(2017.01.01. - 2017.12.31)

소형(Lab scale) 프라이밍 기기를 이용한 박과종자처리 연구 및 조건선발

- 박과 종자(5품목)에 총 9개의 시약별/농도별(4가지)로 처리한 180개의 샘플을 (주)코레곤에서 ISTA 발아검정(4반복)을 거쳐 1차 선발군을 정하여 국립종자원으로 전달하고, 교차검정을 통해 최종 선발 하였다.
- 수박에서는 Control(92%)과 비교하여 KNO₃, KCl, NaNO₃, Ca(NO₃)₂ 등 대부분의 시약 처리군에서 최종발아율(GP, Germination percentage)이 최소2%에서 최대 7% 증가하였으며, Water처리군(98%, 0.41)과 시약처리군의 발아율을 비교하였을 때 큰 차이를 보이지 않았으나 발아속도(R, 최대 0.06)에서는 큰 차이를 보였다. PEG6000에서는 농도가 높을수록 5%(95%), PEG8000는 농도가 낮을수록 0.3%(95%), D-Mannitol은 200mM(97%)에서 Control과 비교하여 발아율의 증가를 보였다.
- 최종발아율의 증가 및 발아속도(Germination rate, R)를 비교하여 1차 시약선발군(15ea)을 선별하여 국립종자원과의 교차선발을 진행한 결과, KNO₃ 100mM, KCl 100mM, NaNO₃ 50mM에 대하여 프라이밍 처리 효과가 있는 시약 및 농도조건으로 결정하였다. 대목결과에서는 Control(99%)의 발아율이 매우 좋은 상태임을 감안하였을 때 이러한 경우 처리된 종자가 무처리 종자에 발아율이 오히려 저하되는 결과가 나타날 수 있기에 최종발아율로 확인하기가 어려울 것으로 판단하였다.
- 발아속도는 대체로 모든 처리군에서 0.01에서 0.04까지 증가하였으나 발아율은 예상대로 감소되는 경향을 보였다. 발아율이 감소되는 경향들 가운데 KNO₃ 처리군(100mM, 150mM, 200mM)에서 다른 처리군들에 비해 발아율이 최대한 유지되며 발아속도가 증가되는 결과를

나타냈다. 대목에서는 총 15개의 1차 선발군에 대하여 교차검정을 하였고 그 결과, KCl 100mM(99%, 0.33)처리군이 우선 결정되었으나, KNO₃ 100mM에 대하여도 음과처리실험 후 선발에 대해 결정하였다. 호박의 경우, Control(97%)과 비교하여 시약 처리군에서 3%감소(94%)에서 최대 2%(99%)증가폭을 보였다. 대목과 비슷한 경우로 발아속도를 비교한 결과, KCl의 경우 100mM, 150mM, 200mM에서 발아율 증가 및 발아속도(0.55)로 Control과 비교하여 0.04 증가되었고, 50mM에서는 발아율이 감소되나 발아속도(0.5)가 증가됨을 확인할 수 있었다.



그림 14. ISTA 발아검사검정 과정

- 시약선발군(15ea)에 대하여 교차검정을 진행하였으며 KCl 100mM 조건을 가장 긍정적 결과로 평가하고 있다. 오이의 경우, Control(94%, 0.33)과 비교하여 시약처리군의 발아율은 최대 5% 감소되었고 최대 2% 증가하였으며, 발아속도는 모든 처리군에서 최소 0.07에서 최대 0.15로 증가하였다. 1차 선발(15ea)군 중에서 PEG8000(3%), NaNO₃(100mM), KNO₃(100m) 시약군에서 발아율 및 발아속도가 증가하여 최종 선발하였다. 멜론의 경우, Control(95%, 0.44)와 비교하여 발아율에서 최대10% 감소에서 최대1% 증가하였다. 멜론의 경우, KNO₃와 KCl 실험군에서 발아율이 유지 또는 증가(1%)되는 경향을 보였으며 발아속도는 모든 처리군에서 최대 0.07까지 증가하였다.
- 1차 선발(16ea)을 종자원과의 교차검정을 진행하였으며 KNO₃(10mM), KCl(200mM)로 최종 선발하였다. 시약별/농도별/품목별 프라이밍 처리결과를 통하여 Control(무처리종자)와 비교하여 시약프라이밍에 노출된 그룹의 발아율 및 발아속도에 영향을 미치는 결과를 확인하였으며, Water 처리군과의 비교에서는 대체로 비슷한 효과를 나타냈었으며, Water처리 군보다 효과적인 결과를 나타내는 품목의 처리군(KNO₃, KCl, NaNO₃ 등)도 일부 확인되었다.
- 본 연구에서는 프라이밍 처리된 종자의 활력유지기간을 저장평가(처리직후 6개월 또는 1년 뒤 : 연구상황에 따라 기간이 변동됨)를 통해 프라이밍 처리의 최적 조건을 전체적으로 판단할 예정이다. 위에서 교차검정을 통해 선발된 각 품목별 처리조건에 대하여 음과처리와 함께 다양한 프라이밍처리 방법의 개발과 조건을 확인하고자 하였다(표 16, 그림 14).

표 16. 박과 종자의 시약 프라이밍(소규모) 처리 결과 및 선발과정

Seed treatment		Watermelon		Rootstock		Squash		Cucumber		Melon	
Priming chemical		GP ^z (%)	R ^y (per day)	GP (%)	R (per day)	GP (%)	R (per day)	GP (%)	R (per day)	GP (%)	R (per day)
KNO ₃	10mM	97 ^{cd}	0.42	97 ^c	0.3	94 ^h	0.45	93 ^g	0.45	96 ^c	0.51
	50mM	97 ^{cd}	0.44	99 ^a	0.33	94 ^h	0.47	94 ^{de}	0.45	96 ^c	0.5
	100mM	98 ^{a-c}	0.44	100 ^a	0.35	96 ^{ef}	0.52	96 ^{ab}	0.46	96 ^c	0.5
	200mM	95 ^e	0.44	99 ^a	0.33	98 ^c	0.54	96 ^{a-c}	0.45	95 ^d	0.5
KCl	50mM	95 ^{ef}	0.45	97 ^c	0.3	96 ^{ef}	0.5	92 ^{f,h}	0.42	95 ^d	0.49
	100mM	99 ^a	0.47	99 ^a	0.33	99 ^{ab}	0.55	94 ^{de}	0.42	93 ^f	0.5
	150mM	98 ^{a-c}	0.47	98 ^b	0.33	99 ^{ab}	0.55	94 ^{de}	0.42	95 ^d	0.5
	200mM	99 ^{ab}	0.47	98 ^b	0.33	99 ^{ab}	0.55	93 ^{ef}	0.42	96 ^c	0.5
NaCl	50mM	85 ^m	0.3	99 ^a	0.32	92 ⁱ	0.4	90 ^j	0.3	86 ^l	0.32
	100mM	89 ^k	0.32	98 ^b	0.32	95 ^g	0.42	91 ^{hi}	0.32	89 ^j	0.33
	150mM	87 ^l	0.33	97 ^c	0.31	94 ^h	0.41	92 ^{f,h}	0.35	88 ^k	0.35
	200mM	87 ^l	0.32	99 ^a	0.32	94 ^h	0.41	91 ^{g-i}	0.33	90 ⁱ	0.37
NaNO ₃	50mM	99 ^a	0.46	93 ^g	0.3	97 ^d	0.49	95 ^{b-d}	0.45	89 ^j	0.4
	100mM	98 ^{bc}	0.4	93 ^g	0.31	99 ^{ab}	0.51	96 ^{ab}	0.45	93 ^f	0.45
	150mM	98 ^{bc}	0.44	92 ^h	0.29	99 ^a	0.53	94 ^{de}	0.45	93 ^f	0.46
	200mM	98 ^{a-c}	0.45	94 ^f	0.3	95 ^g	0.5	94 ^{de}	0.48	94 ^e	0.46
D-mannitol	50mM	92 ^j	0.35	96 ^d	0.31	96 ^{ef}	0.31	93 ^{ef}	0.41	92 ^g	0.36
	100mM	93 ^{hi}	0.39	97 ^c	0.3	95 ^g	0.35	91 ^{hi}	0.4	90 ^j	0.3
	150mM	94 ^{fg}	0.44	99 ^a	0.3	95 ^g	0.37	93 ^{ef}	0.41	91 ^h	0.31
	200mM	97 ^{cd}	0.44	97 ^{cd}	0.3	94 ^h	0.3	93 ^{ef}	0.42	91 ^h	0.34
Ca(NO ₃) ₂	50mM	96 ^{de}	0.4	93 ^{gh}	0.25	94 ^h	0.5	89 ^{jk}	0.4	92 ^g	0.4
	100mM	96 ^{de}	0.42	94 ^f	0.28	94 ^h	0.5	91 ^{hi}	0.4	91 ^h	0.38
	150mM	98 ^{ab}	0.45	99 ^a	0.31	96 ^{de}	0.52	92 ^{f-h}	0.43	93 ^f	0.38
	200mM	98 ^{a-c}	0.46	98 ^b	0.29	95 ^{fg}	0.5	92 ^{f-h}	0.42	93 ^f	0.35
PEG6000	0.30%	83 ⁿ	0.31	91 ⁱ	0.33	95 ^g	0.52	94 ^{de}	0.44	88 ^k	0.4
	1%	91 ^l	0.3	94 ^f	0.33	94 ^h	0.5	93 ^{ef}	0.4	89 ^j	0.41
	3%	92 ^{ij}	0.34	94 ^f	0.33	93 ^h	0.51	91 ^{g-i}	0.41	90 ⁱ	0.45
	5%	95 ^{e-g}	0.41	96 ^d	0.33	98 ^c	0.52	93 ^{ef}	0.4	92 ^g	0.46
PEG8000	0.30%	95 ^{e-g}	0.4	98 ^b	0.33	95 ^g	0.49	94 ^{de}	0.4	85 ^m	0.32
	1%	89 ^k	0.34	95 ^c	0.31	98 ^c	0.49	96 ^{ab}	0.45	89 ^j	0.33
	3%	82 ^o	0.3	92 ^h	0.29	96 ^{ef}	0.51	95 ^{b-d}	0.47	90 ^j	0.45
	5%	77 ^p	0.29	93 ^g	0.31	96 ^h	0.5	95 ^{b-d}	0.45	89 ^j	0.35
Control		92	0.35	99	0.29	97	0.46	94	0.33	95	0.44
Water		98	0.41	99	0.33	97	0.51	93	0.41	93	0.49
Significant			*		*		*		*		*

z : Germination percentage(GP)

y : Germination rate(R)

* Significant at the 0.05 level of probability

Means separation within columns by One way ANOVA and Duncan's multiple range test; *P*=0.05

초음파(음파) 프라이밍 처리를 위한 예비조건 설정 연구

- 기존에는 초음파(20kHz 이상)범위에서 종자처리 조건을 연구하는 것이 목표였으며 1차 개발되어 공급된 기기도 최대출력일 때 초음파출력으로 조건을 설정할 수 있었다. 그러나 최대출력으로만(단일조건) 처리가 가능한 부분과 최대출력으로 진행하였을 때 발생하는 소음 및 기기자체의 과부하가 나타날 수 있는 문제점으로 인해 기기를 2차로 재정비하기로 하였다. 기기를 다시 수정하기까지 걸리는 기간(부품구입 및 관련 설계를 진행하는 시간이 소요되기에)동안 우선적으로 음파(Sound Wave)단계에서도 처리 효과가 있는지 여부를 확인하는 실험에 착수하였다. 음파(Sound wave)는 인간이 들을 수 있는 가청주파수(20 - 20,000Hz)로서 식물성장을 촉진 또는 억제하는데 영향을 미친다는 보고가 있으며(Bochu, 1998/2001; Zhao, 2000; Liu, 2001; Yiyao, 2002; Yang, 2002/2003), 종자(콩)에 2-6kHz의 음파처리를 하였을 때 발아속도증가 및 형성에 관여하며(Alisa, 2016), 총 발아기간을 단축시켰다는 연구보고가 있다(N.Wang, 2014).
- 이러한 근거를 바탕으로 본 연구에도 초기 연구자료로 적용하기에 충분할 것으로 판단되어 진행하였다. 종자에 음파(Sound wave)를 처리할 때에도 기기 내 용액의 온도가 변화되는 문제가 발생되었기에 조건이 일정하게 유지되지 않는 문제점이 있었으나 최대 처리용액량 (Volume, L)를 20L로 하여 진행하였다.

표 17. 2차년도 음파처리 조건 선발실험

Liquid condition	Wave output	Treatment	Wave priming time	Total priming time
Water base	7.83kHz (30%)	Wave only	30min	30min
		Wave only	1hr	1hr
		Wave + water priming	30min 1hr	24hr
	15.66kHz (60%)	Wave only	30min	30min
		Wave only	1hr	1hr
		Wave + water priming	30min 1hr	24hr

- 본 연구에서는 박과 종자의 발아에 음파가 미치는 영향을 확인하기 위해 연구과제에서 개발된 초음파(음파) 처리기기(40L)의 조건 설정연구를 진행하였다. 수박종자를 20°C/20L(Water) 조건에서 음파출력 30%(7.83kHz)와 60%(15.66kHz)로 총 프라이밍 시간 1. 음파출력처리시간과 동일(30min/1hr) 2. 총 24hr 프라이밍(음파출력(30min / 1hr)처리시간 포함) 군으로 나누어 진행하였다(표 17). 음파출력(%)범위의 조건 연구를 진행한 결과, Control(97%, non-primed)과 비교하여 30%-30min(97%)처리군을 제외하고 최대 2% 발아율이 증가되었으며, 음파처리시간과 동일하게 프라이밍을 끝낸 실험군의 결과와 비교하여 음파처리시간(30min/1hr) 포함 총 프라이밍을 24hr처리한 실험군의 결과가 발아율 및 속도(최대0.05)까지 증가를 나타내었다(표 18).
- 30%(7.83kHz)와 60%(15.66kHz)음파출력처리만으로는 수박종자의 발아율과 발아속도를 함께 증가시키기는 어려울 것으로 생각되며, 60% 처리출력에서 발아율 변화폭 및 발아속도증가가 더욱 효과적일 것으로 판단하여 Water 및 시약선발군을 60% (15.66kHz)와 함께 처리하는 프라이밍 효과검정을 진행하였다. 3차년도에 진행될 초음파처리 기기를 이용한 박과종자 프라이밍

기술연구에서도 음파처리실험의 결과를 토대로 예비실험을 통해 처리 적용범위를 선별하고 초음파 영역대의 조건을 설정하고, 선별된 초음파와 시약프라이밍을 함께 처리하여 확인하고자 하였다.

표 18. 수박 종자의 음파처리 결과

Seed treatment	Watermelon	
	GP ^w (%)	R ^v (per cent)
30% ^z -30min ^y	97 ^d	0.28
30%-1hr	98 ^{cd}	0.25
30%-30min-24hr ^x	99 ^{ab}	0.34
30%-1hr-24hr	98 ^{bc}	0.37
60%-30min	98 ^{bc}	0.32
60%-1hr	99 ^{ab}	0.29
60%-30min-24hr	99 ^{a-c}	0.35
60%-1hr-24hr	99 ^a	0.38
Control	97	0.33
Significant	**	

z : wave output percent in water condition
y : wave treating time in water condition
x : total priming time in water condition
w: Germination percentage(GP)
v : Germination rate(R)
** Significant at the 0.01 level of probability
Means separation within columns by One way ANOVA and Duncan's multiple range test
P=0.05

초음파(음파) 프라이밍 기기를 이용한 박과종자처리 연구 및 조건선발

- 박과(수박, 대목, 오이, 멜론)종자에 선별된 60%(15.66kHz) 음파조건과 Water/선발시약 처리군을 함께 음파(26.1kHz)기기에서 각 품목별/용액조건별/음파처리시간별로 프라이밍 효과를 확인하였다. 본 연구에서는 음파처리시간(30min/1hr/2hr/3hr)에 차이를 두어 처리하고 이를 포함 총 프라이밍 시간을 24hr으로 설정하여 진행하였다. 그 결과, 수박에서는 Control(99%, 0.39)와 비교하여 Water/KCl 100mM /NaNO₃ 50mM의 발아율이 최대 4%에서 최소 1%가 감소되는 결과를 보였다. 이러한 경우는 시약스크리닝의 결과에서도 기재하였듯이 Control자체의 발아율이 매우 높을 경우 예상되어지는 부분이기도 하나 종자처리군의 경우 발아율을 유지하거나 또는 감소되는 폭이 적은 처리군 및 발아속도가 증가되었는지 여부를 통해 의미를 해석하고자 하였다. 시약처리군의 경우 water 처리군에 비해 음파처리시간이 높아질수록 발아율이 유지되는 양상을 보였으며, 발아속도는 오히려 Water처리군 보다 최대 0.04에서 최소 0.01로 줄어드는 것을 확인하였다. 대목의 경우, Control(84%, 0.12)와 비교하여 발아율은 최소 11%에서 최대 14%까지 증가하였으며, 모든 실험군에서 발아속도 증가를 확인할 수 있었다. Water의 경우, 수박과 유사하게 음파처리 시간이 길어질수록 발아율이 감소되는 것을 확인하였으며 이에 비해 시약처리군(KCl 100mM)에서는 음파 처리시간이 증가되어도 유지하였다. 오이의 경우, Control(95%, 0.32)와 비교하여 전반적으로 발아율이 최대 11%에서 최소 1% 감소되고, 발아속도는 최대 0.08 증가되는 결과를 나타내었다. 음파처리시간이 길어질수록 모든 처리군에서 발아율이 최대 10% 감소되었으나 발아속도는 증가된 상태를 유지하였으며, NaNO₃-음파(30min/1hr)처리에서 발아율/발아속도가 증가되는 결과를 나타냈다.

- 멜론의 경우, Control(90%, 0.36)과 비교하여 음파처리 시간이 지속될수록 발아율이 최대

5%감소되었으며, 30min/1hr 처리 시 발아율이 증가(최대 3%) 및 유지되었으며, 발아속도도 최대 0.08에서 최소 0.01로 증가를 보였다. 시약처리군의 경우, KNO₃ 10mM-30min에서 발아율 및 발아속도가 증가되었다(표 19). 결과적으로, 박과 품목에서는 60%(15.66kHz)의 음파조건에서 30min/1hr 처리 시 발아율 및 발아속도가 증가되었으며, 결과적으로 발아속도를 증가시켜 총 발아율 기간을 단축시키고, 발아율이 저하되는 종자의 경우 발아율증가를 유도할 수 있을 것으로 생각되어진다. 뿐만 아니라 Water처리의 경우 시약 처리군과 비교하여 발아율 및 발아속도가 증가되는 결과를 보이므로 가장 경제적/환경적으로 효과적인 처리조건이라고 판단되나 처리 후 종자활력유지기간 및 저장조건에 따른 결과와 함께 최종적으로 판단할 필요성이 있다고 생각되어진다.

표 19. 2017년 중대형 음파(15.66kHz) 및 시약 프라이밍 처리 후 선발과정

Seed treatment								
Variety	Chemical+Wave ^z	GP ^y (%)	R ^x (per day)	Variety	Chemical+Wave	GP (%)	R (per day)	
Watermelon	Water-30min	97 ^{bc}	0.42	Rootstock	Water-30min	97 ^b	0.17	
	Water-1hr	96 ^{bc}	0.41		Water-1hr	98 ^a	0.22	
	Water-2hr	98 ^b	0.4		Water-2hr	96 ^b	0.2	
	Water-3hr	95 ^d	0.4		Water-3hr	93 ^d	0.19	
	KCl 100mM-30min	97 ^{bc}	0.39		KCl 100mM-30min	97 ^b	0.19	
	KCl 100mM-1hr	97 ^{bc}	0.39		KCl 100mM-1hr	97 ^b	0.2	
	KCl 100mM-2hr	97 ^{bc}	0.38		KCl 100mM-2hr	97 ^b	0.2	
	KCl 100mM-3hr	98 ^b	0.4		KCl 100mM-3hr	97 ^b	0.2	
	NaNO ₃ 50mM-30min	97 ^{bc}	0.37					
	NaNO ₃ 50mM-1hr	99 ^a	0.38					
	NaNO ₃ 50mM-2hr	96 ^{cd}	0.36					
	NaNO ₃ 50mM-3hr	97 ^{bc}	0.35					
	Control		99		0.39	Control		84
Significant *				Significant *				
Variety	Chemical+Wave	GP (%)	R (per day)	Variety	Chemical+Wave	GP (%)	R (per day)	
Cucumber	Water-30min	93 ^{a-c}	0.34	Melon	Water-30min	92 ^{ab}	0.44	
	Water-1hr	94 ^{a-c}	0.36		Water-1hr	91 ^{a-c}	0.43	
	Water-2hr	93 ^{a-c}	0.34		Water-2hr	87 ^{c-e}	0.39	
	Water-3hr	85 ^d	0.31		Water-3hr	89 ^{a-e}	0.41	
	KNO ₃ 100mM-30min	94 ^{a-c}	0.38		KNO ₃ 10mM-30min	93 ^a	0.42	
	KNO ₃ 100mM-1hr	96 ^a	0.4		KNO ₃ 10mM-1hr	89 ^{a-e}	0.41	
	KNO ₃ 100mM-2hr	92 ^{a-c}	0.38		KNO ₃ 10mM-2hr	89 ^{b-e}	0.39	
	KNO ₃ 100mM-3hr	94 ^{a-c}	0.38		KNO ₃ 10mM-3hr	89 ^{a-e}	0.39	
	PEG8000 3%-30min	84 ^d	0.33		KCl 200mM-30min	90 ^{a-d}	0.4	
	PEG8000 3%-1hr	93 ^{a-c}	0.36		KCl 200mM-1hr	86 ^{de}	0.37	
	PEG8000 3%-2hr	91 ^{bc}	0.35		KCl 200mM-2hr	88 ^{b-e}	0.39	
	PEG8000 3%-3hr	90 ^c	0.36		KCl 200mM-3hr	85 ^e	0.35	
	NaNO ₃ 100mM-30min	96 ^a	0.39					
NaNO ₃ 100mM-1hr	96 ^a	0.39						
NaNO ₃ 100mM-2hr	93 ^{a-c}	0.37						
NaNO ₃ 100mM-3hr	93 ^{a-c}	0.37						
Control		95	0.32	Control		90	0.36	
Significant *				Significant *				

z : Wave treating time(30min-3hr) in selected chemical condition

y : Germination percentage(GP)

x : Germination rate(R)

* Significant at the 0.05 level of probability

Means separation within columns by One way ANOVA and Duncan's multiple range test, P=0.05

- 특히, 음파처리시간이 길어질수록 Water처리군의 발아율이 감소되는 경향을 나타내므로 Water 프라이밍이 진행된 종자는 환경적인 요인에 매우 민감할 것으로 예측된다. Water조건은 프라이밍 연구가 이미 많이 진행되었으며, 종자회사에서도 적용하고 있는 반면에 아직 종자업계에서는 프라이밍처리 종자의 활력유지기간을 6개월에서 1년으로 판단하고 있기 때문이다. 본 연구에서는 이러한 단점을 해결할 수 있는 프라이밍 처리 조건을 찾고자 하는 것이며, 발아율 및 발아속도 증가에 대한 결과와 더불어 발아 균일성 부분도 결과에 포함하여 최적 조건을 선별하고, 지속적으로 국/내외 문헌자료를 통해 실험조건에 추가/검정하였다.

C) 3차년도(2018.01.01. - 2018.12.31)

음파처리(15.66kHz)된 박과종자 저장결과(1년경과)

- 음파처리(2017년도) 된 종자의 1년 후 저장 결과를 확인하기 위하여 상토발아검사를 진행하였다. 당초에는 기내와 상토발아를 함께 확인하고 1년 뒤에도 동일하게 진행할 계획이었으나, 평가해야할 시료의 양과 수리된 기기(36.3kHz)로 다시 실험을 시작해야하는 단계와 맞물려 있어서 기존의 계획으로 진행하지 않고 상토발아검정을 통해 경향 파악만 하는 것으로 결정 후 검정하였다. 저장 결과, 표20과 그림 15.와 같이 대체로 음파 + 시약처리 된 종자들은 대조군(무처리, water만 처리군)에 비해 발아율이 감소하였으며, 가장 많이 감소된 처리군과 발아율 유지에 효과적인 처리군으로 선별하여 결과를 확인하였다.

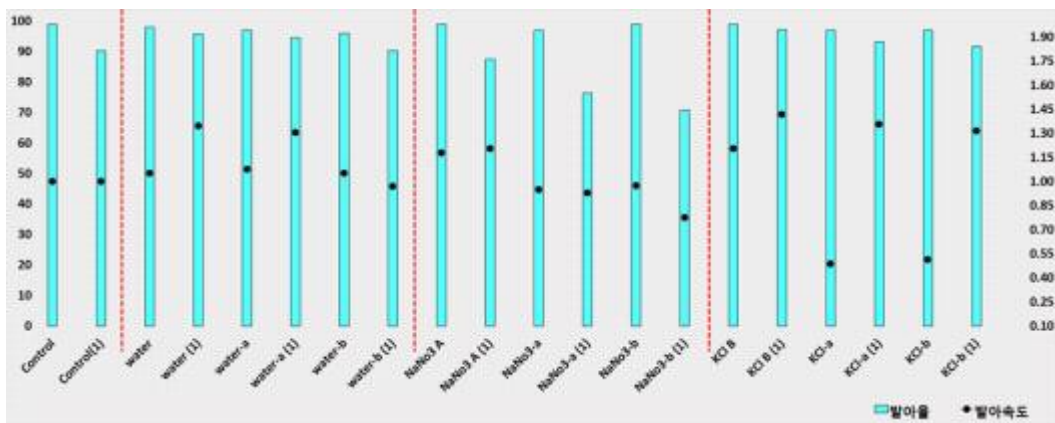
표 20. 박과 종자의 음파처리 1년 후 발아검사결과

대목	발아율	1년후 발아율	오이	발아율	1년후 발아율
Control	84	39	Control	95	88
Water	90	65	water	93	86
Water-a	97	19	Water 60-24-30	93	72
Water-b	98	49	Water 60-24-1	94	86
KCl B-R	99	58	KNO3 C	96	92
KCl 60-24-30	97	25	KNO3 60-24-30	94	93
KCl 60-24-1	97	24	KNO3 60-24-1	96	75
멜론	발아율	1년후 발아율	수박	발아율	1년후 발아율
Control	90	75	Control	99	90
water 60-24-30	92	85	water	98	96
water 60-24-1	91	89	water 60-24-30	97	94
KNO3 60-24-30	93	76	water 60-24-1	96	90
KNO3 60-24-1	89	68	NaNO3 A	99	88
KCl 60-24-30	90	72	NaNO3 60-24-30	97	76
KCl 60-24-1	86	61	NaNO3 60-24-1	99	71
Control-R	95	85	KCl B	99	97
KNO3 B	96	61	KCl 60-24-30	97	93
KCl D	96	82	KCl 60-24-1	97	92

60(초음파 처리 출력%)-24hr(총 프라이밍 처리시간)-30min(초음파 처리시간) / A, B, C, D : 시약만 24hr 처리함.

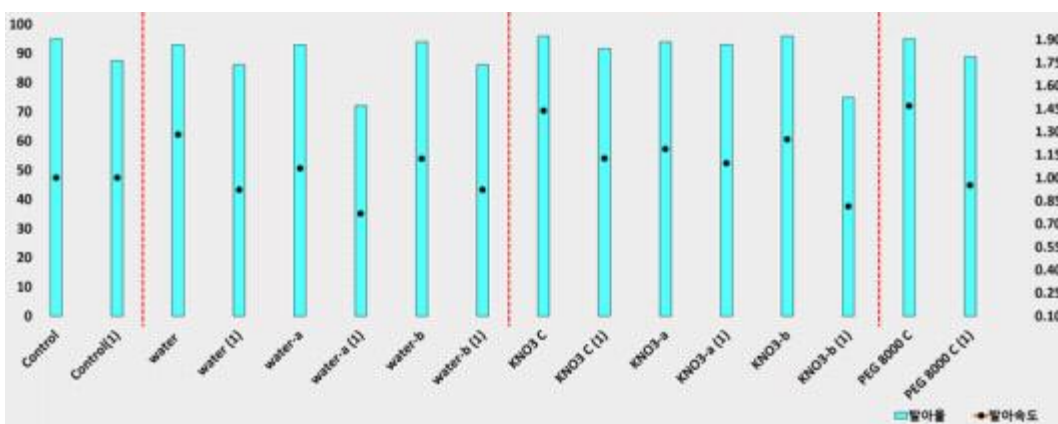
- 수박(그림 15-a)의 경우, 무처리(Control)군이 99%에서 1년 뒤(Control(1))에는 90%로 발아율이 9% 감소하였으나, Water군(Water만 24hr 처리)과 Water-a와 b(a: 음과 30min, b: 음과 1hr처리/총 프라이밍 처리 시간은 24hr)군의 경우에는 1년 뒤의 발아율이 감소하지 않고 유지하는 결과를 나타내어 프라이밍 처리효과의 지속성을 확인할 수 있었다. 그 외 NaNO_3 -A(시약만 24hr 처리된 조건)와 KCl-B(시약만 24hr 처리)에서 발아율이 99%로 무처리(Control)군과 비교하여 큰 차이가 없었고, 시약(only) 프라이밍 처리군에서는 1년 저장 뒤에도 발아율이 높게 유지될 수 있는 것으로 나타났으며, 음과+시약처리(a: 초음파 30min, b: 음과 1hr)의 군에서는 처리 조건별로 차이를 보였다(그림 15-a).

15-a) 수박



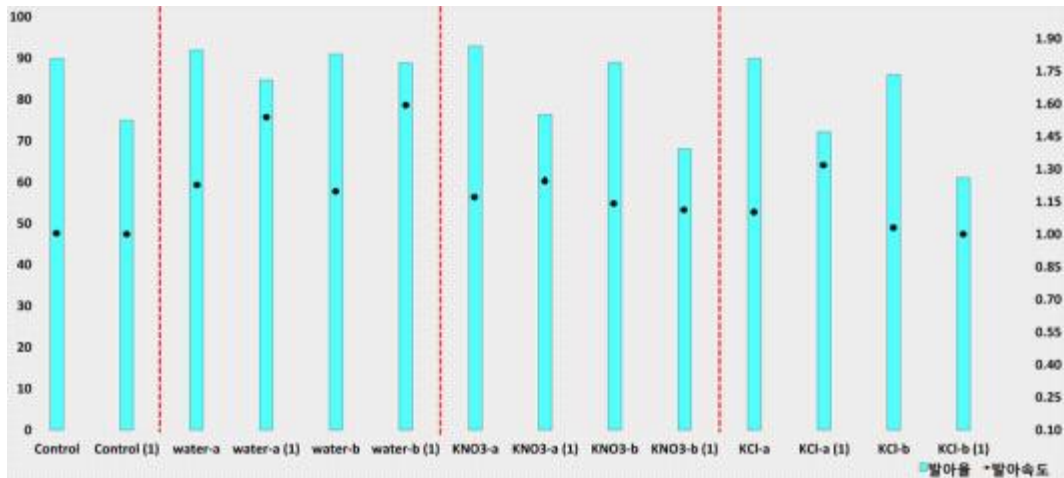
(1): 1년 뒤 발아율 결과 / a: 60(음과 처리 출력%)-24(총 프라이밍처리 시간)-30(음과 처리 30min), b: 60-24-1(음과 처리 1hr) / 대문자 A 또는 B : 시약만 24hr 처리함.

15-b) 오이



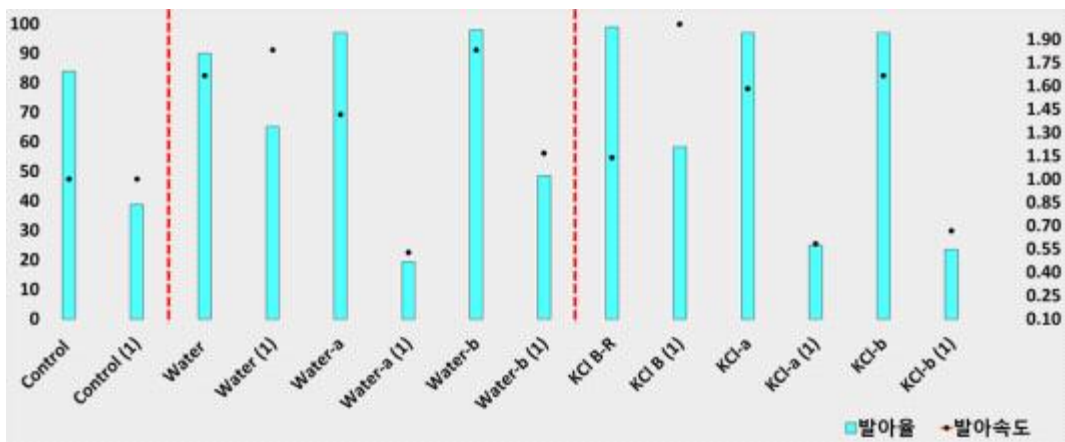
(1): 1년 뒤 발아율 결과 / a: 60(음과 처리 출력%)-24(총 프라이밍처리 시간)-30(음과 처리 30min), b: 60-24-1(음과 처리 1hr) / 대문자 A 또는 B : 시약만 24hr 처리함

15-c) 멜론



(1): 1년 뒤 발아율 결과 / a: 60(음파 처리 출력%)-24(총 프라임처리 시간)-30(음파 처리 30min), b: 60-24-1(음파 처리 1hr)

15-d) 대목



(1): 1년 뒤 발아율 결과 / a: 60(음파 처리 출력%)-24(총 프라임처리 시간)-30(초음파 처리 30min), b: 60-24-1(초음파 처리 1hr)

그림 15. 박과 종자의 음파처리 1년 후 발아검사결과 그래프

수박/호박의 초음파(36.3kHz) + 시약 프라임 처리결과

- 2018년 4월에 출력이 조정된 중대형 초음파처리기기(최대출력:36.3kHz)를 수령하여 새로운 출력조건으로 실험을 재조정 하였으며 출력 조건을 최대로 높여 수박/호박의 시약+초음파 프라임을 진행하였다(표 9a). 처리시약조건은 연구계획초기(2016년)에 설정된 총 10가지 (Water, KNO₃, PEG8000, PEG6000, NaCl, KCl, NaNO₃, D-mannitol, Ca(NO₃)₂, GA₃)에서 2017년도 9가지(GA₃제외함: 산업화에 부적합)로 수정하여 2018년까지 연구에 water를 포함한 9가지 초음파 +용액(시약)프라임 연구에 적용하였다. 기존의 계획에선 2017년도의 결과를 토대로 시약조건을 선발하여 실험군을 줄이고 선발조건외의 추가실험을 통해 재현성을 확인하여 신뢰도를 높이고자 하였다. 그러나 기기조건이 변경됨에 따라 연구시간과 늘어나는 샘플

수의 문제로 인해 9가지의 용액조건을 그대로 적용하되 농도조건은 2가지(0.1%, 3%)로만 진행하였다. 실험결과 확인은 보다 정확한 확인을 위하여 ISTA 조건 하에서 기내발아와 상토 발아로 교차 확인, 평가하였으며 상토발아는 5일을 기준으로 진행하였다(표 21).

표 21. 중대형(36.3kHz) 프라이밍 처리 수박발아검사결과(처리직후)

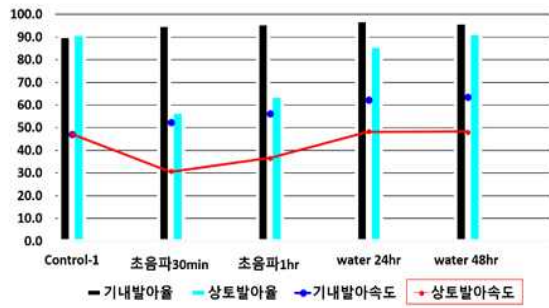
수박 (기내)		Priming temp. 20°C				수박 (상토)		Priming temp. 20°C			
Seed treatment		24hr		48hr		Seed treatment		24hr		48hr	
Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)	GP (%)	R (per day)	Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)	GP (%)	R (per day)
무처리		90	0.35			무처리		91	0.31		
		(24/48hr 처리 적용 x)						(24/48hr 처리 적용 y)			
초음파 (only)	30min	95	0.38			초음파 (only)	30min	57	0.21		
	1hr	96	0.41				1hr	64	0.25		
Water (only)		(24/48hr 처리 적용 x)				Water (only)		(24/48hr 처리 적용 x)			
Water (only)		97	0.45	96	0.46	Water (only)		86	0.32	92	0.31
Water	30min	97	0.53	96	0.57	Water	30min	89	0.34	95	0.41
	1hr	98	0.54	99	0.59		1hr	93	0.41	90	0.42
KNO ₃	0.1%-30min	97	0.46	96	0.41	KNO ₃	0.1%-30min	91	0.4	93	0.35
	0.1%-1hr	97	0.5	96	0.4		0.1%-1hr	94	0.42	92	0.35
	3%-30min	96	0.55	96	0.56		3%-30min	88	0.38	90	0.38
	3%-1hr	97	0.55	98	0.56		3%-1hr	85	0.36	100	0.43
KCl	0.1%-30min	99	0.54	98	0.49	KCl	0.1%-30min	83	0.32	93	0.39
	0.1%-1hr	99	0.49	98	0.45		0.1%-1hr	78	0.31	92	0.44
	3%-30min	96	0.41	96	0.42		3%-30min	86	0.28	92	0.37
	3%-1hr	96	0.4	97	0.4		3%-1hr	90	0.32	93	0.34
NaCl	0.1%-30min	96	0.47	97	0.38	NaCl	0.1%-30min	93	0.3	71	0.31
	0.1%-1hr	97	0.48	97	0.37		0.1%-1hr	81	0.25	75	0.26
	3%-30min	98	0.47	98	0.49		3%-30min	92	0.42	71	0.2
	3%-1hr	97	0.47	99	0.49		3%-1hr	85	0.28	78	0.28
NaNO ₃	0.1%-30min	98	0.46	38	0.11	NaNO ₃	0.1%-30min	82	0.36	22	0.07
	0.1%-1hr	98	0.49	40	0.12		0.1%-1hr	68	0.3	24	0.08
	3%-30min	94	0.37	0	0		3%-30min	22	0.07	0	0
	3%-1hr	96	0.39	0	0		3%-1hr	24	0.08	0	0
PEG6000	0.1%-30min	90	0.34	91	0.33	PEG6000	0.1%-30min	83	0.27	82	0.28
	0.1%-1hr	90	0.41	90	0.36		0.1%-1hr	93	0.42	86	0.32
	3%-30min	98	0.51	94	0.41		3%-30min	95	0.34	97	0.42
	3%-1hr	98	0.49	95	0.47		3%-1hr	99	0.45	95	0.34
PEG8000	0.1%-30min	96	0.43	91	0.34	PEG8000	0.1%-30min	85	0.29	83	0.28
	0.1%-1hr	97	0.49	87	0.29		0.1%-1hr	86	0.3	85	0.32
	3%-30min	98	0.43	89	0.29		3%-30min	90	0.33	96	0.29
	3%-1hr	98	0.41	85	0.27		3%-1hr	94	0.31	90	0.28
D-mannitol	0.1%-30min	83	0.37	78	0.37	D-mannitol	0.1%-30min	80	0.26	76	0.24
	0.1%-1hr	80	0.36	75	0.35		0.1%-1hr	78	0.25	74	0.24
	3%-30min	85	0.38	65	0.28		3%-30min	82	0.25	75	0.24
	3%-1hr	80	0.38	68	0.31		3%-1hr	80	0.25	70	0.23
Ca(NO ₃) ₂	0.1%-30min	80	0.37	85	0.41	Ca(NO ₃) ₂	0.1%-30min	78	0.24	82	0.29
	0.1%-1hr	76	0.36	82	0.37		0.1%-1hr	70	0.26	78	0.28
	3%-30min	77	0.37	72	0.35		3%-30min	70	0.23	68	0.23
	3%-1hr	70	0.34	70	0.34		3%-1hr	68	0.23	65	0.22
Significant		*		*	Significant		*		*		

z : Germination percentage(GP) / y : Germination rate(R)

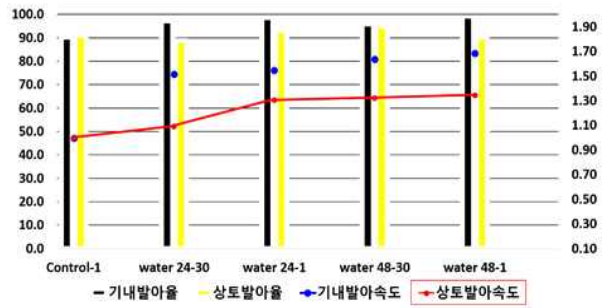
* Significant at the 0.05 level of probability means separation within columns by One way ANOVA and Duncan's multiple range test. P=0.05

- 그 결과, 36.3kHz의 초음파에 노출된 수박종자의 발아결과는 무처리 군과 비교하여 기내와 상토발아의 결과에 큰 차이를 보였다. 초음파 30min/1hr 처리군은 water base의 조건에서 초음파를 30min, 1hr로 처리 후 바로 건조하였으며, water군의 경우는 초음파 조건을 배제한 상태에서 24hr, 48hr로 프라이밍 처리하였다. 기내발아의 경우 무처리 군과 비교하여 발아율 자체에는 큰 변화가 없었으며, 기내발아속도는 증가되었고 상토발아의 경우에는 오히려 초음파 처리 군에서 34% 감소(30min), 27% 감소(1hr)로 발아율이 감소하였으며 Water 처리군에서는 큰 변화가 없는 결과를 보였다.
- 최종 발아율의 차이보다는 정해진 기간 안에서의 발아율과 발아속도의 변화 및 균일도가 결과를 평가하는 기준으로 설정하여 적용되었다. 본 연구기관에서는 시중에 판매되는 종자의 발아검정을 항상 기내와 상토발아검정으로 함께 확인하고 있으며 이는 위와 같은 이유 때문이다. 기내발아의 결과가 Control과 비교하여 큰 차이가 없이 나오거나 혹은 규정조건 및 기간 내에 발아율이 높게 나오거나 법정발아율 기준을 만족하더라도 상토발아결과가 기내발아결과와 다르게 나오는 경우가 생기기 때문이다.
- 일반 농가(육묘장 포함)나 다른 기관(본 연구기관포함)에서도 상토발아기간을 ISTA 규정기간과 별개로 필드에서 적용하는 통상적인 발아기간을 적용하여 발아세(발아속도) 및 상토발아 환경조건(기내발아와 달리) 등의 차이로 기내발아와 교차평가하면 보다 확실하게 판단이 가능하다. 이를 생략하고 기내발아만 확인 후 종자를 판매하게 되면 기내 발아상으로는 발아율에 문제가 없을 지라도 농가에서는 종자발아품질에 문제를 제기하는 경우가 종종 나타난다. 본 연구에서는 이러한 기준을 철저히 적용하여 발아결과를 통한 분석내용의 신뢰도를 높이고자 하였다.
- 따라서 그림 16a-A의 결과를 통해 초음파와 같은 물리적인 자극에 노출된 종자는 상토발아의 결과에 비추어볼 때 회복되는 시간(Recovery time)이 필요할 것으로 생각되어진다. 초음파 자극만을 처리해서는 수박 종자에서 오히려 발아율을 감소시키는 결과가 나타날 것이다. Water는 수박에서 충분히 친환경적인 프라이밍처리 조건이라고 생각되며 이는 3차년도의 저장성 실험에서도 알 수 있듯이 처리효과가 지속될 수 있는 가능성이 높아 단가가 높은 수박종자의 발아율을 높이기 위한 프라이밍 처리하는 실무자의 입장에서 가장 문제가 발생될 여지가 적은 처리조건이라 생각한다.

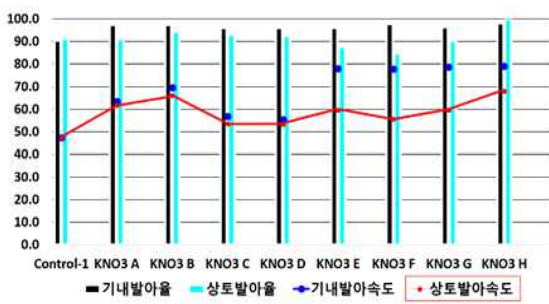
A) 초음파 / Water (수박)



B) 초음파 + Water (수박)



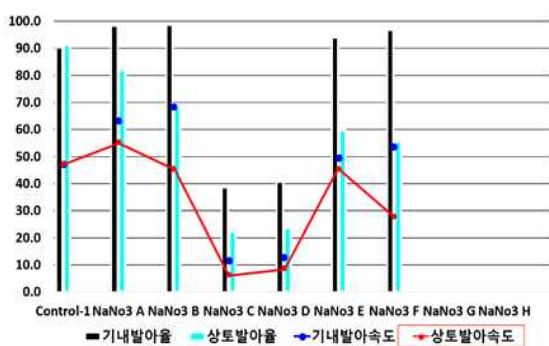
C) 초음파 + KNO₃ (수박)



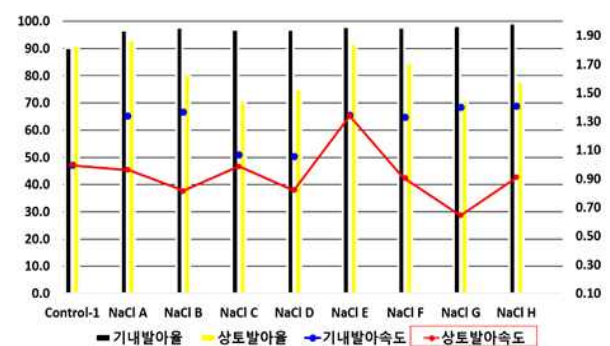
D) 초음파 + KCl (수박)



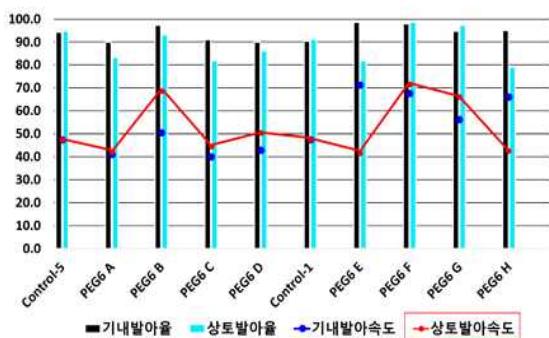
E) 초음파 + NaNO₃ (수박)



F) 초음파 + NaCl (수박)



G) 초음파 + PEG6 (수박)



H) 초음파 + PEG8 (수박)

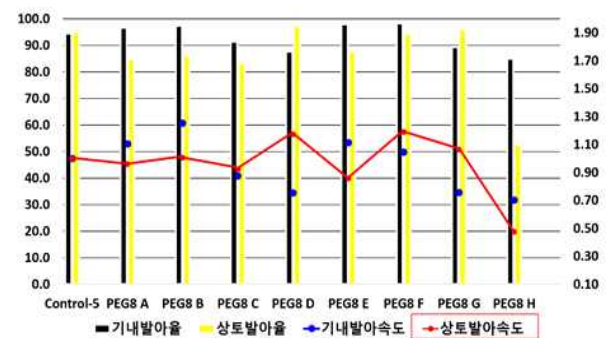


그림 16a. 수박종자의 용액(시약) + 초음파(36.3kHz) 프라이밍 처리직후 결과

시약농도 : 0.1%(A-D), 3%(E-H) / 초음파처리: 30min(A, C, E, G), 1hr(B, D, F, H)
 / 총 프라이밍처리 시간 : 24hr(A/B, E/F), 48hr(C/D, G/H)

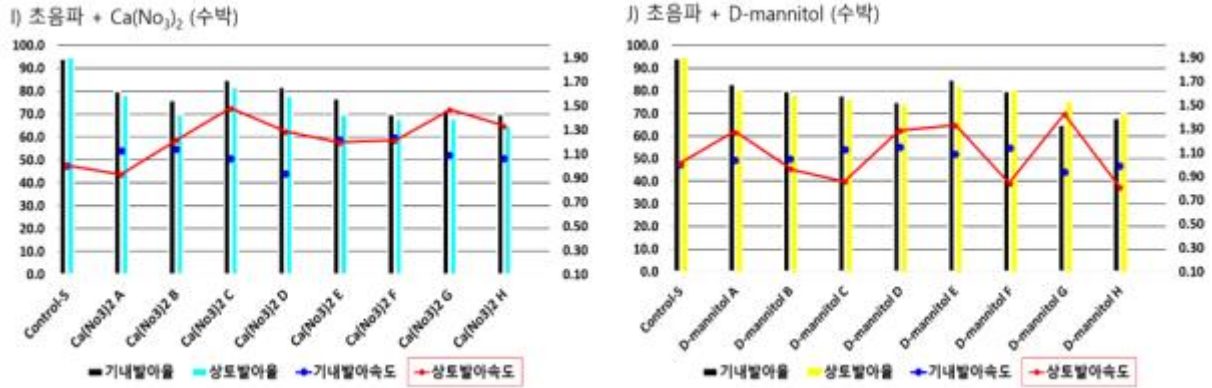


그림 16b. 수박종자의 용액(시약) +초음파(36.3kHz) 프라이밍 처리직후 결과

시약농도 : 0.1%(A-D), 3%(E-H) / 초음파처리: 30min(A, C, E, G), 1hr(B, D, F, H)
 / 총 프라이밍처리 시간 : 24hr(A/B, E/F), 48hr(C/D, G/H)

- 종자의 특성상 발아나 재배과정이 매우 민감한 작물로서 프라이밍처리결과에서도 이러한 특성이 확실히 나타나는 것으로 생각되어진다. 대체로 기내발아는 상토발아보다 발아율이나 발아세가 높게 나타나는 경향이 있으나, 이 차이가 적게 나타나는 처리군(그림 16a)을 우선적으로 선별하면 Water, KNO₃, KCl, PEG6000+초음파 등이다. D-mannitol이나 Ca(NO₃)₂ + 초음파의 경우도 큰 차이가 없으나 무처리에 비교해 모두 발아율이 크게 감소하여 제외(그림 16b)하였다. 수박 프라이밍처리에 있어서 초음파처리의 영향을 정확히 확인하기 위해 초음파, 시약+초음파처리 추가실험을 진행하여 초음파에 대한 결과를 최종적으로 판단하고자 한다. 그 이유로는 Water만 수박에 처리한 시료의 경우 상토발아결과에서 오히려 감소하거나 큰 변화가 없는 결과로 나타났으며, Water+초음파 결과에서는 30min-48hr 처리조건에서 기내와 상토발아를 토대로 가장 안정적인 결과를 보이므로 초음파 처리에 대한 추가실험을 진행하고자 한다.
- PEG6000과 8000의 경우는 거품이 많이 나오거나 이를 줄이기 위해 소포제를 더 첨가해야 하는 등 환경적으로도 문제점이 될 수 있는 단점을 포함하여 현장에서의 작업용이성이 매우 낮아 현실적으로 대용량 처리하기에는 적합하지 않으므로 본 연구의 조건 내에서 제외하기로 하였다. 수박에서는 프라이밍 처리에 적합한 화학적 조건으로는 KNO₃, KCl을 선발하였으나 Water+초음파의 조건 및 결과가 가장 유력할 것으로 생각하고 있다. 그 이유로는 수박은 고가의 작물로서 거래되며 많은 종자회사에서 필름코팅처리를 통해 농가에 판매되고 있다. 위에 설명한 대로 수박은 재배과정도 매우 예민한 작물이기에 프라이밍처리와 필름코팅 두 가지의 처리가 진행될 시에 발아율저하로 연결되거나 저장성에도 문제가 나타날 수 있기에 최대한 안정적인 방법을 선발하는 것이 가장 현명하고 효과적인 방법이라 판단된다.
- 호박은 보편적으로 프라이밍을 처리하는 주된 종자는 아니지만 대목용 호박의 경우 다양한 쓰임새와 특히 육묘장에서 많이 사용이 되는 만큼 발아세를 균일하게 맞추는 대량 프라이밍을 요구하는 품목이다.

표 22. 중대형(36.3kHz) 프라이밍 처리 호박발아검사결과(처리직후)

호박 (기내)						호박 (상부)					
		Priming temp. 20°C						Priming temp. 20°C			
Seed treatment		24hr		48hr		Seed treatment		24hr		48hr	
Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)	GP (%)	R (per day)	Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)	GP (%)	R (per day)
무처리	재고1	78	0.32			무처리	재고1	80	0.36		
	재고4	94	0.4				재고4	88	0.34		
	재고5	92	0.49				재고5	93	0.38		
		(24/48hr 처리 적용 x)						(24/48hr 처리 적용 x)			
초음파 (only)	30min	97	0.52			초음파 (only)	30min	93	0.42		
	1hr	95	0.5				1hr	96	0.44		
water base		(24/48hr 처리 적용 x)				water base		(24/48hr 처리 적용 x)			
Water (only)		93	0.51	90	0.49	Water (only)		97	0.44	93	0.43
Water	30min	96	0.52	95	0.51	Water	30min	97	0.48	91	0.39
	1hr	97	0.5	98	0.53		1hr	97	0.45	96	0.38
KNO ₃	0.1%-30min	93	0.5	96	0.5	KNO ₃	0.1%-30min	94	0.44	97	0.47
	0.1%-1hr	95	0.52	95	0.51		0.1%-1hr	94	0.45	92	0.44
(재고4)	3%-30min	82	0.45	85	0.47	(재고4)	3%-30min	82	0.38	86	0.38
	3%-1hr	85	0.47	84	0.46		3%-1hr	89	0.41	82	0.35
KCl	0.1%-30min	96	0.51	98	0.52	KCl	0.1%-30min	100	0.43	99	0.42
	0.1%-1hr	95	0.5	100	0.52		0.1%-1hr	96	0.43	92	0.44
	3%-30min	96	0.49	97	0.53		3%-30min	96	0.46	93	0.43
	3%-1hr	96	0.52	94	0.51		3%-1hr	90	0.38	94	0.46
NaCl	0.1%-30min	94	0.5	92	0.49	NaCl	0.1%-30min	90	0.39	90	0.4
	0.1%-1hr	98	0.5	91	0.47		0.1%-1hr	89	0.39	85	0.38
	3%-30min	95	0.52	95	0.49		3%-30min	96	0.43	89	0.4
	3%-1hr	96	0.53	96	0.49		3%-1hr	92	0.42	92	0.38
NaNO ₃	0.1%-30min	96	0.54	52	0.21	NaNO ₃	0.1%-30min	96	0.43	35	0.13
	0.1%-1hr	96	0.53	70	0.28		0.1%-1hr	95	0.44	60	0.24
	3%-30min	90	0.48	8	0.02		3%-30min	88	0.4	10	0.03
	3%-1hr	95	0.5	12	0.04		3%-1hr	92	0.4	11	0.03
PEG6000	0.1%-30min	96	0.52	94	0.51	PEG6000	0.1%-30min	90	0.39	94	0.41
	0.1%-1hr	92	0.49	92	0.51		0.1%-1hr	90	0.39	93	0.43
	3%-30min	93	0.51	95	0.51		3%-30min	98	0.41	94	0.4
	3%-1hr	98	0.53	96	0.52		3%-1hr	94	0.43	95	0.4
PEG8000 (재고1)	0.1%-30min	92	0.5	93	0.48	PEG8000 (재고1)	0.1%-30min	90	0.38	93	0.35
	0.1%-1hr	95	0.52	91	0.48		0.1%-1hr	93	0.37	94	0.38
	3%-30min	89	0.49	90	0.48		3%-30min	92	0.37	93	0.38
	3%-1hr	94	0.52	92	0.48		3%-1hr	94	0.38	89	0.36
D-mannitol (재고1)	0.1%-30min	75	0.39	73	0.38	D-mannitol (재고1)	0.1%-30min	73	0.24	71	0.24
	0.1%-1hr	79	0.41	75	0.39		0.1%-1hr	72	0.24	75	0.25
	3%-30min	76	0.39	72	0.37		3%-30min	75	0.25	69	0.23
	3%-1hr	71	0.37	70	0.36		3%-1hr	70	0.23	71	0.24
Ca(NO ₃) ₂ (재고1)	0.1%-30min	70	0.33	69	0.33	Ca(NO ₃) ₂ (재고1)	0.1%-30min	65	0.33	69	0.35
	0.1%-1hr	65	0.32	60	0.34		0.1%-1hr	66	0.33	68	0.34
	3%-30min	60	0.29	61	0.3		3%-30min	60	0.3	65	0.33
	3%-1hr	62	0.3	65	0.32		3%-1hr	61	0.31	60	0.3

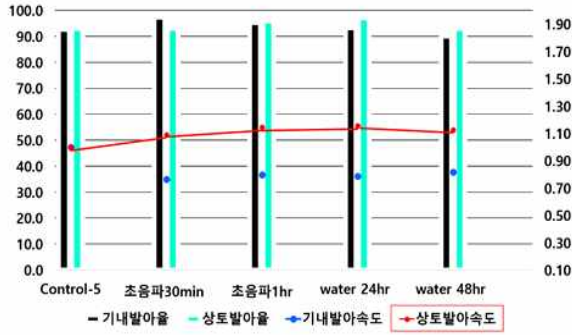
※ 종자량 부족으로 실험시기에 따라 일부조건에서 시료량 다르게 적용됨으로 적용된 재고번호에 맞추어 결과를 비교해야함.

z : Germination percentage(GP) / y : Germination rate(R)

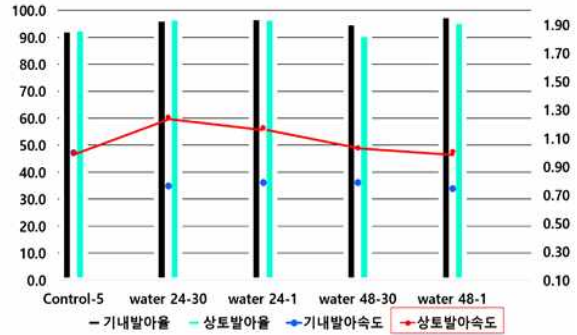
* Significant at the 0.05 level of probability means separation within columns

by One way ANOVA and Duncan's multiple range test. P=0.05

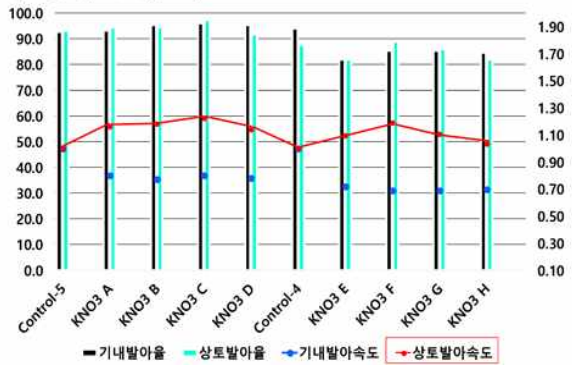
A) 초음파 / Water (호박)



B) 초음파 + Water (호박)



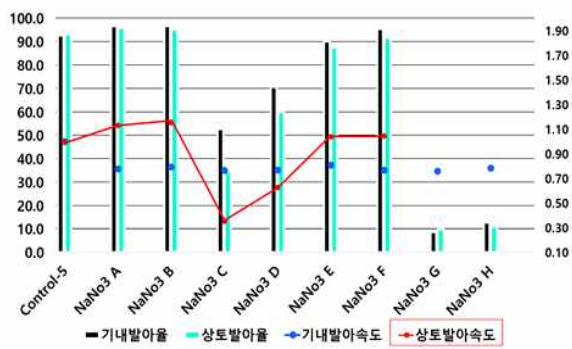
C) 초음파 / KNO₃ (호박)



D) 초음파 + KCl (호박)



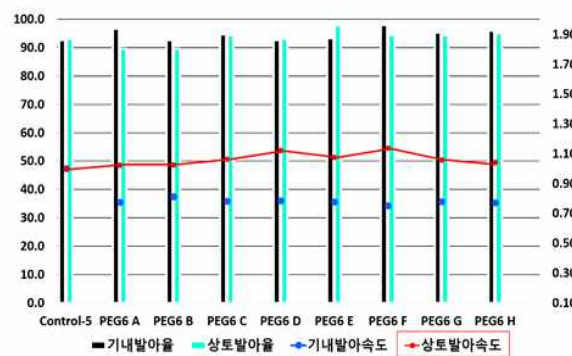
E) 초음파 / NaNO₃ (호박)



F) 초음파 + NaCl (호박)



G) 초음파 / PEG6 (호박)



H) 초음파 + PEG8 (호박)

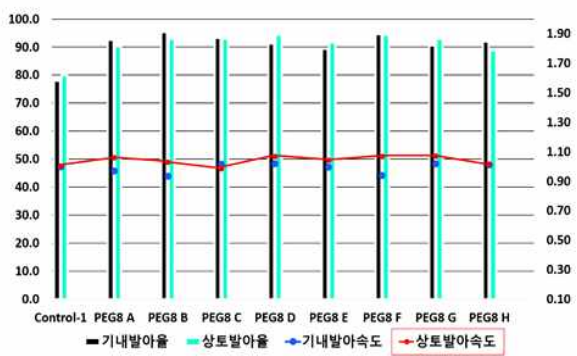


그림 17a. 호박종자의 용액(시약) +초음파(36.3kHz) 프라이밍 처리 결과

시약농도 : 0.1%(A-D), 3%(E-H) / 초음파처리: 30min(A, C, E, G), 1hr(B, D, F, H)
 / 총 프라이밍처리 시간 : 24hr(A/B, E/F), 48hr(C/D, G/H)

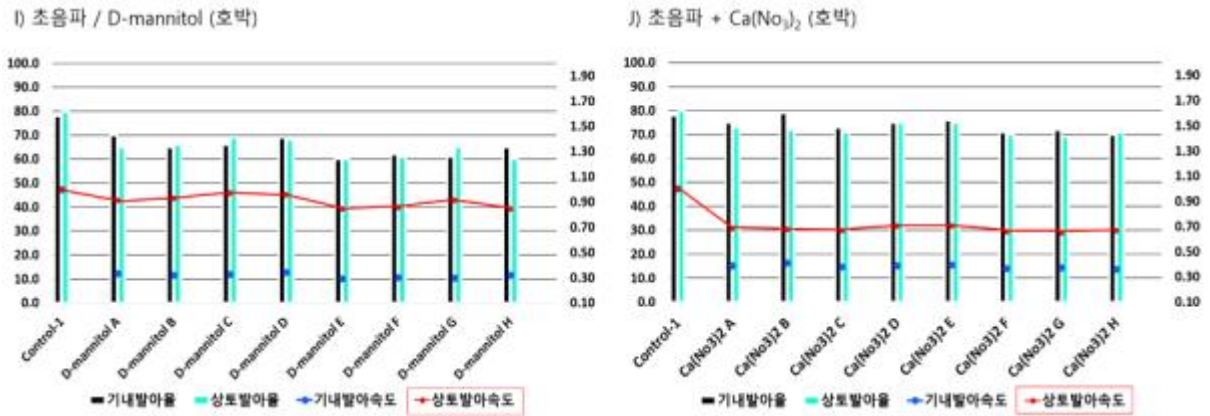


그림 17b. 호박종자의 용액(시약) +초음파(36.3kHz) 프라이밍 처리 결과

시약농도 : 0.1%(A-D), 3%(E-H) / 초음파처리: 30min(A, C, E, G), 1hr(B, D, F, H)
 / 총 프라이밍처리 시간 : 24hr(A/B, E/F), 48hr(C/D, G/H)

- 본 연구 과제를 통해 박과를 포함하여 다양한 품종의 프라이밍처리 조건을 전체적으로 확인해 보며 처리에 적합한 조건을 선별하는 것이 매우 필요한 과정이었음을 연구결과를 통해 확인하고 있다. 박과의 경우 종자의 크기가 다른 협동기간과 달리 저가부터 고가까지 가격대가 다양하고 종자의 크기가 큰 편으로 대량으로 처리하는 실험을 진행하기에 상당량의 종자가 필요하나 실험에 적합한(70-80% 발아율) 시료를 확보하기가 매우 어렵다. 본 연구기간 동안 사용하는 종자량도 부족하여 매년 자체생산을 통해 확보하고 있으나 발아율이 낮은 자투리 종자(종자량이 적으나 실험에 적합한 발아율인 시료)의 경우라도 최대한 적용하고자 하였으며, 표 22와 같이 Control이 여러 가지로 분리되는 경우가 발생됨으로 결과를 다양한 시점으로 확인할 수 있었다. 호박의 결과는 수박의 결과와는 상당히 다른 부분이 많다.
- 우선적으로 초음파만 처리된 결과를 보아도 호박은 무처리(Control)와 큰 차이가 없이 유지되었으며, 발아속도계수는 오히려 증가하였다. 기내발아와 상토발아결과에서는 두 검정에서의 큰 차이가 없이 균일하게 비슷한 결과를 보였으며, Water, KNO₃, KCl, PEG6000 +초음파 조건에서도 무처리 조건과 비교하여 발아율 변화에 큰 변동이 나타나지 않았고 모두 발아속도계수는 증가하는 결과를 나타냈다. 특히 PEG8000+초음파에서는 Control(기내(78%, 0.32), 상토(80%, 0.36))과 비교하여 발아율이 10-15%이상 증가하였고 발아속도계수는 기내발아에서는 증가하였으나 상토에서는 큰 변화가 없는 결과를 나타내었다. KNO₃(3%)+초음파(30min/1hr)에서는 Control(기내(78%, 0.32), 상토(80%, 0.36))과 비교하여 발아율은 기내에서는 10% 감소, 상토에서는 최대 5%이상 감소하였다. 실험에 사용된 호박종자의 Control(무처리) 발아율이 높아 프라이밍처리의 효과인 발아촉진결과를 명확히 판단하기가 어려운 상황으로 모든 처리군에서 PEG8000 /KNO₃ +초음파와 같은 효과를 나타내는지 확인하기가 어려우나 저장성 및 발아속도계수로 최대한 처리의 효과를 세부적으로 판단하여 오차를 줄이고자 하였다.
- 결과적으로 호박에서는 가장 발아율 및 발아속도계수가 높게 나온 Water+초음파와 KCl+초음파의 결과를 비교하면 0.1%-30min/1hr-24hr 조건에서 가장 효과적일 것으로 판단되며, 저장 후 1년 뒤의 결과에 따라 더욱 정확한 결론을 내릴 수 있을 것으로 예상된다.

D) 4차년도 / 5차년도(2019.01.01. - 2020.12.31)

오이종자의 초음파(36.3kHz)프라이밍 처리직후 결과

- 2019년도에는 오이/멜론/대목을 전년도 연구에 이어서 프라이밍처리를 기내/상토를 통해 결과를 확인하였다. 그러나 오이품목의 Water 처리군 종자시료에서 특성적 문제가 발견되어 검정결과에서 제외하였다. 오이종자는 현재 연구 중인 5가지 박과류(수박, 대목, 호박, 오이, 멜론) 중에서 가장 화학적, 물리적 환경에 둔감하며 이러한 특성은 필름코팅연구에서도 재확인 할 수 있었다. 오이를 제외한 4가지 작물들은 가장 안정적이라고 평가받는 인코텍사의 필름 코팅용액(본 연구에서 Control 제품)에서도 발아율에 영향을 받았다. 뿐만 아니라 위탁기관에서 개발 중인 시험 필름 코팅용액들에서도 시제품에 따라 대상 종자의 발아율이 급격하게 변함에도 불구하고 오이 종자만은 발아변화가 크지 않아 필름 코팅용액들을 평가하여 개선점을 판단해야하는데 적합하지 않다고 판단되어 가공품질과 가공적성에 대해서만 평가를 진행하였고 이와 같은 특성은 “초음파 +프라이밍처리 결과”에서도 볼 수 있었다. 오이를 제외한 종자군에서는 기내발아와 상토발아 결과 사이에 다소 차이가 발생하는 것에 비해, 오이 종자의 경우는 기내와 상토발아결과가 일정하게 나타났으며, Control(무처리)군과 비교하여 다양한 프라이밍처리 조건들에서도 큰 변화를 확인할 수 없었다. 하지만 일부 처리군에서 상토발아속도계수의 결과(KNO_3 , KCl , $NaNO_3$, $NaCl$)가 감소되어 발아속도에 다소 영향을 미치는 것으로 나타났다(표 23, 그림18a,b). 따라서 오이의 경우는 현재 프라이밍 처리된(초음파/water/초음파+시약) 시료들의 1년 저장 후의 결과 평가를 통해 저장성 유지 부분에서 재평가할 예정이다. 화학적, 물리적 영향에 둔감함 오이종자에 대한 프라이밍처리 효과를 확인하려면 70-80%대의 발아율을 가진 시료로 연구할 때에 정확한 영향평가를 내릴 수 있으나 실험조건에 적합한 오이의 종자시료를 확보하기가 현재는 어려운 실정이다. 추가 실험을 위해 실험에 적합한 발아율을 가진 오이 종자를 확보하기 위해 타 종자회사에도 문의해본 결과 확보가 어려웠으며, 발아율을 인위적으로 급속도로 떨어뜨릴 경우 자연적으로 발아율이 감소한 종자에 대한 품질향상을 대상으로하는 본 연구에 대한 결과를 판단하는데 차후 저해하는 요소가 될 수 있어 고려하지 않았다. 현재 본 연구기관에서 사용하고 있는 시료들은 최대 보유량이 적더라도 자연 퇴화된 종자를 사용하거나 저장온도를 실내온도(Room temperature)로 하여 자연적으로 퇴화시키는 방법을 적용하고 있다. 그러나 종자 확보에 시일이 오래 걸리는 만큼 위에 언급한 방법으로 영향력 평가연구를 할 수 있게 되기에는 현실적으로 어려울 것으로 예상된다. 또한 오이나 멜론 종자 등도 자체생산으로 조달하고 있으나 매년 필요한 생산량(중대형용량실험)을 맞추는 것도 한계가 있어 추가 실험이 가능할지 여부도 논의 중이다. 오이라는 품목이 본 연구에서 큰 의미를 나타내는 결과를 확인하지 못했다 하더라도 박과 종자에 화학적/물리적 처리하는 데 있어 최소한의 기준점이나 지표로서 활용이 가능할 것으로 생각되어진다. 즉, 오이 품목에 화학적/물리적 처리를 한 뒤 발아율에 문제가 생기는 조건은 종자처리의 마지막 한계점(Threshold level)으로 적용할 수 있을 것으로 생각된다.

오이종자의 초음파(36.3kHz)프라이밍 처리 1년 후 결과

- 초음파 + 시약프라이밍 처리 1년 뒤에 기내, 상토 발아검사를 진행하였다. 최종검사기간을

기내 8일, 상토 5일을 기준으로 발아검정결과를 비교하고 처리직후와 저장 후의 결과도 함께 확인하였다. 오이의 경우 프라이밍 처리직후 실험군의 결과들 중 24hr/48hr 처리군과 기내/상토발아검정의 결과에 큰 차이가 없어 오이종자는 물리적, 화학적 처리에 큰 영향을 받지 않지 않는 특성으로 생각되었다. 저장 후의 발아율을 비교해 본 결과, 무처리/초음파(Only) 그룹은 발아속도계수가 감소된 것 이외에 전체적인 발아율은 처리직후의 결과와 큰 차이가 없었다. Water만 처리하는 그룹의 경우 처리직후의 종자에 문제가 생겨 당시에 바로 진행할 수 없었으나 저장 후의 결과만을 확인하면 48hr 프라이밍 처리된 그룹에서 기내와 상토발아검정 모두 약 3-40%이상 감소된 것을 확인할 수 있었다. 이와 더불어 초음파+Water 처리군의 결과를 확인한 결과, 상토검사에서 초음파를 1hr처리한 그룹의 발아결과가 감소되었으며, 나머지 처리 군에서는 Control과 비교하여 큰 차이를 보이지 않고 발아지속성이 유지되고 있었다.

표 23. 중대형(36.3kHz) 프라이밍 처리 : 오이발아검사결과(처리직후)

오이 (기내)					오이 (상토)						
Seed treatment		Priming temp. 20°C				Seed treatment		Priming temp. 20°C			
Priming type	Treatment unit	24hr		48hr		Priming type	Treatment unit	24hr		48hr	
		GP ^a (%)	R ^y (per day)	GP (%)	R (per day)			GP (%)	R (per day)		
무처리	재고4	100	0.52			무처리	재고4	95	0.74		
		(24/48hr 처리 적용 x)						(24/48hr 처리 적용 x)			
초음파 (only)	30min	99	0.49			초음파 (only)	30min	95	0.75		
water base	1hr	98	0.47			water base	1hr	94	0.75		
		(24/48hr 처리 적용 x)						(24/48hr 처리 적용 x)			
Water (only)		결과제외				Water (only)		결과제외			
Water	30min	98	0.54	99	0.51	Water	30min	96	0.78	98	0.81
	1hr	98	0.5	99	0.51		1hr	96	0.8	96	0.79
KNO ₃	0.1%-30min	98	0.62	98	0.59	KNO ₃	0.1%-30min	98	0.67	98	0.36
	0.1%-1hr	99	0.61	99	0.6		0.1%-1hr	98	0.4	100	0.39
	3%-30min	98	0.62	97	0.62		3%-30min	98	0.42	100	0.41
	3%-1hr	98	0.63	98	0.63		3%-1hr	98	0.42	100	0.41
KCl	0.1%-30min	98	0.52	99	0.53	KCl	0.1%-30min	98	0.81	99	0.65
	0.1%-1hr	99	0.53	97	0.51		0.1%-1hr	97	0.79	99	0.64
	3%-30min	98	0.52	99	0.53		3%-30min	99	0.65	98	0.66
	3%-1hr	99	0.53	97	0.51		3%-1hr	98	0.66	99	0.7
NaCl	0.1%-30min	98	0.61	98	0.6	NaCl	0.1%-30min	99	0.52	100	0.52
	0.1%-1hr	98	0.6	98	0.6		0.1%-1hr	98	0.52	99	0.51
	3%-30min	98	0.61	97	0.56		3%-30min	98	0.49	97	0.53
	3%-1hr	99	0.57	97	0.56		3%-1hr	97	0.46	98	0.54
NaNO ₃	0.1%-30min	100	0.64	99	0.39	NaNO ₃	0.1%-30min	97	0.53	98	0.52
	0.1%-1hr	100	0.63	99	0.56		0.1%-1hr	97	0.51	97	0.53
	3%-30min	98	0.57	97	0.32		3%-30min	98	0.45	96	0.34
	3%-1hr	99	0.54	97	0.32		3%-1hr	95	0.44	91	0.48
PEG6000	0.1%-30min	99	0.58	98	0.53	PEG6000	0.1%-30min	98	0.54	95	0.52
	0.1%-1hr	98	0.53	98	0.59		0.1%-1hr	98	0.55	94	0.51
	3%-30min	98	0.55	97	0.51		3%-30min	99	0.55	98	0.53
	3%-1hr	98	0.54	97	0.48		3%-1hr	99	0.54	98	0.54
PEG8000	0.1%-30min	99	0.61	98	0.57	PEG8000	0.1%-30min	98	0.54	94	0.51
	0.1%-1hr	99	0.58	99	0.59		0.1%-1hr	98	0.55	99	0.54
	3%-30min	98	0.6	99	0.57		3%-30min	97	0.53	97	0.53
	3%-1hr	99	0.58	99	0.57		3%-1hr	97	0.53	95	0.52
D-mannitol	0.1%-30min	99	0.54	97	0.53	D-mannitol	0.1%-30min	97	0.53	97	0.53
	0.1%-1hr	98	0.55	98	0.53		0.1%-1hr	98	0.54	98	0.51
	3%-30min	99	0.53	97	0.51		3%-30min	99	0.51	95	0.47
	3%-1hr	99	0.54	99	0.5		3%-1hr	100	0.51	97	0.5
Ca(NO ₃) ₂	0.1%-30min	98	0.51	100	0.5	Ca(NO ₃) ₂	0.1%-30min	98	0.51	100	0.52
	0.1%-1hr	98	0.51	98	0.49		0.1%-1hr	99	0.53	98	0.5
	3%-30min	98	0.52	98	0.51		3%-30min	97	0.48	100	0.5
	3%-1hr	98	0.51	98	0.5		3%-1hr	99	0.51	97	0.46

결과제외 : 종자상태에 문제가 생겨 본 결과에 적용하지 못함.
z : Germination percentage(GP) / y : Germination rate(R)
* Significant at the 0.05 level of probability means separation within columns by One way ANOVA and Duncan's multiple range test. P=0.05

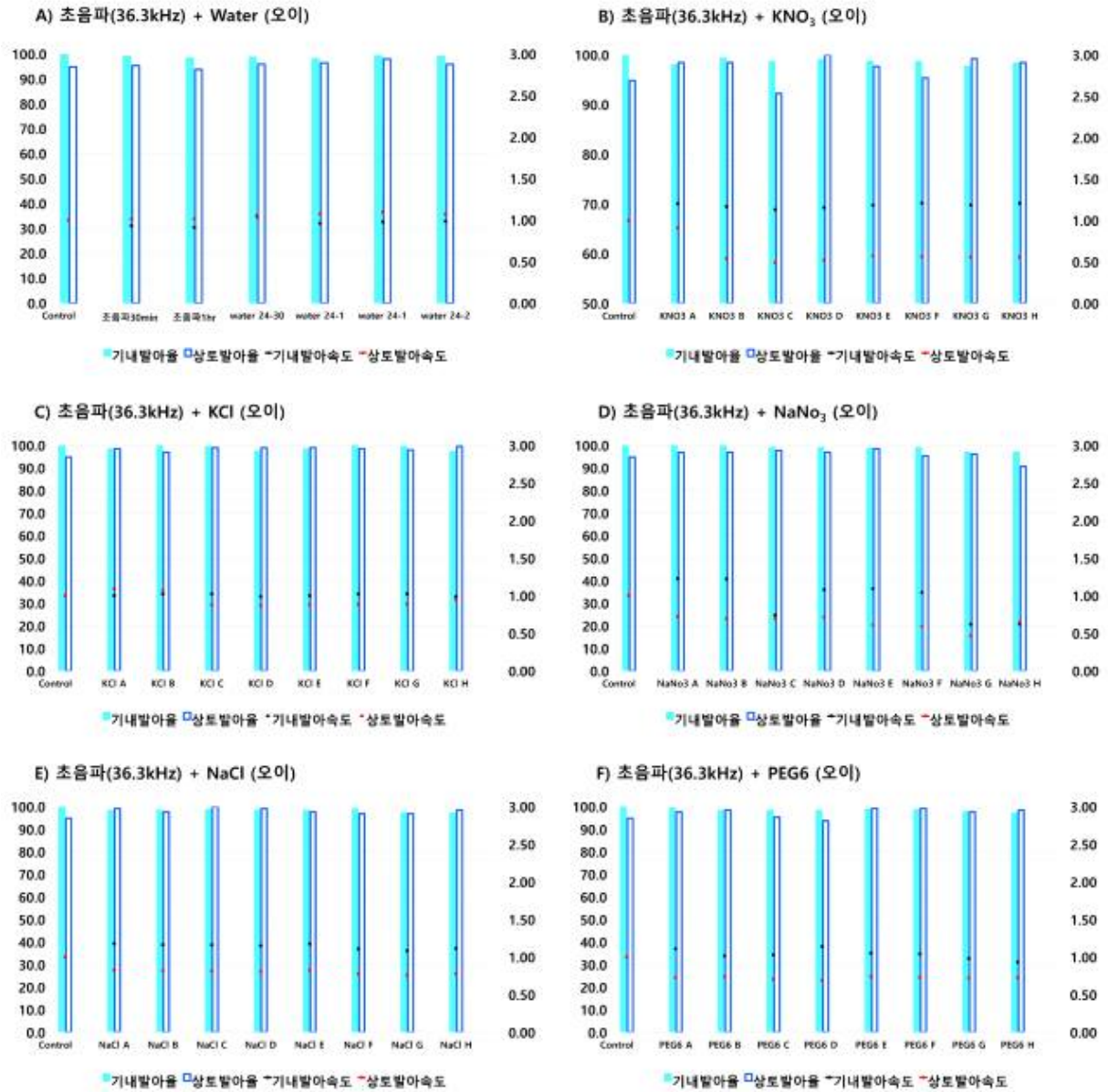


그림 18a. 오이종자의 용액(시약) +초음파(36.3kHz) 프라이밍 처리직후 결과
 시약농도 : 0.1%(A-D), 3%(E-H) / 초음파처리: 30min(A, C, E, G), 1hr(B, D, F, H) / 총 프라이밍처리 시간 :
 24hr(A/B, E/F), 48hr(C/D, G/H)

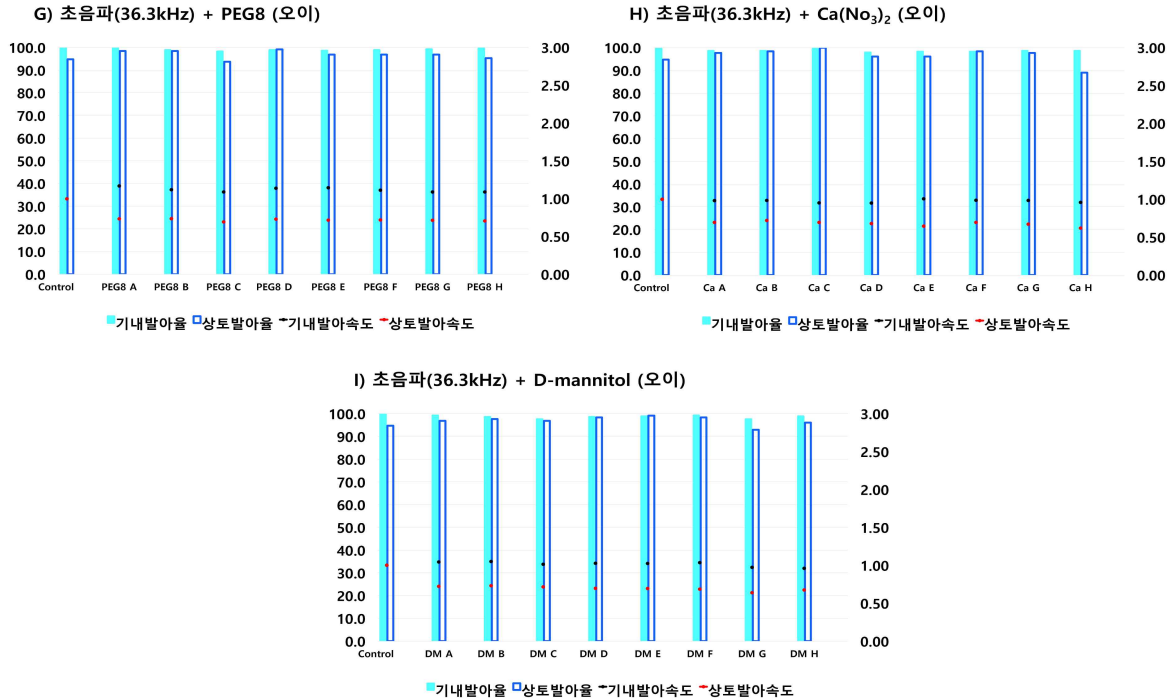


그림 18b. 오이종자의 용액(시약) + 초음파(36.3kHz) 프라이밍 처리직후 결과
 시약농도 : 0.1%(A-D), 3%(E-H) / 초음파처리: 30min(A, C, E, G), 1hr(B, D, F, H)
 / 총 프라이밍처리 시간 : 24hr(A/B, E/F), 48hr(C/D, G/H)

- 초음파 + 시약(0.1% / 3%)의 발아검정결과 처리직후 보다 기내검정에서 발아속도계수가 감소하였으며, 상토발아검정결과에서는 발아율 및 발아속도계수가 모두 감소되는 결과를 나타내었다. 특히 KNO₃, KCl, NaCl, NaNO₃를 처리한 조건 내 농도/초음파처리시간 그룹간의 차이로 인하여 감소되어지고 PEG6000, PEG8000, D-Mannitol, Ca(NO₃)₂에서는 시약이나 초음파처리 조건에 큰 영향을 받지 않았다. 또한 전체적인 프라이밍 시간인 48hr처리한 조건그룹에서 감소되는 몇몇의 그룹을 제외하고 대부분 높은 최종 발아율을 유지하고 있었으나 발아속도계수는 처리직후보다 떨어지는 양상을 보이고 있다. 그 중에서도 PEG6000(24hr처리)과 PEG8000의 0.1%/24hr 처리 그룹에서는 높은 발아율 및 발아속도가 높게 유지되는 것을 확인할 수 있었다. 발아율이 낮은 오이종자에서도 발아율을 증가시켜주는데 영향이 있을지는 확신할 수 없으나 가능성 있는 프라이밍 처리조건으로 생각된다. 오이종자에 대한 프라이밍 처리평가를 위해 Control 발아율이 7-80%대 종자로 진행되었어야 했지만 종자수급의 여건이 원만치 않아 발아율이 높은 상태로 프라이밍 처리된 종자의 결과가 물리적, 화학적 프라이밍 처리 직후에 다른 품목의 종자들에 비해 발아율에 영향을 크게 받지 않는 것으로 판단되고 이러한 특성은 다양한 종자처리조건연구에 활용이 가능할 것으로 생각된다(표24, 그림19a, b).

표 24. 중대형(36.3kHz) 프라이밍 처리 오이발아검사결과(1년 후)

오이 (기내)		Priming temp. 20°C				오이 (상토)		Priming temp. 20°C			
Seed treatment		24hr		48hr		Seed treatment		24hr		48hr	
Priming type	Treatment unit	GP* (%)	R ^y (per day)	GP (%)	R (per day)	Priming type	Treatment unit	GP* (%)	R ^y (per day)	GP (%)	R (per day)
무처리		98	0.47			무처리		98	0.4		
		(24/48hr 처리 적용 x)						(24/48hr 처리 적용 x)			
초음파 (only)	30min 1hr	97 98	0.45 0.45			초음파 (only)	30min 1hr	97 95	0.34 0.29		
water base		(24/48hr 처리 적용 x)				water base		(24/48hr 처리 적용 x)			
Water (only)		96	0.42	74	0.27	Water (only)	24hr	93	0.37	52	0.15
Water	30min 1hr	98 98	0.46 0.44	94 94	0.39 0.37	Water	30min 1hr	95 63	0.36 0.41	94 88	0.41 0.31
KNO ₃	0.1%-30min 0.1%-1hr 3%-30min 3%-1hr	96 98 98 98	0.42 0.43 0.46 0.46	89 96 96 95	0.3 0.33 0.36 0.4	KNO ₃	0.1%-30min 0.1%-1hr 3%-30min 3%-1hr	92 82 63 94	0.3 0.19 0.15 0.26	69 22 65 40	0.18 0.05 0.15 0.09
KCl	0.1%-30min 0.1%-1hr 3%-30min 3%-1hr	98 89 99 99	0.46 0.37 0.47 0.44	93 99 97 97	0.38 0.47 0.44 0.45	KCl	0.1%-30min 0.1%-1hr 3%-30min 3%-1hr	98 80 95 95	0.45 0.27 0.39 0.42	88 98 93 95	0.36 0.44 0.35 0.37
NaCl	0.1%-30min 0.1%-1hr 3%-30min 3%-1hr	95 96 99 98	0.43 0.42 0.39 0.43	94 94 98 97	0.35 0.33 0.42 0.43	NaCl	0.1%-30min 0.1%-1hr 3%-30min 3%-1hr	98 86 92 77	0.26 0.21 0.22 0.18	80 75 67 84	0.25 0.2 0.16 0.2
NaNO ₃	0.1%-30min 0.1%-1hr 3%-30min 3%-1hr	97 98 95 95	0.38 0.39 0.29 0.32	92 84 41 34	0.24 0.25 0.07 0.06	NaNO ₃	0.1%-30min 0.1%-1hr 3%-30min 3%-1hr	97 95 88 77	0.35 0.39 0.27 0.22	80 77 2 12	0.23 0.25 0.01 0.03
PEG6000	0.1%-30min 0.1%-1hr 3%-30min 3%-1hr	99 97 98 96	0.47 0.42 0.45 0.46	96 96 97 99	0.44 0.39 0.42 0.45	PEG6000	0.1%-30min 0.1%-1hr 3%-30min 3%-1hr	94 98 93 100	0.51 0.59 0.51 0.56	91 91 97 93	0.45 0.51 0.6 0.47
PEG8000	0.1%-30min 0.1%-1hr 3%-30min 3%-1hr	99 98 97 98	0.47 0.46 0.44 0.46	98 96 97 94	0.44 0.44 0.43 0.41	PEG8000	0.1%-30min 0.1%-1hr 3%-30min 3%-1hr	97 100 95 98	0.61 0.55 0.49 0.45	95 96 91 83	0.5 0.57 0.39 0.37
D-mannitol	0.1%-30min 0.1%-1hr 3%-30min 3%-1hr	99 99 99 97	0.48 0.48 0.47 0.45	97 88 96 95	0.44 0.34 0.35 0.38	D-mannitol	0.1%-30min 0.1%-1hr 3%-30min 3%-1hr	97 95 98 91	0.42 0.53 0.29 0.33	94 82 92 77	0.45 0.3 0.37 0.31
Ca(NO ₃) ₂	0.1%-30min 0.1%-1hr 3%-30min 3%-1hr	95 98 96 98	0.44 0.45 0.47 0.47	93 91 96 99	0.38 0.32 0.44 0.47	Ca(NO ₃) ₂	0.1%-30min 0.1%-1hr 3%-30min 3%-1hr	97 98 98 96	0.46 0.41 0.59 0.49	94 84 91 91	0.43 0.35 0.37 0.52
Significant		*		*		Significant		*		*	

z : Germination percentage(GP) / y : Germination rate(R)

* Significant at the 0.05 level of probability means separation within columns by One way ANOVA and Duncan's multiple range test, P=0.05

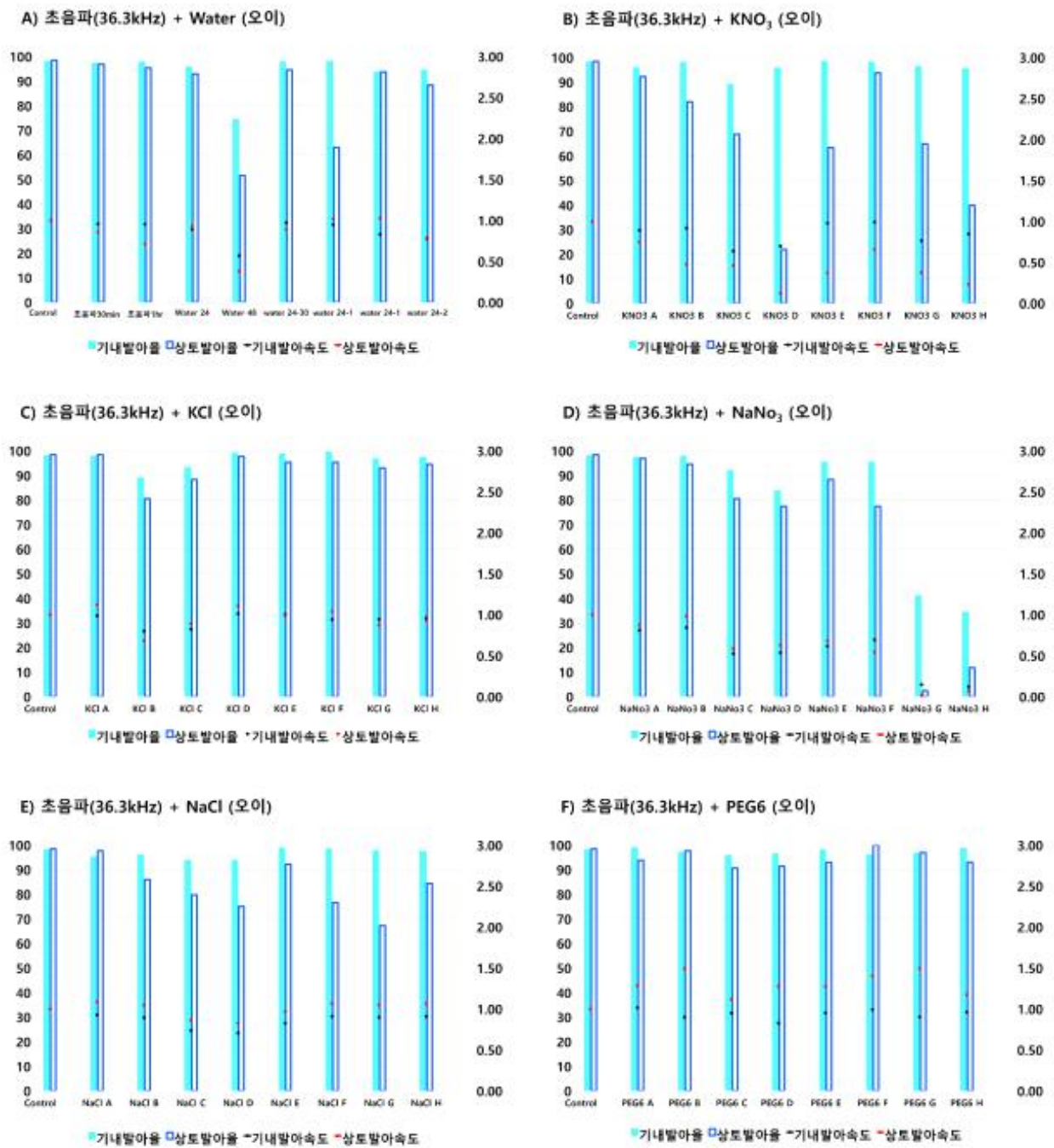


그림 19a. 오이종자의 용액(시약) +초음파(36.3kHz) 프라이밍 처리 1년 후 결과

시약농도 : 0.1%(A-D), 3%(E-H) / 초음파처리: 30min(A, C, E, G), 1hr(B, D, F, H)

/ 총 프라이밍처리 시간 : 24hr(A/B, E/F), 48hr(C/D, G/H)

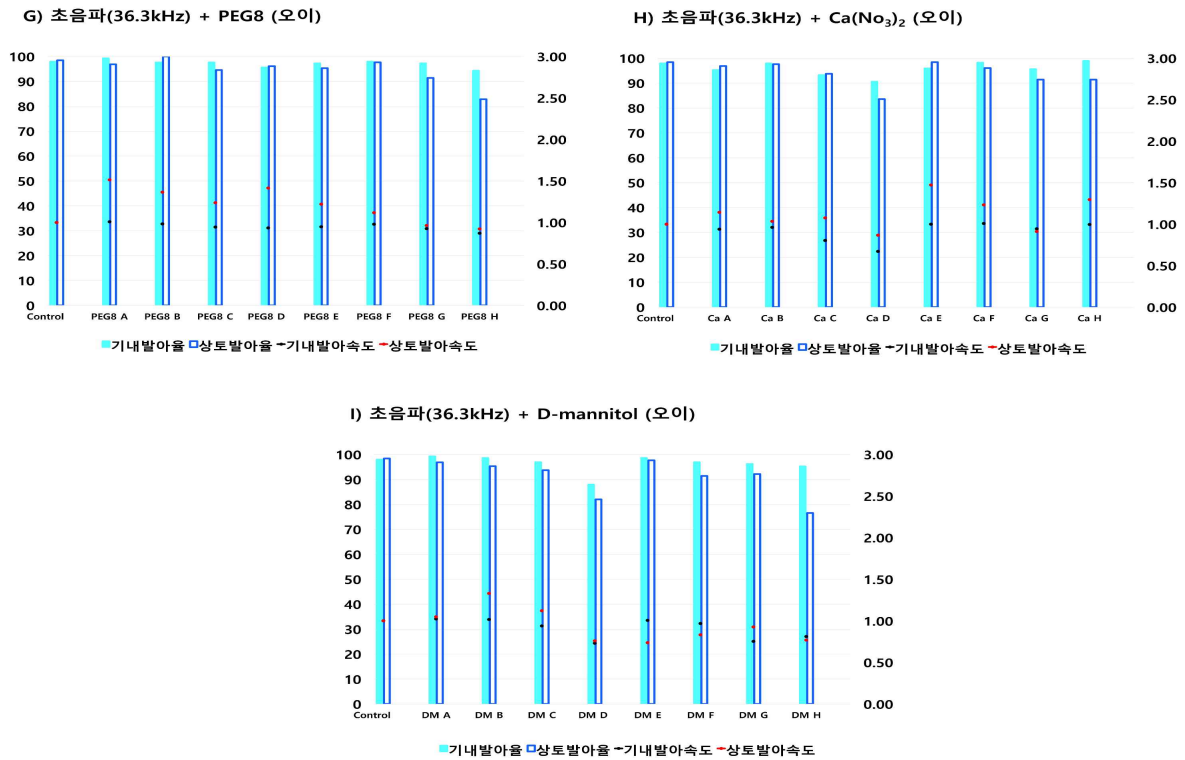


그림 19b. 오이종자의 용액(시약) + 초음파(36.3kHz) 프라이밍 처리 1년 후 결과

시약농도 : 0.1%(A-D), 3%(E-H) / 초음파처리: 30min(A, C, E, G), 1hr(B, D, F, H)
 / 총 프라이밍처리 시간 : 24hr(A/B, E/F), 48hr(C/D, G/H)

멜론 초음파(36.3kHz) + 시약 프라이밍 처리직후 결과

- 멜론 프라이밍 처리 연구에 적용된 무처리 종자발아율은 기내 56%(0.3), 상토 55%(0.18)였으며, 초음파처리(30min, 1hr)만 진행한 경우는 기내와 상토의 발아율 및 발아속도계수 결과가 모두 감소되는 경향이 나타났다. Water+초음파군의 24hr/48hr 조건에서는 기내, 상토검정결과 모두 Control과 비교해 기내(최소28%-최대34%), 상토(최소23%-최대33%)로 증가하였다. 시약(0.1%, 3%) + 초음파 프라이밍처리 된 실험군들 중에서 KNO₃, KCl 시약처리군의 농도별, 24hr, 48hr 프라이밍조건에서 전체적으로 높은 발아율/발아속도계수 상승을 나타내었으며 특히 다른 품목들의 48hr 처리 결과에서 대부분 감소되는 결과와 비교해 Water-30/1hr 과 KNO₃의 48hr(총 프라이밍처리시간) 처리가 증가되는 결과를 보이며 1년 후에도 지속되는 것으로 나타나 매우 효과적인 조건으로 판단된다. 프라이밍처리직후의 경우, KNO₃처리군의 0.1%-(30min /1hr)-24hr 조건의 기내/상토발아결과는 평균 발아율 80%이상/ 발아속도계수 0.5이상을 나타내었으며, KNO₃ 3%-(30min/1hr)-48hr의 기내/상토결과에서 80%이상의 발아율과 0.4이상의 발아속도계수를 나타내며 48hr에서도 프라이밍처리 효과를 보였다. KCl 처리군의 경우, 0.1%-(30min/1hr)-24hr/48hr 조건에서 기내/상토 모두 약 80%이상의 발아율상승과 약 0.5이상의 발아속도계수 상승을 확인할 수 있었다(표 25, 그림 20a, b). 선발기준은 기내와 상토발아검정결과가 모두 균일하게 나타나는 결과를 우선하여 효과적인 결과로 판단하였다. 본 연구결과평가에서 필수적으로 고려해야하는 것이 바로 발아속도계수이며, 기내와 상토발아간의 결과차이가 나는 현상을 이해하고 해석하는데 도움이 되며 이후의 결과에 대

해서도 미리 예측이 가능하기 때문이다. 기내의 경우 총 발아검정일이 8일이고, 상토발아의 경우 5일로 하여 품목별, 그룹별로 일정하게 결과분석을 하고자 하였다. 수십 번의 예비평가를 통해 박과종자의 상토발아 5일차의 결과가 기내발아 8일차의 결과임을 확인할 수 있었다. 따라서 결과수치에서 기내발아율과 발아속도계수가 상토발아보다 높거나 줄어드는 경우, 발아속도계수를 통해 기내와 상토검정의 차이를 확인하여 판단이 가능하다. 또한 기내검사와 현장사이 간 발아율 오차가 나타나기 시작하는 것을 의미하며 이는 처리그룹 내 종자발아 균일성이 깨진 상태임을 예측할 수 있다. 결과적으로 발아율이 감소되어지는 중임을 의미하는 것이며, 발아속도(발아세)가 낮아지거나 발아세의 차이가 벌어지기 시작된 것으로 판단된다. 이러한 모든 것을 종합하여 프라이밍 처리조건에 대한 평가를 매우 강하게 하고자 하였다.

표 25. 중대형(36.3kHz) 프라이밍 처리 멜론 발아검사결과(처리직후)

멜론 (기내)					멜론 (상토)						
Seed treatment		Priming temp. 20°C				Seed treatment		Priming temp. 20°C			
Priming type	Treatment unit	24hr		48hr		Priming type	Treatment unit	24hr		48hr	
		GP ^z (%)	R ^y (per day)	GP (%)	R (per day)			GP (%)	R (per day)		
무처리		56	0.3			무처리		55	0.18		
		(24/48hr 처리 적용 X)						(24/48hr 처리 적용 X)			
초음파 (only)	30min	44	0.21			초음파 (only)	30min	30	0.14		
	1hr	61	0.28				1hr	45	0.2		
water base		(24/48hr 처리 적용 X)				water base		(24/48hr 처리 적용 X)			
Water (only)		결과제외				Water (only)	24hr	결과제외			
Water	30min	90	0.48	84	0.46	Water	30min	78	0.37	88	0.56
	1hr	89	0.49	87	0.48		1hr	80	0.38	83	0.52
KNO ₃	0.1%-30min	89	0.49	70	0.36	KNO ₃	0.1%-30min	80	0.53	68	0.41
	0.1%-1hr	89	0.51	75	0.37		0.1%-1hr	80	0.54	68	0.4
	3%-30min	83	0.43	88	0.46		3%-30min	74	0.47	80	0.53
	3%-1hr	81	0.41	81	0.44		3%-1hr	72	0.47	75	0.47
KCl	0.1%-30min	87	0.5	88	0.5	KCl	0.1%-30min	79	0.46	88	0.5
	0.1%-1hr	84	0.45	88	0.5		0.1%-1hr	79	0.47	86	0.49
	3%-30min	74	0.42	76	0.44		3%-30min	70	0.42	76	0.45
	3%-1hr	68	0.37	77	0.41		3%-1hr	77	0.4	77	0.47
NaCl	0.1%-30min	51	0.24	58	0.29	NaCl	0.1%-30min	68	0.34	68	0.38
	0.1%-1hr	48	0.23	60	0.31		0.1%-1hr	64	0.31	70	0.36
	3%-30min	35	0.16	40	0.18		3%-30min	27	0.12	51	0.24
	3%-1hr	43	0.21	44	0.21		3%-1hr	37	0.2	30	0.14
NaNO ₃	0.1%-30min	61	0.33	63	0.34	NaNO ₃	0.1%-30min	64	0.32	64	0.3
	0.1%-1hr	64	0.34	66	0.34		0.1%-1hr	74	0.37	60	0.27
	3%-30min	46	0.23	49	0.24		3%-30min	55	0.26	20	0.08
	3%-1hr	41	0.21	36	0.17		3%-1hr	20	0.08	45	0.19
PEG6000	0.1%-30min	51	0.26	67	0.33	PEG6000	0.1%-30min	64	0.31	75	0.37
	0.1%-1hr	50	0.25	59	0.3		0.1%-1hr	68	0.31	78	0.41
	3%-30min	74	0.33	80	0.38		3%-30min	84	0.38	38	0.24
	3%-1hr	81	0.35	79	0.35		3%-1hr	45	0.2	18	0.12
PEG8000	0.1%-30min	71	0.39	77	0.41	PEG8000	0.1%-30min	73	0.34	43	0.38
	0.1%-1hr	69	0.35	71	0.36		0.1%-1hr	72	0.34	62	0.41
	3%-30min	45	0.24	64	0.35		3%-30min	72	0.21	70	0.34
	3%-1hr	54	0.26	64	0.33		3%-1hr	84	0.31	76	0.37
D-mannitol	0.1%-30min	74	0.33	80	0.38	D-mannitol	0.1%-30min	78	0.33	83	0.35
	0.1%-1hr	81	0.35	79	0.35		0.1%-1hr	77	0.34	82	0.31
	3%-30min	66	0.28	79	0.33		3%-30min	77	0.31	80	0.29
	3%-1hr	67	0.29	73	0.28		3%-1hr	70	0.27	84	0.35
Ca(NO ₃) ₂	0.1%-30min	82	0.37	83	0.36	Ca(NO ₃) ₂	0.1%-30min	82	0.32	76	0.29
	0.1%-1hr	82	0.35	75	0.33		0.1%-1hr	78	0.29	80	0.31
	3%-30min	79	0.34	81	0.34		3%-30min	91	0.5	87	0.42
	3%-1hr	73	0.31	83	0.36		3%-1hr	79	0.37	81	0.41

결과제외 : 종자상태에 문제가 생겨 본 결과에 적용하지 못함.

z : Germination percentage(GP) / y : Germination rate(R)

* Significant at the 0.05 level of probability means separation within columns by One way ANOVA and Duncan's multiple range test, P=0.05

멜론 초음파(36.3kHz) + 시약 프라이밍 처리 1년 후 결과

- 프라이밍 처리 1년 후 무처리 종자발아율은 기내 47%(0.17), 상토 59%(0.21)로 기내발아율 및 속도계수는 감소하는 수치를 나타냈으며, 상토의 경우 최종발아율 및 속도계수는 거의 변화가 없는 것으로 확인되었으며, 초음파만 처리된 그룹에서도 동일한 결과를 나타내었다(표 26, 그림 21a, b).

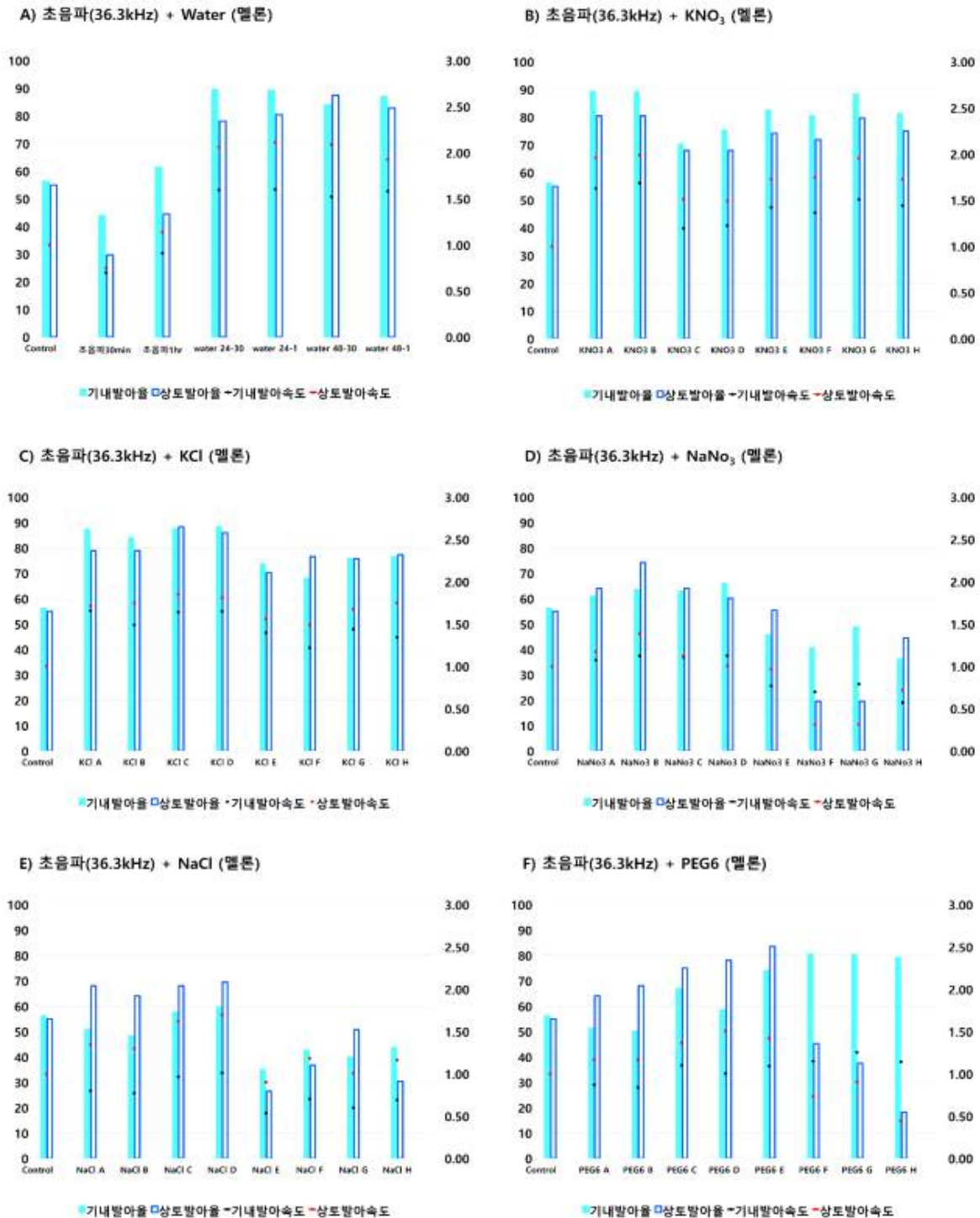


그림 20a. 멜론종자의 용액(시약) +초음파(36.3kHz) 프라이밍 처리직후결과
 시약농도 : 0.1%(A-D), 3%(E-H) / 초음파처리: 30min(A, C, E, G), 1hr(B, D, F, H)

/ 총 프라이밍처리 시간 : 24hr(A/B, E/F), 48hr(C/D, G/H)

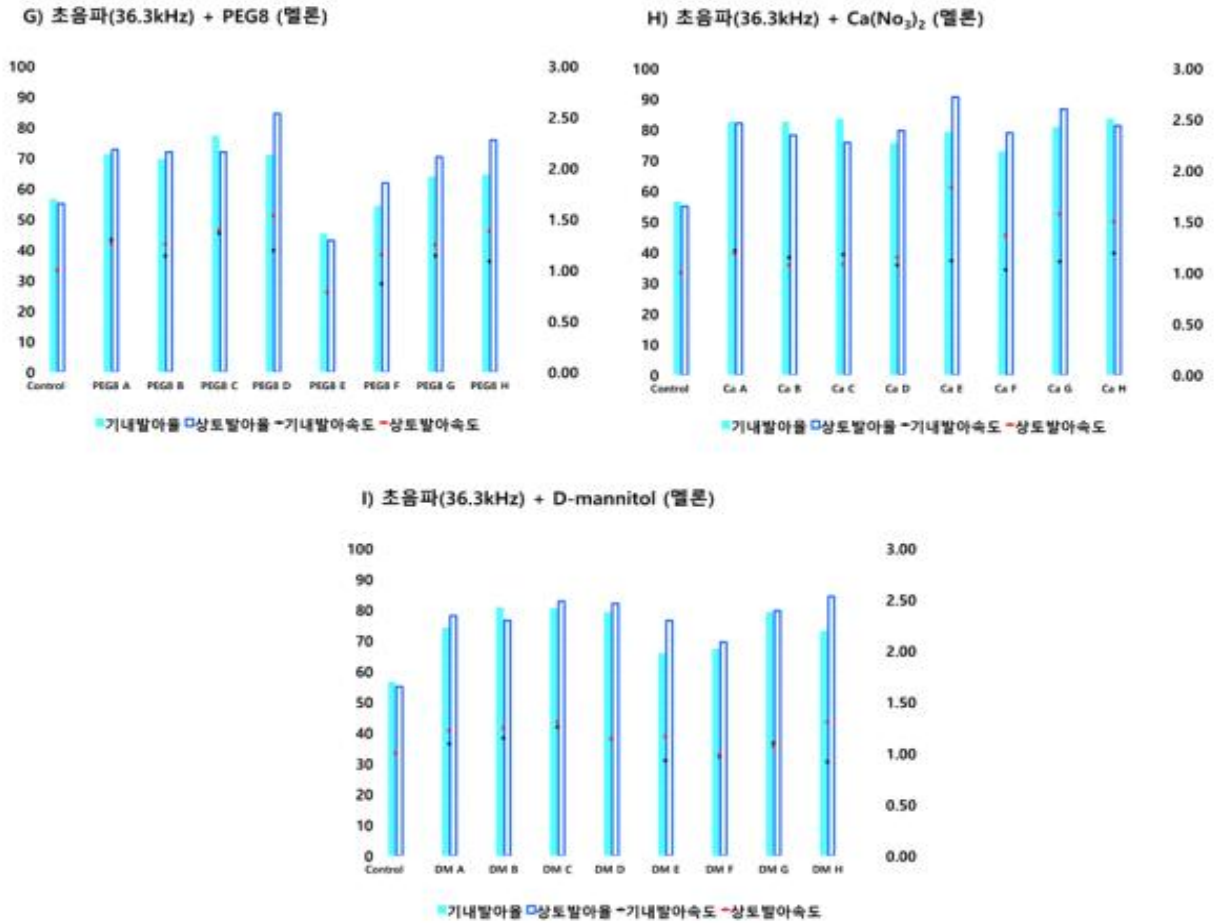


그림 20b. 멜론종자의 용액(시약) +초음파(36.3kHz) 프라이밍 처리직후결과

시약농도 : 0.1%(A-D), 3%(E-H) / 초음파처리: 30min(A, C, E, G), 1hr(B, D, F, H)
/ 총 프라이밍처리 시간 : 24hr(A/B, E/F), 48hr(C/D, G/H)

- 프라이밍 처리직후 높은 발아율 및 발아속도계수를 24hr/48hr 조건 모두 증가했던 Water + 초음파 처리군의 1년 뒤에 평균 10%이상, 발아속도계수는 약 0.2정도 감소되는 결과를 나타내었다(표 26).
- KNO₃처리군은 1년이 지난 뒤에도 Control(무처리)과 비교하여 기내/상토에서 모두 발아율 20%이상, 발아속도계수 0.1이상을 나타내었으나 처리직후와 비교하여 기내검정결과에서 10% 이상, 발아속도계수는 0.15이상 감소된 것을 확인할 수 있었다. 상토발아검정결과에는 발아율에서 큰 변화폭은 나타나지 않았으나 전체적으로 속도발아계수가 0.1이상 감소하는 것으로 나타났다.

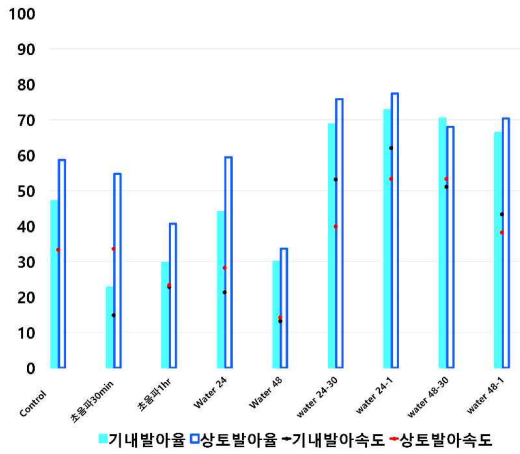
표 26. 중대형(36.3kHz) 프라이밍 처리 멜론 발아검사결과(1년후)

멜론 (기내)		Priming temp. 20°C				멜론 (상토)		Priming temp. 20°C			
Seed treatment		24hr		48hr		Seed treatment		24hr		48hr	
Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)	GP (%)	R (per day)	Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)	GP (%)	R (per day)
무처리		47	0.17			무처리		59	0.21		
		(24/48hr 처리 적용 x)						(24/48hr 처리 적용 x)			
초음파 (only)	30min 1hr	23 30	0.08 0.12			초음파 (only)	30min 1hr	55 41	0.21 0.15		
water base		(24/48hr 처리 적용 x)				water base		(24/48hr 처리 적용 x)			
Water (only)		44	0.11	30	0.07	Water (only)	24hr	59	0.18	34	0.09
Water	30min 1hr	69 73	0.28 0.32	70 66	0.27 0.23	Water	30min 1hr	76 77	0.25 0.34	68 70	0.34 0.24
KNO ₃	0.1%-30min	71	0.3	53	0.14	KNO ₃	0.1%-30min	83	0.38	66	0.24
	0.1%-1hr	78	0.35	48	0.14		0.1%-1hr	78	0.34	65	0.27
	3%-30min	64	0.29	64	0.22		3%-30min	79	0.34	78	0.31
	3%-1hr	58	0.23	67	0.26		3%-1hr	81	0.33	74	0.29
KCl	0.1%-30min	71	0.32	70	0.26	KCl	0.1%-30min	79	0.33	77	0.25
	0.1%-1hr	74	0.37	75	0.23		0.1%-1hr	83	0.36	63	0.2
	3%-30min	69	0.31	63	0.25		3%-30min	75	0.3	70	0.28
	3%-1hr	55	0.25	66	0.28		3%-1hr	63	0.25	77	0.35
NaCl	0.1%-30min	41	0.1	36	0.08	NaCl	0.1%-30min	64	0.24	61	0.25
	0.1%-1hr	33	0.06	41	0.08		0.1%-1hr	80	0.34	63	0.2
	3%-30min	27	0.06	27	0.06		3%-30min	59	0.25	34	0.11
	3%-1hr	27	0.04	36	0.11		3%-1hr	23	0.08	20	0.06
NaNO ₃	0.1%-30min	30	0.1	32	0.1	NaNO ₃	0.1%-30min	42	0.14	44	0.12
	0.1%-1hr	34	0.11	23	0.07		0.1%-1hr	41	0.16	32	0.09
	3%-30min	34	0.13	16	0.04		3%-30min	63	0.25	25	0.06
	3%-1hr	25	0.11	13	0.03		3%-1hr	49	0.17	41	0.13
D-mannitol	0.1%-30min	64	0.21	63	0.19	D-mannitol	0.1%-30min	71	0.24	49	0.19
	0.1%-1hr	65	0.22	63	0.19		0.1%-1hr	61	0.19	70	0.23
	3%-30min	54	0.17	45	0.13		3%-30min	66	0.23	61	0.18
	3%-1hr	55	0.18	41	0.13		3%-1hr	48	0.13	49	0.14
Ca(NO ₃) ₂	0.1%-30min	53	0.16	50	0.13	Ca(NO ₃) ₂	0.1%-30min	62	0.17	50	0.14
	0.1%-1hr	62	0.18	47	0.12		0.1%-1hr	43	0.12	38	0.1
	3%-30min	65	0.22	57	0.19		3%-30min	26	0.11	50	0.13
	3%-1hr	63	0.2	59	0.17		3%-1hr	69	0.22	54	0.14
Significant		*		*	Significant		*		*		*

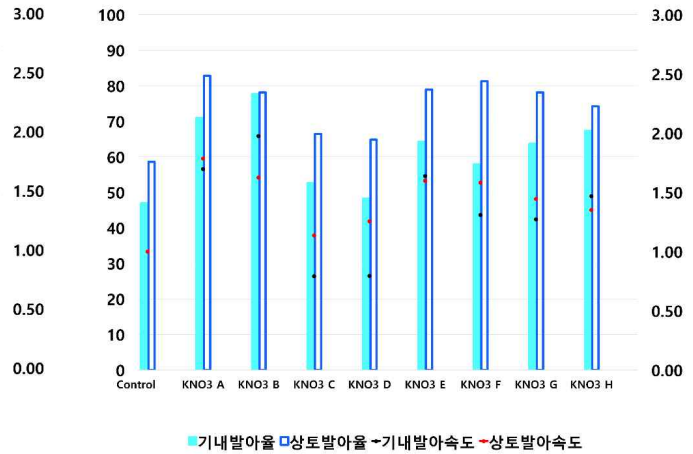
z : Germination percentage(GP) / y : Germination rate(R)

* Significant at the 0.05 level of probability means separation within columns by One way ANOVA and Duncan's multiple range test, P=0.05

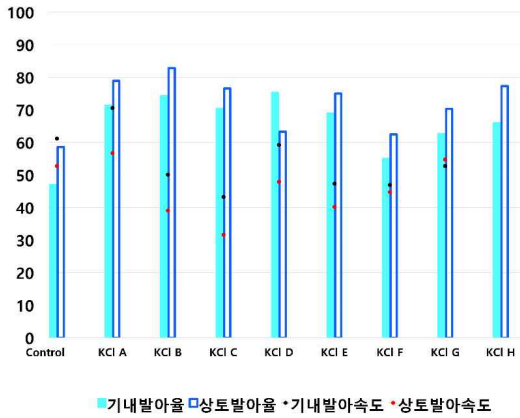
A) 초음파(36.3kHz) + Water (멜론)



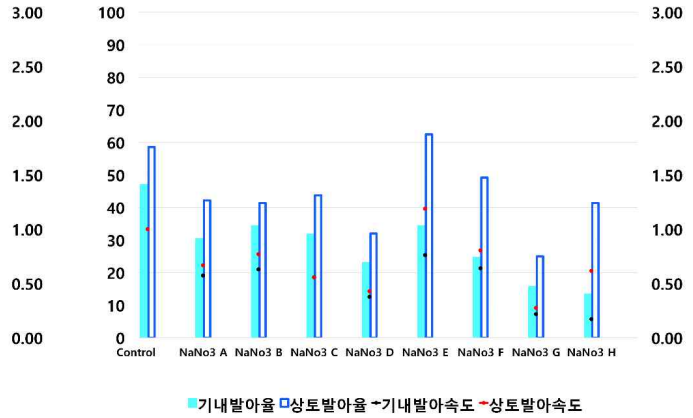
B) 초음파(36.3kHz) + KNO₃ (멜론)



C) 초음파(36.3kHz) + KCl (멜론)



D) 초음파(36.3kHz) + NaNO₃ (멜론)



E) 초음파(36.3kHz) + NaCl (멜론)

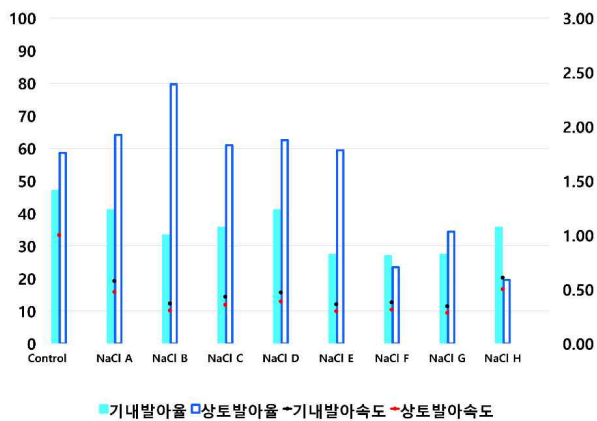


그림 21a. 멜론종자의 용액(시약) + 초음파(36.3kHz) 프라이밍 처리 1년 후 결과

시약농도 : 0.1%(A-D), 3%(E-H) / 초음파처리: 30min(A, C, E, G), 1hr(B, D, F, H)
 / 총 프라이밍처리 시간 : 24hr(A/B, E/F), 48hr(C/D, G/H)

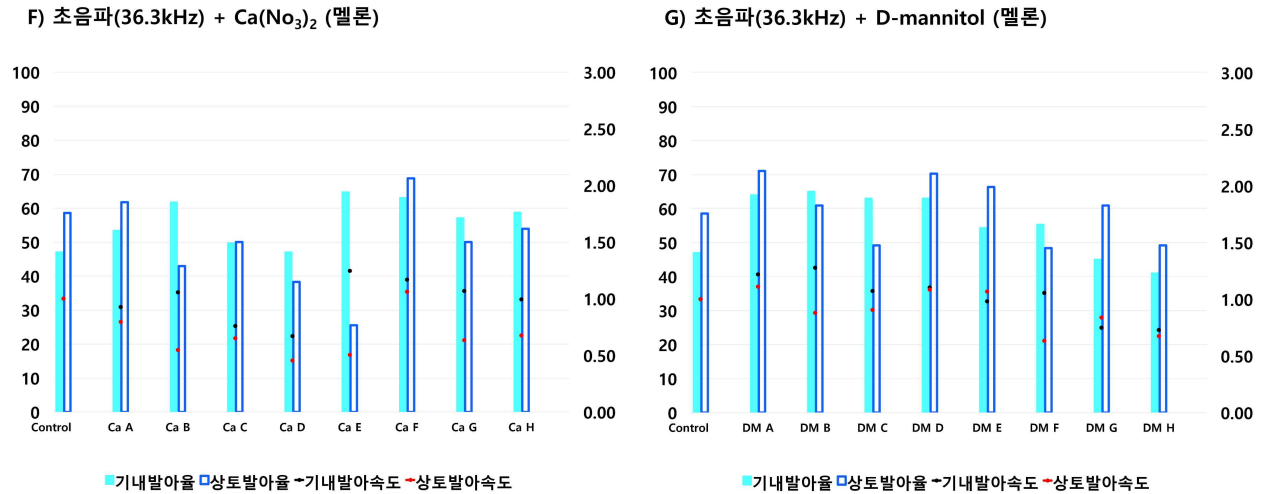


그림 21b. 멜론종자의 용액(시약) + 초음파(36.3kHz) 프라이밍 처리 1년 후 결과

시약농도 : 0.1%(A-D), 3%(E-H) / 초음파처리: 30min(A, C, E, G), 1hr(B, D, F, H)
/ 총 프라이밍처리 시간 : 24hr(A/B, E/F), 48hr(C/D, G/H)

- KCl 처리군의 경우도 KNO₃와 전체적으로 비슷한 양상을 나타내었으며, 다른 처리군들은 전체적으로 기내와 상토발아검사간의 결과가 같이 감소되거나 기내발아율과 상토발아율의 차이가 나타나고 기내발아율이 더 감소된 수치를 보이므로 앞으로 상토발아율도 결과적으로 떨어질 것을 기내발아속도계수보다 상토발아속도계수가 높다하여도 무처리의 발아속도계수 보다는 떨어졌기에 결과적으로 처리군들의 발아율/발아속도계수가 떨어지는 중이고 상토결과도 감소될 것이 예측된다 (표 26, 그림 21a, b).

수박 초음파(21.78kHz) + 시약(0.3%) 프라이밍 처리직후 결과

- 2018년 초음파 +시약 프라이밍 처리연구에서 초음파(36.3kHz)만 처리된 그룹의 상토발아의 결과가 기내발아결과와 비교해 매우 큰 폭으로 감소되었다. 뿐만 아니라 시약 +실험처리군 중에서 Water, KNO₃, KCl, NaCl, NaNO₃, PEG6000, PEG8000의 기내발아 및 발아속도계수는 무처리군(90%이상, 0.3이상)보다 최대 9%, 0.2이상 증가했으나, 상토발아의 경우 발아속도계수는 0.1이상 증가한 반면 발아율은 비슷하거나 감소하였으며, 그 외 D-mannito과 Ca(NO₃)₂처리군에서는 기내와 상토 둘 다 감소되는 것으로 나타났다(표 21). 이러한 교차평가의 결과가 일관적이지 못하고 다소 편차가 발생하여 보다 신뢰성 있는 조건을 찾고자 초음파처리 시 발아가 큰 폭으로 감소한 결과를 고려하여 초음파출력을 내리고 시약처리농도를 낮은 범위 내에서 찾고자 수정하였다. 그 결과 2019년에는 21.78kHz의 초음파로 처리하였고, 처리직후의 결과는 표 27과 같다. 처리직후 무처리군(Control)의 발아율은 기내 86%(0.29), 상토 84%(0.23)였으며, 초음파만 처리한 그룹의 경우 무처리 군과 비교하여 30min 처리 시 발아율(발아속도계수)는 기내 84%(0.32), 상토 84%(0.24)로 나타났고, 1hr처리 시는 기내 87%(0.31), 상토 80%(0.19)로 확인되었고, 2hr처리 시에는 기내 90%(0.35), 상토 77%(0.21)로 나타났다. 초음파만 30min 처리시 무처리와 비교하여 발아율에 크게 영향을 받지 않았으며, 기내와 상토발아결과가 일관되게 나타났으며, 6개월 뒤의 결과와 함께 재평가하고자 한다. 그 외의 시약+초음파 처리그룹들의 결과를 확인하면 Water, KNO₃, KCl,

NaCl > NaNO₃, PEG6000 > PEG8000, D-mannitol, Ca(NO₃)₂의 순서로 구분하였으며, 상토 발아 및 발아속도계수를 기준으로 분류하였다(표 27, 그림 22). 초음파(21.78kHz) + 시약 프라이밍처리직후의 기내발아검정결과를 가지고는 조건평가가 어려워 상토발아검정결과를 가지고 우선 분석해 보았으며 이 또한 6개월 뒤의 결과와 함께 최종적으로 판단하고자 한다. 총 9개의 시약처리그룹이 3개의 그룹으로 분리가 되었으며, 가장 첫 번째 그룹인 Water, KNO₃, KCl, NaCl 처리군의 기내발아검정결과(처리직후)와 상토발아결과간의 차이가 적고 무처리군에 비해 발아율의 감소가 없으며 발아속도계수 또한 증가된 그룹으로 분리되었다. Water, KNO₃, KCl, NaCl, NaNO₃의 각 처리군의 결과 비교를 해보면 Water(30min)를 포함하여 각 시약군들의 0.3%-30min 그룹에서의 발아율 및 발아속도계수가 무처리 및 기내/상토 간 비교하였을 때 가장 안정적인 효과를 보이는 조건으로 나타났다.

수박 초음파(21.78kHz) + 시약(0.3%) 프라이밍 처리 6개월 후 결과

- 저장 6개월 뒤, 무처리군의 발아율/발아속도계수는 기내(82%, 0.27), 상토(87%, 0.29)결과를 보였으며, 처리직후 당시의 Control의 결과와 비교해 큰 변화없이 그대로 발아율이 유지되었다. 초음파를 30min처리한 결과는 기내(77%, 0.24), 상토(88%, 0.32)로 나타났으며, 1hr은 상토(84%, 0.32), 2hr은 상토(78%, 0.22)로 30min처리에 비해 감소되는 결과를 보였으나 기내의 경우 비슷하게 유지되었다. 초음파+시약프라이밍 처리 군들은 대체로 무처리와 비교해 상토 발아결과에서 큰 폭으로 감소되는 결과를 보였으나, 기내발아결과는 Control과 비교하면 유지되거나 약간 감소되는 양상을 보여 평가하기가 모호했다. 그러나 처리직후의 기내발아검정과 비교하면 확실히 감소된 발아율을 확인할 수 있었다. 6개월 전에는 프라이밍 처리에 의한 효과로 생각되어지는 실험군들도 있었으나, 저장 이후의 결과를 보면 전체적으로 모두 발아율이 무처리보다 감소되는 결과를 나타내므로 효과적인 처리조건을 선발이 어려운 결과를 보였다.

- 그 중에서도 특히 PEG8000과 Ca(NO₃)₂ 처리군의 결과에서 흥미로운 부분이 있었는데 처리직후 기내발아결과의 경우 무처리군과 비교해 90-95%범위의 결과를 보였고 상토의 경우 20-38%, 0.07 - 0.09의 발아속도계수를 나타내어 매우 큰 차이로 편차를 보였다. 이러한 결과가 6개월 뒤에는 기내발아(82%-90%, 0.29-0.35)는 처리직후 보다는 감소했지만 상토발아(61%-87%, 0.21-0.34)는 매우 높게 증가된 것으로 나타났다. 2018년 진행된 연구조건인 초음파 36.3kHz + 시약(0.1%/3%) 프라이밍 처리했던 조건에서 무처리와 비교해 기내발아 및 상토발아가 일정하게 감소되어 다소 부정적인 결과를 보였다. 그러나 초음파 21.78kHz + 시약(0.3%)에서는 확실히 민감한 반응결과를 보였기에 5품목에 대한 2차 조건연구실험의 농도조건을 설정하는데 영향을 주었다.

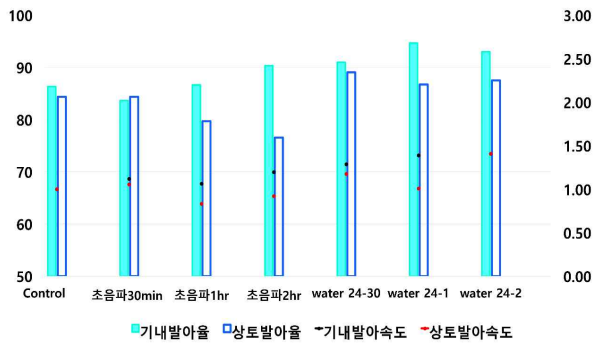
표 27. 초음파(21.78kHz) + 시약(0.3%)프라이밍 처리 수박 발아검사결과(처리직후)

수박 (기내) Priming temp. 20°C				수박 (상토) Priming temp. 20°C			
Seed treatment		24hr		Seed treatment		24hr	
Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)	Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)
무처리		86 (24hr 처리 적용 x)	0.29	무처리		84 (24hr 처리 적용 x)	0.23
초음파 21.78kHz (only) water base	30min	84	0.32	초음파 21.78kHz (only) water base	30min	84	0.24
	1hr	87	0.31		1hr	80	0.19
	2hr	90 (24hr 처리 적용 x)	0.35		2hr	77 (24hr 처리 적용 x)	0.21
Water	30min	91	0.37	Water	30min	89	0.27
	1hr	95	0.4		1hr	87	0.23
	2hr	93	0.41		2hr	88	0.32
KNO ₃	0.3%-30min	92	0.37	KNO ₃	0.3%-30min	95	0.38
	0.3%-1hr	89	0.37		0.3%-1hr	93	0.31
	0.3%-2hr	93	0.37		0.3%-2hr	88	0.3
KCl	0.3%-30min	90	0.35	KCl	0.3%-30min	90	0.32
	0.3%-1hr	90	0.36		0.3%-1hr	80	0.29
	0.3%-2hr	92	0.38		0.3%-2hr	95	0.38
NaCl	0.3%-30min	94	0.4	NaCl	0.3%-30min	94	0.33
	0.3%-1hr	95	0.39		0.3%-1hr	83	0.22
	0.3%-2hr	94	0.38		0.3%-2hr	94	0.24
NaNO ₃	0.3%-30min	88	0.38	NaNO ₃	0.3%-30min	86	0.31
	0.3%-1hr	89	0.4		0.3%-1hr	84	0.27
	0.3%-2hr	91	0.37		0.3%-2hr	77	0.24
PEG6000	0.3%-30min	91	0.39	PEG6000	0.3%-30min	85	0.23
	0.3%-1hr	95	0.42		0.3%-1hr	81	0.22
	0.3%-2hr	93	0.39		0.3%-2hr	20	0.05
PEG8000	0.3%-30min	92	0.39	PEG8000	0.3%-30min	29	0.07
	0.3%-1hr	91	0.39		0.3%-1hr	29	0.07
	0.3%-2hr	89	0.36		0.3%-2hr	28	0.07
D-mannitol	0.3%-30min	92	0.39	D-mannitol	0.3%-30min	65	0.15
	0.3%-1hr	93	0.4		0.3%-1hr	39	0.09
	0.3%-2hr	95	0.41		0.3%-2hr	27	0.06
Ca(NO ₃) ₂	0.3%-30min	95	0.38	Ca(NO ₃) ₂	0.3%-30min	38	0.09
	0.3%-1hr	94	0.41		0.3%-1hr	29	0.07
	0.3%-2hr	94	0.4		0.3%-2hr	35	0.08
Significant		*		Significant		*	

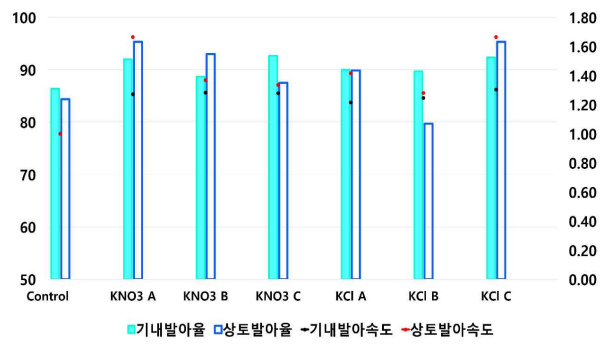
z : Germination percentage(GP) / y : Germination rate(R)

* Significant at the 0.05 level of probability means separation within columns by One way ANOVA and Duncan's multiple range test, P=0.05

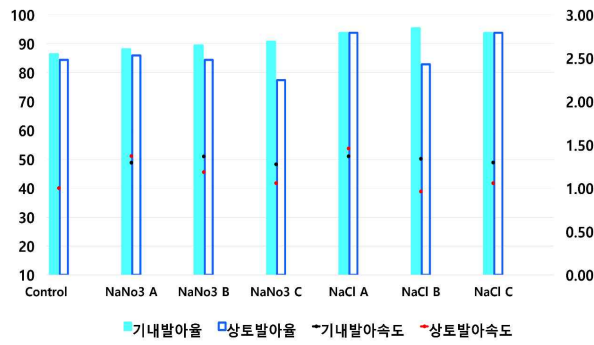
A) 초음파(21.78kHz, 수박)



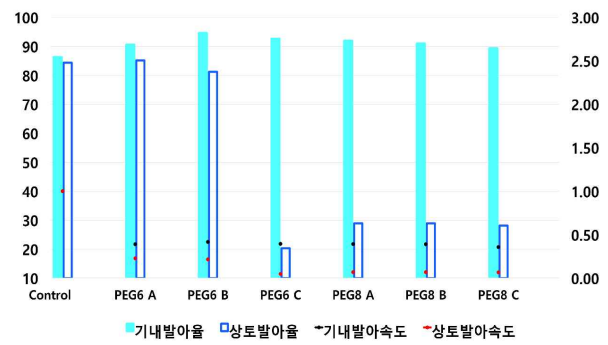
B) 초음파(21.78kHz) + 0.3% KNO₃ / KCl (수박)



C) 초음파(21.78kHz) + 0.3% NaNO₃ / NaCl (수박)



D) 초음파(21.78kHz) + 0.3% PEG 6 / PEG 8 (수박)



E) 초음파(21.78kHz) + 0.3% Ca(NO₃)₂ / D-mannitol (수박)

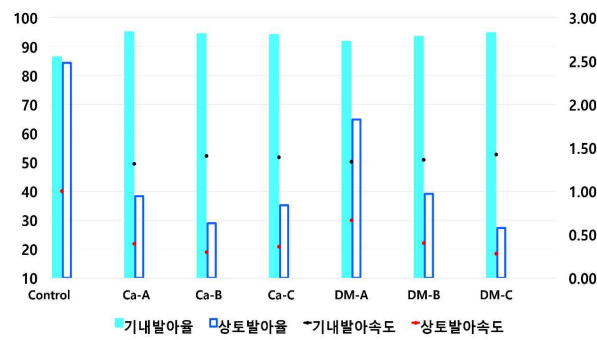


그림 22. 수박종자의 시약(0.3%) +초음파(21.78kHz) 프라이밍 처리직후 결과
 시약농도 (0.3%) / 초음파처리시간: 30min(A), 1hr(B), 2hr(C) / 초음파+시약프라이밍처리 총 시간 : 24hr

표 28. 초음파(21.78kHz) +시약(0.3%)프라이밍 처리 수박 발아검사결과(6개월 후)

수박 (기내) Priming temp. 20°C				수박 (상토) Priming temp. 20°C			
Seed treatment		24hr		Seed treatment		24hr	
Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)	Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)
무처리		82 (24hr 처리 적용 x)	0.27	무처리		87 (24hr 처리 적용 x)	0.29
초음파 21.78kHz (only) water base	30min	77	0.24	초음파 21.78kHz (only) water base	30min	88	0.32
	1hr	79	0.27		1hr	84	0.32
	2hr	82 (24hr 처리 적용 x)	0.27		2hr	78 (24hr 처리 적용 x)	0.22
Water	30min	84	0.29	Water	30min	83	0.3
	1hr	82	0.3		1hr	81	0.3
	2hr	81	0.28		2hr	85	0.31
KNO ₃	0.3%-30min	71	0.23	KNO ₃	0.3%-30min	67	0.28
	0.3%-1hr	77	0.24		0.3%-1hr	69	0.3
	0.3%-2hr	68	0.22		0.3%-2hr	61	0.22
KCl	0.3%-30min	80	0.28	KCl	0.3%-30min	78	0.33
	0.3%-1hr	83	0.31		0.3%-1hr	82	0.33
	0.3%-2hr	78	0.27		0.3%-2hr	63	0.24
NaCl	0.3%-30min	87	0.33	NaCl	0.3%-30min	58	0.22
	0.3%-1hr	84	0.3		0.3%-1hr	56	0.23
	0.3%-2hr	89	0.34		0.3%-2hr	59	0.22
NaNO ₃	0.3%-30min	75	0.26	NaNO ₃	0.3%-30min	64	0.29
	0.3%-1hr	78	0.26		0.3%-1hr	84	0.35
	0.3%-2hr	75	0.28		0.3%-2hr	55	0.22
PEG6000	0.3%-30min	89	0.33	PEG6000	0.3%-30min	55	0.18
	0.3%-1hr	88	0.33		0.3%-1hr	77	0.27
	0.3%-2hr	82	0.3		0.3%-2hr	54	0.21
PEG8000	0.3%-30min	82	0.28	PEG8000	0.3%-30min	63	0.21
	0.3%-1hr	87	0.33		0.3%-1hr	61	0.22
	0.3%-2hr	90	0.34		0.3%-2hr	70	0.3
D-mannitol	0.3%-30min	92	0.34	D-mannitol	0.3%-30min	75	0.29
	0.3%-1hr	86	0.32		0.3%-1hr	70	0.29
	0.3%-2hr	89	0.32		0.3%-2hr	75	0.33
Ca(NO ₃) ₂	0.3%-30min	87	0.29	Ca(NO ₃) ₂	0.3%-30min	80	0.29
	0.3%-1hr	90	0.34		0.3%-1hr	87	0.34
	0.3%-2hr	89	0.35		0.3%-2hr	72	0.28
Significant		*		Significant		*	

z : Germination percentage(GP) / y : Germination rate(R)

* Significant at the 0.05 level of probability means separation within columns

by One way ANOVA and Duncan's multiple range test, P=0.05

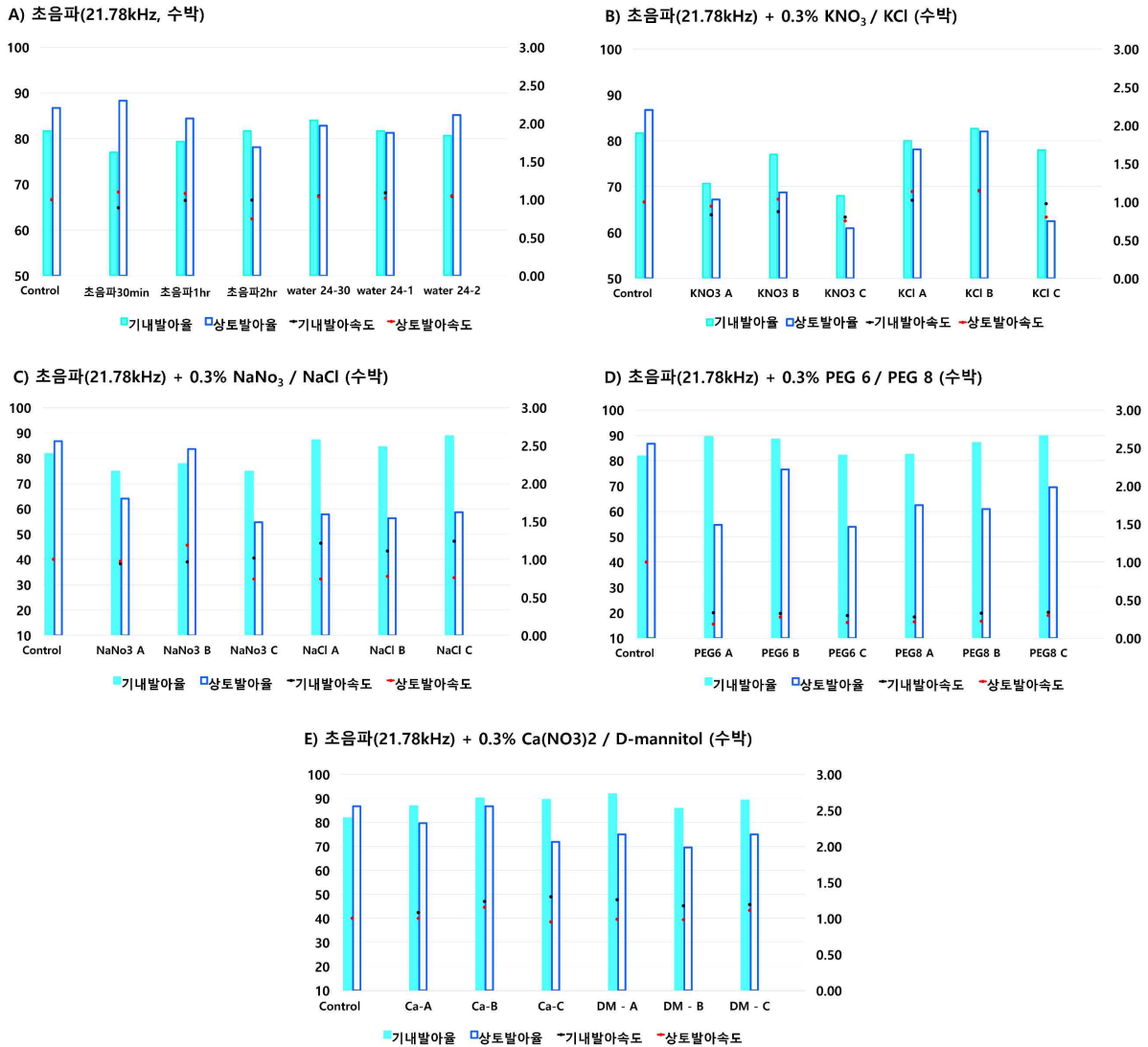


그림 23. 수박종자의 시약(0.3%) +초음파(21.78kHz) 프라이밍 처리 6개월 후 결과

시약농도 (0.3%) / 초음파처리시간: 30min(A), 1hr(B), 2hr(C) / 초음파+시약프라이밍처리 총 시간 : 24hr

- 위의 결과를 통하여 프라이밍 처리하는 실무자들이 현장에서 처리하는 기준을 설정할 시에 참고가 될 결과라고 생각되며, 본 연구기관에서도 참고하여 조건을 재설정하여 다시 진행하고자 하였다. 특히 민감한 반응을 보였던 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 처리조건에서도 의미 있는 결과를 확인할 수 있을 것으로 예측되어 수박에 한하여 실행된 초음파+시약(0.3%) 결과를 통해 2차 추가연구의 조건을 초음파(21.78kHz) + 시약(0.5%)로 설정하여 추가 진행하였다.

수박 초음파(21.78kHz) + 시약(0.5%) 프라이밍 처리 직후 결과

- 2차 추가실험을 진행하기 전 무처리(Control) 종자의 발아율은 기내(79%, 0.19), 상토(80%, 0.19)로 큰 오차없이 일관된 결과를 보였으며, 초음파 처리만 진행된 그룹의 결과와 함께 비교하였을 때, 30min/1hr 모두 기내(86%, 0.26이상), 상토(100%, 0.31)로 무처리군 보다 발아율 및 발아속도계수가 높게 나타났다. 그러나 기내와 상토결과간의 편차가 심해 발아검정 당시의 차이점을 면밀히 검토해 보았다. 처리직후 검정 당시에 기내발아는 바로 진행된 반면 상

토발아검사를 진행하기에 검정용 온실의 온도관리가 어려운 겨울이었던 점으로 인하여 1개월이 지난시점에 상토발아검정이 뒤늦게 진행되어 두 검정간의 시간적인 차이가 있었음을 확인하였다. 1개월이 지난시점이라 할지라도 Control 결과에 큰 문제가 없어 조건평가를 하는데 문제가 없을 것으로 생각하였으나 표 29와 같은 결과를 보이게 된 것이다. 따라서 약 80%의 발아율의 종자에 초음파를 30min/1hr처리한 뒤 종자의 회복기를 거쳐 1개월 정도의 시점에 가장 프라이밍 효과가 크게 나타나는 것으로 생각되어진다. 프라이밍 처리연구를 진행하면서 처리직후에는 감소하였던 처리군이 저장이후에 다시 회복되는 결과를 종종 확인되기도 하였다. 이 부분에 관해서는 연구과제가 끝난 뒤에도 추가적인 연구를 통해 프라이밍 처리의 효과시점을 기간별 모니터링을 통해 보다 확실한 조건을 확인할 예정이다. 대부분의 Water 및 초음파+시약 처리군들이 기내결과에서 증가된 결과를 보였으나 상토결과에서는 NaCl, NaNo3를 제외하고 모두 감소하였다. 따라서 6개월 후의 결과를 통해 처리직후 효과적이라 판단되는 처리군의 최종적인 평가를 하였다. PEG6000, PEG8000 처리군은 환경적인 문제 및 작업용이성 부분에서 문제가 되어 본 실험에서는 최종적으로 제외하였다.

표 29. 초음파(21.78kHz) +시약(0.5%) 프라이밍 처리 수박 발아검사결과(처리직후)

수박 (기내) Priming temp. 20°C				수박 (상토) Priming temp. 20°C			
Seed treatment		24hr		Seed treatment		24hr	
Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)	Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)
무처리		79 (24hr 처리 적용 x)	0.19	무처리		80 (24hr 처리 적용 x)	0.19
초음파 (only) water base	30min	86	0.26	초음파 (only) water base	30min	100	0.31
	1hr	86 (24hr 처리 적용 x)	0.29		1hr	100 (24hr 처리 적용 x)	0.31
Water only	24hr	94	0.32	Water only	24hr	73	0.2
Water	30min	93	0.33	Water	30min	85	0.25
	1hr	93	0.33		1hr	77	0.22
KNO ₃	0.5%-30min	83	0.21	KNO ₃	0.5%-30min	59	0.14
	0.5%-1hr	95	0.3		0.5%-1hr	57	0.14
KCl	0.5%-30min	78	0.21	KCl	0.5%-30min	63	0.16
	0.5%-1hr	90	0.25		0.5%-1hr	63	0.16
NaCl	0.5%-30min	93	0.34	NaCl	0.5%-30min	89	0.24
	0.5%-1hr	91	0.3		0.5%-1hr	88	0.21
NaNO ₃	0.5%-30min	92	0.36	NaNO ₃	0.5%-30min	94	0.21
	0.5%-1hr	91	0.35		0.5%-1hr	96	0.22
D-mannitol	0.5%-30min	95	0.34	D-mannitol	0.5%-30min	41	0.18
	0.5%-1hr	95	0.4		0.5%-1hr	37	0.2
Ca(NO ₃) ₂	0.5%-30min	96	0.39	Ca(NO ₃) ₂	0.5%-30min	55	0.23
	0.5%-1hr	97	0.42		0.5%-1hr	55	0.23
Significant		*		Significant		*	

z : Germination percentage(GP) / y : Germination rate(R)

* Significant at the 0.05 level of probability means separation within columns by One way ANOVA and Duncan's multiple range test, P=0.05

수박 초음파(21.78kHz) +시약(0.5%) 프라이밍 처리 6개월 후 결과

- 앞서 진행된 결과들을 통해 Control(무처리)의 발아율 및 발아속도계수가 6개월 전과 비교하여 그대로 유지된 상태인 종자샘플과 2차 추가연구에 적용된 무처리(Control) 종자샘플의 발아율(80%, 0.19)이 6개월 뒤의 발아율(상토63%, 0.17)로 감소된 발아력에 차이를 가진 Control 종자의 프라이밍처리 결과차이를 주목하게 되었다. 즉, 같은 최종발아율을 가지고 있으나 발아력(세)에 차이를 가지고 있는 무처리(Control)종자에서의 프라이밍 처리결과가 어떠한지 확인하였다. 1차 추가연구(초음파+0.3%시약)의 Ca(NO₃)₂ 처리직후 발아율이 급격히 약 50% 감소하고 6개월 뒤에 무처리군과 비슷하게 발아율을 회복하였다. 이와 비교하여 2차 추가연구는 무처리군보다 25%정도 감소하여 1차 추가연구의 감소폭보다는 적게 나타났고, 6개월 뒤에는 발아율이 초음파(30min)+Ca(NO₃)₂(0.5%)+24hr군에서 크게 증가(상토98%, 0.26) 및 유지된 것을 확인할 수 있으며, 초음파(1hr)+Ca(NO₃)₂처리군의 경우 처리직후와 큰 차이는 없었다. 따라서 초음파+Ca(NO₃)₂(0.5%)의 처리조건이 1차 추가연구의 조건보다 종자의 발아율에 긍정적인 결과를 미치는 것으로 확인하였다. 뿐만 아니라 처리직후의 결과를 계속 유지하는 그룹으로는 초음파만 처리된 조건과 Water+초음파(1hr), 초음파(1hr)+Ca(NO₃)₂ 군 외에 대부분의 처리군이 Control과 비교하여 발아율이 모두 무처리보다 높게 유지되었다. 특히, NaNO₃군의 결과, 초음파(30min)에서 처리직후(기내92%, 상토94%), 6개월 후(상토 87%)의 발아율과 초음파(1hr)에서 처리직후(기내91%, 상토96%), 6개월 후(상토 82%)의 발아율을 보여 6개월 후 무처리 발아율과 비교하여 높은 발아율로 프라이밍 효과를 나타내었다.

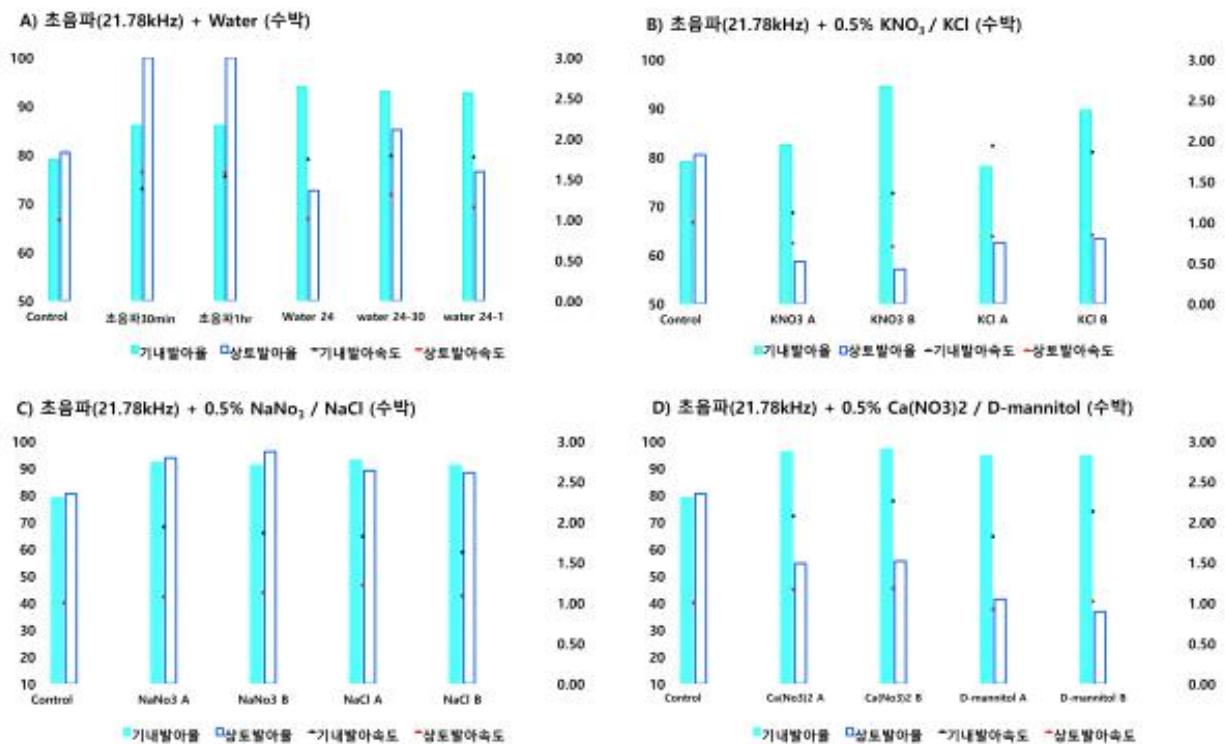


그림 24. 수박종자의 시약(0.5%) +초음파(21.78kHz) 프라이밍 처리직후 결과
 시약농도 (0.3%) / 초음파처리시간: 30min(A), 1hr(B) / 초음파+시약프라이밍처리 총 시간 : 24hr

- 또한 초음파(only)처리이후 처리효과시점을 파악하고 효력이 유지되는 기간을 추가연구를 통해 조건의 재현성이 확인된다면 파종 전 사용할 종자에 적용 가능한 프라이밍조건 중 하나로 적용해 볼 수 있을 것으로 생각된다. 다시 말해 프라이밍처리조건을 두 가지로 나누어 1. 바로 파종을 진행할 종자의 발아율/발아균일성을 위해 적용이 가능한 조건, 2. 다음 작기에 적용하거나 해외수출용 종자로 장시간 처리효과가 지속되어야 하는 조건으로 나누어 프라이밍 처리기준을 다양하게 적용해 볼 수 있을 것으로 생각된다. 수박 종자의 경우 전체적으로 초음파 30min처리, 총 프라이밍 시간은 24hr으로 조건이 가장 안정적인 결과를 나타내는 조건들로 함축되어졌으나 초음파+시약 처리를 통해 프라이밍처리의 효과를 보기 위해서는 처리당시의 종자가 프라이밍처리가 가능한 종자인지의 기준을 만들어 “모든 종자를 프라이밍 처리하여 발아를 높인다”라는 현재의 일반적인 프라이밍처리의 생각들을 지양해야할 것으로 생각되고, 발아세력에 대한 조건(즉 종자의 수명의 현 상태를 포함하여)도 함께 충족되어야 할 것으로 결과 데이터를 통해 판단된다. 그림25의 발아 5, 6일차에 대한 그래프는 본 연구기관의 상토발아총일수를 5일로 일정하게 기준을 잡아 모든 데이터들을 비교 평가할 때 참고하는 자료로도 사용한다. 5일차 이후 6일차의 결과가 5일차와 동일한지 발아율이 달라지는지를 통해 더욱 확실한 발아율(세)의 결과를 판단할 수 있기에 함께 결과 그래프를 만들어 확인하였다. 5일차의 발아율과 발아속도계수가 매우 낮은 경우들의 그룹들이 있을 때 처리직후나 무처리군과의 비교로 발아세(력)이 떨어졌음을 확인할 수도 있지만 6일차의 결과가 5일차와 동일한지 발아율이 달라지는지를 통해 종자의 발아율상태변화분석을 위한 마지막 확인과정이기도 하다.

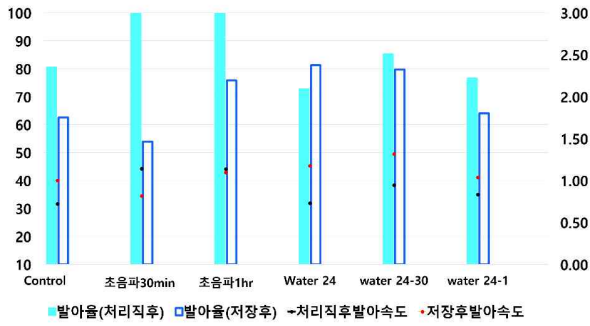
표 30. 초음파(21.78kHz) +시약(0.5%) 프라이밍 처리 수박 발아검사결과(6개월 후)

수박 - 상토발아결과 (5일차 기준)							
(처리직후) Priming temp. 20°C				(6개월후) Priming temp. 20°C			
Seed treatment		24hr		Seed treatment		24hr	
Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)	Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)
무처리		80 (24hr 처리 적용 x)	0.19	무처리		63 (24hr 처리 적용 x)	0.17
초음파 (only)	30min	100	0.31	초음파 (only)	30min	54	0.14
	1hr	100	0.31		1hr	76	0.19
water base		(24hr 처리 적용 x)		water base		(24hr 처리 적용 x)	
Water only	24hr	73	0.2	Water only	24hr	81	0.2
Water	30min	85	0.25	Water	30min	80	0.23
	1hr	77	0.22		1hr	64	0.18
KNO ₃	0.5%-30min	59	0.14	KNO ₃	0.5%-30min	74	0.19
	0.5%-1hr	57	0.14		0.5%-1hr	83	0.22
KCl	0.5%-30min	63	0.16	KCl	0.5%-30min	79	0.22
	0.5%-1hr	63	0.16		0.5%-1hr	89	0.26
NaCl	0.5%-30min	89	0.24	NaCl	0.5%-30min	91	0.23
	0.5%-1hr	88	0.21		0.5%-1hr	72	0.2
NaNO ₃	0.5%-30min	94	0.21	NaNO ₃	0.5%-30min	87	0.27
	0.5%-1hr	96	0.22		0.5%-1hr	82	0.2
D-mannitol	0.5%-30min	41	0.18	D-mannitol	0.5%-30min	70	0.19
	0.5%-1hr	37	0.2		0.5%-1hr	95	0.26
Ca(NO ₃) ₂	0.5%-30min	55	0.23	Ca(NO ₃) ₂	0.5%-30min	98	0.26
	0.5%-1hr	55	0.23		0.5%-1hr	59	0.16
Significant		*		Significant		*	

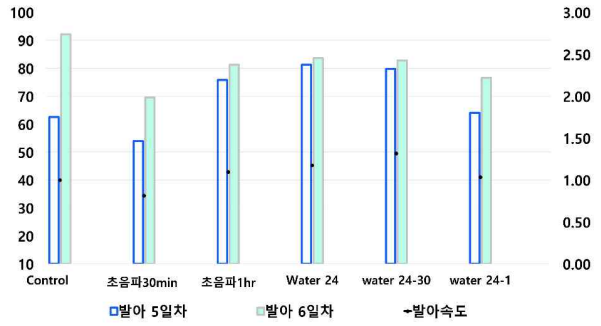
z : Germination percentage(GP) / y : Germination rate(R)

* Significant at the 0.05 level of probability means separation within columns by One way ANOVA and Duncan's multiple range test, P=0.05

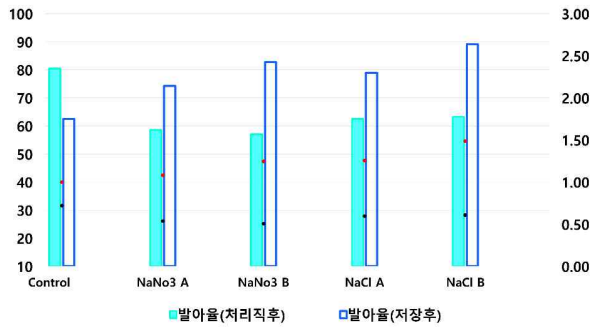
A) 초음파(21.78kHz) + Water (수박, 발아검사 5일차)



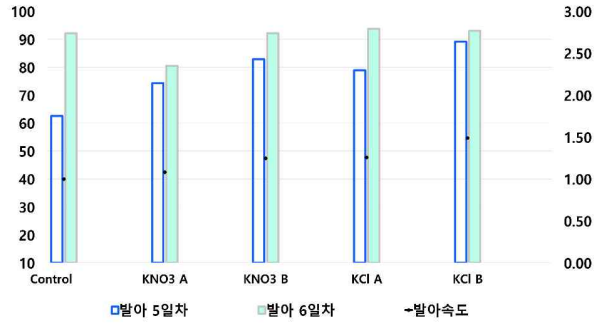
A) 초음파(21.78kHz) + Water (수박, 저장후 발아일수별 결과)



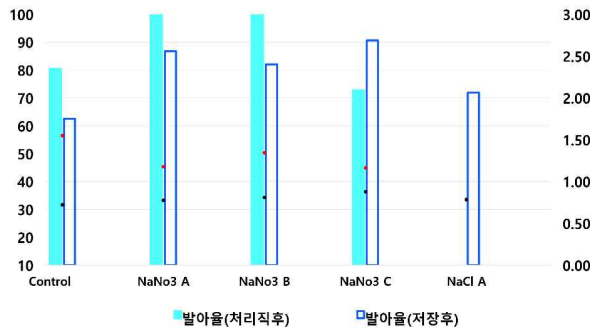
B) 초음파(21.78kHz) + 0.5% KNO₃ / KCl (수박, 발아검사 5일차)



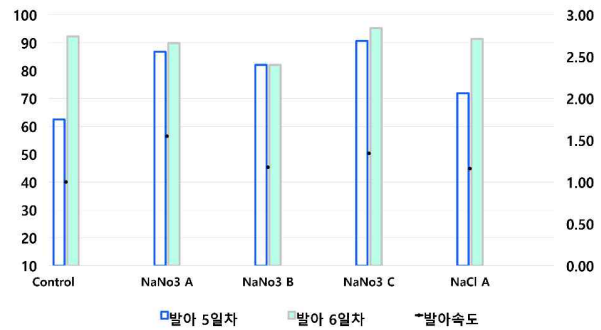
B) 초음파(21.78kHz) + 0.5% KNO₃ / KCl (수박, 저장후 발아일수별 결과)



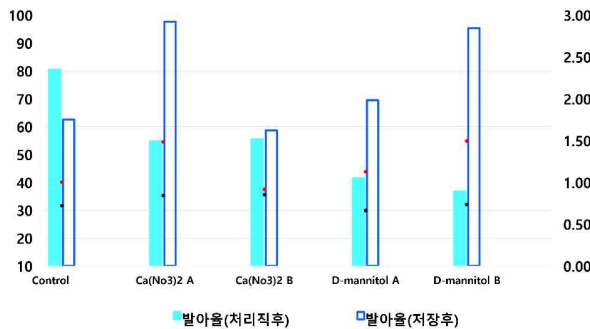
C) 초음파(21.78kHz) + 0.5% NaNO₃ / NaCl (수박, 발아검사 5일차)



C) 초음파(21.78kHz) + 0.5% NaNO₃ / NaCl (수박, 저장후 발아일수별 결과)



D) 초음파(21.78kHz) + 0.5% Ca(NO₃)₂ / D-mannitol (수박, 발아검사 5일차)



D) 초음파(21.78kHz) + 0.5% Ca(NO₃)₂ / D-mannitol (수박, 저장후 발아일수별 결과)

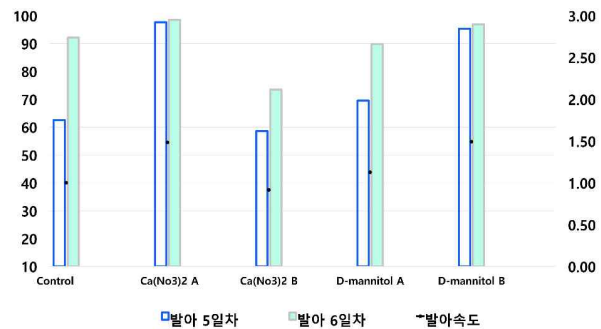


그림 25. 수박종자의 시약(0.5%) + 초음파(21.78kHz) 프라이밍 처리직후/6개월 후 결과
 시약농도 (0.3%) / 초음파처리시간: 30min(A), 1hr(B) / 초음파+시약프라이밍처리 총 시간 : 24hr

호박 초음파(21.78kHz) + 시약(0.5%) 프라이밍 처리직후, 1년 후 결과

- 프라이밍처리를 진행하면서 기내와 상토발아검정 간의 편차를 집중해서 분석하게 되는데 그 결과 두 갈래로 기준 잡아 평가를 하게 되었다. 처리직후 무처리군(Control)과 비교해 높은 기내결과(발아율/발아속도계수)와 무처리군 보다 낮거나 비슷하게 유지되는 상토(발아율/발아속도계수)결과의 6개월, 1년 뒤를 분석해보면 1. 저장 후에 처리직후의 기내발아율로 상토발아율이 높게 회복되어 있는 경우, 2. 저장 후의 기내발아율/발아속도계수가 처리직후의 상토발아율/발아속도계수로 감소되어 있는 경우로 나뉘게 된다. 1번의 경우에 해당되는 조건인 경우 결과적으로 프라이밍 처리가 매우 효과적이다 판단이 가능하고, 2번의 경우 결과적으로 프라이밍처리가 처리직후나 저장 후에도 효과가 없었다고 판단하게 된다. 물론 처리 직후, 저장이후에도 기내/상토결과가 균일하게 나타나는 결과도 있으며 이는 매우 신뢰도가 높은 결과로 분석하고, 그 외에는 평가대상에서 제외한다. 이번 호박 종자의 프라이밍의 경우 무처리 종자의 발아율 자체가 매우 높은 편으로 프라이밍의 효과 판단이 어려웠다. 이러한 경우 효과를 확인하기 보다는 물리적, 화학적처리에 얼마나 자극을 받아 반응하지 여부로 처리가 가능한지에 대한 평가만 가능하게 된다. 저장 이후의 결과를 가지고도 처리효과를 판단하기 어려운 것이 무처리 종자의 Ageing time이 어느 시점에 위치한지에 따라 저장 후에도 발아율이 높은 상태를 유지할 수 도 있기 때문에 정확한 분석이 어려운 부분이 있다.

표 31. 초음파(21.78kHz) +시약(0.5%) 프라이밍 처리 호박 발아검사결과(처리직후)

호박 (기내) Priming temp. 20°C				호박 (상토) Priming temp. 20°C			
Seed treatment		24hr		Seed treatment		24hr	
Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)	Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)
무처리		99 (24hr 처리 적용 x)	0.31	무처리		99 (24hr 처리 적용 x)	0.71
초음파 (only) water base	30min	99	0.52	초음파 (only) water base	30min	93	0.34
	1hr	99 (24hr 처리 적용 x)	0.53		1hr	48 (24hr 처리 적용 x)	0.12
Water only	24hr	100	0.54	Water only	24hr	64	0.15
Water	30min 1hr	99	0.51	Water	30min 1hr	61	0.14
		100	0.5			73	0.17
KNO ₃	0.5%-30min	99	0.39	KNO ₃	0.5%-30min	99	0.54
	0.5%-1hr	99	0.44		0.5%-1hr	98	0.56
KCl	0.5%-30min	100	0.44	KCl	0.5%-30min	100	0.59
	0.5%-1hr	98	0.41		0.5%-1hr	98	0.5
NaCl	0.5%-30min	99	0.65	NaCl	0.5%-30min	95	0.55
	0.5%-1hr	100	0.64		0.5%-1hr	99	0.6
NaNO ₃	0.5%-30min	100	0.67	NaNO ₃	0.5%-30min	100	0.55
	0.5%-1hr	99	0.66		0.5%-1hr	99	0.62
D-mannitol	0.5%-30min	100	0.61	D-mannitol	0.5%-30min	98	0.28
	0.5%-1hr	99	0.63		0.5%-1hr	100	0.34
Ca(NO ₃) ₂	0.5%-30min	100	0.63	Ca(NO ₃) ₂	0.5%-30min	98	0.28
	0.5%-1hr	99	0.66		0.5%-1hr	98	0.34
Significant		*		Significant		*	

z : Germination percentage(GP) / y : Germination rate(R)

* Significant at the 0.05 level of probability means separation within columns by One way ANOVA and Duncan's multiple range test, P=0.05

- 2차 추가연구에서 처리직후 실험군들 대부분이 무처리와 큰 차이가 없이 높은 발아율을 유지하였으나, 초음파(Only)/Water(Only)/Water(30min, 1hr)/Ca(NO₃)₂에서는 발아율이 무처리군과 비교해 감소하는 결과를 보였고 6개월 뒤에는 Ca(NO₃)₂를 제외한 모두 높은 발아율로 회복되었다. 그 예로 Water(30min, 1hr)직후의 결과는 기내(99%이상, 0.5이상), 상토(61%, 73%/0.14, 0.17)로 상토결과가 무처리에 비해 20-30% 감소했었으나 6개월 후에는 상토(93%, 99%/0.37, 0.37)로 확인되었고, 초음파(36.3kHz)+시약처리 직후의 같은 조건의 결과를 비교하면 기내/상토 모두 일정하게 발아율이 높게 확인되어 처리직후의 결과로만 비교하자면 36.3kHz의 초음파 조건이 좀 더 프라이밍처리에 효과적이라 생각된다. 본 연구의 호박종자의 2차 추가연구의 저장실험은 1년 이상이 지난 시점에 다시 재확인을 통해 프라이밍 처리의 효과가 있었는지가 확인될 것으로 예측된다. 종자의 수명과 활력상태가 높은 시점에 프라이밍처리를 통해 발아율이 높은 상태를 오래 유지할 수 있도록 할 경우, 저장성효과를 더욱 길게 유지해야하는 경우나 해외수출을 진행할 시에 적합한 프라이밍 처리 방식의 하나로 가 능하리라 생각되어진다. 초음파(21.78kHz)+시약(KNO₃, KCl, NaCl, NaNO₃, D-mannitol/0.3%)은 초음파 30min, 1hr처리 조건에 상관없이 모두 발아율이 높게 유지되었으나 발아속도계수에서 처리직후보다 0.2 감소를 보였고, 무처리군도 저장 6개월 뒤 매우 높은 발아율을 유지하였으나 발아속도계수에서는 0.7에서 0.3으로 크게 감소된 것으로 나타났다. 초음파와 water만 처리직후인 경우 감소되었으나 초음파+시약처리군들은 대부분 그대로 유지된 것으로 보아 화학적 처리의 자극도 발아율 유지에 영향을 미쳤다는 것을 확인할 수 있었다. 결과적으로 호박종자의 프라이밍처리를 통해 초음파+시약프라이밍처리가 발아율유지에 영향을 미칠 수 있을 것으로 예측된다.

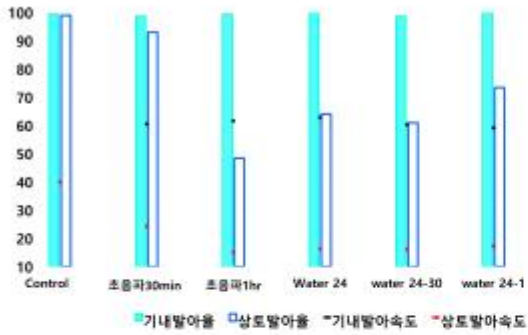
표 32. 초음파(21.78kHz) +시약(0.5%) 프라이밍 처리 호박 발아검사결과(6개월후)

호박 - 상토발아결과 (5일차 기준)							
(처리직후)				(6개월후)			
Seed treatment		Priming temp. 20°C		Seed treatment		Priming temp. 20°C	
		24hr				24hr	
Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)	Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)
무처리		99 (24hr 처리 적응 x)	0.71	무처리		99 (24hr 처리 적응 x)	0.3
초음파 (only)	30min	93	0.34	초음파 (only)	30min	99	0.36
water base	1hr	48 (24hr 처리 적응 x)	0.12	water base	1hr	98	0.39
Water only	24hr	64	0.15	Water only	24hr	98	0.34
Water	30min	61	0.14	Water	30min	93	0.37
	1hr	73	0.17		1hr	99	0.37
KNO ₃	0.5%-30min	99	0.54	KNO ₃	0.5%-30min	98	0.3
	0.5%-1hr	98	0.56		0.5%-1hr	98	0.32
KCl	0.5%-30min	100	0.59	KCl	0.5%-30min	93	0.35
	0.5%-1hr	98	0.5		0.5%-1hr	96	0.37
NaCl	0.5%-30min	95	0.55	NaCl	0.5%-30min	98	0.38
	0.5%-1hr	99	0.6		0.5%-1hr	97	0.38
NaNO ₃	0.5%-30min	100	0.58	NaNO ₃	0.5%-30min	98	0.4
	0.5%-1hr	99	0.62		0.5%-1hr	98	0.37
D-mannitol	0.5%-30min	98	0.28	D-mannitol	0.5%-30min	100	0.38
	0.5%-1hr	100	0.34		0.5%-1hr	98	0.43
Ca(NO ₃) ₂	0.5%-30min	98	0.28	Ca(NO ₃) ₂	0.5%-30min	88	0.32
	0.5%-1hr	98	0.34		0.5%-1hr	95	0.34
Significant		*		Significant		*	

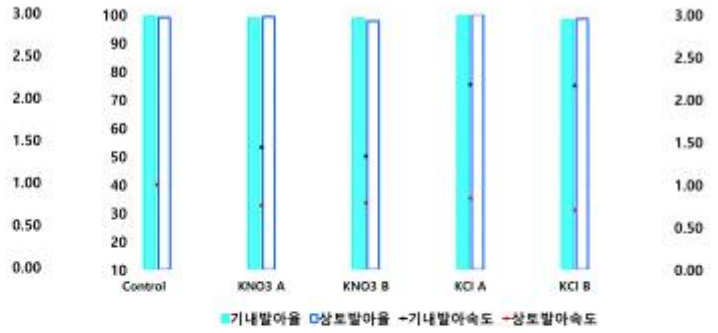
z : Germination percentage(GP) / y : Germination rate(R)

* Significant at the 0.05 level of probability means separation within columns by One way ANOVA and Duncan's multiple range test, P=0.05

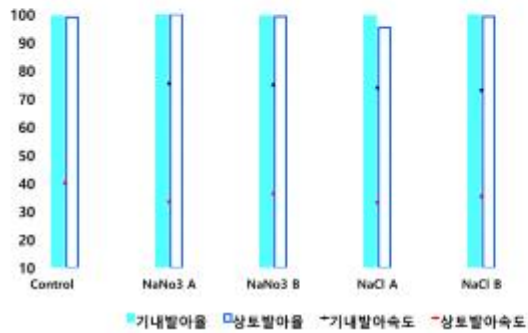
A) 초음파(21.78kHz) + Water (호박)



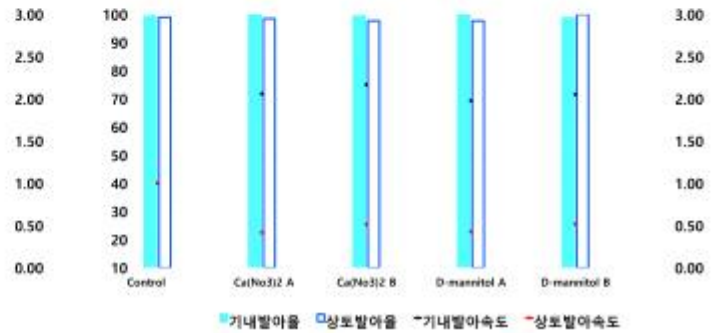
B) 초음파(21.78kHz) + 0.5% KNO₃ / KCl (호박)



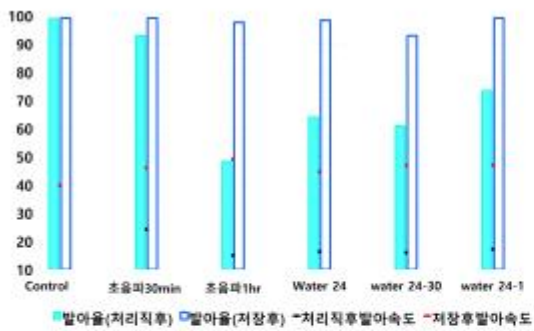
C) 초음파(21.78kHz) + 0.5% NaNO₃ / NaCl (호박)



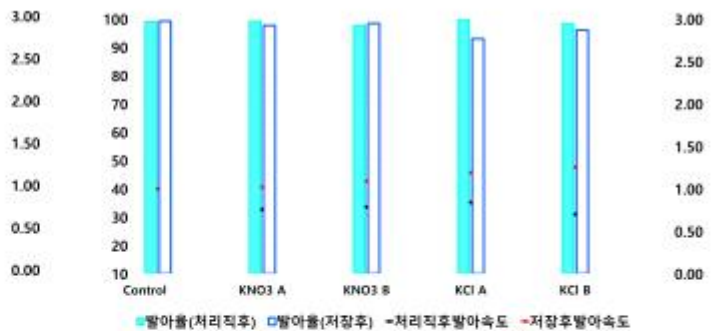
D) 초음파(21.78kHz) + 0.5% Ca(NO₃)₂ / D-mannitol (호박)



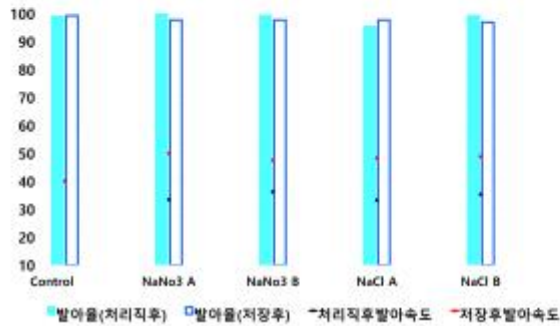
A) 초음파(21.78kHz) + Water (호박, 발아검사 5일차)



B) 초음파(21.78kHz) + 0.5% KNO₃ / KCl (호박, 발아검사 5일차)



C) 초음파(21.78kHz) + 0.5% NaNO₃ / NaCl (호박, 발아검사 5일차)



D) 초음파(21.78kHz) + 0.5% Ca(NO₃)₂ / D-mannitol (호박, 발아검사 5일차)

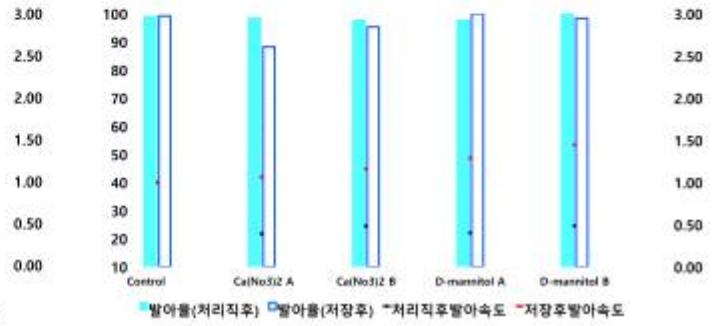


그림 26. 호박종자의 시약(0.5%) +초음파(21.78kHz) 프라이밍 처리직후/6개월 후 시약농도 (0.3%) / 초음파처리시간: 30min(A), 1hr(B) / 초음파+시약프라이밍처리 총 시간 : 24hr

오이 초음파(21.78kHz) + 시약(0.5%) 프라이밍 처리결과

- 무처리(Control) 종자의 발아율은 기내(97%, 0.41), 상토(37%, 0.14)였으며, 6개월 저장한 뒤에는 상토발아기간(총 5일)을 기준으로 저장후의 상토(15%, 0.1)발아율은 감소하였다. 처리직후의 결과들 중에서 무처리군과 비교하여 발아검정결과가 증가되고 기내와 상토발아결과의 오차가 적은 그룹은 Water(only), 초음파+KNO₃, KCl, NaNO₃, NaCl에서 90%이었고, 이 그룹들의 발아율과, 발아속도계수가 최대 0.4까지 높게 증가되는 결과를 나타내었다(표 33, 그림 27). 6개월 뒤, 상토검정결과(5일기준적용)는 표 34(그림 28)에서와 같이 무처리군의 5일차 발아율이 저장전보다 20%이상 감소된 상태였으나 6일차에서는 70%이상의 최종 발아율을 보여 발아세가 이전보다 매우 낮아졌음을 확인할 수 있었다.
- 처리직후결과에서 기내와 상토 발아율(5일차)의 일관성을 유지하며, Control보다 발아율이 높은 그룹으로 Water-24-30min(약 70%)이 6개월 저장 후 5일차에 발아가 빨리 진행된 상태였으며, 6일차에는 90% 수준까지 도달하여 Control(무처리)보다 발아율이 높아진 것이 확인되어 프라이밍 처리 효과가 나타났음을 확인하였다. 처리직후의 기내와 상토발아결과에 차이가 있으나 무처리군보다는 발아율을 높게 유지하며, 저장 후에는 5,6일차에 높은 발아율을 보이는 프라이밍처리 그룹은 KCl-24-30min(기내93%, 상토55%), NaNO₃-24-30min(기내96%, 상토61%), NaCl-24-1hr(기내97%, 상토52%), Ca(NO₃)₂-24-1hr(기내8%, 상토40%), D-mannitol-24-30min(기내9%, 상토60%), D-mannitol-24-1hr(기내9%, 상토63%)으로 총 6조건이 있었으며, 이 조건들은 6일차 발아율그래프와 비교하여 발아율증가 및 발아세에도 프라이밍의 처리가 종자의 발아에 영향을 미친 것을 확인할 수 있었다.

표 33. 초음파(21.78kHz) +시약(0.5%) 프라이밍 처리 오이 발아검사결과(처리직후)

오이 (기내)				오이 (상토)			
Seed treatment		Priming temp. 20°C		Seed treatment		Priming temp. 20°C	
Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)	Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)
무처리		97	0.41	무처리		37	0.14
		(24hr 처리 적용 x)				(24hr 처리 적용 x)	
초음파 (only)	30min	95	0.29	초음파 (only)	30min	49	0.12
water base	1hr	95	0.3	water base	1hr	18	0.05
		(24hr 처리 적용 x)				(24hr 처리 적용 x)	
Water only	24hr	94	0.32	Water only	24hr	86	0.22
Water	30min	89	0.27	Water	30min	69	0.16
	1hr	91	0.29		1hr	82	0.21
KNO ₃	0.5%-30min	97	0.45	KNO ₃	0.5%-30min	93	0.24
	0.5%-1hr	96	0.46		0.5%-1hr	86	0.22
KCl	0.5%-30min	95	0.44	KCl	0.5%-30min	91	0.4
	0.5%-1hr	96	0.44		0.5%-1hr	93	0.41
NaCl	0.5%-30min	97	0.43	NaCl	0.5%-30min	95	0.32
	0.5%-1hr	94	0.41		0.5%-1hr	97	0.33
NaNO ₃	0.5%-30min	97	0.44	NaNO ₃	0.5%-30min	96	0.33
	0.5%-1hr	93	0.42		0.5%-1hr	91	0.31
D-mannitol	0.5%-30min	94	0.42	D-mannitol	0.5%-30min	9	0.02
	0.5%-1hr	93	0.4		0.5%-1hr	5	0.01
Ca(NO ₃) ₂	0.5%-30min	94	0.36	Ca(NO ₃) ₂	0.5%-30min	1	0
	0.5%-1hr	93	0.37		0.5%-1hr	8	0.02
Significant		*		Significant		*	

z : Germination percentage(GP) / y : Germination rate(R)

* Significant at the 0.05 level of probability means separation within columns by One way ANOVA and Duncan's multiple range test, P=0.05

- 앞선 36.3kHz 초음파를 이용한 프라이밍 처리 연구를 할 때에 오이 무처리(Control)종자의 발아율이 높은 상태에서 적용되었다. 처리직후와 1년 저장 결과를 통해 오이발아에 영향을 미치는지 확인한 결과 처리직후에는 모든 그룹에서 어떤 영향도 받지 않았으며, 1년이 지난 뒤 몇몇의 처리군에서만 발아율이 떨어지는 결과를 확인할 수 있었으나 프라이밍처리 효과로 판단하기는 어려웠다. 1차 연구에서 확보한 종자를 모두 소모하여 2차 추가연구에 적용된 Control 종자는 발아율(세)이 낮은 종자로 진행한 결과, 프라이밍처리의 목적과 가장 일치하는 결과를 확인할 수 있었다. 결과적으로 프라이밍 처리를 가장 효과적으로 적용할 수 있는 종자의 조건은 발아율 보다는 발아세가 많이 떨어지는 경우라 판단되어진다. 다시 말하면, 같은 발아율을 가지고 있는 종자라 하더라도 발아세(력)에 차이가 있을 것이며 바로 그 차이가 프라이밍 처리의 효과를 통해 종자의 상품성을 높일 수 있는 주요 조건이라고 생각된다. 뿐만 아니라 현재 처리조건 연구결과를 보면 6개월에서 1년 정도의 기간 안에서 충분히 저장가능성이 높은 조건들도 확인되고 있다. 프라이밍 처리를 통해 발아세/발아력이 떨어진 종자들을 판매가 가능한 종자로 상품성을 높이는 방법으로 고안되는 것이지만 종자수명 자체가 떨어지는 것까지 다시 되살릴 수는 없는 것이라 생각된다. 다시 말해 처리하고자 하는 종자를 어떠한 목적으로 위해 프라이밍 하는지 여부 및 프라이밍처리조건에 적합한 종자인지를 우선 선별하여 프라이밍 처리의 효과를 적절히 활용하는 것이 가장 프라이밍 효과를 정확히 이용하는 방법이라 생각된다.

표 34. 초음파(21.78kHz) +시약(0.5%) 프라이밍 처리 오이 발아검사결과(6개월 후)

오이 - 상토발아결과 (5일차 기준)							
(처리직후) Priming temp. 20°C				(6개월후) Priming temp. 20°C			
Seed treatment		24hr		Seed treatment		24hr	
Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)	Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)
무처리		37 (24hr 처리 적용 x)	0.14	무처리		15 (24hr 처리 적용 x)	0.1
초음파 (only) water base	30min	49	0.12	초음파 (only) water base	30min	9	0.09
	1hr	18 (24hr 처리 적용 x)	0.05		1hr	12 (24hr 처리 적용 x)	0.09
Water only	24hr	86	0.22	Water only	24hr	22	0.09
Water	30min 1hr	69	0.16	Water	30min 1hr	70	0.18
		82	0.21			20	0.14
KNO ₃	0.5%-30min 0.5%-1hr	93	0.24	KNO ₃	0.5%-30min 0.5%-1hr	55	0.16
		86	0.22			40	0.14
KCl	0.5%-30min 0.5%-1hr	91	0.4	KCl	0.5%-30min 0.5%-1hr	50	0.15
		93	0.41			56	0.15
NaCl	0.5%-30min 0.5%-1hr	95	0.32	NaCl	0.5%-30min 0.5%-1hr	38	0.12
		97	0.33			52	0.26
NaNO ₃	0.5%-30min 0.5%-1hr	96	0.33	NaNO ₃	0.5%-30min 0.5%-1hr	61	0.17
		91	0.31			23	0.1
D-mannitol	0.5%-30min 0.5%-1hr	9	0.02	D-mannitol	0.5%-30min 0.5%-1hr	60	0.17
		5	0.01			63	0.17
Ca(NO ₃) ₂	0.5%-30min 0.5%-1hr	1	0	Ca(NO ₃) ₂	0.5%-30min 0.5%-1hr	12	0.08
		8	0.02			40	0.14
Significant		*		Significant		*	

z : Germination percentage(GP) / y : Germination rate(R)

* Significant at the 0.05 level of probability means separation within columns by One way ANOVA and Duncan's multiple range test, P=0.05

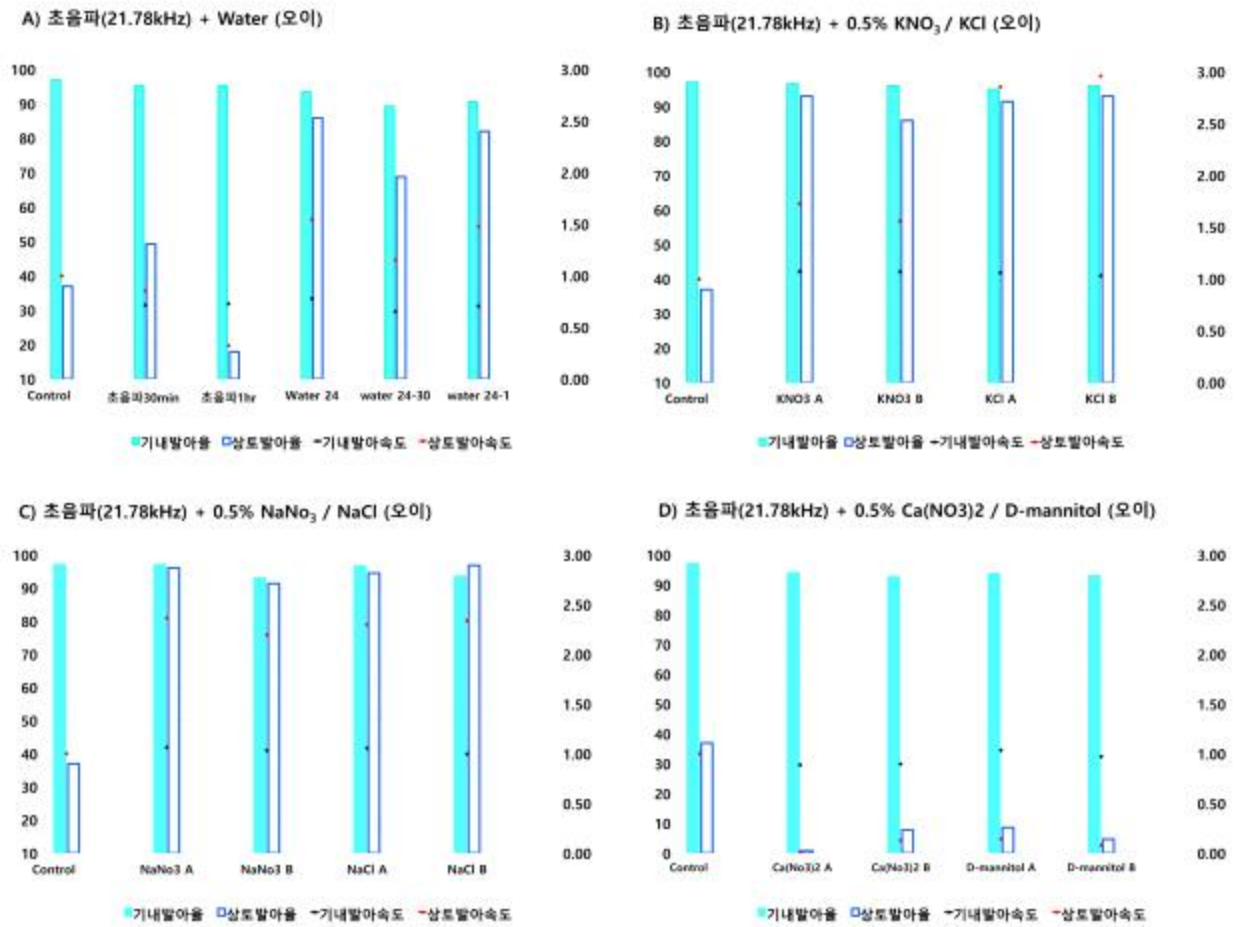
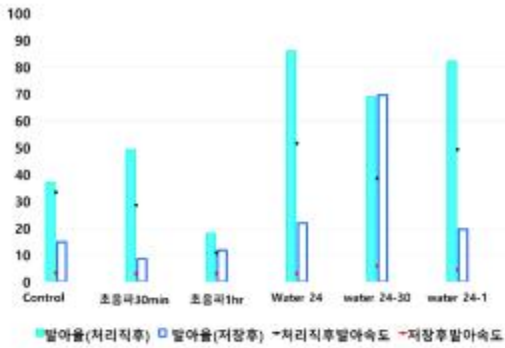
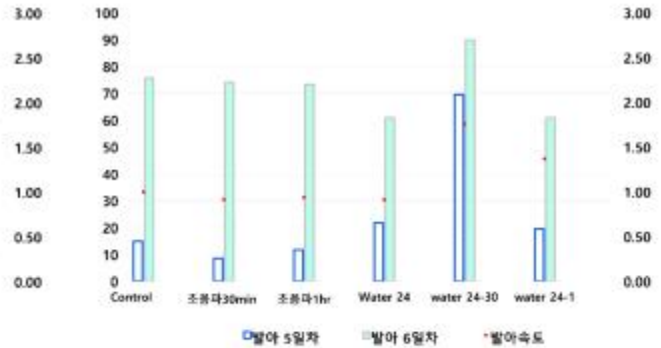


그림 27. 오이종자의 시약(0.5%) + 초음파(21.78kHz) 프라이밍 처리직후 결과
 시약농도 (0.3%) / 초음파처리시간: 30min(A), 1hr(B) / 초음파+시약프라이밍처리 총 시간 : 24hr

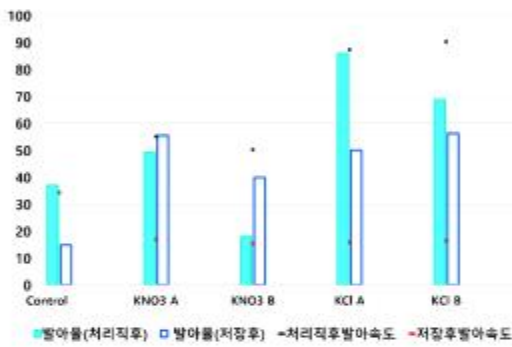
A) 초음파(21.78kHz) + Water (오이, 발아검사 5일차)



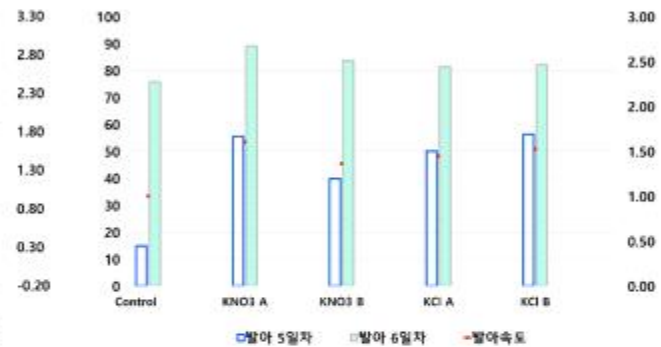
A) 초음파(21.78kHz) + Water (오이, 저장후 발아일수별 결과)



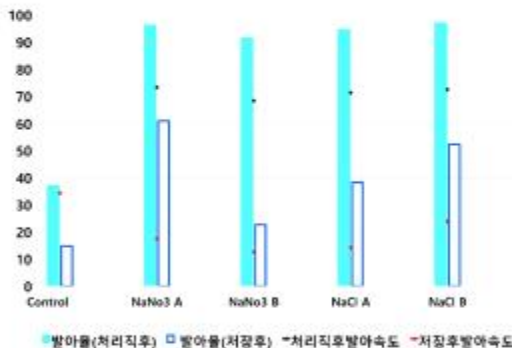
B) 초음파(21.78kHz) + 0.5% KNO₃ / KCl (오이)



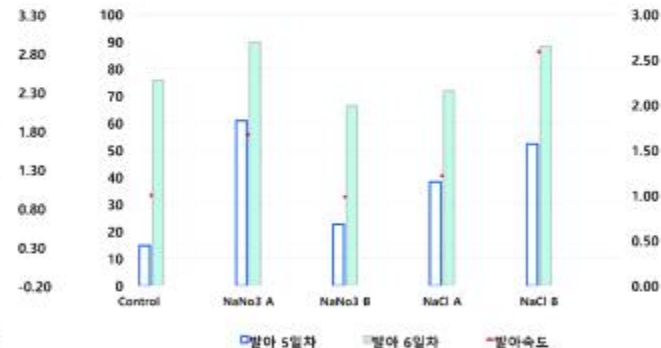
B) 초음파(21.78kHz) + 0.5% KNO₃ / KCl (오이, 저장후 발아일수별 결과)



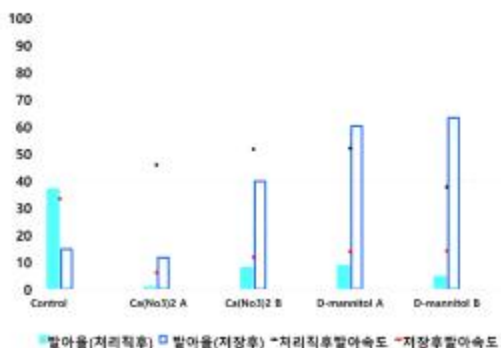
C) 초음파(21.78kHz) + 0.5% NaNO₃ / NaCl (오이)



C) 초음파(21.78kHz) + 0.5% NaNO₃ / NaCl (오이, 저장후 발아일수별 결과)



D) 초음파(21.78kHz) + 0.5% Ca(NO₃)₂ / D-mannitol (오이)



D) 초음파(21.78kHz) + 0.5% Ca(NO₃)₂ / D-mannitol (오이, 저장후 발아일수별 결과)

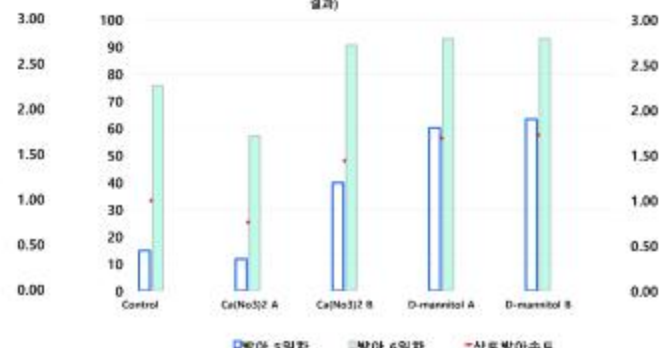


그림 28. 오이종자의 시약(0.5%) +초음파(21.78kHz) 프라이밍 6개월 후 결과
 시약농도 (0.3%) / 초음파처리시간: 30min(A), 1hr(B) / 초음파+시약프라이밍처리 총 시간 : 24hr

멜론 초음파(21.78kHz) + 시약(0.5%) 프라이밍 처리직후, 6개월 후 결과

- 2차 추가연구 프라이밍처리 전, 기내(51%, 0.12), 상토(61%, 0.31)의 발아율과 발아속도계수의 Control종자에 초음파만 처리한 경우 30min(기내43%, 상토33%), 1hr(기내48%, 상토54%)로 상토기준 최대28%까지 감소하였으며, Water만 처리한 경우는 기내64%, 상토56%로 감소되는 결과를 보였다. 6개월 저장 후 검정결과, 무처리군(Control)군은 상토64%, 0.17로 발아율에 큰 변동이 없이 발아율을 유지하고 있었으나 초음파만 처리한 조건은 30min(37%), 1hr(26%)로 처리직후와 비슷하거나 감소된 상태를 유지하였고, Water만 처리된 그룹은 6개월 전보다는 약간 감소된 경향을 보였다. 이와 같이 물리적인 자극과 Water 처리만으로는 멜론의 떨어진 발아율을 증가시키는 프라이밍처리 효과를 보기 힘들다는 것을 알 수 있다(표 35, 36).

표 35. 초음파(21.78kHz) +시약(0.5%) 프라이밍 처리 멜론 발아검사결과(처리직후)

멜론 (기내) Priming temp. 20°C				멜론 (상토) Priming temp. 20°C			
Seed treatment		24hr		Seed treatment		24hr	
Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)	Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)
무처리		51 (24hr 처리 적용 x)	0.12	무처리		61 (24hr 처리 적용 x)	0.31
초음파 (only) water base	30min	43	0.12	초음파 (only) water base	30min	33	0.09
	1hr	48 (24hr 처리 적용 x)	0.14		1hr	54 (24hr 처리 적용 x)	0.18
Water only	24hr	64	0.2	Water only	24hr	56	0.18
Water	30min	63	0.2	Water	30min	80	0.54
	1hr	59	0.17		1hr	84	0.55
KNO ₃	0.5%-30min	62	0.15	KNO ₃	0.5%-30min	67	0.22
	0.5%-1hr	60	0.14		0.5%-1hr	59	0.19
KCl	0.5%-30min	62	0.14	KCl	0.5%-30min	60	0.19
	0.5%-1hr	60	0.15		0.5%-1hr	65	0.21
NaCl	0.5%-30min	79	0.3	NaCl	0.5%-30min	81	0.27
	0.5%-1hr	73	0.29		0.5%-1hr	78	0.25
NaNO ₃	0.5%-30min	77	0.27	NaNO ₃	0.5%-30min	79	0.25
	0.5%-1hr	75	0.28		0.5%-1hr	76	0.26
D-mannitol	0.5%-30min	79	0.31	D-mannitol	0.5%-30min	28	0.07
	0.5%-1hr	77	0.29		0.5%-1hr	45	0.1
Ca(NO ₃) ₂	0.5%-30min	75	0.28	Ca(NO ₃) ₂	0.5%-30min	37	0.09
	0.5%-1hr	74	0.28		0.5%-1hr	25	0.06
Significant		*		Significant		*	

z : Germination percentage(GP) / y : Germination rate(R)

*. Significant at the 0.05 level of probability means separation within columns by One way ANOVA and Duncan's multiple range test, P=0.05

- 초음파(21.78)+시약처리그룹들의 경우 처리직전에 무처리(Control)군보다 증가된 그룹으로는 Water-24-30min, Water-24-1hr, NaNO₃-24-30min, NaNO₃-24-1hr, NaCl-24-30min, NaCl-24-1hr 등의 발아율(상토기준)이 최소15%, 최대23% 증가된 결과를 보였으나 발아속도계수는 Water+초음파 처리군만 증가하였고 나머지 그룹들은 감소세를 보였다(그림 29, 30). 처리직후의 발아율이 가장 크게 감소한 그룹은 D-mannitol, Ca(NO₃)₂ 그룹으로 최대 36% 감소되었으나 6개

월 뒤에는 최대 19%으로 감소된 수치가 오히려 줄어들어 발아력이 회복된 상태를 보였다. 상토발아검정기준인 5일차와 비교해 6일차에 크게 발아율이 증가된 그룹은 초음파처리만(1hr) 진행된 그룹이 있었으나 그마저도 Control 보다는 낮은 발아율을 나타내었으며, 전반적으로 최종발아율이 5일차와 큰 차이가 없는 결과를 보였다. 결과적으로 초음파(21.78kHz)+시약(Water포함) 조건은 처리직후에 보이는 몇몇의 조건 이외에는 6개월 뒤에는 오히려 무처리보다 감소하거나 비슷한 결과를 보여 프라이밍 유지가 가능하지 않았다.

표 36. 초음파(21.78kHz) +시약(0.5%) 프라이밍 처리 멜론 발아검사결과(6개월 후)

멜론 - 상토발아결과 (5일차 기준)							
(처리직후) Priming temp. 20°C				(6개월후) Priming temp. 20°C			
Seed treatment		24hr		Seed treatment		24hr	
Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)	Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)
무처리		61 (24hr 처리 적용 x)	0.31	무처리		64 (24hr 처리 적용 x)	0.17
초음파 (only) water base	30min	33	0.09	초음파 (only) water base	30min	37	0.1
	1hr	54 (24hr 처리 적용 x)	0.18		1hr	26 (24hr 처리 적용 x)	0.11
Water only	24hr	56	0.18	Water only	24hr	50	0.13
Water	30min	80	0.54	Water	30min	49	0.12
	1hr	84	0.55		1hr	48	0.12
KNO ₃	0.5%-30min	67	0.22	KNO ₃	0.5%-30min	63	0.17
	0.5%-1hr	59	0.19		0.5%-1hr	52	0.13
KCl	0.5%-30min	60	0.19	KCl	0.5%-30min	57	0.14
	0.5%-1hr	65	0.21		0.5%-1hr	56	0.14
NaCl	0.5%-30min	81	0.27	NaCl	0.5%-30min	52	0.14
	0.5%-1hr	78	0.25		0.5%-1hr	58	0.13
NaNO ₃	0.5%-30min	79	0.25	NaNO ₃	0.5%-30min	56	0.14
	0.5%-1hr	76	0.26		0.5%-1hr	55	0.14
D-mannitol	0.5%-30min	28	0.07	D-mannitol	0.5%-30min	47	0.13
	0.5%-1hr	45	0.1		0.5%-1hr	55	0.13
Ca(NO ₃) ₂	0.5%-30min	37	0.09	Ca(NO ₃) ₂	0.5%-30min	45	0.11
	0.5%-1hr	25	0.06		0.5%-1hr	52	0.12
Significant		*		Significant		*	

z : Germination percentage(GP) / y : Germination rate(R)

* Significant at the 0.05 level of probability means separation within columns

by One way ANOVA and Duncan's multiple range test, P=0.05

- 앞선 초음파(36.3kHz)+시약처리연구에서 처리직후 초음파만 처리한 경우는 초음파 21.78kHz처럼 감소세를 보였으나, Water+초음파의 경우는 무처리군 보다 20%이상 크게 증가하였고 1년 뒤에도 24hr-30min/1hr 조건에서는 높은 증가세를 유지하였다. 초음파(36.3kHz)+시약처리군들 중에서 1년 뒤에도 높은 발아율을 보인 조건으로 KNO₃(0.1%)-24-30min/1hr, KNO₃(3%)-24/48hr-30min/1hr, KCl(0.1%)-24-30min /1hr 등 총 7개의 조건이 있었다. 2차 추가연구의 그룹들과 같이 효과적인 프라이밍처리 결과를 확인하기 어려웠던 반면에 초음파 (36.3kHz)+시약처리로 진행하였을 때, 프라이밍처리효과로 보여지는 다양한 그룹들이 나타나

는 결과를 비교할 수 있었다. 프라이밍 저장 효과가 1년 이상 지속가능하며 초음파만 (21.78kHz, 36.3kHz) 처리된 경우는 처리직후 모두 감소하였으며, Water만 처리된 경우도 감소되거나 유지정도로 나타났으며 저장기간 이후에 다시 감소되었던 발아율이 회복되는 증가세를 보였으나 무처리(Control)과 비교하면 증가되는 효과적인 영향을 미치지 못했다.

- 따라서 멜론 종자의 경우 시약처리가 미치는 영향을 크게 받는 편이며, 초음파보다는 음파 범위(표20, 그림15C)가 더 적절한 것으로 판단되는데 이는 시약만 처리하던 조건실험당시(표16)의 무처리 종자의 발아율이 높아 시약처리의 완전한 효과를 확신하기 어려운 부분이 있지만 시약처리로 인한 급격한 발아율저하는 나타나지 않았던 것을 감안한다면 음파와 시약처리 단위가 조건에 더 적합 할 것으로 생각되어진다.

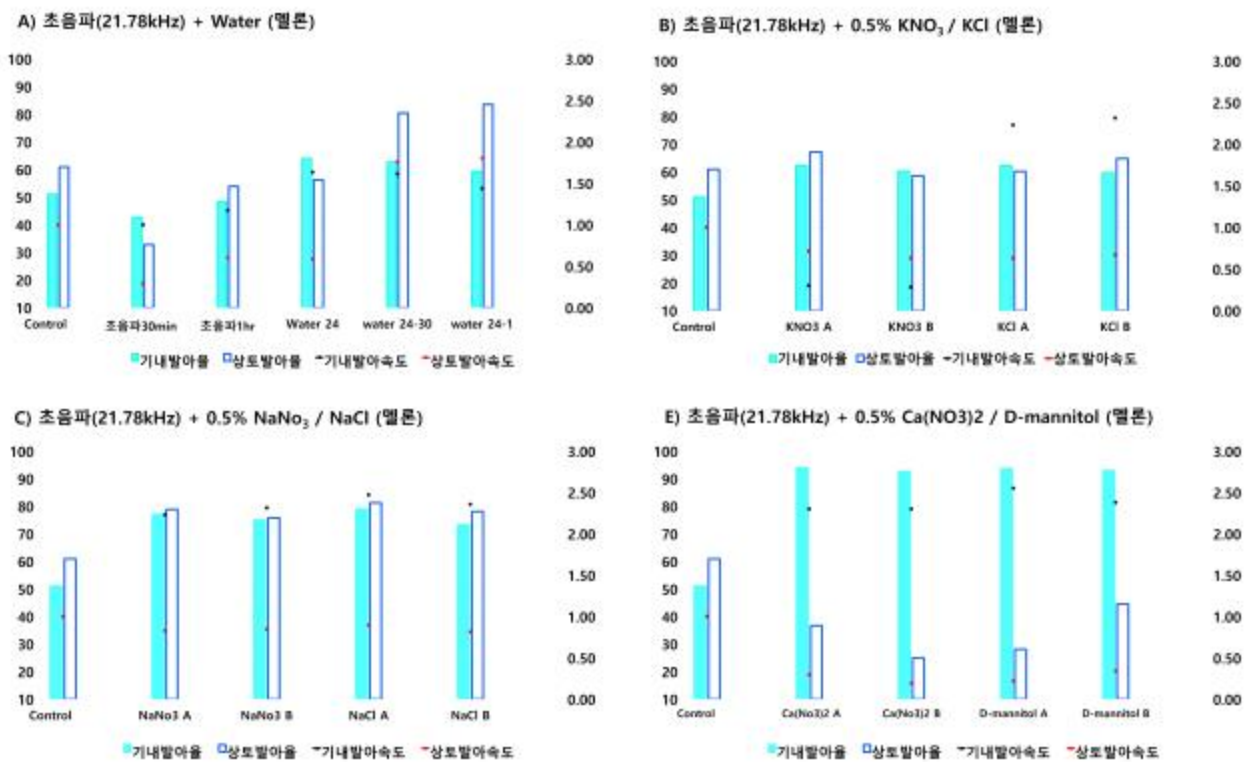
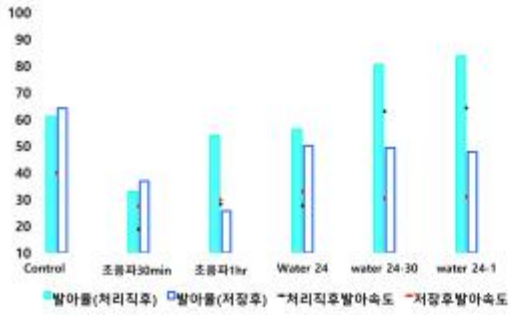
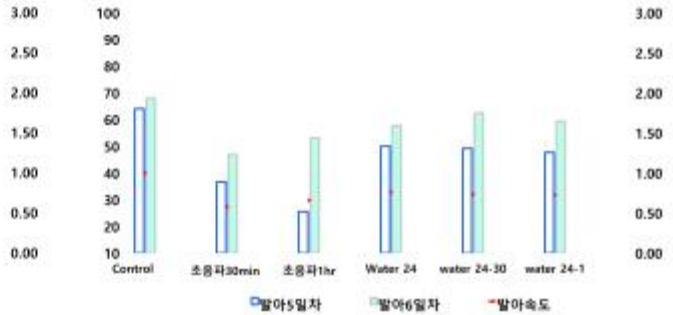


그림 29. 멜론종자의 시약(0.5%) +초음파(21.78kHz) 프라이밍 처리직후 결과
 시약농도 (0.3%) / 초음파처리시간: 30min(A), 1hr(B) / 초음파+시약프라이밍처리 총 시간 : 24hr

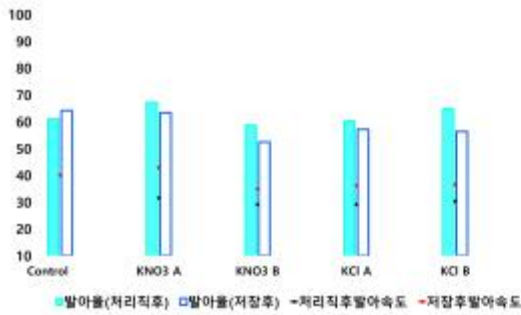
A) 초음파(21.78kHz) + Water (멜론, 발아검사 5일차)



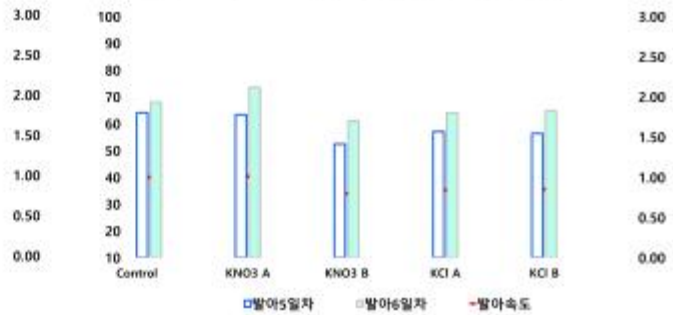
A) 초음파(21.78kHz) + Water (멜론, 저장후 발아일수별 결과)



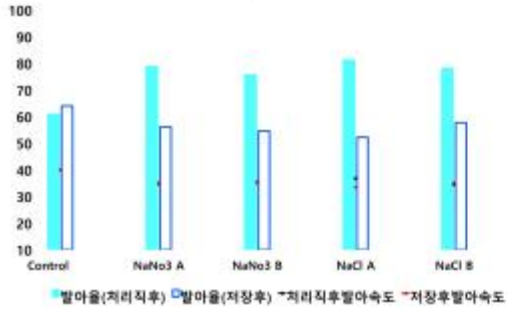
B) 초음파(21.78kHz) + 0.5% KNO₃ / KCl (멜론, 발아검사 5일차)



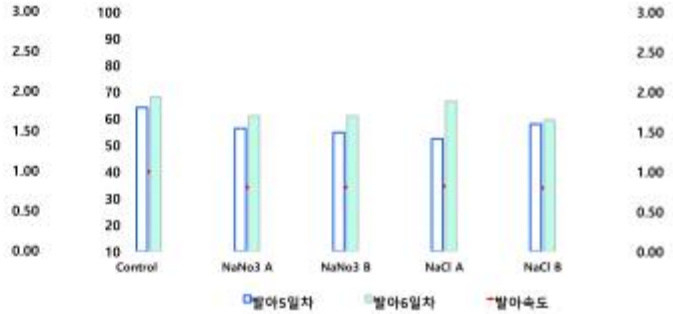
B) 초음파(21.78kHz) + 0.5% KNO₃ / KCl (멜론, 저장후 발아일수별 결과)



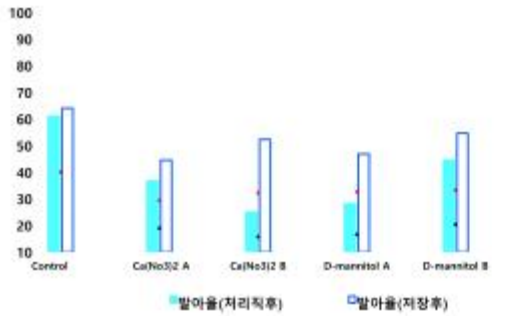
C) 초음파(21.78kHz) + 0.5% NaNO₃ / NaCl (멜론, 발아검사 5일차)



C) 초음파(21.78kHz) + 0.5% NaNO₃ / NaCl (멜론, 저장후 발아일수별 결과)



D) 초음파(21.78kHz) + 0.5% Ca(NO₃)₂ / D-mannitol (멜론, 발아검사 5일차)



D) 초음파(21.78kHz) + 0.5% Ca(NO₃)₂ / D-mannitol (멜론, 저장후 발아일수별 결과)

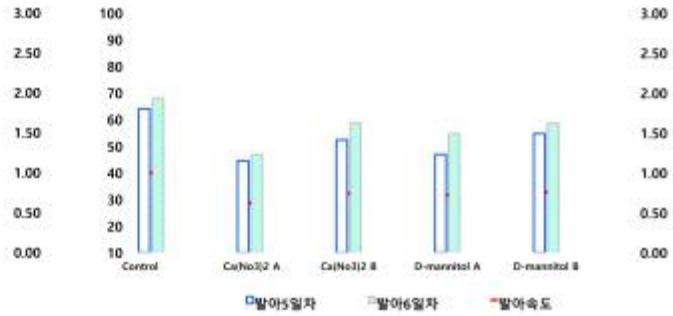


그림 30. 멜론종자의 시약(0.5%) +초음파(21.78kHz) 프라이밍 6개월 후 결과
시약농도 (0.3%) / 초음파처리시간: 30min(A), 1hr(B) / 초음파+시약프라이밍처리 총 시간 : 24hr

대목 초음파(21.78kHz) + 시약(0.5%) 프라이밍 처리결과

- 박과 대목의 무처리 종자(Control)는 발아율이 기내29%, 상토59%인 종자를 대상으로 초음파, Water, 초음파+시약(water포함)의 처리조건을 적용하였다. 초음파만 처리한 직후의 5일차 상토발아결과는 30min(기내25%, 상토0%), 1hr(기내19%, 상토0%)이며, Water만 처리한 경우의 결과(기내61%, 상토2%)를 볼 때, 초음파 또는 Water 프라이밍의 효과를 기대하기는 어려운 결과를 보였다. 그 외의 초음파+시약의 처리군들 중에서 기내와 상토발아검정결과가 모두 무처리군보다 증가를 나타내는 조건은 초음파+KNO₃(30min./1hr), KCl(30min./1hr), NaCl(30min./1hr)로 5일차 상토발아결과 기준으로 7%에서 14% 증가하였으나 6개월 뒤의 5일차 발아율 결과에서 증가되었던 처리군들이 최소 13%에서 최대 44%범위에 분포하여 처리직 후보다 매우 큰 폭으로 감소되었다. 6일차 되었을 시점에는 Control(60%), 초음파 30min(40%), 1hr(40%이상), Water24(70%이상), Water24-30(50%이상), Water24-1(70%이하)로 5일차 보다 다시 크게 올라간 결과를 보여 결과적으로 발아세가 낮아지고 발아 및 육묘일수가 증가되는 결과를 확인할 수 있었다(표 36, 37, 그림 31, 32).

표 36. 초음파(21.78kHz) +시약(0.5%) 프라이밍 처리대목 발아검사결과(처리직후)

대목 (기내)				대목 (상토)			
Seed treatment		Priming temp. 20°C		Seed treatment		Priming temp. 20°C	
		24hr				24hr	
Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)	Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)
무처리		29 (24hr 처리 적용 x)	0.04	무처리		59 (24hr 처리 적용 x)	0.14
초음파 (only) water base	30min 1hr	25 19 (24hr 처리 적용 x)	0.04 0.03	초음파 (only) water base	30min 1hr	0 0 (24hr 처리 적용 x)	0 0
Water only	24hr	61	0.12	Water only	24hr	2	0
Water	30min 1hr	58 59	0.12 0.14	Water	30min 1hr	1 0	0 0
KNO ₃	0.5%-30min 0.5%-1hr	83 81	0.18 0.19	KNO ₃	0.5%-30min 0.5%-1hr	72 66	0.2 0.19
KCl	0.5%-30min 0.5%-1hr	83 85	0.21 0.2	KCl	0.5%-30min 0.5%-1hr	70 69	0.19 0.19
NaCl	0.5%-30min 0.5%-1hr	86 86	0.2 0.19	NaCl	0.5%-30min 0.5%-1hr	73 68	0.17 0.16
NaNO ₃	0.5%-30min 0.5%-1hr	91 89	0.23 0.22	NaNO ₃	0.5%-30min 0.5%-1hr	44 51	0.1 0.12
D-mannitol	0.5%-30min 0.5%-1hr	86 87	0.21 0.19	D-mannitol	0.5%-30min 0.5%-1hr	1 1	0 0
Ca(NO ₃) ₂	0.5%-30min 0.5%-1hr	82 81	0.2 0.18	Ca(NO ₃) ₂	0.5%-30min 0.5%-1hr	0 2	0 0
Significant		*		Significant		*	

z : Germination percentage(GP) / y : Germination rate(R)

* Significant at the 0.05 level of probability means separation within columns by One way ANOVA and Duncan's multiple range test, P=0.05

- 2017년 시약선발을 위한 예비실험연구에서는 상토발아검정까지 진행하지 않아 연구기간동안 모든 결과를 교차비교를 할 수 없지만 기내발아결과만을 놓고 비교하자면 기내(84%)인 Control(무처리)종자에 음파(15.66kHz)+시약(Water포함)처리한 종자의 결과는 Water만 처리 시 90%, Water-24-30min(97%) Water-24-1hr(98%), KCl-24- 30min(97%), 1hr(97%)의 증가세를 나타냈으나, 음파+시약 처리된 1년 뒤의 결과는 Control은 39%, Water(65%) 그 외 초음파+시약 처리군들은 40-50% 이상 큰 폭으로 감소하는 기내발아 검정결과를 확인할 수 있었다(표19, 20, 그림 15).

표 37. 초음파(21.78kHz) +시약(0.5%) 프라이밍 처리 대목 발아검사결과(6개월 후)

대목 - 상토발아결과 (5일차 기준)							
(처리직후) Priming temp. 20°C				(6개월후) Priming temp. 20°C			
Seed treatment		24hr		Seed treatment		24hr	
Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)	Priming type	Treatment unit	GP ^z (%)	R ^y (per day)
무처리		59 (24hr 처리 적용 x)	0.14	무처리		5 (24hr 처리 적용 x)	0.01
초음파 (only) water base	30min	0	0	초음파 (only) water base	30min	4	0.01
	1hr	0	0		1hr	9	0.02
Water only	24hr	2	0	Water only	24hr	16	0.01
Water	30min	1	0	Water	30min	23	0.05
	1hr	0	0		1hr	17	0.04
KNO ₃	0.5%-30min	72	0.2	KNO ₃	0.5%-30min	24	0.06
	0.5%-1hr	66	0.19		0.5%-1hr	13	0.03
KCl	0.5%-30min	70	0.19	KCl	0.5%-30min	30	0.07
	0.5%-1hr	69	0.19		0.5%-1hr	44	0.1
NaCl	0.5%-30min	73	0.17	NaCl	0.5%-30min	23	0.05
	0.5%-1hr	68	0.16		0.5%-1hr	26	0.06
NaNO ₃	0.5%-30min	44	0.1	NaNO ₃	0.5%-30min	34	0.08
	0.5%-1hr	51	0.12		0.5%-1hr	16	0.04
D-mannitol	0.5%-30min	1	0	D-mannitol	0.5%-30min	21	0.05
	0.5%-1hr	1	0		0.5%-1hr	29	0.07
Ca(NO ₃) ₂	0.5%-30min	0	0	Ca(NO ₃) ₂	0.5%-30min	7	0.02
	0.5%-1hr	2	0		0.5%-1hr	14	0.03
Significant		*		Significant		*	

z : Germination percentage(GP) / y : Germination rate(R)

* Significant at the 0.05 level of probability means separation within columns by One way ANOVA and Duncan's multiple range test, P=0.05

- 2차년도 프라이밍 처리 대목의 Control 발아율이 큰 폭으로 감소되는 조건에서 Water만 처리군이 65%로 유지된 결과와 현재 2차 추가실험의 결과를 비교하자면 대목 종자는 음파 또는 음파+시약의 처리직후에는 프라이밍처리효과의 가능성을 보이거나 처리유지기간을 보장할 수 없는(어느 시점에 발아율이 떨어지는가에 대한 모니터링 결과가 필요함) 한계성이 있으며, 초음파(21.78kHz)처리 및 초음파+시약처리는 대목의 발아율에 전혀 효과를 나타낼 수 없으므로 대목은 음파처리범위에서 조건을 확인해야 할 것이며, 시약처리의 경우도 처리직후의 효과

는 있을 수 있으나 장기간 보관할 경우 적합하지 않은 조건으로 판단되므로 음과와 Water의 처리의 범위 내에서 적절한 조건을 확인할 수 있을 것으로 예측된다. 뿐만 아니라 대목의 경우도 종자의 발아세(력)를 먼저 체크하여 프라이밍 처리가 가능한 종자인지 아닌지 여부를 먼저 판단해야 할 것이다. 프라이밍 처리를 진행하는 기관은 사용자에게 종자발아의 보증을 해주어야 하며 그에 따른 문제점이 나타나면 보상도 해야 하기에 단가가 비싼 종자일수록 프라이밍처리에 적합한 종자인지 아닌지 여부를 먼저 확인 후 처리를 진행해야할 것으로 생각된다. 뿐만 아니라 2017년도 박과대목 무처리 종자는 당시에 다른 품목에 비해 발아속도계수보다 매우 낮은 상태였으며, 2차 추가연구에 사용된 다른 LOT의 종자도 발아속도계수가 높지 않았다. 따라서 발아율에 비해 발아세가 매우 떨어지는 종자일 경우는 2차년도 추가연구의 5, 6일차 결과그래프처럼 5일차 기준을 벗어나 전체적인 발아시점이 1일 뒤로 지연되는 상황을 고려하여 프라이밍처리 종자기준을 설정해야할 것이다.

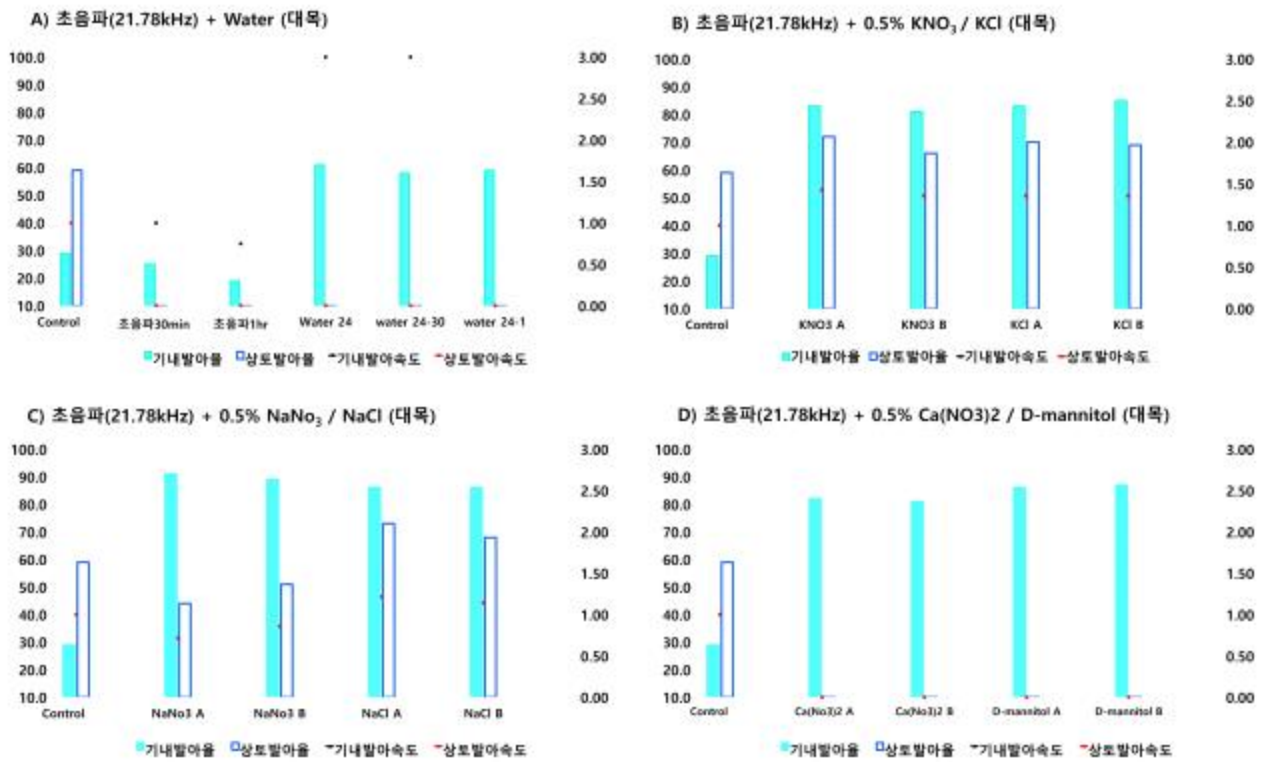
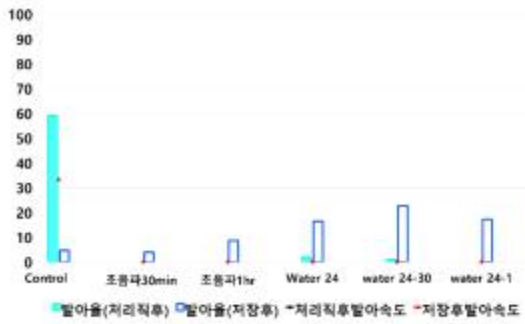
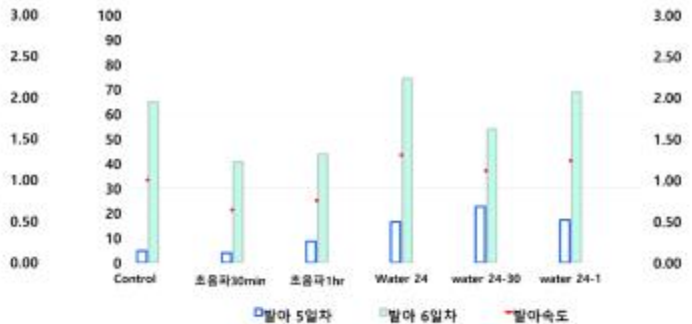


그림 31. 대목(박)종자의 시약(0.5%) +초음파(21.78kHz) 프라이밍 처리직후 결과
시약농도 (0.3%) / 초음파처리시간: 30min(A), 1hr(B) / 초음파+시약프라이밍처리 총 시간 : 24hr

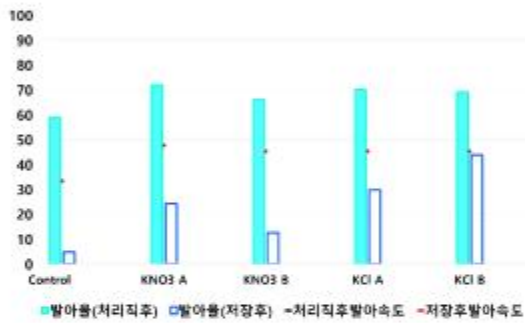
A) 초음파(21.78kHz) + Water (대목(박), 발아검사 5일차)



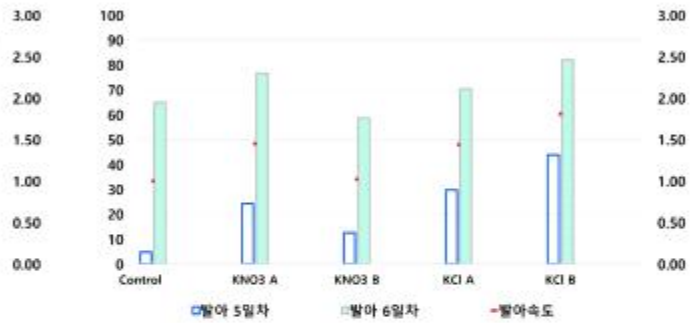
A) 초음파(21.78kHz) + Water (대목(박), 저장후 발아일수별 결과)



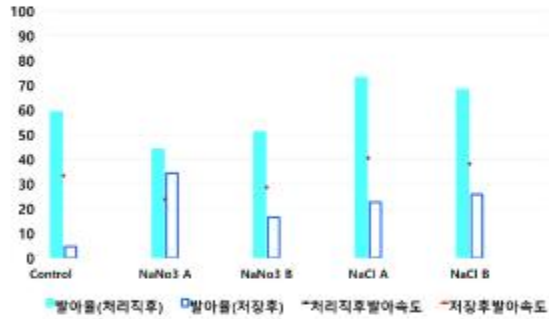
B) 초음파(21.78kHz) + 0.5% KNO₃ / KCl (대목(박), 발아검사 5일차)



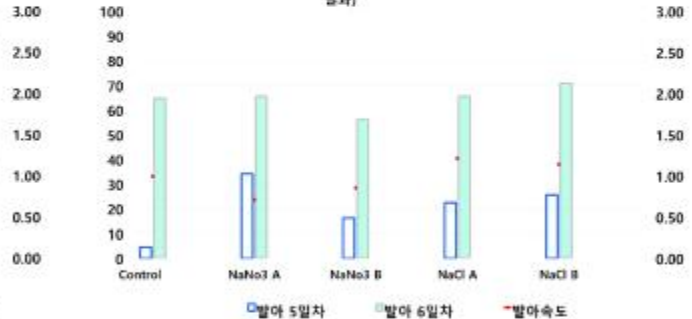
B) 초음파(21.78kHz) + 0.5% KNO₃ / KCl (대목(박), 저장후 발아일수별 결과)



C) 초음파(21.78kHz) + 0.5% NaNO₃ / NaCl (대목(박), 발아검사 5일차)



C) 초음파(21.78kHz) + 0.5% NaNO₃ / NaCl (대목(박), 저장후 발아일수별 결과)



D) 초음파(21.78kHz) + 0.5% Ca(NO₃)₂ / D-mannitol (대목(박), 발아검사 5일차)



D) 초음파(21.78kHz) + 0.5% Ca(NO₃)₂ / D-mannitol (대목(박), 저장후 발아일수별 결과)

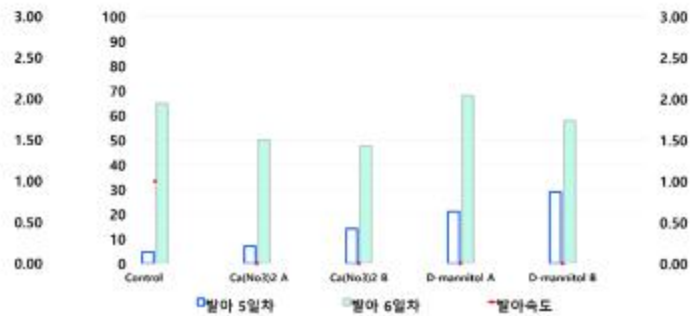


그림 32. 대목(박)종자의 시약(0.5%) + 초음파(21.78kHz) 프라이밍 6개월 후 결과
 시약농도 (0.3%) / 초음파처리시간: 30min(A), 1hr(B) / 초음파+시약프라이밍처리 총 시간 : 24hr

2. 종자 코팅처리 제품 평가

가. 연구내용

1) 2차년도(2017.01.01. - 2017.12.31.)

박과(수박/호박/오이/멜론)종자에서의 (주)노루 필름코팅 개발평가 및 처리조건연구

- 본 연구기관에서는 (주)노루에서 개발된 필름코팅용액에 대한 평가 및 처리조건연구를 위하여 소형당의기(자체제작)/원판코팅기((주)신농 개발)를 이용하여 필름 코팅용액에 대한 평가를 진행하고자 한다. 필름코팅용액의 평가 기준은 1. 기계범용성(당의기/원판기계 혼용성), 2. 종자(품종)범용성(수박/호박/오이/멜론 등), 3. 착색(발립성), 4. 이중립형성비율 5. 타회사와 비교(INCOTEC사 제품과 비교) 5. 사용용이성 6. 경제성 7. 코팅 후 종자무게 등으로 자체적으로 고려하여 적용하고자 하였으며, 현재 평가기준에 대하여 각 연구기관과 논의 중에 있다. (주)노루에서 개발된 필름코팅액과 INCOTEC사의 제품을 국립종자원에서 제공받아 2017년 1월부터 필름코팅용액 평가에 착수하였다. 본 연구기관에서 자체적으로 개발한 평가용 필름코팅용 소형 당의기를 적용하기로 하였다. 2016년 12월에 입고하여 2017년 9월까지 총 8가지에 대하여 순차적으로 평가하였으며, 필름코팅처리 후 ISTA 발아검사를 통해 제품의 기능을 판단하고자 하였다(표 38, 그림 33).

표 38. 필름코팅액 입고 내용 및 목록

No.	입고년도	용액명	용액명
1	2016년 12월	NSC-1 / NSC-2	Green (Dark/light)
2	2017년 4월 초	INCOTEC	종자원 / Red
3	2017년 4월 중순	TS-2	Red
4	2017년 4월말	NSC 0420	Blue
5	2017년 7월	NSC 1030 / NSC 2030	Red
6	2017년 9월말	NSC 2030-1	

- 박과종자의 특성상 ISTA 발아검사 외에 농가의 침종(침지) 후 파종하는 방식에 의한 침지 과정 및 결과를 함께 확인하였다. 단가가 높은 박과종자의 경우 종자회사의 영업적인 측면에서 발생될 수 있는 문제의 요소를 미리 파악하여 개발 중인 필름코팅용액의 기능을 향상시키고자 하였다. 2017년 9월초 입고된 개발용액을 원판코팅기 및 일반 당의기(대형)에 평가하기 전에, 소형당의기에서 코팅처리평가 후에 1차 선발된 필름코팅용액에 대하여 대용량 코팅용액 평가에 적용하였다. 개발된 원판코팅기로 한번 처리할 때의 최소사용량(권장된)이 수박의 경우 500ml이며, 대형 당의기의 경우 최소 kg단위로 적용해야하므로 앞으로 입고되어질 필름 코팅액을 매번 적용하게 되면 4차년도까지 진행하였을 때의 실험 종자량을 감당하기 어려우므로 본 연구기관에서는 소형 원판코팅기를 (주)신농으로부터 기술이전을 받아 자체 제작하는 방안을 고려하고 있으며, 최대한 필름코팅용액 평가를 다양한 측면에서 확인하였다.

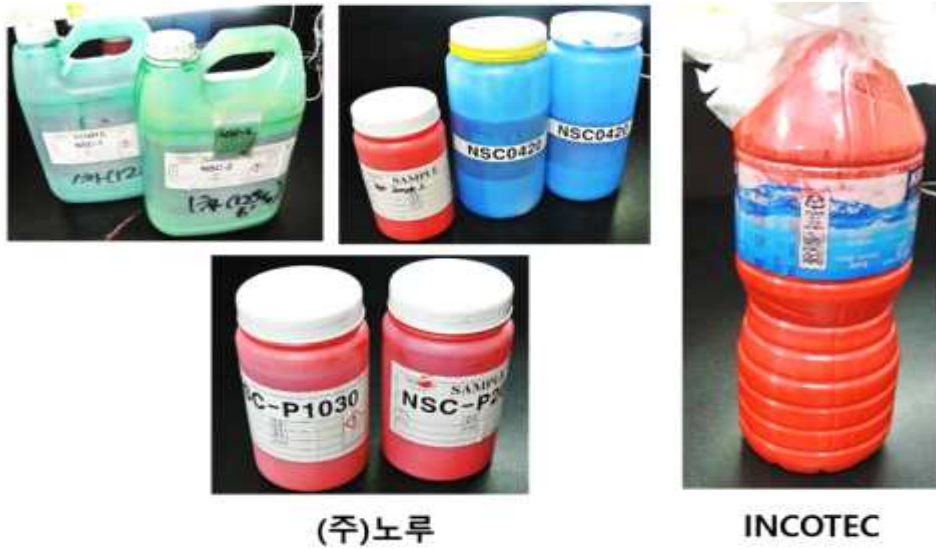


그림 33. (주)노루 필름코팅시험액 및 INCOTEC사의 코팅액

2) 3차년도(2018.01.01. - 2018.12.31.)

박과(수박/호박/오이/멜론)종자에서의 (주)노루 필름코팅 개발평가 및 처리조건연구

- 2017년 4월부터 입고된 필름코팅용액들을 INCOTEC사와 비교평가를 통해 개선사항을 바로 전달하고 개선된 용액에 대하여 추가 입고를 지속적으로 요구하였으며, 9월말에 입고된 (주)노루의 NSC 2030-1 용액의 단계까지 개발된 용액을 평가하였다. (주)신농이 제작한 대용량(2-3kg)의 원판코팅기기를 이용해 P2030-1(2차년도) 및 INCOTEC사의 용액과 비교 평가하여 문제점으로 확인된 멜론 발아율저하 및 저장성(침전) 그리고 작업용이성이 낮은 부분에 대하여 개선점을 다시 전달하였다. 10월에는 노루 측에서 P2030-1을 개선한 Red-4 / Red-4(30%)를 원판 코팅하여 발아검사를 진행하였다. 이와 더불어 (주)신농 측에서 개발한 원판코팅기기를 (주)노루의 필름코팅용 시험용액으로 함께 코팅하여 기기의 기능성평가를 같이 진행하였다. 원판 코팅 기기의 문제점으로 확인된 코팅종자의 배출구 및 배출방식과 종자에 코팅용액이 입혀지는 회전 과정에서 이중립을 방지하고 코팅이 고르게 될 수 있게 흐름을 조절하는 Mixing blade의 위치 및 고정에 대한 세부 디자인을 건의하여 수정을 요청하였다.

박과(수박/호박/오이/멜론)종자에서의 (주)코레곤 필름코팅 자체개발연구

- (주)코레곤이 자체적으로 만들어 사용해 왔던 필름코팅용액은 발아율자체에는 전혀 문제가 없으나 발림성이 매우 부족한 상태에서 굽힘과 벗겨짐이 있으며 분진이 심하게 일어나는 문제점을 가지고 있었다. (주)노루 측에서 INCOTEC 코팅용액에 대하여 물질적 특성을 분석한 결과를 참고하고 본 연구기관에서 자체적으로 분석한 자료를 토대로 새로운 코팅용액 개발에 착수하였다. 코팅용액 제조를 위하여 원료들의 회사와 단가, 발아기능에 미치는 영향 등에 대한 필수적인 확인 및 선별을 거친 후 필름 코팅용액을 개발하기위한 다양한 조제방법 및 비율조정 작업을 수많은 조합용액의 평가를 직접 코팅 및 발아검정을 통해 선발하는 과

정을 반복 진행하였다.

3) 4차년도(2019.01.01. - 2019.12.31.)

박과(수박/호박/오이/멜론)종자에서의 (주)노루 필름코팅 개발평가 및 처리조건연구

- 본 연구기관에서 개발하는 필름 코팅액의 기준은 INCOTEC사와 가장 유사한 필름코팅물질을 만드는 것으로 다양한 종자에 코팅이 가능한 올인원(All-in-one) 방식의 코팅용액의 조건을 만들기 위하여 2018년도에 선발한 Base용액과 다른 구성 물질들 간의 비율조합과정을 진행하였으며, 원료의 원가계산에 따른 사용량도 고려하여 선발 및 평가하였다. 코팅기기는 소형필름코팅기기와 회사에서 보유한 대형필름코팅기기를 적용하였다. 한층 더 발전된 개발용액을 선발한 뒤에 2019년 9월에 기기수리가 완료된 (주)신농의 필름/펠릿용 다목적 코팅기에 바로 적용해 기능성평가를 진행할 예정이다.

양과/무 품목의 개발 중인 펠릿(Pellet) 코팅기능평가

- (주)노루에서 연구 중인 펠릿 코팅제의 기능을 평가하기 위하여 (주)코레콘에서 직접 기계과종기를 보유한 곳을 섭외하여 (주)노루에서 개발 중인 제품으로 코팅한 종자와 타 회사에서 서비스 중인 펠릿코팅된 종자를 현장에서 직접 기기과종을 통해 실질적인 기능을 비교 평가하여 개선사항을 전달 및 개선 요청하였다.

나. 연구방법

1) 2차년도(2017.01.01. - 2017.12.31)

박과 필름코팅 소재평가 실험을 위한 소형(Lab scale) 당의기제작 및 적용

- 시험 개발된 (주)노루의 필름코팅용액을 평가하기 위하여 (주)코레콘 자체제작 소형 당의기를 적용하였다. 기존의 대형 당의기로 소재평가를 진행하는데 있어 종자 및 제공된 코팅용액을 평가할 때 마다 사용될 종자 소비량을 감안해야 하기 때문이다. 특히 박과(수박)의 경우, 단가가 매우 높은 품목으로서 현재 (주)코레콘에서 보유하고 있는 양으로 5차년도까지 연구하기 위하여 소형 당의기를 적용하므로 필름코팅평가 및 소비 종자량(50-100g)을 낮추었다. 자체 제작된 소형 당의기는 100rpm까지 회전가능하며, 디지털로 rpm 선택조절이 가능하고 코팅시간이 조절이 되어 실험에 적합하도록 설계되었다(그림 34). 현장에서 필름코팅처리의 가장 기본적이며 작업자들이 요구하는 조건은 1. 필름코팅형성 시간의 단축, 2. 사용용이성 등이다. 매우 단순한 조건으로 보이지만 사실 가장 중요하며 어려운 부분이다. 필름코팅 형성시간을 단축하기 위해서는 많은 기술이 농축되어 있어야 하는데 코팅용액의 건조기능이 좋아야 할 것이며 코팅기기의 범용성을 갖추고 있어야 한다. 또한 작업자가 사용하는데 용액을 처리하는 과정이 편리해야하며 이는 용액의 점도가 높으면 정량을 정확히 넣기 힘들고 코팅 후처리가 번거로워지거나 희석해서 각 품목에 맞추어 비율을 따로 정해야 하는 경우는 매번 필름코팅 할 때마다 편차가 나타날 수 있기 때문이다. 따라서 (주)노루에서 연구하여 제공하는 시험코팅용액에 대하여 시장경쟁력이 높은 제품이 개발될 수 있도록 다양한 측면에서 평가하고자 하였다.



그림 34. (주)코레곤에서 개발한 필름코팅 평가용 소형 당의기

수박/호박/오이/멜론 필름코팅 시험 평가

- (주)노루와 국립종자원에서 입고된 총 8가지 용액 중 가장 먼저 입고된 NSC-1 (Dark green), NSC-2(Light green)에 대하여 예비평가 및 조건실험을 진행하였다. 박과 종자에서 수박종자의 외피가 거칠고 단단하여 필름코팅이 까다로운 품목으로 알려져 있어 수박종자의 적절한 rpm 속도를 확인하여 나머지 박과품목(호박/오이/멜론)에 모두 실험에 적용하고자 48rpm에서 시작하여 78rpm까지 필름코팅처리를 하였다. 당의기의 회전속도가 느릴수록 필름코팅 형성(종자외피에 코팅용액이 전반적으로 착색되고 약간 건조되기 시작하여 자연적으로 종자가 당위기 내부에서 회전을 시작하는 시점)이 늦어지는 측면이 있으며, 78rpm의 경우, 소형 당의기에서 적용하는 50-100g 종자량에 비해 회전력이 높아 종자형성은 빠르게 이루어지나 종자표면에 착색이 적절히 이루어지지 않는 부분이 있으므로 소형 당의기에서는 68rpm으로 선발하여 적용하였다. 첫 번째 입고 용액인 NSC-1과 NSC-2는 같은 용액에서 색깔만 다른 경우로 예비실험 코팅 시 가장 외형적으로(색감/ 광택 등) 적절한 샘플인 NSC-1과 그 이후에 입고된 용액에 대하여 예비조건으로 코팅을 처리한 후 ISTA 검정을 진행하였다.

- 종자코팅에서 외관적인 부분도 중요하겠지만 판매하는 종자의 발아율에 영향을 미치는지 여부가 가장 중요하므로 코팅 후(가장 사용량이 적게 기준하여) 발아검정한 뒤에 코팅용액의 외형적인 측면에 대한 평가로 코팅처리액의 용량에 따라 발아율에 미치는 영향의 결과를 확인하였다. 뿐만 아니라 적절한 사용량(종자량 당 코팅용액사용량)을 평가하여 대용량으로 사용될 때의 대략적인 코팅용액 사용량을 판단하여 그에 따른 경제성평가를 하였다. 입고된 INCOTEC 용액 및 본 연구기관 자체적으로 코팅하는 용액과 비교하여 코팅용액의 특성을 파악한 뒤, (주)노루에 차이점 및 수정방안 등을 전달하였으며 이러한 과정을 거쳐 현재 NSC-2030-1까지 개선되어 검정평가를 진행하였다. 특성 파악을 위해서는 앞서 연구내용에 기재한대로 박과종자의 경우, 농가 및 육묘장에서 침종(침지)후 파종하는 방식을 진행함으로 본 연구에서도 침종(침지)시에 나타나는 차이점을 함께 확인하고자 하였다.

2) 3차년도(2018.01.01. - 2018.12.31)

박과(수박/호박/오이/멜론)종자에서의 (주)노루 필름코팅 개발평가 및 처리조건연구

- 대용량 평가를 위해 P2030-1(20L)이 입고되었으며, 사용자 및 사용자의 기준에서 필름코팅 용액의 작업용이성 부분을 확인하고자 하였다(표 39). 대용량(20L)으로 운반되어 판매될 시에 구매처에서는 바로 사용하는 경우도 있지만 대체로 보관해두었다가 사용하게 되는 경우가 많으므로 입고된 대용량 필름코팅용액을 바로 확인하지 않고 보관해 두었다가 용액의 상태를 확인하였다. 코팅용액 자체를 국내외로 판매해야 하는 경우를 감안하여 위와 같은 저장성 평가도 매우 중요한 부분 중에 하나이다. 오랜 시간동안 침전된 물질을 용액과 다시 혼합할 때에 바로 교반기를 사용해서 진행할 수 있는지 여부인 작업용이성 부분도 판단할 수 있다. 따라서 침전의 상태와 침전이 되더라도 분산의 정도 및 혼합되는 시간 등을 평가하고자 하였다. (주)신농에서 개발한 필름코팅 및 펠렛 코팅이 가능한 다용도 코팅처리기에 대한 평가도 본 연구기관에서 필름코팅용액 평가와 동시에 함께 진행하였다(그림 35).

표 39. 2018년도 (주)노루 필름코팅용액 입고 내역

입고날짜	용액명	비고
2018년 초	P2030-1(대용량)	
2018년 10월 11일	Red-4 / Red-4 30%	노루 방문하여 직접 코팅하였음.



그림 35. (주)신농이 개발한 대용량(2-3kg) 필름코팅기기

박과(수박/호박/오이/멜론)종자에서의 (주)코레콘 필름코팅 자체개발연구

- 필름 코팅액을 자체적으로 연구하기 위하여 그동안 분석한 자료를 토대로 우선적으로 가장 중요한 Base 용액의 구성조건에 대한 선별작업을 진행하였다. INCOTEC사와 (주)노루의 경우 PVA를 base로 적용하며, 구매자가 직접 Water로 희석하여 사용하는 방식을 적용하였다. INCOTEC의 경우 1:1, (주)노루는 Red-4를 30%로 희석하여 호박, 오이, 멜론에 적용하였다. 본 연구기관에서는 사용자(구매자)가 희석하기 쉽게 하기 위하여 INCOTEC사와 유사하게 Water와 1:1로 만들어 사용할 수 있게 하고자 하였다. (주)노루의 분석에 의하면 INCOTEC사의 Water 비율은 62%, PVA의 비율은 9%였으며, 노루 제품은 PVA를 10-20%의 범위 안에서 사용하였다. 그러나 PVA도 중합도에 따라 여러 종류가 있으므로 가장 적절한 PVA를 선별하고 어떤 점도 및 점착의 비율로 적용할 것이냐가 매우 중요하므로 본 연구기관에서는

INCOTEC의 물성을 기준으로 PVA Base를 연구하면서 동시에 그 외 구성물질과의 조제방법에 대한 연구에 집중하였다. 수많은 조합을 시도하였으며, 제조된 시험용액에 대해서는 4가지 품목(수박, 오이, 멜론, 호박)에 바로 코팅하고 기능성을 확인한 뒤 발아검사(타월/침지)방식을 이용하여 1차 발아검정을 통해 영향성 평가를 진행하였다. 여기서 통과된 물질에 대한 결과를 분석하여 다시 새로운 조합에 대하여 재구성하여 물성에 대한 평가를 지속적으로 확인하였다.

3) 4차년도(2019.01.01. - 2019.12.31)

박과(수박/호박/오이/멜론)종자에서의 (주)코레콘 필름코팅 자체개발연구

- Base 용액을 선별하기 위하여 무수히 많은 조합을 구성하여 현장평가를 진행하였고 이러한 과정을 통해 원료선정 및 적정비율을 확인하여 기본적인 뼈대를 구성하는 1차 조합군을 선별하였으며, 그 외의 안료나 필 등의 사용량과 단가를 고려한 2차 조합군을 작성하여 경제성 및 기능성을 평가하였다. 모든 과정은 어떤 회사의 원료를 사용할 것이며 경제적인 비용 등을 고려하고 사용량 또한 경제성을 최우선으로 하여 기능성을 해치지 않는 선의 적정비율을 찾아내고자 하였다. 또한 색상별 코팅을 위한 조색표를 작성하여 종자코팅에 적합한 컬러를 선별하였다. 국내외별로 선호되는 색상이 존재하므로 코팅종자의 상품성 향상을 위해 추가적으로 필요한 부분이라 생각된다. 선별된 조합군들로 코팅된 종자는 타월을 이용한 침지 방식(용해력 평가)을 이용하여 1차 발아검정을 거치고 여기서 선별된 조건은 2차로 기내/상토발아검정을 통해 최종선발 하는 방식으로 진행하였다.

양과/무 품목의 개발 중인 펠렛(Pellet) 코팅기능평가

- 안성시에 위치한 양과작목반에서 실사용중인 자동과종기(미노루, 448구)를 이용하여 위탁기관에서 제작한 펠렛소재 DTK-5를 사용하여 제1협동과 제2협동에서 제작한 펠렛종자를 기계과종 실증실험을 진행하였다. 양과/무/양배추/상추 종자에 대해서 진행하였으며대조군으로는 일본 쓰미토모사의 기술로 제작된 펠렛종자가 사용되었다.

3) 5차년도(2020.01.01. - 2020.12.31)

박과(수박/호박/오이/멜론)종자에서의 (주)코레콘 필름코팅 자체개발연구

- 2020년 2월 태국에서 열린 APSA 세미나에 참석하여 INCOTEC사의 Rob Pronk 글로벌 마케팅 매니저의 INCOTEC의 새로운 제품에 대한 발표를 통해 유럽시장의 환경규제방향이 강화됨에 따라 현재 미세플라스틱을 사용하지 않은 코팅소재의 개발이 완료 되었고 유럽지역에 판매될 제품에 대하여 알게 되었다. 현재 INCOTEC사의 제품을 기준잡아 국내기술로 개발한 코팅액의 경우 INCOTEC사와 같은 미세플라스틱이 포함된 원료를 사용하였으나, 점차 규제지역이 증가할 것으로 예상됨에 따라 코레콘 자체에서 이미 4차년도까지 개발된 KJ104와 함께 미세플라스틱이 포함된 원료를 대체하는 물질에 대한 조사 및 분석에 착수하였고 천연물질 후보군을 선별하여 수십여가지의 조합과정을 통해 친환경코팅액의 개발에 한층 다가갈 수 있도록 하였다. 모든 과정은 발아검사를 통해 원료와 비율에 대한 평가를 진행하였으며, 침지방식(용해력 평가)을 이용하여 1차 발아검정을 거치고, 2차로 ISTA 기준으로 기내

/상토발아검정을 하여 최종 선발하였다.

양과/무 품목의 개발 중인 펠렛(Pellet) 코팅기능평가

- 4차년도와 동일하게 안성시에 위치한 양과 작목반에서 실사용중인 자동과종기를 이용하였으며 위탁기관에서 제작한 펠렛소재 DTK-6를 사용하여 제1협동과 제2협동에서 제작한 펠렛종자를 기계과종 실증실험을 진행하였다. 양과/무/양배추/상추 종자에 대해서 진행하였으며 대조군으로는 일본 쓰미토모사의 기술로 제작된 펠렛종자가 사용되었다.

다. 연구결과

1) 2차년도(2017.01.01. - 2017.12.31)

수박/호박/오이/멜론 필름코팅 처리 후 발아율 결과

- NSC-1(Green)을 선두로 TS-2(RED), NSC-0420(Blue), NSC1030(Red), NSC2030(Red), NSC2030-1 순으로 입고되었으며, 여기서 TS-2와 NSC-0420(그림 21, 22)은 같은 용액으로 색만 다른 샘플로 박과 종자에 코팅처리 후 INCOTEC으로 코팅 처리된 종자와 ISTA 발아검사를 진행하여 비교하였다(표 40). NSC-1와 TS-2는 수박종자로만 진행되었으며, NSC-0420부터는 4품목 모두 적용하여 결과를 확인하였다. NSC-1의 경우, 수박종자(100g)에 처리용액별(9ml-12ml)를 적용한 결과 Control (93.5%, non-coated)와 비교하여 발아율에서 최소 12.5%에서 최대 52.5%까지 처리용액이 증가할수록 감소하였으며, 발아속도도 감소하였음을 확인할 수 있었다. TS-2 코팅 처리한 결과, 12ml에서 한 단계 축소하여 9ml에서 11ml로 용액량을 증가시켜 처리하였다. Control과 비교하여 최소 9.5%에서 최대 45.5%까지 발아율이 감소하였으며, 발아속도도 함께 감소하였다.

- INCOTEC 사의 경우, NSC-1/TS-2와 동일하게 처리 용액량을 증가시켜 확인하였더니 오히려 발아율이 증가되는 결과를 보였다. 발아율이 최대 6%에서 최소 4%까지 증가하였으며, 발아속도도 함께 증가되는 것을 확인할 수 있었다(표 40, 그림 36). 이와 더불어 Tower로 물에 침지하였을 때의 특성 차이를 확인하였더니 NSC-1/TS-2/ NSC0420의 경우, INCOTEC 및 (주)코레곤의 코팅 종자와 비교하여 물에 용해되는 현상이 거의 없이 물상태가 깨끗하였으며, 침지 후 종자의 상태를 확인한 결과 종자에 코팅된 부분이 껍질처럼 벗겨지는 현상이 나타나 발아율에 영향을 미친 것으로 판단되었다(그림 39, 40, 41). 반면에 INCOTEC과 (주)코레곤의 경우는 물에 용해되어 코팅된 색감이 나타났으며, 종자상태의 경우 거의 용해되어 표면에 코팅된 부분이 없어진 상태를 확인할 수 있었다(그림 36). 이와 같이 필름 코팅액의 경우 물에 바로 용해되지 않고 덩어리째 뜯기는 현상이 생기는 부분도 발아율 감소에 큰 영향을 미칠 것으로 판단되어 (주)노루 측에 수정 및 개선사항을 전달하였다. 용해도 부분이 개선된 2017년 7월에 입고된 NSC-1030과 NSC-2030이 입고되었으며, 박과종자 4품목에 모두 적용하였다. 수박종자의 경우, Control(93.5%)와 비교하여 NSC-1030(94%), NSC-2030 (96%), INCOTEC(96%)로 모두 증가하였으나, 발아속도에서는 떨어지는 결과를 나타내었다. 9ml-12ml으로 종자(100g)를 코팅하였을 때, 종자량에 따라 9ml에서 가장 착색이 적절하게 이루어진 수치를 기준으로 용액량을 늘려서 코팅처리량 별 발아율을 확인하고자 하였으며, 6ml에서는 50g으로 낮추어 진행하였을 때 착색이 균일하게 이루어진 시점으로 코팅에 적용하였다(표 40, 그림 42, 43, 44, 45).

표 40. 초음파(음파)처리 기기를 이용한 박과종자 프라이밍 처리조건연구

Film Coating Test								
Variety	Company ^z	GP ^y (%)	R ^x (per day)	Variety	Company	GP (%)	R (per day)	
Watermelon	(N) NSC-1 (100q/9ml)	81 ^f	0.05	Watermelon	(N) NSC-1030 (50q/6ml)	94 ^e	0.08	
	(N) NSC-1 (100g/10ml)	74 ^g	0.04		(N) NSC-2030 (50g/6ml)	96 ^b	0.07	
	(N) NSC-1 (100q/11ml)	48 ^h	0.03		INCOTEC-Pink (50g/6ml)	96 ^b	0.11	
	(N) NSC-1 (100g/12ml)	41 ⁱ	0.02		Non-coated	93.5	0.1	
	(N) TS-2 (100g/9ml)	84 ^e	0.05		Significant	*		
	(N) TS-2 (100g/10ml)	56 ^h	0.03		Watermelon	(N) NSC-2030-1 (50q/6ml)	91 ^d	0.07
	(N) TS-2 (100g/11ml)	48 ^h	0.03			(N) NSC-0420 (50q/6ml)	91 ^d	0.07
	INCOTEC-Pink (100q/9ml)	99 ^d	0.11			Non-coated	99	0.12
	INCOTEC-Pink (100g/10ml)	97.5 ^b	0.1			Significant	*	
	INCOTEC-Pink (100q/11ml)	99.5 ^a	0.11					
Non-coated	93.5	0.1						
Significant	*							
Variety	Chemical+Wave	GP (%)	R (per day)	Variety	Chemical+Wave	GP (%)	R (per day)	
Squash	(N) NSC-0420 (50g/5ml)	73 ^f	0.16	Cucumber	(N) NSC-1030 (50g/4ml)	85 ^e	0.16	
	(N) NSC-1030 (50q/5ml)	84 ^e	0.19		(N) NSC-2030 (50q/4ml)	86 ^e	0.16	
	(N) NSC-2030 (50g/5ml)	89 ^{bc}	0.2		INCOTEC-Pink (50g/4ml)	86 ^e	0.17	
	(N) NSC-2030-1 (50g/5ml)	80 ^e	0.15		(N) NSC-0420 (50g/3ml)	72 ^f	0.13	
	INCOTEC-Pink (50g/5ml)	88 ^f	0.2		(N) NSC-2030-1 (50g/3ml)	69 ^d	0.12	
	Koreqon-Pink (50q/5ml)	93 ^d	0.21		Koreqon-Pink (50q/3ml)	79 ^b	0.17	
Non-treatment	92	0.21	Non-treatment	82	0.15			
Significant	*		Significant	*				

z : Film coating sample by company (coating unit)

y : Germination percentage(GP)

x : Germination rate(R)

* Significant at the 0.05 level of probability.

Means separation within columns by One way ANOVA and Duncan's multiple range test, $P=0.05$



• 일반 필름코팅된 종자를 침지할 때에 나타나는 현상 (INCOTEC 코팅액이 물에 풀어짐.)



• NSC 0420의 침지후 모습 -> 풀어지지 않고 수건에 필름 벗겨지듯 붙어 있음.
• NSC-1/TS-2/ 0420의 경우, 물에 담가도 풀어지지 않고 물에 색이 나타나지 않음.



• 코레곤 코팅 종자의 침지 후 모습 -> 거의 다 풀어지고 색이 남아있지 않음.

그림 36. INCOTEC 사와 (주)노루의 필름코팅 용해도 차이 결과

- NSC-1030의 경우 점도가 매우 높아 작업용이성이 낮으며, NSC-2030에 비해 용해되는 측면이 낮아 발아율의 결과 또한 영향을 미친 것으로 판단되어진다(그림 37, 38). 원판 코팅기를 이용할 때에는 점도가 높은 편이 좋다는 의견에 따라 점도에 차이를 두었으나, 그림 28과 같이 1:1로 희석해 쓰는 INCOTEC사의 경우는 원판 코팅기에도 사용되는 것으로 볼 때 기술력의 차이로 판단된다.

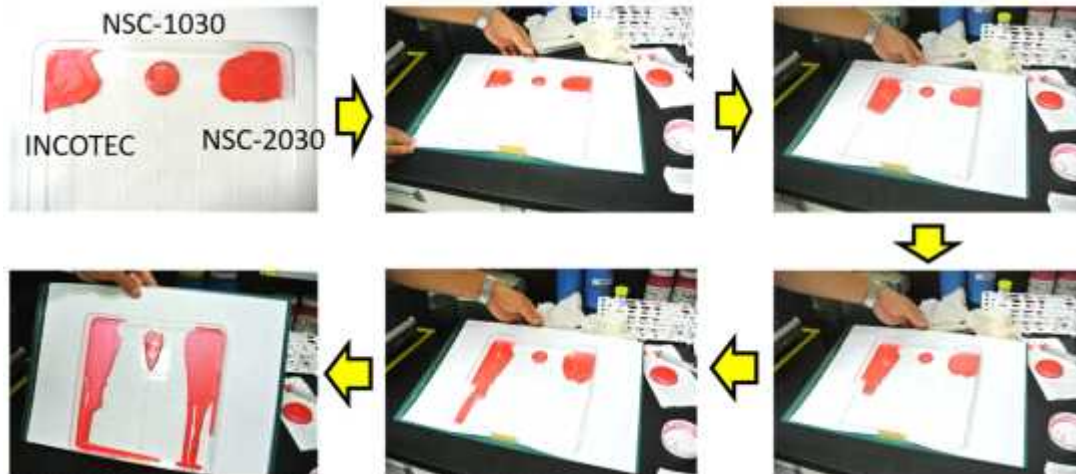


그림 37. INCOTEC사와 (주)노루 코팅액 점도 차이

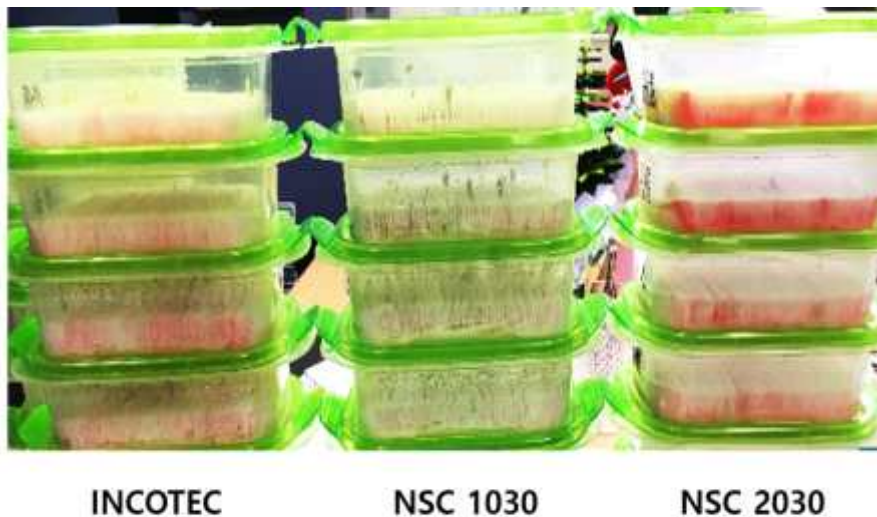


그림 38. INCOTEC사와 (주)노루 코팅액 용해도 차이

- 따라서 점도의 기준을 정하고 거기에 맞추어 개발해 나가는 방안에 대하여 논의할 필요성이 있다. NSC-2030의 경우 용해력도 높고, 발아율에 영향을 주지 않으나 발아속도는 다소 떨어지는 결과를 보였으며, NSC-2030에서는 후각을 자극하는 부분이 심하고 코팅 후 분진(코팅 겔표면이 떨어지는 현상)이 나타나 그 부분에 대한 수정 및 개선사항을 전달하였고, 2017년 9월에 개선된 NSC-2030-1 필름코팅액이 입고되었다. NSC-2030-1을 NSC-0420과 비교하여 확인한 결과 50g/6ml를 적용하였을 때 Control(99%)보다 9% 감소되었으며, 발아속도도 감소되는 결과를 나타냈다(표 40). NSC-2030-1에 대하여 필름코팅을 다시 진행하여 발아검사 결과를 재확인하여 수정방안을 다시 논의할 예정에 있다. 호박의 경우, Control(92%, 0.21)과

비교하여 (주)코레곤(93%), INCOTEC(88%), NSC-2030(89%), NSC-2030-1(80%)로 나타났다(표 40, 그림 43-46). (주)코레곤 코팅의 경우, 현재 자사에서 코팅해서 나가는 용액이 아닌 현재 코팅제조에 들어가는 기본적인 원료를 가장 코팅액에 가깝게 배합하여 개발되는 용액이 발아에 영향을 미치는 부분을 비교하고자 하였다. 다시 말해 기본적으로 들어가는 용액의 이외의 화학적 요인으로 생기는 부분임을 확인하고자 Calibration 개념으로 넣어 평가에 활용하고자 하였다. NSC-2030보다 NSC-2030-1이 수정되면서 발아에 영향을 미치는 원료가 포함되거나 발생되었다고 생각되어지나 재처리/발아검정을 통하여 수정부분을 논의하고자 한다. 오이의 경우, Control(82%)과 비교하여 NSC-1030(85%), NSC-2030(86%), INCOTEC(86%)로 나타났으며, NSC-2030 -1(69%)의 경우 감소되었음을 확인할 수 있다(표 38, 그림 39-43). 멜론의 경우, 처리 용액을 50g/4ml로 진행하였을 때, Control(86%)과 비교하여 발아율이 매우 심각하게 감소되는 것을 확인할 수 있었으며, (주)코레곤의 경우 가장 적은 감소율(37%)로 나타났다. 이는 종자량 당 처리용액의 한계치를 넘은 것이 원인일 것으로 판단되며, 화학적 처리에 매우 민감한 종자로 생각된다.

표 41. 초음파(음파)처리 기기를 이용한 박과종자 프라이밍 처리조건연구

Film Coating Test							
Variety	Company ^z	GP ^y (%)	R ^x (per day)	Variety	Company	GP (%)	R (per day)
Melon (Koregon seed)	(N) NSC-1030 (50g/4ml)	9 ^a	0.03	Melon (KSVS seed)	INCOTEC-Pink (50g/1ml)	99 ^b	0.23
	(N) NSC-2030 (50g/4ml)	1 ^a	0.01		INCOTEC-Pink (50g/2ml)	97 ^b	0.19
	INCOTEC-Pink (50g/4ml)	20 ^c	0.02		INCOTEC-Pink (50g/3ml)	97 ^b	0.2
	(N) NSC-0420 (50g/3ml)	12 ^d	0.02		(N) NSC-2030-1 (50g/1ml)	97 ^b	0.2
	(N) NSC-2030-1 (50g/3ml)	32 ^b	0.05		(N) NSC-2030-1 (50g/2ml)	80 ^c	0.12
	Koregon-Pink (50g/3ml)	49 ^a	0.09		(N) NSC-2030-1 (50g/3ml)	45 ^d	0.06
Non-treatment		86	0.17	Non-treatment		97	0.22
Significant			*	Significant			*

z : Film coating sample by company (coating unit)

y : Germination percentage(GP)

x : Germination rate(R)

* Significant at the 0.05 level of probability

Means separation within columns by One way ANOVA and Duncan's multiple range test, $P=0.05$

- 각 품목마다 착색되어지는 가장 적절한 처리 용액량을 기점으로 용액량을 늘려서 코팅하고 처리 용액량 증가에 따른 발아율의 변화를 확인하여 발아율에 영향을 미치는 한계치를 확인하고자 하였다. 다른 회사 제품에 비하여 (주)코레곤(기존에 사용하고 있는 필름코팅액을 사용)의 결과에서는 감소폭이 적은 것으로 나타났는데 호박 발아율에서 기재한 것과 같이 기본적인 배합제 이외의 물질이 포함된 것들 중에서 영향을 미치는 요인이 있을 것으로 파악되며 이에 따라 (주)코레곤에서는 가장 적은 감소율을 보였다고 판단되었다. 뿐만 아니라 멜론 종자의 품종에 따라 차이를 내는 경우도 있을 수 있기에 국립종자원에 현재 실험에 적용되

는 (주)코레곤 종자가 아닌 종자를 공급받아 코팅처리용액에 따른 멜론의 발아율 변화를 확인하고자 하였다.

- 필름코팅 용액은 가장 최근에 입고된 NSC-2030-1과 INCOTEC사로만 진행하였으며, 최대 3ml에서 최소 1ml까지 처리량을 다르게 하여 필름코팅처리를 하였다. Control(97%)과 비교하여 INCOTEC의 경우 모든 처리군에서 발아율이 감소되지 않았으며, NSC-2030-1에서는 1ml로 코팅하였을 때를 제외하고는 발아율이 크게 감소되었다. INCOTEC의 경우, (주)코레곤 종자로 4ml처리 시에는 발아율 저하를 나타내었으나, 국립종자원(KSVS)에서 입고된 종자로 최대 3ml까지 처리하였을 때는 발아율에 영향을 주지는 않았으나 발아속도가 감소되는 결과를 나타내었다. NSC-2030-1의 경우, (주)코레곤 종자 3ml 처리 시와 유사하게 감소하였으며, 1ml 처리군에서는 발아율에 영향을 주지 않는 것으로 확인되었다(표 41, 그림 43-46).

- 본 연구기관에서 타 회사(NW)에서 현재 판매되고 있는 코팅된 멜론 종자의 상태를 통해 멜론 종자의 코팅 기술의 차이를 확인한 결과, 착색이 종자전면에 거의 이루어지지 않은 상태이며, 종자의 표면의 거의 드러나 있었다. 1ml로 코팅처리 시 INCOTEC사가 코팅된 효과가 좋았으며, NSC-2030-1도 NW사의 코팅상태보다는 착색상태는 좋았으나 INCOTEC과 비교하여 전체적으로 이루어지지 않았으며, 종자표면이 드러나는 상태인 부분을 확인할 수 있었다. 이러한 결과로 멜론 종자에만 적용 가능한 코팅용액을 따로 개발할 것인지 아니면 INCOTEC과 같이 범용으로 개발할 것인지에 대한 방향성에 대하여 논의하였다(그림 46, 49).

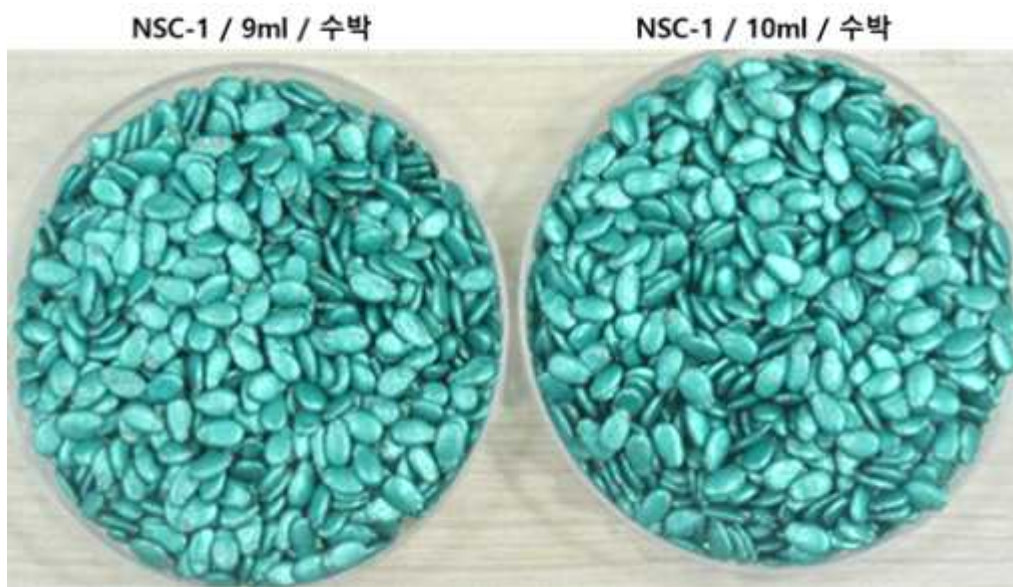


그림 39. (주)노루 NSC-1 필름코팅
(발림성은 좋으나 약품냄새 심하고 용해도가 낮아 껍질이 벗겨짐이 심함.)



그림 40. (주)노루 TS-2 필름코팅
(발림성은 좋으나 약품냄새 심하고 용해도가 낮아 껍질이 벗겨짐이 심함.)

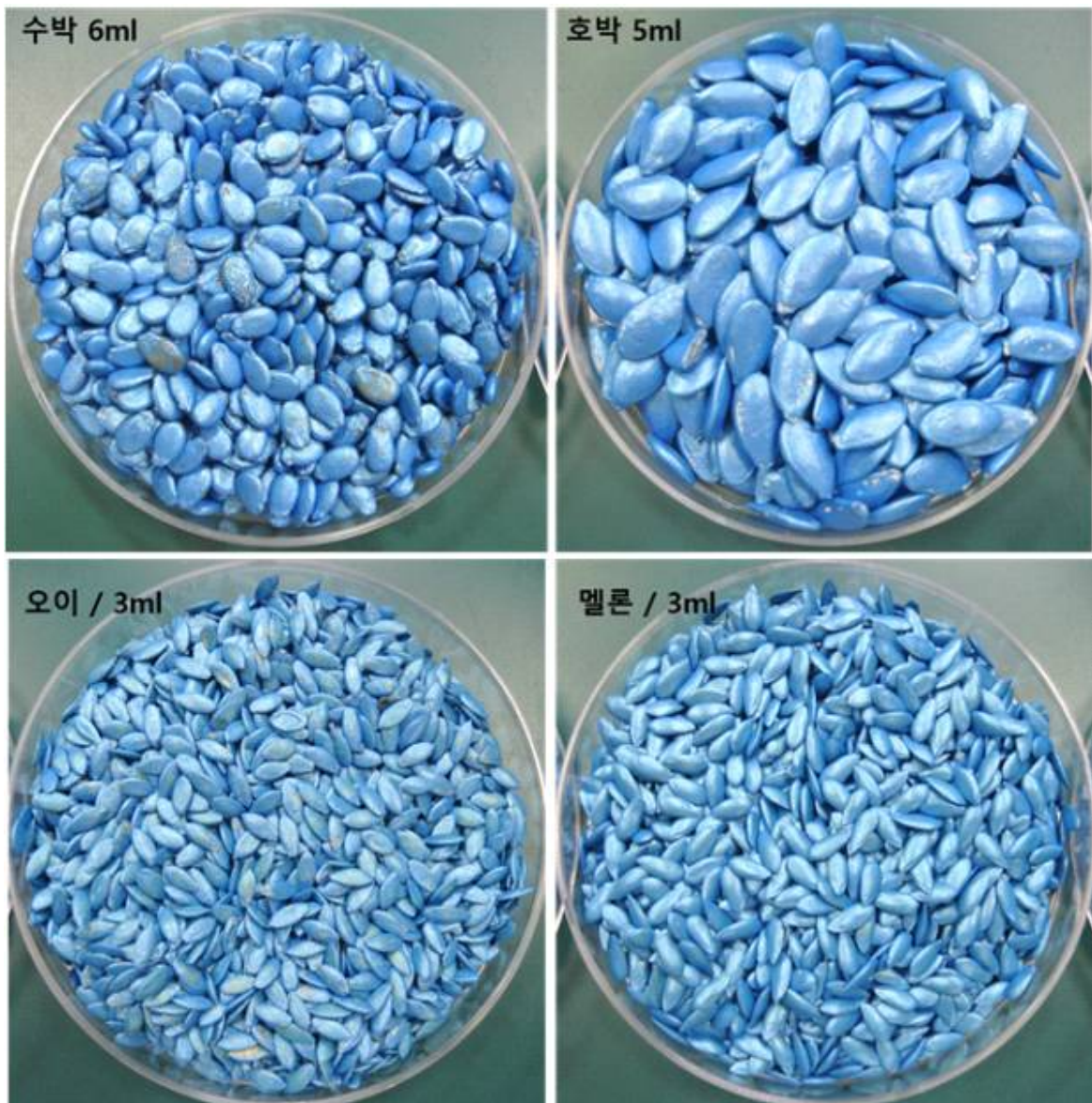


그림 41. (주)노루 NSC-0420 필름코팅(용해되지 않고 껍질처럼 벗겨지는 현상 심함.)

100g기준



1:1W, 6ml

1:1W, 7ml

1:1W, 8ml



1:1W, 9ml

1:1W, 10ml

1:1W, 11ml

그림 42. INCOTEC사 필름코팅처리된 수박종자

50g기준



그림 43. INCOTEC사 필름코팅으로 처리된 종자

멜론 / 4ml



오이 / 4ml



호박 / 5ml



수박 / 6ml



그림 44. (주)노루 NSC-1030 필름코팅종자

멜론 / 4ml



오이 / 4ml



호박 / 5ml



수박 / 6ml



그림 45. (주)노루 NSC-2030 필름코팅종자

멜론 / 3ml



오이 / 3ml



수박 / 6ml



호박 / 5ml



그림 46. (주)노루 NSC-2030-1 필름코팅종자



그림 47. NW사에서 판매한 필름코팅처리종자



1ml

2ml

3ml

그림 48. INCOTEC사 필름코팅용액으로 코팅한 멜론종자



1ml

2ml

3ml

그림 49. (주)노루 NSC-2030-1 필름코팅용액으로 코팅한 멜론종자

2) 3차년도(2018.01.01. - 2018.12.31)

수박/호박/오이/멜론 필름코팅 처리평가

- (주)코테곤에서 P2031-1의 문제점으로 1. 용액의 침전, 2. 발아저하, 3. 작업용이성 부족(거품발생) 등을 확인하여 (주)노루 측에 개선을 요청하였으며, 2018년 10월 1일에 최종적으로 개발된 Red-4를 제품을 가지고 (주)신농에서 개발한 필름/펠렛 코팅이 모두 가능한 다목적 기기에서 (주)노루 측에서 참석하여 직접 코팅을 진행하고 함께 Red-4 용액에 대하여 비교평가 하였다(그림 50, 51).



18' INCOTEC



18' RED-4(30%)



18' INCOTEC



18' RED-4(원액)

그림 50-a. 개발된 RED-4의 필름코팅용액 비교평가 (호박, 수박)



18' INCOTEC



18' RED-4(30%)



18' INCOTEC



18' RED-4(30%)

그림 50-b. 개발된 RED-4의 필름코팅용액 비교평가 (위: 오이, 아래: 멜론)



그림 51. (주)노루 Red-4 필름코팅용액으로 코팅된 종자의 상토판중

박과(수박/호박/오이/멜론)종자에서의 (주)코레콘 필름코팅 자체개발연구

- 다양한 분석과 60여개 이상의 조합으로 제조된 용액별로 종자의 발림성, 용해력, 발아에 미치는 영향을 1차 선발 확인 후 2차 기내/상토발아 검정을 거쳐 PVA base 용액 및 기타 구성 물질에 대한 기본적인 골격이 되는 JH193과 JH203을 선발하였으며, 두 가지 조건을 토대로 하여 4차년도에 구성물질간의 경제성과 기능성(발림성, 다양한 종자에 대한 발아 영향성, 코팅 시의 문제점해결, 분진, 저장성)에 대한 고려를 집중적으로 하여 최적의 조건을 선발하고자 하였다(그림 52).



그림 52-a. (주)코레콘 필름코팅개발을 위한 과정(호박)
(RED-4: 노루, JH193, 203: (주)코레콘 필름코팅용액)

- 호박은 필름 코팅하였을 때 종자의 표면 특성상 가장 분진이 많이 일어나는 종자이다. 본 연구기관에서 선발한 Base 용액으로 조성된 JH193과 JH203의 경우도 호박에서 분진이 가장 많이 나타나 이 부분을 해결하고자 각 구성물질의 비율 및 타 회사 제품의 기능 비교를 진행 중에 있다. 수박종자는 표면이 매우 거칠고 단단하기에 코팅을 하는 과정에서 생기는 굽힘 현상이 다른 종자보다 심하게 나타난다. 필름코팅 시에 가장 어려운 종자로도 잘 알려져 있으며 표면이 매우 어둡기에 코팅용액의 색상이 제대로 표현되기가 어려운 측면도 있다. JH193의 경우 INCOTEC과 (주)노루 측의 코팅상태와 비교하여 큰 차이가 없으나 JH203의 경우 발림성이 부족하게 나타났다



18' INCOTEC (수박)



18' RED-4(원액, 수박)



18' JH193 (수박)



18' JH203 (수박)



18' INCOTEC (멜론)



18' RED-4(30%, 멜론)



18' JH193 (멜론)



18' JH203 (멜론)

그림 52-b. (주)코레곤 필름코팅개발을 위한 과정(수박, 멜론)
(RED-4: 노루, JH193, 203: (주)코레곤 필름코팅용액)

- 오이는 화학적/물리적 자극에 둔감한 측면이 있어서 필름코팅용액을 평가가 어려운 부분이 있어서 최종적인 선발과정 이후에 평가할 예정이다. 처리 종자들 중에서 가장 민감한 종자인 멜론의 경우 100g당 2-3ml 정도로 처리할 정도로 용액사용량을 가장 적게 적용해야 하고 종자표면이 노란색이므로 필름코팅색상을 선택할 시에 코팅사용액 대비 발색이 가장 적절한 색상으로 선발하여 처리하는 것이 좋다. 위와 같이 Red나 PINK계열의 색상을 적용하는 것이 처리용액 대비 가장 코팅효과를 높일 수 있을 것으로 생각된다. 그림 38-b와 같이 JH193, 203 필름코팅용액을 200g당 6ml로 멜론 종자에 처리된 모습이며 발색과 커버력이 INCOTEC사와 비슷한 광택과 커버력을 나타냈다. 그러나 발아율이 감소되는 결과로 인해 조합구성을 새로 작성하였다.

3) 4차년도(2019.01.01. - 2019.12.31)

박과(수박/호박/오이/멜론)종자에서의 (주)코레콘 필름코팅 자체개발연구

- 자체적으로 개발하는 필름코팅용액의 조합과정은 어떤 회사의 원료를 사용할 것이며 경제적인 비용 등을 고려하고 사용량 또한 경제성을 최우선으로 하여 기능성을 해치지 않는 선의 비율을 찾아내고자 하였다. 코팅 용액의 조제구성 및 비율을 선발하기 위해서는 시험용액 별로 코팅된 종자를 타월을 이용한 침지방식(용해도평가)을 거치는 1차 선발(Radicle-emergence test)검정을 실시하고 여기서 선발된 조건은 2차로 기내/상토발아검정을 통해 최종 선발하였다(그림 39). 용액의 저장성을 고려하여 Water를 1:1로 INCOTEC과 같이 사용자가 직접 희석해 사용할 수 있는 방식을 채택하고자 조성물질의 구성을 재배치하는 과정이 필요하였다. 다양한 고려사항을 적용하고 시행착오를 거쳐 총 5가지 조건(KJ930, KJ104(A-D))을 선발하였다. 그림 40과 같이 소형필름코팅 당의기와 원판코팅기로 필름코팅 시에 생기는 문제점을 함께 평가하면서 코팅액 개발에 보다 현실적으로 접근하고자 하였다.



그림 53. 침지(타월)방식을 이용하여 용해도 검정과정



그림 54. 코팅기기 적합성여부 및 발아검정 평가를 통하여 필름코팅용액을 개발하는 과정

- (주)코레곤의 필름코팅용액 개발을 위하여 조색작업을 시도하고 종자표면의 특성과 가장 적절한 색상조합 비율을 확보하며 다양한 색상을 종자의 표면색과 상관없이 원색 커버가 될 수 있는 방법에 대해서도 연구하였다(그림 54). 선발된 구성 물질들의 비율과 새로 추가된 안료의 비율에 따라 생겨나는 문제점들을 해결하는 과정을 통해 필름코팅용액 개발에 대한 경험치를 높여 제품의 기능성 및 기술력을 확보하고자 하였다. 뿐만 아니라 파종할 때에 코팅된 종자의 육안식별에 대해서도 함께 확인하였다(그림 55). 이러한 과정을 통하여 KJ104를 선발(그림 56)하고 새로운 조합을 통해 발아율에서 생기는 문제점을 해결하고자 하였다. 필름코팅용액에 의하여 발아율에 문제가 생기는 것을 방지하기 위하여 기내발아도 진행하지만 상토발아 검정에 중점을 두고 비교 평가하여 신중하게 선발해 나가고 있다.

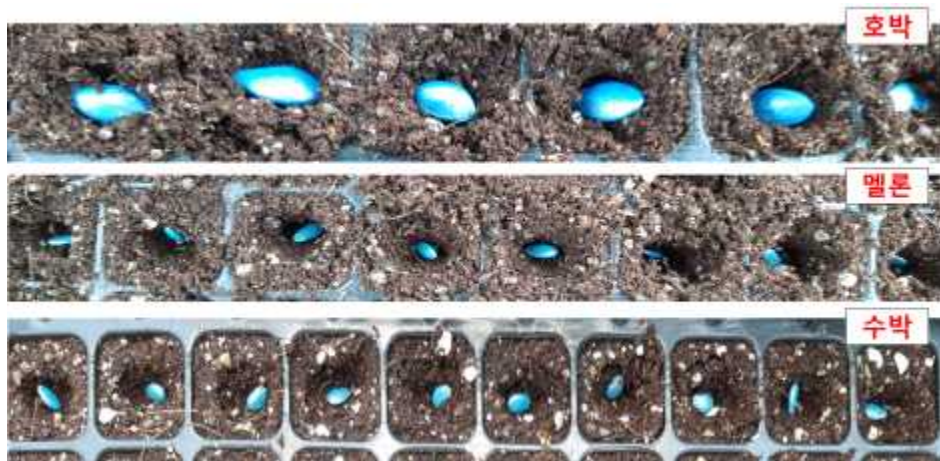


그림 55. 상토에서의 (주)코레곤 KJ104의 종자육안식별 정도

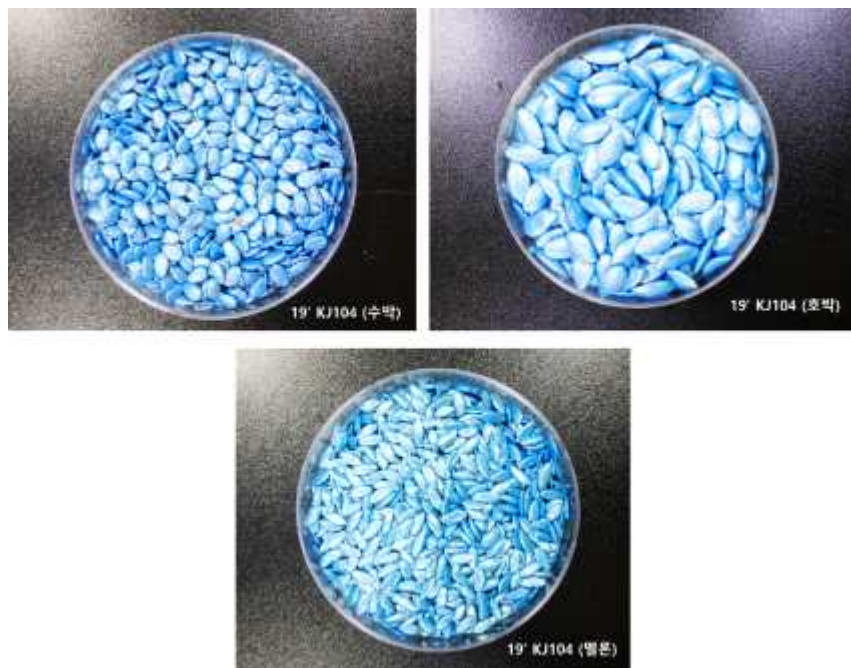


그림 56. 2019년에 선발된 (주)코레곤의 KJ104 필름코팅용액으로 처리된 종자

양파/무 품목의 개발 중인 펠렛(Pellet) 코팅기능평가

- 안성시에 위치한 양파작목반에서 실사용중인 자동과종기(미노루사)를 이용하여 위탁기관에서 제작한 DTK-5를 사용하고 제1협동, 제3협동에서 처리된 종자를 자동과종을 실시하여 국내에서 서비스 중인 실제제품과의 비교 검증을 진행하였다(그림 57, 58). 기계과종은 트레이의 구멍의 개수에 따라 적절한 로터를 교체하여 사용하는 방식으로 검증에는 448구 트레이와 펠렛크기 5~6mm에 적절한 로터가 사용되었다. 또한 검증을 위해서 복토 과정을 생략하여 진행하였고 연속적으로 진행되는 자동과종의 특성상 연속적으로 과종이 진행되어 샘플당 7~10트레이를 진행하였다.



그림 57. 기계과종 검증에 사용한 과종기기



그림 58. (주)노루에서 개발한 DTK-5 펠렛 코팅제

- 제1협동과 제3협동에서 같은 샘플로 작업을 진행하여 기계과종 실증을 진행하고자 하였으나 제3협동의 작업규모가 작은 탓에 수령한 샘플양이 적은 탓에 기계과종을 위한 최소 수량에 미치지 못하여 종자가 과종되지 않은 경우가 연속적으로 발생하여 제3협동의 샘플은 사용하지 못했다. 대비종자는 동일한 종자에 쓰미토모사의 원재료를 사용하였으며 DTK-5를 사용한 펠렛과 작업환경/작업자/작업시간이 모두 동일하였다. 하지만 두가지의 펠렛종자를 육안으로 확인하였을 때, 형태적으로 DTK-5를 사용한 펠렛은 대비종자보다 구형에 가깝지 않아 타원형의 종자의 비율이 다소 많고 포장 상태에서 펠렛의 깨짐과 분진의 발생이 대비종에 비해 많았다(그림 59). 또한 종자 크기의 균일성에 있어서도 대비종자보다 좋지 않았다. 이는 동일한 채반에서 선별한 결과이기 때문에 다시 사이징(Size조절)하는 것은 의미가 없음

을 확인하였다. 그리고 펠릿종자를 분쇄해봤을 때 DKT-5를 사용한 펠릿이 쉽게 분쇄되고 소립종자의 경우 하나의 펠릿 내에 두 개 이상의 종자가 들어가는 이중립 발생이 대비종자에 비해 월등히 많았다. 이는 펠릿가공 중 종자간의 접촉에 의해 발생하는 현상으로 DKT-5 구성에서 접착성을 다소 낮춰야 함을 의미한다.(그림 47)

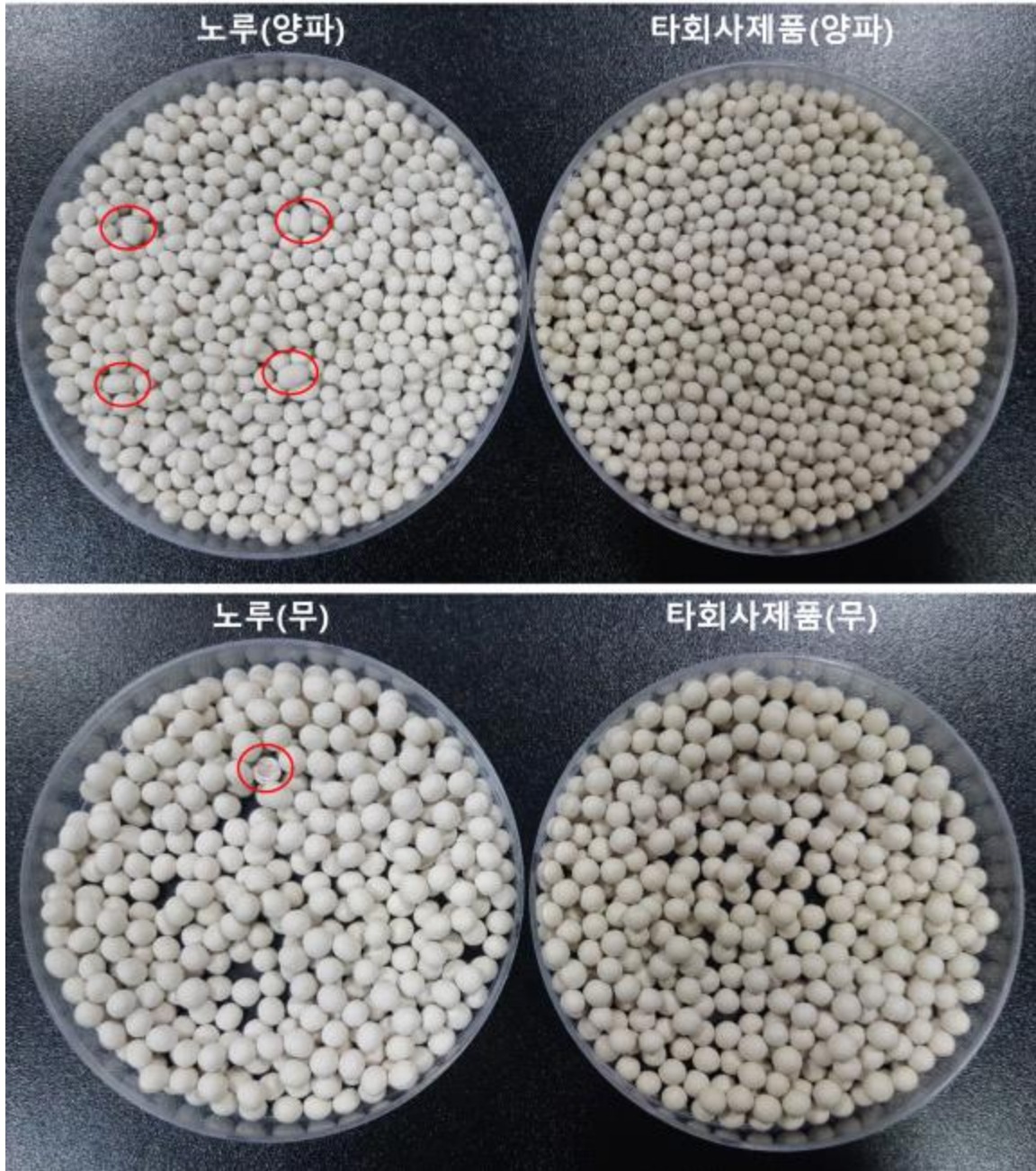


그림 59. (주)노루에서 개발한 DKT-5 펠릿과 타회사제품 펠릿 상태비교
(양파의 경우 이중립이 절반이상 나타났으며, 양파/무 등 대부분 부서짐 많이 나타났음.)

- 기계과중은 자동으로 두 차례에 걸쳐 트레이에 상토를 넣고 회전하는 로터의 홈에 펠릿종자가 안착된 후 트레이 구멍에 맞춰 종자를 떨어뜨리고 다시 한 번 종자의 위치를 고정하기 위해 살짝 눌러주는 과정을 거치는데 DKT-5를 사용한 펠릿 종자에는 ①이중과중발생 ②펠릿과손발생 ③펠릿투입함에 분진발생의 세 가지 문제가 확인되었다(그림 60, 그림 61).
- 다중과중은 종자의 크기와 모양이 균일하지 못해 로터의 구멍에 두 개 이상 들어가게 되는 경우가 발생하였다. 이것은 소비자 입장에서 종자의 소모를 늘리고 이후에 숙음 작업을 해야 하는 2중의 부담이 되기 때문에 펠릿 품질에서는 무조건 해결해야 하는 부분이다. 또한 과중된 종자의 펠릿 부위가 분쇄되어 종자가 노출되는 현상이 간간히 발생하였는데 펠릿 부위가 종자를 보호하고 수분흡수에 도움을 주기 때문에 분쇄된 펠릿은 펠릿종자로서의 역할을 못할 것으로 예상된다. 그리고 무엇보다 종자를 투입할 때마다 미세한 분진이 발생하여 작업환경에도 좋지 못한 결과를 보여주었으며 투입과정에서도 종자가 과손되는 부분을 확인했다.



그림 60. (주)노루에서 개발한 DTK-5 펠릿코팅종자와 타 회사 펠릿종자의 기기과중상태 (노루의 경우 2-3립 이상씩 종자가 들어가 있는 것을 확인할 수 있음)

- (주)코레곤은 이러한 결과 및 개선점을 국립종자원 및 (주)노루 측에 전달하였으며, 펠릿 기술자간의 차이가 있는지 여부를 확인하고 이후 펠릿소재 평가에서 기관간의 차이를 줄이고자 9월 9일에 국립종자원을 포함 각 협동기관이 참석하여 (주)신농에서 개발한 코팅기기로 같이 코팅하는 과정을 확인하고 차이점을 판단하였다. 그 결과, 제 1, 3 협동에서 제작한 펠릿 종자의 크기 상태 등이 차이를 보였고 이후 (주)노루에서 신규 펠릿 소재를 제작하고 평가할 때에도 펠릿 코팅과정을 통일 하여 최대한 맞추어 진행하기로 하였다(그림 62).



그림 61. (주)노루에서 개발한 DTK-5 펠렛과 타회사 펠렛제품 상태비교
(트레이에 종자가 위치한 뒤 화살표방향으로 상토가 깔리며 기계가 누르고 지나감.)



그림 62. (주)신농 필름/펠렛 코팅기기를 사용한 종자 펠렛팅 시연과정

3) 5차년도(2020.01.01. - 2020.12.31)

박과(수박/호박/오이/멜론)종자에서의 (주)코레콘 필름코팅 자체개발연구

- 필름코팅액은 선진국을 포함한 중국, 인도 등의 신흥국가들에서도 활발하게 제작에 뛰어들고 있는 분야이며, 선두주자인 INCOTEC사에서는 이미 친환경적인 microplastic free인 코팅액을 생산하고 환경규제지역을 중심으로 판매함에 따라 코레콘에서도 개발진행중이던 미세플라스틱이 포함된 일반 코팅용액의 개발에서 선발된 조건을 기초로하여 필름코팅액의 코팅능력을 유지하면서 미세플라스틱 소재를 사용하지 않는 친환경 코팅액을 개발하고자 하였다. 4년차에 선발된 비율을 베이스로 하여 천연소재료를 발굴하고 다양한 후보군들로 교체를 시도하고 소재에 맞는 새로운 비율을 찾아내고자 하였다. 코팅종자를 타월을 이용한 침지방식

(용해도평가)을 거치는 1차 선발(Radicle-emergence test)검정을 실시하고 여기서 선발된 조건은 2차로 기내/상토발아검정을 통해 최종 선발하였다(그림 63). 친환경물질만을 이용한 코팅액은 기존에 개발한 KJ104에 비해 발색력, 착색, 작업용이성 등은 비슷한 수준이나 발아검사까지 진행한 종합적인 현재의 결과는 기존의 완성품과 비교하여 70%이상 기술력을 확보한 상태이며 예비로 Eco-JK101을 최종 조합 선발하였다. 친환경 코팅액 기술을 확보하기 위해서는 다양한 천연물에 대한 조합연구가 진행되어야 하며 선진 기술 확보를 위해서는 지속적인 연구개발이 필요하다.



그림 63. (주)신농 필름/펠렛 코팅기기를 사용한 종자 펠렛팅 시연과정

양파/무 품목의 개발 중인 펠렛(Pellet) 코팅기능평가

- 4년차에 실시한 펠렛종자 기계과종 실증과 동일하게 안성시에 위치한 양파작목반에서 실사용중인 자동과종기(미노루사), 동일한 트레이, 동일한 상토를 사용하여 진행하였다. DTK-5의 실증실험 결과를 바탕으로 제작된 DTK8이 제1협동, 제3협동에 보내졌으며 제3협동의 펠렛처리 능력을 향상시켜 기계과종이 가능한 수준의 양을 확보 받았다.

대비펠렛은 쓰미토모사의 소재를 이용한 양파 펠렛으로 기계과종 실증결과 4년차의 DTK-5 보다 더 개선된 것을 확인할 수 있었으나 분진발생, 형태적인 부분에서 대비펠렛에 비해서는 다소 부족한 결과를 보였다.



그림 64. (주)노루에서 개발한 DTK-8 펠렛과 타회사제품 펠렛 상태비교
(분진의 발생차이가 쉽게 식별이 되며 타원형의 펠렛이 다소 많다.)

- 실제 기계파종 결과에서도 비슷한 결과를 확인할 수 있었다. 488 트레이에서 대비종 양과 펠렛의 경우 정상파종의 5회 평균은 446.5개인데 반해 DTK-8 펠렛은 정상파종 436회로 미파종, 다중파종, 파쇄 등이 나타났으며 DTK-5에서 보이지 않았던 로터에 종자걸림 현상이 발생하여 종자가 걸린 구멍의 경우 연속적으로 미파종이 된다는 것을 감안한다면 작업을 진행할수록 미파종의 비율이 계속적으로 올라갈 것이 예상된다(그림 65). 이것은 종자의 크기 문제가 아니라 종자가 로터의 구멍에 들어가고 자동적으로 적절한 위치에서 물리적인 힘으로 밀어서 떨어지게 되는 과정을 거치는데 펠렛의 소재가 다소 무르거나 깨져서 구멍에서 이탈하지 못하는 것으로 예상된다(그림 66). 또한 상추, 양배추 펠렛에 대해서도 진행하였으나 종자 크기의 문제로 다중파종이 발생하였으나 이는 로터의 크기를 조절하거나 종자의 크기를 조절하면 해결할 수 있는 문제이지만 종자파쇄가 평균 20개 수준으로 확인되어 펠렛소재의 개발이 계속 진행되어야 함을 알 수 있다.

- DTK-8 펠렛소재는 기계파종에서 L~LL 정도의 다소 큰 펠렛종자는 대피제품과 비슷한 적합성을 보였지만 ① 크기가 작은 종자일수록 길쭉하며 대부분의 종자에서 형태를 균일하게 만드는 것이 아직은 다소 미흡한 점 ② 이러한 형태적인 특징으로 기계파종에서 이중립, 미파종, 종자파쇄 등이 어느 수준 발생하는 점 ③ 펠렛의 강도가 다소 약하여 종자 분쇄가 자주 발생하고 분진 등으로 인해 작업 편의성이 다소 낮고 흡입식 파종기에서는 기계 고장을

유발할 가능성이 높은 점 의 이유에서 아직 기계파종 적합성은 개선할 여지가 있다고 확인 되었다.

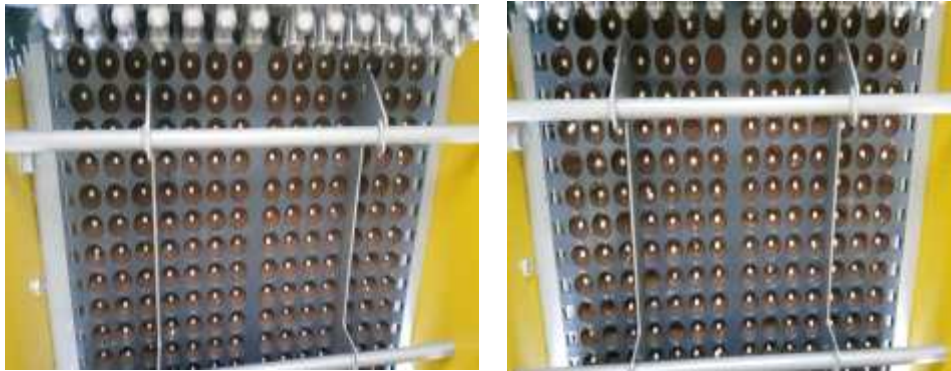


그림 65. (좌)대비펠렛 (우)DTK-6 양파종자의 파종 중 이미지 (미파종, 이중파종, 펠렛분쇄의 양상이 모두 나타난다.)

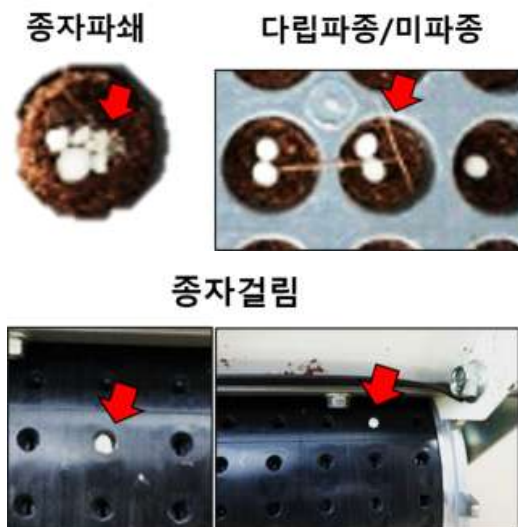


그림 66. DTK-6펠렛의 파종중 문제점 (종자파쇄, 다중파종, 종자걸림)

[제3협동 : 주요 로열티대응종자(엽채류, 과채류) 종자의 종자가공처리 기술 개발]

1. 상추 종자의 발아특성 증진을 위한 프라이밍 처리기술 개발

가. 연구목표

상추는 복잡한 종자생리를 가진 작물로 크게 두 가지 특성을 가진다. 첫 번째 특성은 암상태에서는 발아가 저해되는“광민감성(Photosensitive)”또는“광휴면성(Photodormant)”을 가졌다. 이런 특성은 상추 종자 펠렛가공 시 특히 문제가 된다. 두 번째 특성은 30℃의 고온에서 휴면이 일어나는“고온휴면성(Thermodormancy)”를 가진다. 상추 종자는 환경에 대한 민감성으로 인해 상업적으로 가장 프라이밍 처리가 많이 되는 작물 중 하나이다. 때문에 상추 프라이밍에 대한 연구는 1980년대부터 시작되어 많은 보고가 되고 있으나 상업적 이용기반이 약하여, 국내기업이 상업적으로 활용할 수 있는 프라이밍 원천 기술을 구명하는데 본 연구의 목적이 있다. 불량 환경에서의 발아율, 발아속도, 균일성의 향상뿐만 아니라, 기계파종을 위한 필요 처리기술인 펠렛 또는 필름 코팅 처리 시 부수적으로 발생할 수 있는 발아저해의 문제를 프라이밍 기술로 극복할 수 있도록 프라이밍 기술개발이 필요하다. 이에 본 과제에서는 수출용 고추, 상추, 로열티대응용 토마토의 종자가공처리 기술 확보 및 상용화를 위해 품목별 종자프라이밍 기술개발과 선정을 하고자 하였다.

(1) 삼투프라이밍(Osmo priming)

삼투프라이밍은 Heydecker et al.(1973, 1975)에 의해 개발되고 설명된 방법이다. 종자가 발아전 단계의 대사 활동을 할수 있는 수준이나 유근돌출이 되는 실제적인 발아는 일어나지 않는 정도의 조절된 수분 상태로 조절하는 기술이다. KNO_3 , K_2HPO_4 , $NaNO_3$ 등과 같은 다양한 무기 염류들과 polyethylene glycol (PEG)와 같은 삼투용액의 삼투포텐셜을 이용하는 osmo priming에서 염류의 효과여부를 동일 삼투포텐셜 조건에서 프라이밍 효과와 비교하여 적정 프라이밍 소재를 탐색하고, 선발한 프라이밍 조건에 발아 및 건전유묘율 향상에 효과적인 것으로 알려진 liquid smoke의 혼용처리와 초음파 처리 효과를 검정하였다.

(2) 종자의 (초)음파 처리(Ultra priming)

초음파는 인간이 들을 수 있는 소리의 20~20,000 Hz 보다 높은 20,000 Hz이상의 진동수의 소리이다. 초음파 기술은 식품분야에서 건조, 추출, 삼투건조, 탈염과 수화 등의 물질 전이과정에서 유용하게 사용되는 기술이다. 최근에는 종자의 휴면타파나 발아특성의 향상을 위해 다양한 종의 적용이 보고되고 있는 물리적 처리 방법이다(Nazari and Eteghadipour, 2017). 종자의 발아를 위해서는 수분의 흡수와 산소의 공급이 필수적인데 초음파는 세포벽에 미세공극을 만들고 세포벽의 유동성을 높이고 micro bubble을 형성하여 물과 산소의 투과성을 높여 산소의 이용성과 수화도를 향상시키고 다음 단계의 물질대사를 촉진시킨다고 보고되고 있고 초음파가 종자에 미치는 영향의 메커니즘에 대한 연구들이 확대되고 있다.

초음파의 종자 처리는 콩(*Pisum sativum*), snail medick (*Medicago scutellata* (L.) Mill), big saltbush (*Atriplex lentiformis*), cumin (*Cuminum cyminum*), caper beans (*Zygophyllum eurypterum*)에서 발아율이 향상이 보고되었고, 노화종자에 대한 유의한 발아율 향상이 애기장대, tall fescue (*Festuca arundinacea*), Russian wild rye (*Psathyrostaehys juncea* Nevski)에서 보고되고 있다(Lopez Ribera and Vicient, 2017). 초음파는 발아율뿐만 아니라 발아속도의 향상 효

과가 콩, 밀, 수박 등에서 보고되며 적용이 편리한 신기술로 주목받고 있다. 종자프라이밍 기술로써 초음파는 화학적 처리가 필요 없어 오염의 우려가 없는 장점이 있으나, 종자회사에서 사용이 가능한 대용량처리 기기의 적용이 필요하다. 제1협동에서 개발한 대용량 종자프라이밍 전용 장비를 이용한 발아향상 기술을 개발하고자 초음파의 진동수, 시간, 프라이밍처리와의 혼용 처리에 대해 검증하고자 하였다.

(3) 광처리 및 liquid smoke 처리

상추는 암상태에서는 발아가 저해되어 광처리에 의한 발아촉진 효과에 대해 많이 보고 되어왔다. 이에 광처리를 적용한 프라이밍 효과를 확인하고 산업적 처리 방법을 개발하고자 하였다. Liquid smoke (가래나무과 hikory나무의 훈연액)는 식물체를 태울 때 발생하는 연기의 포화액으로 주성분인 Butenolide (3-methyl-2Hfuro[2,3-c]pyran-2-one, karrikinolide)은 고농도에서 피해가 보이나, 추출물은 매우 적은 농도인 10^{-9} M에서도 효과적이고, GA₃보다 더 효과적이나 GA₃ 처리와는 달리 도장 발생의 단점이 없다. LS의 발아촉진 유효성분은 분리 시약 1 mg에 \$280로 매우 고가라 다른 첨가물이 들어 있지 않는 저렴한 식품 첨가제를 사용하여 발아특성에 미치는 영향을 조사하고자 하였다.

(4) 수화프라이밍(Hydro priming)

수화프라이밍은 간단하고 저비용의 프라이밍 기술로 종자를 물에 침지시켜 일정시간 동안 발아전의 대사활동이 일어나지만 실질적인 발아가 되지 않는 상태에서 종자를 재건조시켜 보관이 가능하게 하는 종자처리기술이다(Singh et al., 2015).

(5) 드럼프라이밍(Drum priming)

드럼프라이밍은 회전하는 원통 기기에 수분을 공급하면서 처리를 하는 방법으로 용액 또는 고체프라이밍의 처리에 대한 단점 없이 전처리를 할 수 있는 장점이 있지만 높은 상대습도로 미생물 발생과 공급되는 수분량이 적기 때문에 불균일한 수분흡수가 일어날 수가 있는 단점도 있어 미생물을 방제하고 균일하게 종자 수분함량을 맞추는 것이 가장 중요하다(Jabe and Mark, 1997; Clissia and Julio, 2015). 본 실험에서는 종자가 침지되는 정도로 최소한만의 물을 공급하여 수분흡수를 흡수시키는 hydration 과정을 통해 적정 수분함량을 맞춘 후 상대습도 100%에서 발아를 위한 대사과정을 진행하는 incubation 처리 과정을 진행하는 modified drum priming 방법을 사용하였다. 각각의 종마다 발아에 가장 효과적인 수분함량이 달라 hydration 및 incubation 처리시간을 규격화하는 것이 중요하다.

(6) 상추 발아특성 향상을 위한 종자처리용 Sodium nitroprusside (SNP)의 효과 평가

SNP는 산화질소(Nitric oxide, NO)를 제공하는 물질로서 산화질소(NO)는 식물과 동물에서 강력한 신호 전달 분자로 작용하는 물질로 종자의 발아, 식물 성장 및 발달에서 산화질소에 대한 역할이 보고되고 있다(Yin et al., 2016; Lamattina et al., 2003; Neill et al., 2003; Wendehenne et al., 2004; Delledonne, 2005).

나. 재료 및 방법

(1) 상추 종자의 발아특성 증진을 위한 삼투프라이밍 처리

프라이밍 처리 온도인 15°C에서 삼투포텐셜 범위가 -0.65 to -1.89 MPa인 PEG 8000 (17%, 22%, 26%)와 3종의 무기염류 CaCl₂, Na₂SO₄, K₂SO₄를 100, 200, 300 mM 3수준의 농도로 프라이밍 소재로 사용하였다. 제1협동과제에서 제작한 프라이밍 장비에 5 g의 종자를 500 mL의 용액에 넣은 후 삼각플라스크를 15°C 항온의 물에 충분히 잠기도록 배치한 후 산소공급기를 꼽고 종일광 상태에서 12시간, 24시간 처리하였다 (그림 1). 프라이밍 처리 직후 삼투용액에서 꺼낸 종자를 페이퍼 타월로 용액이 묻어나지 않을 때까지 용액을 닦아낸 후 WP4C dew point potential meter (Decagon, Pullman, WA, USA)를 이용하여 처리종자의 삼투포텐셜을 측정하고 동시에 수분함량을 조사하였다. 프라이밍 처리된 종자는 흐르는 수돗물에 충분히 수세한 후 증류수로 세척 후 20°C, 40% 상대습도에서 종자를 건조 처리하였다.

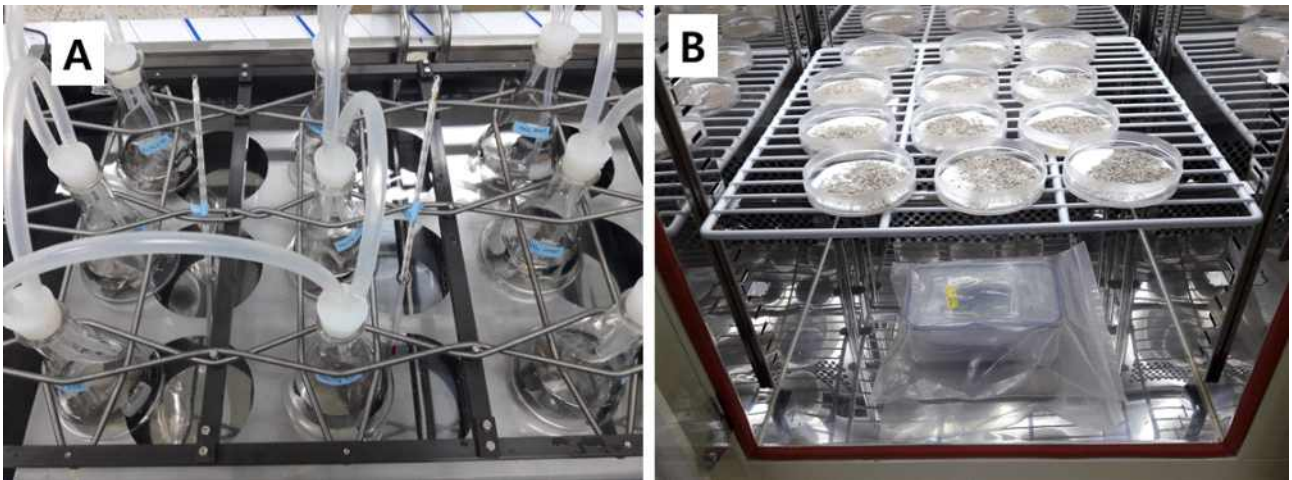


그림 1. 종자프라이밍 장비 (A, 제1협동 개발)와 건조처리

(2) 초음파, 광처리 및 liquid smoke (LS)를 적용한 프라이밍 처리

초음파·광처리 단용 및 염류·수화프라이밍(1년차 선정)과 혼용 처리를 위하여 (초)음파수준은 5, 10, 15, 20, 26 kHz, 처리시간은 0, 5, 10, 20분간 처리하였다. 처리 후 1차 연도에 선정한 염류프라이밍 처리를 혼용처리하였다. 광처리는 상추 종자를 대상으로 2000 lux의 적색광에 30, 60, 120분간 처리하였다(그림 2). 프라이밍과 혼용조건은 15°C CaCl₂ 200 mM 용액에 16시간 처리 또는 liquid smoke (LS) 희석액 0.5, 1.0, 5.0, 10.0% 용액에 단·혼용 처리하였다. 수화프라이밍은 15°C 증류수에 침지 처리 하였다. 수용액 처리 시 모든 용액은 산소공급장치로 산소를 공급해주었다.



그림 2. 항온수조 및 광처리 모습(제1협동 개발)

(3) 수화프라이밍(Hydro priming)

상추 종자 1 g을 지름 60 mm dish에 넣은 후 증류수 및 용액 8 ml을 첨가하여 7, 8, 9시간 동안 항온 15°C, 광조건에서 약 100 rpm으로 회전하여 처리하였다(그림 3). 처리 후 종자는 흐르는 물에 2~3회 세척하고 증류수로 2~3회 더 세척 후 25°C 송풍 건조기에서 24시간 이상 건조하여 수분함량이 5%가 되도록 하였다.

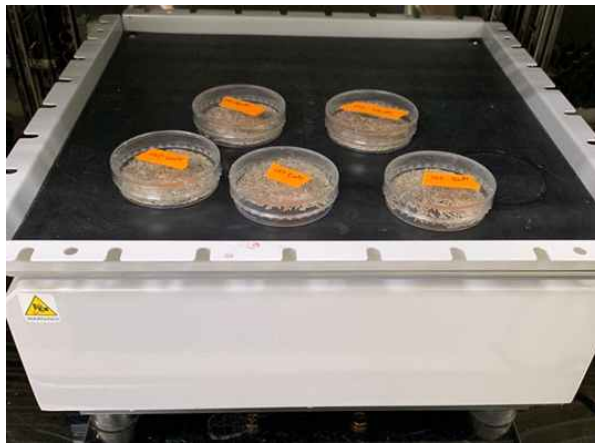


그림 4.3. 종자수화처리

(4) 드럼프라이밍(Drum priming)

상추 종자의 수분함량(Seed moisture content, SMC)을 40, 50, 60%로 만들기 위해 종자 1 g을 지름 60 mm dish에 넣은 후 D.W 및 용액을 8 ml 첨가하여 항온 15°C, 암 및 광조건에서 약 100 rpm으로 회전하며 50, 70, 90분 동안 hydration을 수행하였다. 용액을 사용한 hydration일 경우 incubation을 수행하기 전에 종자를 세척하였으며, 흐르는 물에 2~3회 행군 후 D.W로 2~3회 세척해 주었다. paper towel을 사용하여 종자 표면 수분을 제거하고 filter paper로 종자를 닦았을 시 수분이 묻어 나오지 않을 정도의 종자를 유리 vial에 vial 입구를 얇은 천으로 막은 후 상대습도 95%인 밀폐 용기에서 16, 24시간 동안 20°C 항온에서 약 26 rpm으로 회전하여 Incubation을 수행하였다. 드럼프라이밍이 종료된 종자는 25°C 송풍 건조기에서 24시간 이상 건조하여 수분함량이 5%가 되도록 하였다.

(5) 우수 종자프라이밍 처리된 상추 종자와 유묘의 항산화 분석

수화, 드럼, 삼투프라이밍 처리된 종자의 무처리 대비 발아특성이 가장 우수한 처리 조건을 선별하여 항산화능력과 필름코팅과 펠렛코팅과의 복합처리를 수행하였다.

(가) 시료 추출

수분 흡수에 따른 종자의 항산화 변화를 보기 위해 0, 3, 7시간 동안 수분 흡수 된 종자 1 g을 액체질소를 이용하여 분쇄 후 20 ml의 methanol을 넣어 8시간씩 3회 추출하였다. 추출액을 필터(JET BIOFIL, 25 mm, PTFE membrane, 0.45 μ m, Sterile)에 여과시킨 후 감압 농축기를 이용하여 10 ml로 농축하였다. 농축된 시료는 5분간 2,500 rpm으로 원심분리 후 상등액을 4°C에 냉장 보관하여 실험에 사용하였다.

(나) DPPH 라디칼 소거능

DPPH 라디칼 소거능은 변형된 Blois의 방법으로 측정하였다(Blois, 1958). 시료 200 μ l와 DPPH 1000 μ l를 섞어 30분간 암소에 반응 후 517 nm에 UV-spectrophotometer (Legend micro 17R, Thermo Scientific, USA)로 3반복 측정하였으며, 대조군으로 ethanol, 양성 대조군으로 0.1% α -tocopherol과 0.1% BHT를 사용하였다.

(다) ABTS+ 라디칼 소거능

ABTS+ 라디칼 소거능은 Biglari의 방법을 변형하여 측정하였다(Biglari et al., 2008). 7.4 mM ABTS 5 ml과 2.6 mM potassium peroxodisulfate 5 ml을 섞어 상온에서 16시간 암소에 반응시킨 후 실험에 사용하였다. 반응시킨 ABTS는 3차 증류수로 희석하여 732 nm에서의 흡광도가 0.70 ± 0.01 이 되도록 하였으며, 양성 대조군으로 0.1% α -tocopherol, 0.1% BHT를 사용하였다. 시료 25 μ l와 ABTS 975 μ l를 섞은 후 상온에서 6분간 암소에 반응시켜 734 nm에 UV-spectrophotometer로 3반복 측정하였다.

(라) 총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀 함량은 변형된 Folin-Ciocalteu의 방법을 실험에 적용하였다(Silinkard and Singleton., 1997). 시료 50 μ l와 0.2N Folin-Ciocalteu 500 μ l를 섞은 후 상온에서 5분간 암소에 반응하였고 7% Na₂CO₃ 1 ml을 첨가하여 상온에서 1시간 동안 암소에 반응시켰다. 검량선은 gallic acid를 0-1000 μ g/ml의 농도로 희석하여 측정하였고, 검량선을 토대로 시료의 총 폴리페놀 함량을 정량하였다. 반응액은 UV-spectrophotometer를 이용하여 3반복 측정을 하였으며, 760 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

(6) 발아평가

종자 활력 평가를 위하여 25립×4반복으로 두 장의 filter paper가 깔린 10-cm 지름의 petri dish에 과중한 후 20°C 중일광과 35°C 중일광하에서 7일간 매일 발아율을 조사하였다. 국제종자검정협회(ISTA) 규정에 따라 발아 및 유묘평가를 실시하였다. 발아율(Germination percentage, GP), 평균발아소요일수 (Mean germination time, MGT), 발아속도(Germination rate, GR)와 발아균일성(Germination uniformity, GU)를 계산하여 프라이밍 효과를 평가하였다. GP는 총발아율로 값이 높을 수록 우수하고, 평균발아소요일수는 발아되는데 소요되는 평

균일수로 값이 작을수록 발아가 빨리 된 것을 의미한다. 발아속도는 하루에 발아되는 발아율을 나타내는 것으로 값이 높을수록 발아가 빨리되는 것이고 발아균일성은 하루에 발아가 완료되는 경우 - 1.0 으로 가장 우수한 값이고 발아가 장기간에 걸쳐 될수록 그 값이 커진다.

·발아율(Germination percentage, GP)

$$= \text{Number of germinated seeds} / \text{total number of planted seeds} \times 100$$

·평균발아일수(Mean germination time, MGT)

$$= \sum D_x n_x / N$$

·발아속도지수(Germination rate index, GRI)

$$= ((n_1/S)/D_1) + ((n_2/S)/D_2) \dots ((n_x/S)/D_x)$$

·발아속도(Germination rate, GR)

$$= 100 \times (\sum n_x) / (\sum D_x n_x)$$

·발아균일성(Germination uniformity, GU)

$$= (\sum ((\sum D_x / \sum n) - D_x) 2n_x) / N - 1$$

·건전묘율(Healthy seedling percentage, HS)

$$= \text{Number of healthy seedlings} / \text{total number of planted seeds} \times 100$$

D= Number of days after planting

n= Number of germinated seeds on day D

N= Number of final germinated seeds

S= Number of seed sowing

(7) 유묘평가

상토에 파종한 우수처리 종자 및 무처리 14일 차 유묘에 대하여 실시하였으며, 3일 차 발아의 개수만큼 본엽수, 지상부·지하부 길이 및 건물중을 조사하였다. Cell tray에서 유묘를 꺼낸 후 뿌리의 상태를 흐르는 물로 깨끗이 씻어주었으며, 길이는 caliper를 사용하여 측정하였고 지상부·지하부를 잘라 130℃에서 24시간 이상 건조하여 건물중을 측정하였다.

다. 결과 및 고찰

(1) 상추 종자의 발아특성 증진을 위한 삼투프라이밍 처리 기술 개발

종자의 삼투포텐셜은 프라이밍 용액의 삼투포텐셜과 유사한 결과를 보였으며 수분함량은 삼투포텐셜이 낮을수록 감소하였으나, 처리 기간에 따른 증가는 나타나지 않았다(그림 4).

발아적온인 20℃에서 발아평가를 한 결과 12시간 처리구에서는 발아율과 건묘율에서는 처리 간 유의차가 없었다(표 1). 24시간 CaCl₂ 200 mM 처리구에서 GP, MGT, GR, GU가 우수하였다(표 2와 그림 5). 35℃에 파종한 결과 무처리구는 전혀 발아되지 않았으나 12시간 CaCl₂ 200 mM 처리구에서 23% 발아되고 MGT도 대조구 비해 1일이 단축되었으나 고온에서는 프라이밍 종자는 발아는 가능하나, 건전유묘로 발달되지 않았다(표 3). 24시간 프라이밍 처리 종자는 12시간 처리구에 비해 발아율이 2.5 배 향상되어 CaCl₂ 100 mM 처리구에서 68%, CaCl₂ 200 mM 처리구에서 58% 발아율과 MGT도 1일 1.4일 단축하고 발아속도는 50-60%·day⁻¹로 향상되었고, 균일도도 - 0.93으로 크게 향상되었으나, 건전묘로 발달되지 않았다 (표 4). 이상의 결과에서 유사한 삼투포텐셜과 몰농도의 삼투용액이라도 무기염류의 종류에 따라 그 효과가 상이하였고 삼투포텐셜이 높을수록 발아율이 향상되었다. 삼투용액의 포텐셜과 무기염류의 중

류에 따라 중간 효과적인 소재의 구멍이 필요하다. 상추는 CaCl₂ 200 mM, 6일 처리구가 적은 과 비적온(고온)에서도 발아특성을 향상시키는 우수한 프라이밍 처리 조건으로 초음파와 liquid smoke 전처리를 적용하였다.

표 1. 삼투 및 염류프라이밍(12시간, 15℃)처리가 20℃에 파종한 상추의 발아특성에 미치는 영향

Solution	Conc.	GPz (%)	MGT (day)	GR (%·day ⁻¹)	GU	HS (%)
PEG 8000	17%	90 nsy	2.0 a	53.9 d	-0.17 ab	64 ns
	22%	94	1.8 ab	60.5 b-d	-0.34 ab	51
	26%	88	1.8 bc	57.8 cd	-0.38 b	47
CaCl ₂	100mM	91	1.8 ab	65.0 a-d	-0.13 a	53
	200mM	96	1.5 e-f	74.0 a	-0.46 b	55
	300mM	96	1.6 c-e	70.3 ab	-0.47 b	51
Na ₂ SO ₄	100mM	90	1.7 b-d	60.8 b-d	-0.43 b	52
	200mM	93	1.7 b-e	65.0 a-d	-0.01 b	55
	300mM	89	1.6 e-f	70.2 a-c	-0.05 ab	54
K ₂ SO ₄	100mM	87	1.6 b-e	63.8 a-d	-0.48 ab	59
	200mM	92	1.4 e-f	75.8 a	-0.50 ab	57
	300mM	84	1.3 f	72.2 ab	-0.61 b	49
Untreated	0	86	1.5 d-f	68.7 a-c	-0.37 ab	49

^zGermination percentage(GP), mean germination time (MGT), germination rate (GR), germination uniformity (GU) and healthy seedlings (HS).

^yIn each column, mean values with the same letter are not significantly different from each other (P <0.01; Duncan's test). NS is non significant.

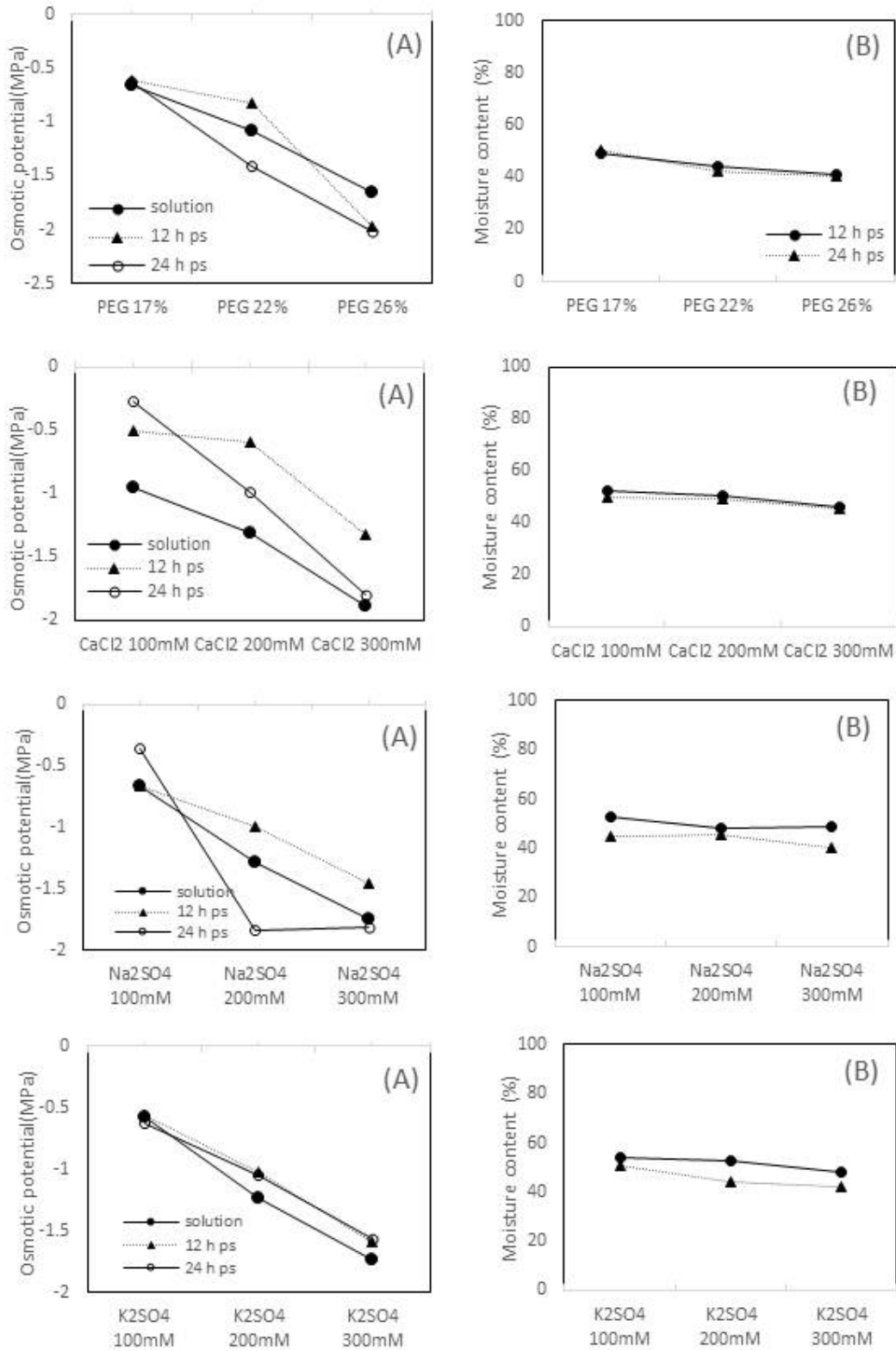


그림 4. (A) Osmotic potential (MPa) and (B) moisture content (%) of primed lettuce seeds in PEG 8000 (17%, 22%, 26%), CaCl₂, Na₂SO₄, and K₂SO₄ priming solution (100mM, 200mM, 300mM) for 12 and 24 hrs.

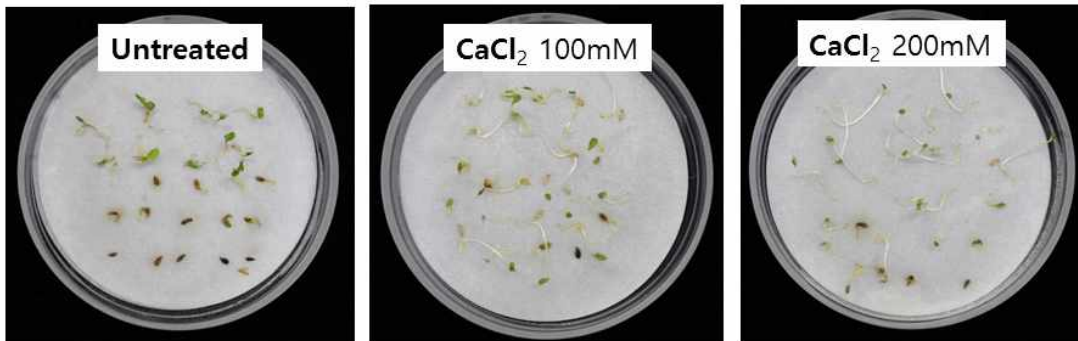
표 2. 삼투 및 염류프라이밍(24시간, 15°C)처리가 20°C에 파종한 상추의 발아특성에 미치는 영향

Solution	Conc.	GPz (%)	MGT (day)	GR (%·day ⁻¹)	GU	HS (%)
PEG 8000	17%	92 aby	1.7 a	69.4 bc	-0.10 a	53 de
	22%	91 a-c	1.5 ab	74.4 a-c	-0.42 ab	48 e
	26%	86 bc	1.4 ab	73.0 a-c	-0.34 ab	63 a-e
CaCl ₂	100mM	91 a-c	1.4 b	77.8 ab	-0.35 ab	67 a-e
	200mM	96 a	1.3 b	83.8 a	-0.50 b	73 a-c
	300mM	91 a-c	1.5 ab	72.2 a-c	-0.36 ab	58 b-e
Na ₂ SO ₄	100mM	97 a	1.6 ab	77.5 ab	0.19 ab	79 a
	200mM	94 ab	1.5 ab	74.2 a-c	-0.52 ab	76 ab
	300mM	88 a-c	1.5 ab	70.7 bc	-0.36 ab	62 a-e
K ₂ SO ₄	100mM	92 a-c	1.6 ab	70.5 bc	-0.27 ab	71 a-d
	200mM	86 bc	1.4 ab	71.7 a-c	-0.73 b	62 a-e
	300mM	81 c	1.5 ab	63.8 c	-0.45 ab	56 c-e
Untreated	0	86 bc	1.5 ab	68.7 bc	-0.37 b	49 e

^zGermination percentage(GP), mean germination time (MGT), germination rate (GR), germination uniformity (GU) and healthy seedlings (HS).

^yIn each column, mean values with the same letter are not significantly different from each other (P <0.01; Duncan's test).

20°C germination



35°C germination

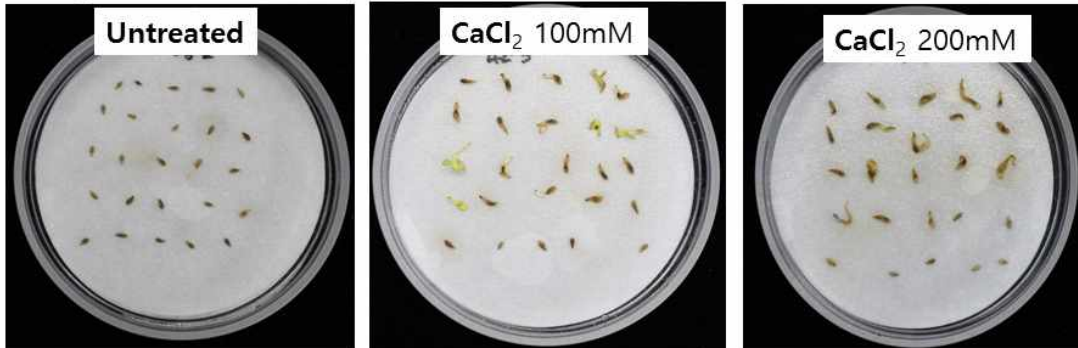


그림 5. CaCl₂ 프라이밍처리한 상추 종자의 발아모습(파종 후 7일차)

표 3. 삼투 및 염류프라이밍(12시간, 15°C)처리가 35°C에 파종한 상추의 발아특성에 미치는 영향

Solution	Conc.	GPz (%)	MGT (day)	GR (%·day-1)	GU	HS (%)
PEG 8000	17%	9 cy	1.4 ns	7.8 bc	-0.39 ns	0 ns
	22%	3 c	1.0	3.0 bc	-1.00	0
	26%	2 c	1.0	2.0 bc	-1.00	0
CaCl ₂	100mM	23 a	1.3	21.4 a	0.18	0
	200mM	25 a	1.5	21.1 a	-0.01	0
	300mM	18 c	1.0	17.5 a	-0.97	0
Na ₂ SO ₄	100mM	8 ab	1.3	7.2 b	0.33	0
	200mM	4 c	1.0	4.0 b	-1.00	0
	300mM	5 c	1.0	5.0 b	-1.00	0
K ₂ SO ₄	100mM	10 bc	1.8	8.5 b	0.41	0
	200mM	6 c	1.6	4.8 b	-0.70	0
	300mM	8 c	1.1	7.5 b	-0.94	0
Untreated	0	2 c	2.5	1.3 b	1.25	0

^zGermination percentage(GP), mean germination time (MGT), germination rate (GR), germination uniformity (GU) and healthy seedlings (HS).

^yIn each column, mean values with the same letter are not significantly different from each other (P <0.01; Duncan's test). NS is non significant.

표 4. 삼투 및 염류프라이밍(24시간, 15°C)처리가 35°C에 파종한 상추의 발아특성에 미치는 영향

Solution	Conc.	GPz (%)	MGT (day)	GR (%·day-1)	GU	HS (%)
PEG 8000	17%	36 bcy	1.1 ns	34.8 b-d	-0.88 b	0 ns
	22%	7 e	1.4	6.2 fg	0.56 ab	0
	26%	5 e	1.5	3.5 g	-1.00 b	0
CaCl ₂	100mM	68 a	1.3	60.2 a	-0.36 b	0
	200mM	58 ab	1.1	55.5 a	-0.93 b	0
	300mM	28 c-e	1.2	26.5 c-e	-0.94 b	0
Na ₂ SO ₄	100mM	58 ab	1.1	56.8 a	-0.80 b	0
	200mM	46 a-c	1.2	44.5 a-c	-0.58 ab	0
	300mM	10 e	1.0	10.0 e-g	-1.00 b	0
K ₂ SO ₄	100mM	55 ab	1.2	50.3 ab	-0.51 b	0
	200mM	38 bc	1.3	34.4 b-d	-0.51 b	0
	300mM	24 c-e	1.1	22.8 d-f	-0.82 b	0
Untreated	0	2 e	2.5	1.3 g	1.25 ab	0

^zGermination percentage(GP), mean germination time (MGT), germination rate (GR), germination uniformity (GU) and healthy seedlings (HS).

^yIn each column, mean values with the same letter are not significantly different from each other (P <0.01; Duncan's test). NS is non significant.

(2) 상추 종자의 발아특성 증진을 위한 초음파, 광처리 및 liquid smoke(LS) 프라이밍 처리

적색광 조사 처리에서 유의하게 발아특성이 향상되었다. 광처리 단용처리에서는 120분 처리에서 GP, MGT, GR, HS가 무처리구에 비하여 향상되었고, 프라이밍과의 혼용처리에서 발아속도가 향상되었으나 건묘율은 광처리 단용 처리가 효과적이었다(표 5).

Liquid smoke의 단용 및 염류프라이밍용액과의 혼용처리가 발아특성에 미치는 영향을 비교 한 결과, 염류프라이밍 단용 처리가 발아율, 건묘율에서 가장 효과적이었고, 다음으로 LS 5% 혼용 처리구에서 발아속도가 향상되었으나 그 외의 LS 단·혼용처리에 의한 발아특성의 향상은 보이지 않았다(표 6).

초음파 단용처리는 처리 세기와 시간에 따라 발아율과 건묘율에 영향을 미쳐서 20 kHz 5분 처리에서 발아율이 93%, 건묘율 86%로 무처리구 발아율 85%, 건묘율 74%에 대비하여 향상되었으나 발아속도에서는 효과가 없었다(표 7).

초음파처리와 수화프라이밍의 혼용처리 결과, 26 kHz, 20분 처리에서 건묘율이 85%로 가장 높았으며 GR은 무처리구에 비교하여 17% 향상되었다 (표 8).

초음파처리와 염류프라이밍의 혼용처리 결과, 26 kHz, 10분 처리구에서 발아율, MGT, GR이 가장 우수하였고, 건묘율에서는 처리 간 유의차가 없었다(표 9).

이상의 결과에서 상추 종자는 광처리 120분 단용처리, 초음파 20 kHz, 5분간 또는 초음파와 염류프라이밍 혼용처리에서 발아특성이 향상되는 결과를 보였다.

표 5. 광처리(2000 lux)가 상추 종자의 발아특성에 미치는 영향

Solution	Light (min)	GP (%)	MGT (day)	GR (%·day-1)	GU	HS (%)
dH ₂ O 0h	15	91 abz	1.8 bc	56.65 ab	0.09 a	83 a
	30	92 a	2.0 a	49.83 b	0.38 a	81 ab
	60	90 ab	1.7 b	58.09 a	-0.03 a	77 ab
	120	92 a	1.8 b	56.22 ab	0.24 a	85 a
	Untreated	85 c	1.9 ab	53.16 c	-0.25 b	74 b
dH ₂ O 16h	15	93 ab	1.5 c	69.30 a	-0.51 b	77 ns
	30	94 ab	1.7 bc	60.76 b	-0.14 b	80
	60	88 bc	1.7 bc	61.30 b	0.04 ab	75
	120	95 a	1.9 a	52.72 ab	0.96 a	71
	0	88 bc	1.6 c	64.10 ab	0.38 ab	69
CaCl ₂ 8h	Untreated	85 c	1.9 ab	53.16 c	-0.25 b	74
	15	92 a-c	1.5 ns	67.09 ns	-0.10 ns	66 ns
	30	94 a	1.5	64.92	0.01	69
	60	92 ab	1.4	70.06	-0.37	69
	120	88 bc	1.5	67.21	-0.12	61
CaCl ₂ 16h	Untreated	86 c	1.9	55.69	-0.13	70
	15	90 ab	1.4 b	72.02 a	-0.35 ns	76 ns
	30	90 ab	1.4 b	75.31 a	-0.55	70
	60	94 a	1.5 b	67.10 ab	-0.10	74
	120	95 a	1.5 ab	65.17 ab	-0.21	69
Untreated	86 b	1.9 a	55.69 b	-0.13	70	

Seeds were germinated at 20°C(24h, light) for 7 days. ²Duncan's multiple range test at P<0.05.

표 6. 염류프라이밍 및 LS(Liquid smoke) 전처리가 상추 종자의 발아특성에 미치는 영향

Solution	LS (%)	GP (%)	MGT (day)	GR (%·day-1)	GU	HS (%)
dH ₂ O	0.0	88 abz	1.5 fg	67.01 a	-0.31 bc	65 de
	0.5	90 a	1.5 g	69.05 a	-0.43 c	68 cd
	1.0	90 a	1.6 e-g	10.53 b-e	0.00 a-c	60 de
	5.0	82 b	2.1 c	48.01 de	-0.13 a-c	59 de
	10.0	66 c	3.6 a	28.23 f	0.37 a	36 f
K ₂ SO ₄	0.0	93 a	1.8 d-f	56.19 b-d	-0.13 a-c	84 a
	0.5	90 a	1.6 e-g	61.76 a-c	-0.40 bc	80 a-c
	1.0	92 a	1.9 c-e	54.17 cd	-0.25 bc	83 a
	5.0	90 a	2.0 cd	51.65 d	-0.10 a-c	82 ab
	10.0	89 a	1.4 a	42.01 de	0.14 ab	54 e
Untreated	0.0	86 ab	1.9 c-e	55.69 b-d	-0.13 a-c	70 b-d

Seeds were germinated at 20°C(24h, light) for 7 days. ²Duncan's multiple range test at P<0.05.

표 7. (초)음파 전처리가 상추 종자의 발아특성에 미치는 영향

(Ultra)sound (kHz)	Time (min)	GP (%)	MGT (day)	GR (%·day-1)	GU	HS (%)
15.7	5	89 abz	1.8 ns	55.65 ns	-0.40 b	61 de
	10	93 a	1.9	55.00	0.10 ab	71 bc
	20	92 a	1.8	56.08	-0.24 b	69 cd
20.1	5	93 a	1.9	52.78	0.41 a	86 a
	10	92 a	1.7	57.65	-0.12 ab	76 bc
	20	90 ab	1.7	56.63	0.05 ab	81 ab
26.1	5	93 a	1.7	61.35	-0.23 b	76 bc
	10	91 ab	1.7	59.23	-0.29 b	78 a-c
	20	92 a	1.8	55.90	0.11 ab	59 e
Untreated	0	85 b	1.9	53.15	-0.25 b	74 bc
US		*	ns	ns	ns	***
Time		*	ns	ns	ns	ns
US*Time		ns	ns	ns	*	***

Seeds were germinated at 20°C (24h, light) for 7 days. ²Duncan's multiple range test at P<0.05, ns, non-significance.

표 8. (초)음파와 수화프라이밍(HP) 혼용처리가 상추 종자의 발아특성에 미치는 영향

(Ultra)sound (kHz)	Time (min)	GP (%)	MGT (day)	GR (%·day-1)	GU	HS (%)
15.7	5	88 nsz	1.9 a	53.28 bc	-0.29 ns	80 a-c
	10	91	1.7 ab	59.53 a-c	-0.20	81 a-c
	20	87	1.9 a	52.45 c	0.20	77 a-d
20.1	5	94	1.6 b	62.93 a	0.19	83 ab
	10	93	1.7 ab	59.08 a-c	0.41	81 a-c
	20	93	1.7 ab	60.23 a-c	0.27	83 ab
26.1	5	88	1.6 b	63.85 a	0.03	82 a-c
	10	94	1.6 b	63.48 a	0.27	71 cd
	20	91	1.7 ab	62.15 ab	0.08	85 a
0	0	88	1.6 b	64.10 a	0.38	69 d
Untreated	0	85	1.9 a	53.15 bc	-0.25	74 b-d
US		ns	**	**	ns	*
Time		ns	ns	ns	ns	**
US*Time		ns	ns	ns	ns	ns

Seeds were germinated at 20°C (24h, light) for 7 days. ²Duncan's multiple range test at P<0.05, ns, non-significance.

표 9. (초)음파와 염류프라이밍 혼용처리가 상추 종자의 발아특성에 미치는 영향

(Ultra)sound (kHz)	Time (min)	GP (%)	MGT (day)	GR (%·day-1)	GU	HS (%)
15.7	5	89 abz	1.4 cd	69.80 ab	-0.36 ns	73 ns
	10	92 ab	1.5 b-d	68.50 ab	-0.31	80
	20	92 ab	1.5 b-d	68.70 ab	-0.39	77
20.1	5	92 ab	1.6 b-d	65.28 b-d	-0.28	66
	10	90 ab	1.7 ab	58.43 cd	-0.11	66
	20	90 ab	1.7 a-c	61.38 b-d	-0.20	69
26.1	5	93 ab	1.5 b-d	69.40 ab	-0.22	74
	10	94 a	1.3 d	75.13 a	-0.39	75
	20	93 ab	1.5 b-d	68.50 ab	-0.40	66
Untreated	0	86 b	1.9 a	55.69 d	-0.13	70
US		ns	***	***	ns	ns
Time		ns	**	**	ns	ns
US*Time		ns	ns	ns	ns	ns

Seeds were germinated at 20°C (24h, light) for 7 days. ²Duncan's multiple range test at P<0.05, ns, non-significance.

200 mM CaCl₂ priming(16시간)과 10분간 초음파(26.1kHz)를 처리한 청치마상추의 적온(20°C)에서의 발아 특성을 평가한 결과, 초음파, 초음파 무처리, 무처리 대조군 사이의 유의차는 없었으며, 고온(30°C)에 파종한 종자는 priming의 효과는 있었지만 초음파 처리와 초음파 무처리에 의한 유의차는 없었다(표 10).

표 10. CaCl₂ priming과 초음파(26.1kHz, 10min) 처리가 청치마상추의 적온(20°C)에서의 발아특성에 미치는 영향

Osmo priming	GP (%)	MGT (day)	T50 (day)	GRI	GR (%·day-1)	GU	HS (%)
Primed	100 nsz	1.1 ns	0.5 ns	96.5 ns	90.9 ns	-0.69 ns	98 ns
Primed + Sonication	100	1.2	0.6	94.7	87.8	-0.73	98
Untreated	98	1.1	0.6	92.8	90.2	-0.88	97

Seeds were germinated at 20°C (24h, light) for 7 days. ²Duncan's multiple range test at P<0.05, ns, non-significant.

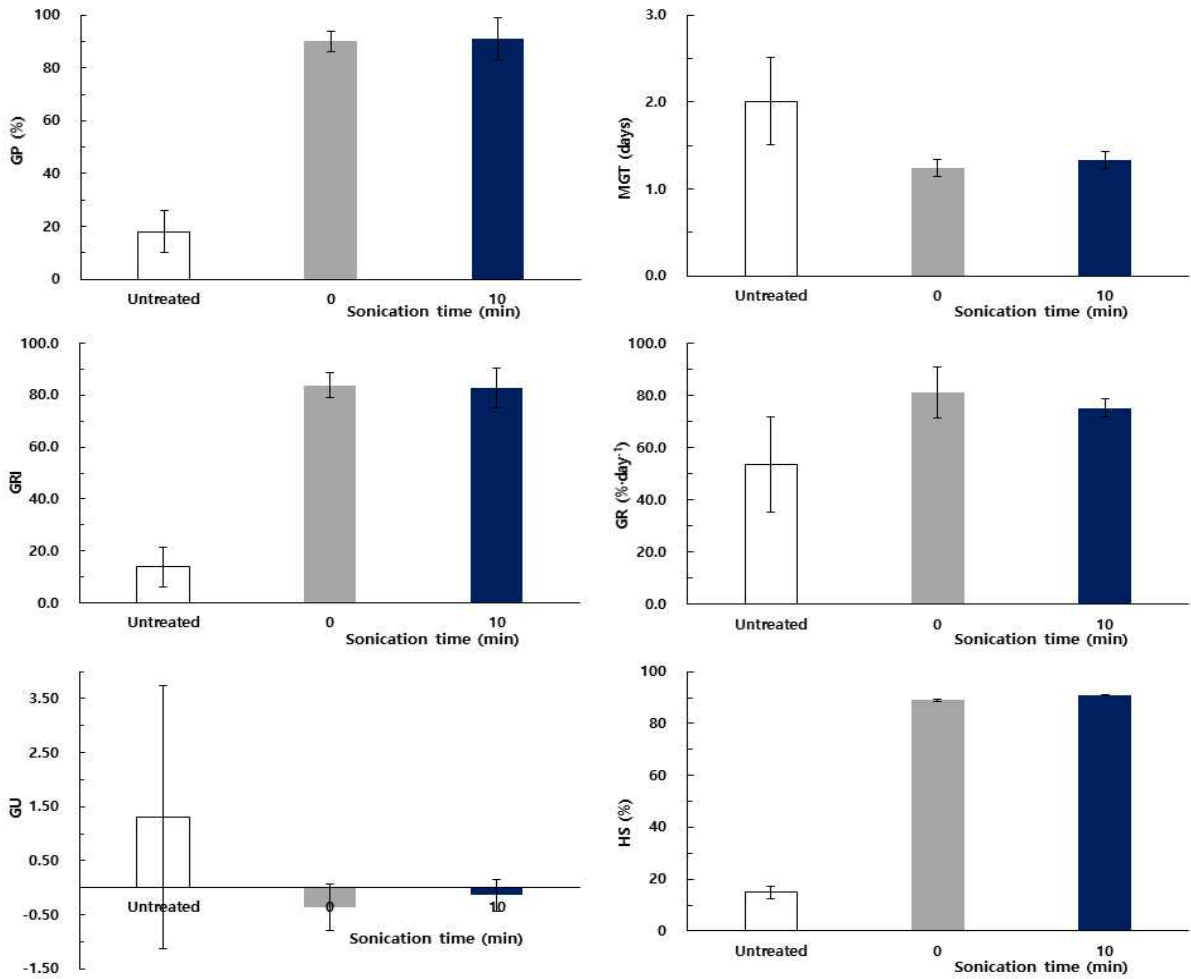


그림 6. 삼투프라이밍(CaCl_2 200 mM, 16시간)과 초음파처리가 청치마상추의 고온(30°C)에서의 발아에 미치는 영향

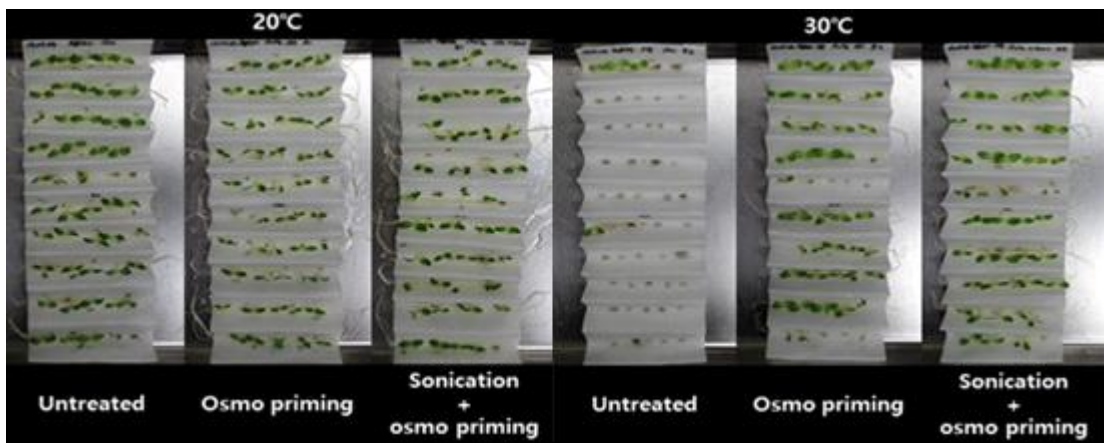


그림 7. 삼투 및 삼투-초음파 혼용처리한 상추 종자의 발아모습(파종 후 7일차)

(3) 상추 종자의 발아특성 증진을 위한 수화 및 드럼 프라이밍

(가) 상추 종자의 수분흡수 및 품종별(적치마, 청치마, 똑섬적축면) 발아특성 비교

① 상추 종자의 수분흡수

Hydration 처리 시간(0~150분)에 따른 상추 종자 수분함량(SMC)을 측정한 결과 그림 8과 같이 수분함량이 증가하였다. 15°C에서 50, 70, 90분 침지 시 종자의 수분함량이 각 40, 50, 60%(dry weight)가 되었다.

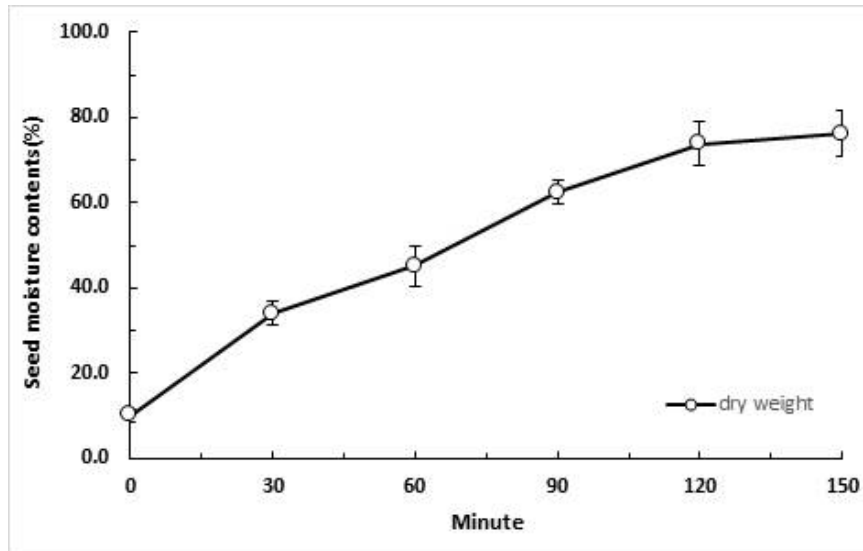


그림 8. 종자 침지 시 시간에 따른 종자수분함량(SMC)의 변화

② 품종 별(청치마, 적치마, 똑섬적축면) 발아특성 비교

품종 별 적온(20°C) 및 고온(30°C)에서의 발아특성을 비교한 결과 청치마 품종은 적온에서 97%의 GP를 보이거나 고온에서 8%의 GP를 나타내는 고온 휴면성 품종이었다. 적치마 품종의 경우 적온과 고온 모두 GP가 90% 이상으로 높은 발아율을 보이며 고온휴면 저항성품종임을 보였다. 똑섬적축면 품종은 적온에서 60%의 GP였으나, 고온에서 19%의 결과를 보였다(표 11, 12와 그림 9).

표 11. 적온(20°C)에서의 상추 품종별 발아특성 비교

품종	GP (%)	MGT (day)	T50 (day)	GRI	GR (%·day-1)	GU
청치마	97 az	1.1 b	0.5 b	95.8 a	96.4 a	-0.90 b
적치마	95 a	1.1 b	0.6 b	90.5 a	89.6 a	-0.84 b
똑섬적축면	60 b	1.9 a	2.5 a	43.8 b	56.0 b	0.67 a

Seeds were germinated at 20°C(24h, light) for 7 days. ²Duncan's multiple range test at P<0.01.

표 12. 고온(30°C)에서의 상추 품종별 발아특성 비교

품종	GP (%)	MGT (day)	GRI	GR (%·day ⁻¹)	GU
청치마	8 cz	1.0 b	9.4 b	100.0 a	-1.00 b
적치마	90 a	1.5 b	76.9 a	68.6 ab	0.05 ab
독섬적축면	19 b	3.3 a	6.0 b	43.8 b	2.23 a

Seeds were germinated at 30°C (24h, light) for 7 days. ²Duncan's multiple range test at P<0.05.

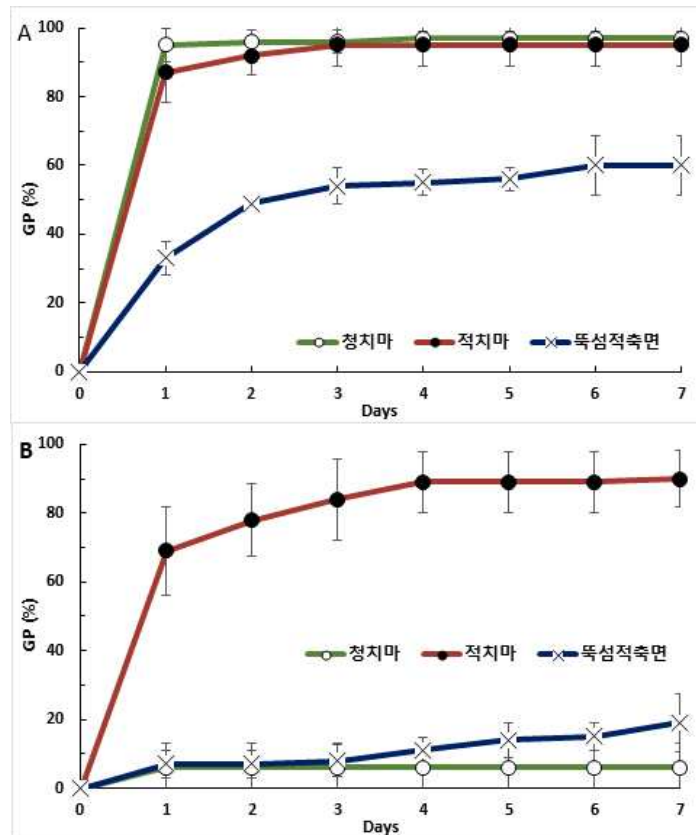


그림 9. 적온(20°C, A) 및 고온(30°C, B)에서의 상추 품종별 누적발아율

(나) 상추 발아특성 향상을 위한 SNP, KNO₃ 및 프라이밍 적용 방법 비교

① SNP 및 KNO₃ 단용 처리

청치마와 적치마 상추 종자에 SNP 및 KNO₃을 단용으로 처리한 결과 적온에서는 두 품종 모두 100 mM의 KNO₃ 농도로 처리 시 발아특성이 저하되었으며, 나머지 용액 및 농도에서도 유의차를 보이지 않았다(표 4.13과 4.14). 고온에 파종한 경우, 청치마 품종은 KNO₃ 처리 시 무처리 종자보다 발아특성이 감소하여 측정이 불가하였으며, 농도별 SNP 단용 처리 시 100 µM에서 GP 41%, GRI 38.5, HS 39%로 무처리 종자보다 크게 향상되었다(그림 4.10과 4.11). 적치마상추도 KNO₃ 단용 처리시 무처리 종자보다 발아특성이 저하되었으며, 300 µM SNP 단용 처리 시 GP 98%, T₅₀ 1.0일, GRI 72.5, GR 58.6, GU 0.06, HS 88%로 무처리 종자보다 향상되었으나, 100 µM의 SNP와 유의차가 없었다(그림 4.12).

표 13. SNP 및 KNO₃ 단용 처리가 청치마상추의 적온(20℃)에서의 발아특성에 미치는 영향

Sol.	Conc.	GP (%)	MGT (day)	T50 (day)	GRI	GR (%·day ⁻¹)	GU	HS (%)
SNP (μM)	5	98 ^{nsz}	1.1b	0.6b	93.7a	91.0ab	-0.87 ^{ns}	94 ^{ns}
	10	100	1.1b	0.5b	97.8a	91.0a	-0.94	99
	50	99	1.1b	0.6b	94.5a	91.7ab	-0.92	98
	100	99	1.0b	0.5b	97.5a	97.2a	-0.97	98
	300	100	1.1b	0.6b	94.9a	88.7ab	-0.79	97
KNO ₃ (mM)	5	100	1.1b	0.5b	96.6a	92.1ab	-0.85	97
	10	98	1.1b	0.5b	95.0a	92.7ab	-0.87	96
	50	100	1.2b	0.6b	94.1a	84.8b	-0.48	98
	100	99	1.5a	1.1a	93.3b	65.8c	-0.74	97
Untreated	0	100	1.1b	0.5b	95.8a	91.4ab	-0.86	92

Seeds were germinated at 20℃(24h, light) for 7 days. ²Duncan's multiple range test at P<0.05, ns, ***, non-significant, and P=0.001, respectively.

표 14. SNP 및 KNO₃ 단용 처리가 적치마상추의 적온(20℃)에서의 발아특성에 미치는 영향

Sol.	Conc.	GP (%)	MGT (day)	T50 (day)	GRI	GR (%·day ⁻¹)	GU	HS (%)
SNP (μM)	5	99 ^{nsz}	1.2 c	0.5 d	94.8 a	88.7 a	-0.69 b	95 a
	10	98	1.3 bc	0.7 bc	85.0 b-d	79.2 a-c	-0.76 b	90 ab
	50	94	1.2 c	0.6 cd	87.5 a-c	86.4 ab	-0.80 b	83 b
	100	95	1.3 bc	0.8 b	80.3 cd	75.6 bc	-0.73 b	88 ab
	300	97	1.3 bc	0.7 bc	82.1 b-d	75.9 bc	-0.72 b	95 a
KNO ₃ (mM)	5	94	1.1 c	0.6 cd	89.5 ab	89.8 a	-0.84 b	85 ab
	10	93	1.3 bc	0.7 b-d	91.7 b-d	79.0 a-c	-0.71 b	83 b
	50	95	1.4 b	0.8 b	78.3 d	70.8 c	-0.50 b	90 ab
	100	89	2.1 a	1.6 a	50.7 e	47.7 d	-0.09 a	83 b
Untreated	0	96	1.2 bc	0.7 b-d	86.8 a-d	82.9 ab	-0.78 b	93 ab

Seeds were germinated at 20℃(24h, light) for 7 days. ²Duncan's multiple range test at P<0.05, ns, *,*** non-significant or P=0.05, and 0.001, respectively.

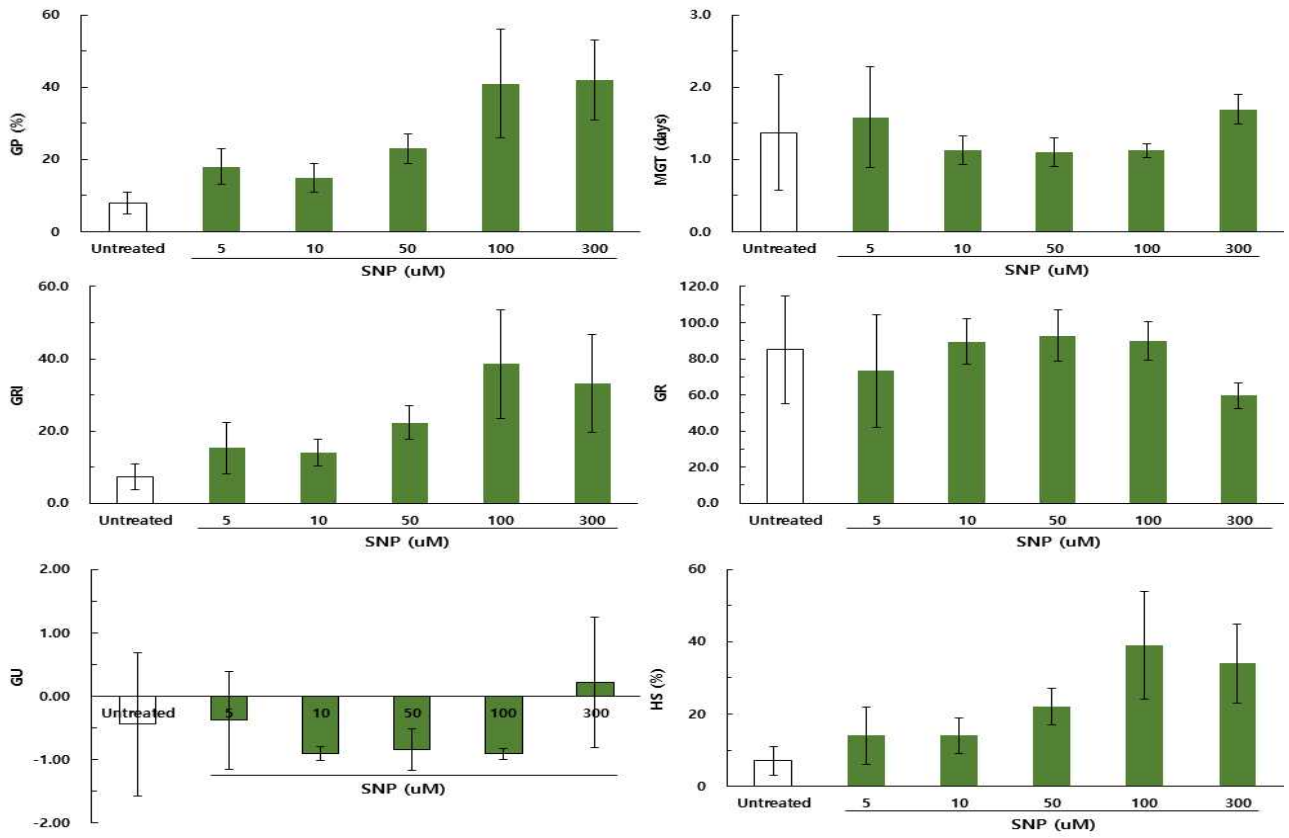


그림 10. SNP 단용 처리가 청치마상추의 고온(30°C)에서의 발아특성에 미치는 영향

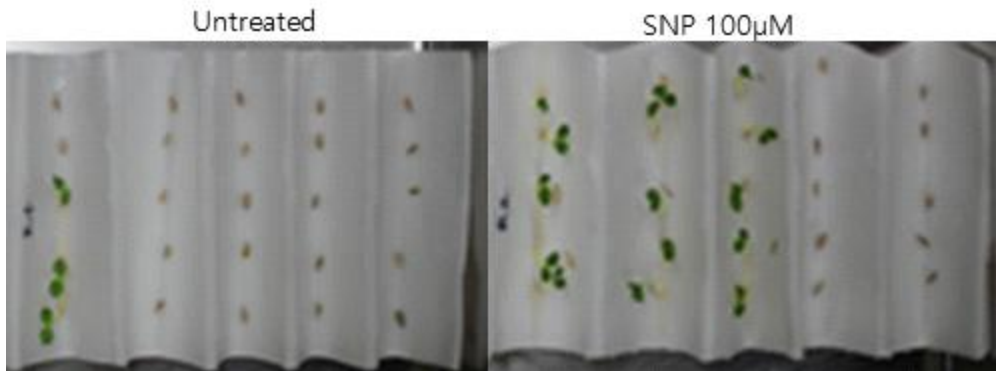


그림 11. SNP 100 μM 단용처리한 청치마상추의 발아(30°C)

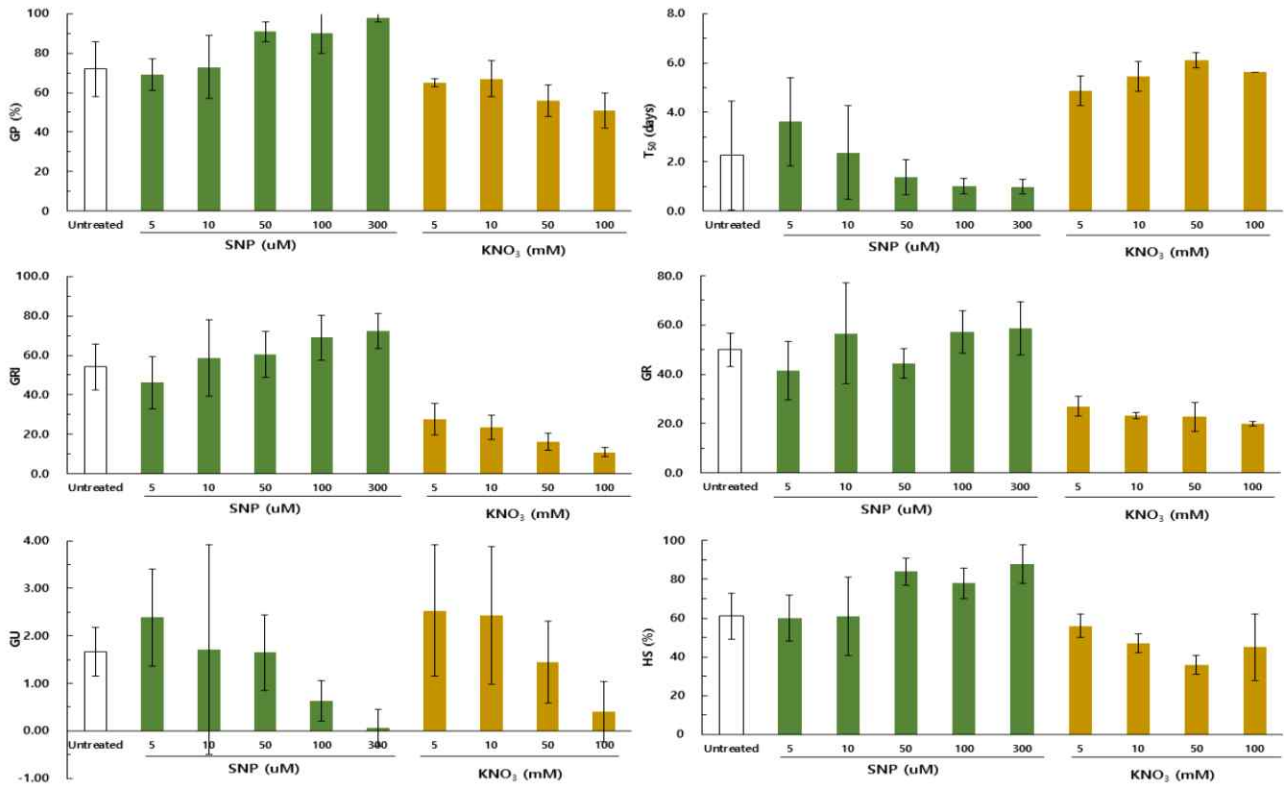


그림 12. SNP 및 KNO₃ 단용 처리가 적치마상추의 고온(30°C)에서의 발아특성에 미치는 영향

(다) SNP 수화프라이밍 처리가 상추의 고온휴면성에 미치는 영향

고온 휴면성을 가지는 청치마상추를 7, 8, 9시간 동안 SNP 수화프라이밍을 처리한 후 발아 특성을 조사한 결과, 20°C 적온에 파종한 종자는 처리 시간 및 처리 농도 간의 유의차는 보이지 않았다(표 15). 30°C 고온에 파종한 경우 7시간 동안 100 μM SNP의 농도로 hydration 처리 시 GP 78%, MGT 1.3일, GRI 73.9, GR 81.9로 무처리 종자의 18% (GP), 13.9% (GRI), 53.5% (GR)보다 크게 증가하였고 MGT는 0.7일 감소하여 발아특성이 향상되었다(표 4.16). SNP가 생성하는 NO의 효과를 증명하기 위해 7시간 수화프라이밍 처리 종자에 85 μM 2-(4-Carboxyphenyl)-4,4,5,5-tetramethylimidazole-1-oxyl-3-oxide potassium salt(c-PTIO)를 처리한 결과 적은 파종의 경우 모든 SNP 처리 농도에서 MGT, T50, GRI, GR가 무처리 대조군 종자나 대조군 PTIO처리 종자보다 낮은 발아 특성을 보였으며, 고온의 경우 SNP 농도가 증가함에 따라 발아 특성이 향상되는 결과가 나왔다. 가장 높은 농도로 처리된 500 μM SNP에서 GP 62%, HS 56%로 무처리 대조군의 16%(GP), 14%(HS)보다 향상되었다. c-PTIO는 산화질소 소거자로 산화질소와 반응하여 이산화질소로 산화시켜 종자에 산화질소가 흡수되는 것을 막는다(Bethke et al., 2007). SNP를 이용하여 보리의 휴면을 타파하였으며, 상추 파종 시 증류수 대신 SNP 용액을 이용하여 암상태에서의 휴면이 극복되었다고 보고되었고(Beligni and Lamattina, 2000; Bethke et al., 2004), 본 실험에서는 SNP를 이용한 수화프라이밍으로 상추 종자의 고온발아성을 유도하여 고온휴면성을 극복시키는 역할을 하였다(표 17, 18과 그림 13).

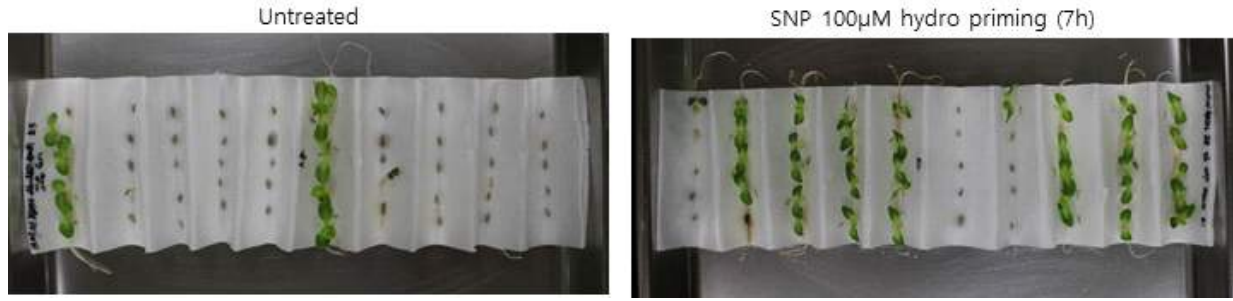


그림 13. SNP 수화프라이밍을 처리한 청치마상추의 발아(30°C)

표 15. 적온(20°C)파종 시 SNP hydro-priming 시간 및 처리 농도가 청치마상추의 발아특성에 미치는 영향

Hyd. (h)	Conc. (µM)	GP (%)	MGT (day)	T50 (day)	GRI	GR (%·day ⁻¹)	GU	HS (%)
7	0	98 nsz	1.2 ab	0.6 bc	91.2 ab	86.3 a-c	-0.75 ns	96 a-c
	5	99	1.4 a	0.7 ab	85.3 ab	74.1 c	-0.44	97 a-c
	50	100	1.2 ab	0.6 bc	91.9 ab	83.7 a-c	-0.69	100 a
	100	97	1.2 ab	0.6 a-c	88.8 ab	85.1 a-c	-0.84	97 a-c
	300	100	1.2 ab	0.6 bc	92.7 a	86.8 ab	-0.83	100 a
	500	100	1.3 ab	0.7 a-c	90.3 ab	81.2 a-c	-0.63	98 ab
8	0	100	1.3 ab	0.6 a-c	89.1 ab	79.0 a-c	-0.59	99 ab
	5	99	1.3 ab	0.6 bc	89.6 ab	81.6 a-c	-0.69	97 a-c
	50	100	1.2 ab	0.6 bc	92.3 a	85.5 a-c	-0.74	99 ab
	100	99	1.2 ab	0.7 a-c	88.3 ab	80.3 a-c	-0.68	95 bc
	300	99	1.2 ab	0.6 c	92.8 a	86.2 a-c	-0.73	99 ab
	500	99	1.3 ab	0.7 a	84.2 b	74.8 bc	-0.62	93 c
9	0	99	1.3 ab	0.6 a-c	89.2 ab	81.3 a-c	-0.71	99 ab
	5	100	1.3 ab	0.7 a-c	88.1 ab	75.4 bc	-0.36	98 ab
	50	100	1.2 ab	0.6 bc	91.4 ab	81.3 a-c	-0.59	99 ab
	100	100	1.4 a	0.7 a-c	86.2 ab	75.8 bc	-0.58	97 a-c
	300	100	1.2 ab	0.6 bc	93.1 a	85.6 a-c	-0.73	99 ab
	500	100	1.2 ab	0.6 bc	91.0 ab	83.3 a-c	-0.73	98 ab
Untreated	0	98	1.1 b	0.6 bc	92.8 a	90.2 a	-0.88	97 a-c
Significance								
Time (T)		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Concentration (C)		ns	*	*	*	*	ns	*
T × C		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Seeds were germinated at 20°C(24h, light) for 7 days. ²Duncan's multiple range test at P<0.05, ns, *, non-significant, and P=0.05, respectively.

표 16. 고온(30°C)과중 시 SNP hydro-priming 시간 및 처리 농도가 청치마상추의 발아특성에 미치는 영향

Hyd. (h)	Conc. (μ M)	GP (%)	MGT (day)	GRI	GR (%·day ⁻¹)	GU	HS (%)
7	0	58 c-fz	1.3 b-e	55.5 b-d	80.7 a-d	0.25 a-d	55 b-e
	5	49 ef	1.6 a-c	43.5 d-f	65.4 de	1.25 a-c	44 e-g
	50	66 a-d	1.1 c-e	65.2 ab	95.3 ab	-0.78 b-d	65 ab
	100	78 a	1.3 b-e	73.9 a	81.9 a-d	0.26 a-d	76 a
	300	76 ab	1.6 a-d	67.9 ab	64.3 de	1.46 a	67 ab
	500	73 a-c	1.6 a-c	64.5 ab	67.5 c-e	1.05 a-d	68 ab
8	0	59 c-f	1.0 e	59.0 a-c	100.0 a	-1.00 d	59 b-d
	5	61 b-f	1.0 de	60.5 ab	98.7 a	-0.99 d	60 bc
	50	66 a-d	1.0 e	66.0 ab	100.0 a	-1.00 d	66 ab
	100	71 a-c	1.6 a-d	62.2 ab	66.7 de	0.61 a-d	65 ab
	300	62 b-e	1.4 b-e	57.4 b-d	77.5 a-e	0.43 a-d	58 b-e
	500	51 d-f	1.8 ab	43.8 d-f	58.4 de	1.79 a	45 d-g
9	0	34 gh	1.7 ab	29.3 f	63.6 de	1.74 a	29 h
	5	33 h	1.1 c-e	31.8 ef	93.2 a-c	-0.88 cd	33 f-g
	50	46 f-h	1.1 c-e	45.3 c-e	96.7 a	-0.93 d	46 c-f
	100	34 gh	1.6 a-e	29.8 f	70.4 b-e	0.71 a-d	32 gh
	300	48 e-g	1.4 b-e	44.3 c-f	77.9 a-e	0.01 a-d	47 c-e
	500	69 a-c	1.6 a-d	61.4 ab	69.1 c-e	0.79 a-d	57 b-e
Untreated	0	18 i	2.0 a	13.9 g	53.5 e	1.31 ab	15 i
Significance							
Time (T)		***	**	***	***	ns	***
Concentration (C)		***	***	***	***	**	***
T × C		ns	ns	ns	ns	ns	ns

Seeds were germinated at 30°C(24h, light) for 7 days. ²Duncan's multiple range test at P<0.05, ns, *, non-significant, and P=0.05, respectively.

표 17. SNP-hydro priming 처리된 종자에 c-PTIO 처리한 청치마종자의 적온발아에 미치는 영향

Hydro-priming (HP)	c-PTIO (μM)	GP (%)	MGT (day)	GRI	GR (%·day ⁻¹)	GU	HS (%)	
SNP (μM)	0	85	100 nsz	2.0 a	12.7 bc	62.3 b	-0.01 ns	95 ns
	5	85	100	1.9 a	21.7 bc	67.4 b	-0.29	96
	50	85	100	2.0 a	21.8 bc	63.8 b	-0.08	98
	100	85	100	1.8 a	21.5 bc	69.3 b	-0.08	97
	300	85	98	1.7 a	27.9 b	74.8 b	-0.15	97
	500	85	99	1.8 a	48.8 a	70.4 b	-0.28	96
Untreated	0	85	99	1.3 b	90.9 a	79.7 a	-0.32	96
Untreated	0	0	98	1.1 b	92.8 a	90.2 a	-0.88	92

Seeds were hydro primed with SNP solution for 7hrs. Germination performed at 30°C (24h, light) for 7 days. ^zDuncan's multiple range test at P<0.05, ns, ***, non-significant, and P=0.001, respectively.

표 18. SNP-hydro priming 처리된 종자에 c-PTIO 처리한 청치마종자의 고온발아에 미치는 영향

Hydro-priming (HP)	c-PTIO (μM)	GP (%)	MGT (day)	GRI	GR (%·day ⁻¹)	GU	HS (%)	
SNP (μM)	0	85	16 ^{bc} _z	2.0ns	12.7bc	62.1ns	0.62ns	14bc
	5	85	28bc	2.3	21.7bc	57.1	0.42	27b
	50	85	24bc	1.2	21.8bc	87.2	-0.76	25bc
	100	85	30b	2.1	21.5bc	49.2	1.02	26bc
	300	85	34b	1.7	27.9b	67.2	0.13	33b
	500	85	62a	2.1	48.8a	49.9	1.98	56a
Untreated	0	85	8c	3.1	4.5c	37.2	-0.46	7c
Untreated	0	0	18bc	2.0	13.9bc	53.5	1.31	15bc

Seeds were hydro primed with SNP solution for 7hrs. Germination performed at 30°C (24h, light) for 7 days. ^zDuncan's multiple range test at P<0.05, ns, ***, non-significant, and P=0.001, respectively.

(라) 드럼프라이밍 처리가 상추종자의 고온휴면성에 미치는 영향

청치마, 적치마, 뚝섬적축면 품종에 대하여 종자 수분함량과 incubation 시간에 따른 modified drum priming 처리 결과, 적온에서는 3개 품종에서 무처리 종자와 modified drum priming 처리 종자와의 유의차가 없었다(표 19, 20과 21). 적치마와 뚝섬적축면 품종은 고온휴면성을 유발하는 30°C에서도 무처리 종자와 modified drum priming 처리 종자와의 유의차가 없었다(표 22와 23). 고온 감수성을 보인 청치마 품종은 30°C에서 파종한 무처리 종자의 발아특성(GP 17%, MGT 2.9일, GRI 13, GU 0.43, HS 11%)에 비해 종자 수분함량 60%의 종자(90분간 수화프라이밍)로 24시간 동안 incubation 처리한 drum priming 종자에서 GP 92%, MGT 1.0일, GRI 92, GU -0.99, HS 65%로 발아특성이 향상되었다(그림 14). 이상의 결과로, SNP 용액을 이용한 modified drum priming의 hydration 처리 시 SNP를 농도별로 처리하여 60%의 종자 수분함량을 조절하였고, SNP 처리 농도와 incubation 시간에 따른 결과를 조사하였다.

표 19. Drum-priming 처리가 청치마상추의 적온(20℃)에서의 발아특성에 미치는 영향

SMC (%)	Incubation (h)	GP (%)	MGT (day)	T50 (day)	GRI	GR (%·day-1)	GU	HS (%)
40	16	99 ^{nsz}	1.1 ^{bc}	0.5 ^b	94.4 ^{ab}	89.5 ^a	-0.80 ^{ns}	95 ^{ns}
	24	99	1.2 ^{a-c}	0.6 ^{ab}	91.8 ^{ab}	83.4 ^{ab}	-0.56	93
50	16	100	1.3 ^a	0.6 ^{ab}	89.6 ^{ab}	77.4 ^b	-0.41	92
	24	100	1.2 ^{a-c}	0.6 ^{ab}	91.8 ^{ab}	83.5 ^{ab}	-0.72	94
60	16	99	1.3 ^{ab}	0.6 ^a	88.4 ^b	77.5 ^b	-0.46	95
	24	99	1.4 ^a	0.6 ^{ab}	88.6 ^{ab}	75.1 ^b	-0.34	90
Untreated	0	98	1.1 ^c	0.5 ^b	94.7 ^a	92.2 ^a	-0.81	95
Significance								
SMC (S)		ns	**	*	*	**	ns	ns
Incubation (I)		ns	*	ns	ns	*	ns	ns
S × I		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Seeds were germinated at 20℃(24h, light) for 7 days. ²Duncan's multiple range test at P<0.05, ns, *,** non-significant or P=0.05, 0.01 respectively.

표 20. Drum-priming 처리가 적치마상추의 적온(20℃)에서의 발아특성에 미치는 영향

SMC (%)	Incubation (h)	GP (%)	MGT (day)	T50 (day)	GRI	GR (%·day-1)	GU	HS (%)
40	16	98 ^{nsz}	1.4 ^a	0.7 ^{ab}	85.4 ^{ns}	75.6 ^{bc}	-0.46 ^{ab}	91 ^{ns}
	24	95	1.4 ^a	0.7 ^a	82.4	71.5 ^c	0.06 ^a	83
50	16	97	1.1 ^b	0.6 ^b	92.6	90.2 ^a	-0.82 ^b	93
	24	97	1.2 ^{ab}	0.6 ^{ab}	89.5	84.0 ^{a-c}	-0.67 ^b	89
60	16	97	1.3 ^a	0.6 ^{ab}	87.6	76.9 ^{bc}	-0.27 ^{ab}	89
	24	99	1.2 ^{ab}	0.6 ^b	92.1	86.1 ^{ab}	-0.79 ^b	91
Untreated	0	96	1.1 ^b	0.6 ^{ab}	90.2	88.5 ^{ab}	-0.85 ^b	89
Significance								
SMC (S)		ns	**	*	ns	*	*	ns
Incubation (I)		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
S × I		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Seeds were germinated at 20℃(24h, light) for 7 days. ²Duncan's multiple range test at P<0.05, ns, *,** non-significant or P=0.05, 0.01 respectively.

표 21. Drum-priming 처리가 뚝섬적축면상추의 적온(20℃)에서의 발아특성에 미치는 영향

SMC (%)	Incubation (h)	GP (%)	MGT (day)	T50 (day)	GRI	GR (%·day-1)	GU	HS (%)
40	16	59 nsz	1.6 b	1.9 ab	46.8 ab	66.1 a	-0.29 b	56 a
	24	64	2.0 ab	2.6 ab	46.5 ab	50.4 ab	1.23 a	40 ab
50	16	66	1.9 ab	2.2 ab	49.6 ab	55.3 ab	0.80 ab	43 ab
	24	58	1.7 b	1.8 ab	48.0 ab	59.3 ab	1.26 a	45 a
60	16	69	2.3 a	3.0 a	46.4 ab	44.1 b	1.90 a	25 b
	24	73	1.7 ab	1.3 b	59.0 a	62.6 a	0.59 ab	42 ab
Untreated	0	58	2.0 ab	2.0 ab	38.0 b	49.9 ab	0.56 ab	47 a
Significance								
SMC (S)		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Incubation (I)		ns	ns	ns	*	ns	ns	ns
S × I		ns	**	*	ns	**	**	*

Seeds were germinated at 20℃(24h, light) for 7 days. ²Duncan's multiple range test at P<0.05, ns, *,** non-significant or P=0.05, 0.01 respectively.

표 4.22. Drum-priming 처리가 적치마상추의 고온(30℃)에서의 발아특성에 미치는 영향

SMC (%)	Incubation (h)	GP (%)	MGT (day)	T50 (day)	GRI	GR (%·day-1)	GU	HS (%)
40	16	94 nsz	1.3 ns	0.7 ns	83.68 ns	77.6 ns	-0.51 ns	68 b
	24	86	1.1	0.6	83.83	94.3	-0.92	63 b
50	16	90	1.1	0.6	86.65	89.6	-0.72	69 b
	24	93	1.1	0.6	91.35	91.0	-0.45	69 b
60	16	96	1.2	0.6	91.08	89.5	-0.73	75 ab
	24	97	1.1	0.5	94.45	92.0	-0.75	63 b
Untreated	0	96	1.2	0.6	89.08	86.3	-0.79	83 a
Significance								
SMC (S)		ns	ns	ns	ns	ns	ns	**
Incubation (I)		ns	ns	ns	ns	ns	ns	**
S × I		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Seeds were germinated at 30℃(24h, light) for 7 days. ²Duncan's multiple range test at P<0.05, ns, ** non-significant or 0.01 respectively.

표 23. Drum-priming 처리가 뚝섬적축면상추의 고온(30°C)에서의 발아특성에 미치는 영향

SMC (%)	Incubation (h)	GP (%)	MGT (day)	T50 (day)	GR (%·day ⁻¹)	GU	HS (%)
40	16	7 bz	3.0 ns	5.5 c	71.4 ns	-1.00 d	5 c
	24	12 b	3.1	9.5 bc	60.7	0.56 cd	8 c
50	16	40 a	3.1	24.4 a	33.9	3.89 ab	31 a
	24	38 a	2.6	25.8 a	43.8	2.86 a-c	23 ab
60	16	29 a	2.2	20.8 ab	47.9	1.59 cd	19 a-c
	24	37 a	3.4	21.5 ab	29.6	4.98 a	24 a
Untreated	0	35 a	3.7	17.6 a-c	27.5	3.92 ab	10 bc
Significance							
SMC (S)		***	ns	**	ns	**	***
Incubation (I)		ns	ns	ns	ns	ns	ns
S × I		ns	ns	ns	ns	ns	ns

Seeds were germinated at 30°C(24h, light) for 7 days. ²Duncan's multiple range test at P<0.05, ns, **,*** non-significant, 0.01 and 0.001, respectively.

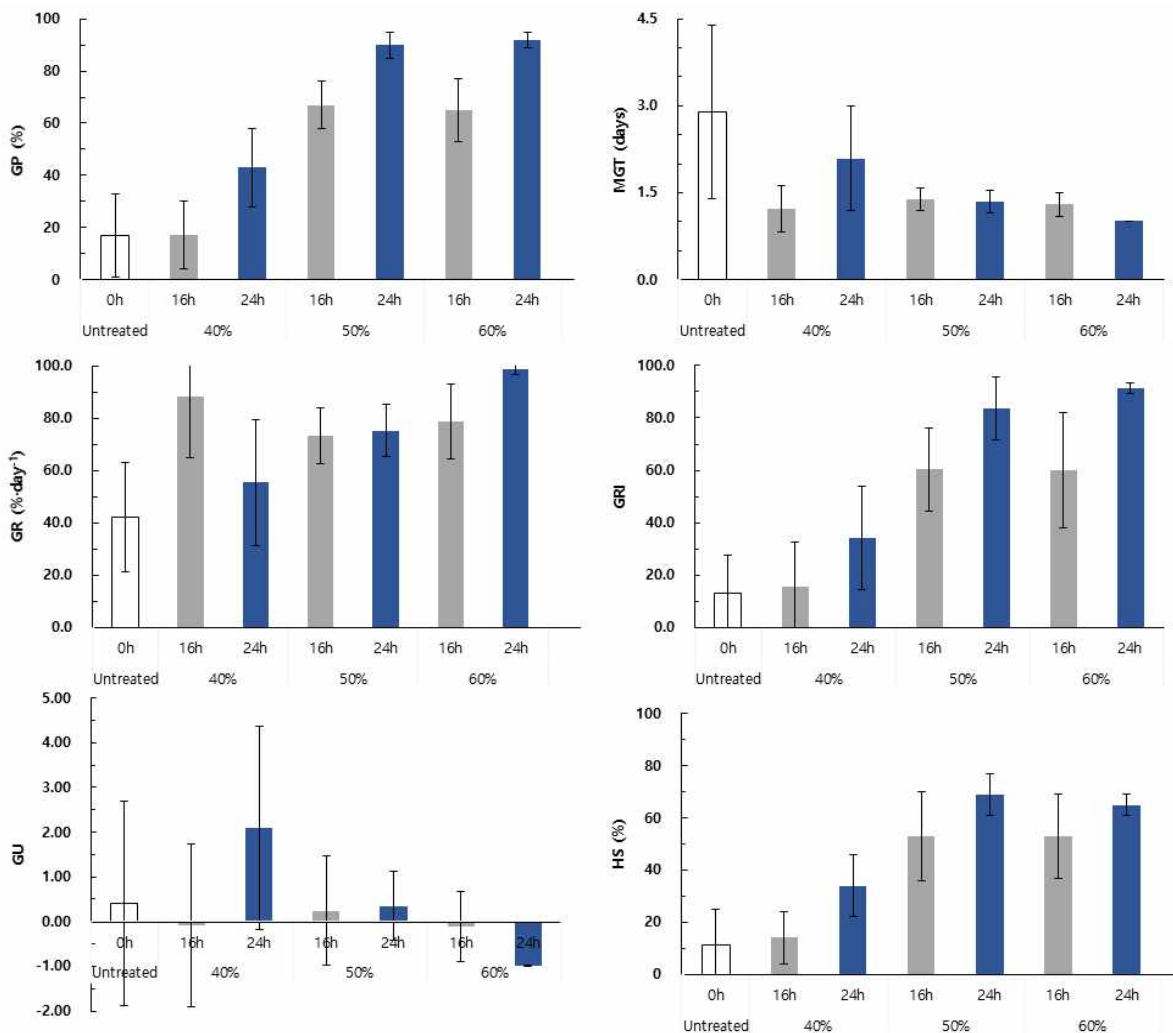


그림 14. 드럼프라이밍 처리가 청치마상추의 고온(30°C)에서의 발아특성에 미치는 영향

(마) SNP 드럼프라이밍 처리

청치마, 적치마 두 품종에 SNP 농도별 드럼프라이밍을 처리한 결과 적온에서 파종한 경우 무처리 대조군과 유의차가 없었다(표 24와 25). 고온에 파종한 경우, 300 μ M SNP 16시간 drum-incubation 종자의 GP 82%, GRI 77.1, HS 77%로 무처리 대조군의 48%(GP), 44.3%(GRI), 46%(HS) 보다 향상되었다. 적치마 품종에서 적온의 경우 100 μ M SNP 24시간 drum-incubation 처리종자에서 MGT 1.3일, HS 98%로 무처리 종자의 86% (HS)보다 증가하였으며, MGT가 0.2일 감소하였다. 고온에서는 50 μ M SNP 16시간 drum-incubation 처리종자가 MGT 1.3일, T₅₀ 0.6일, GRI 87.7으로 무처리 대조군의 78.2 (GRI)보다 증가하였고, MGT, T₅₀이 각 0.7일, 0.4일 감소하였다(표 26, 27과 그림 15).

표 24. SNP drum-priming 처리가 청치마상추의 적온(20°C)에서의 발아에 미치는 영향

Conc. (μ M)	Incu. (h)	GP (%)	MGT (day)	T50 (day)	GRI	GR (%·day ⁻¹)	GU	HS (%)
0	16	98nsz	1.2ns	0.6b-d	94.1a-c	88.7ns	-0.67ns	98ns
	24	96	1.1	0.5cd	93.8a-c	94.3	-0.88	95
5	16	97	1.2	0.6ab	89.3bc	86.5	-0.85	97
	24	99	1.1	0.5d	96.4a	93.1	-0.84	99
50	16	98	1.2	0.6a-c	91.7a-c	87.7	-0.84	98
	24	97	1.2	0.7a	88.6c	83.8	-0.76	97
100	16	98	1.2	0.6b-d	93.4a-c	87.4	-0.52	97
	24	98	1.1	0.6b-d	95.1ab	93.2	-0.86	96
300	16	100	1.2	0.5cd	95.5a	86.7	-0.53	98
	24	100	1.1	0.5cd	97.3a	94.7	-0.93	99
Untreated	0	98	1.1	0.6b-d	94.2a-c	90.9	-0.79	96
Significance								
Concentration (C)		ns	ns	**	*	ns	ns	ns
Time (T)		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C \times T		ns	ns	**	ns	ns	ns	ns

Seeds were germinated at 20°C(24h, light) for 7 days. ²Duncan's multiple range test at P<0.05, ns, *,** non-significant or P=0.05, 0.01 respectively.

표 25 SNP drum-priming 처리가 적치마상추의 적온(20℃)에서의 발아에 미치는 영향

Conc. (μM)	Incu. (h)	GP (%)	MGT (day)	T50 (day)	GRI	GR (%·day-1)	GU	HS (%)
0	16	96 ns	1.4 b-dz	0.7 bc	83.8 ab	76.1 a-c	-0.33 a-c	89 c
	24	24	1.5 ab	0.9 b	77.4 bc	65.7 cd	-0.47 a-c	96 a-c
5	16	94	1.4 bc	0.7 bc	80.7 ab	71.7 b-d	-0.10 ab	90 bc
	24	24	1.3 b-d	0.8 bc	79.3 bc	77.9 a-c	-0.66 bc	89 c
50	16	96	1.5 a-c	0.7 bc	81.5 ab	68.7 b-d	-0.18 a	92 a-c
	24	24	1.7 a	1.1 a	70.2 c	61.1 d	-0.20 a-c	96 a-c
100	16	94	1.5 a-c	0.9 b	75.4 bc	67.4 cd	-0.36 a-c	93 a-c
	24	24	1.3 cd	0.6 c	90.5 a	82.0 ab	-0.51 bc	98 a
300	16	98	1.3 b-d	0.7 bc	83.5 ab	76.2 a-c	-0.73 bc	97 ab
	24	24	1.4 b-d	0.7 bc	85.0 ab	76.6 a-c	-0.62 bc	96 a-c
Untreated	0	95	1.1 d	0.6 c	90.3 a	89.8 a	-0.84 c	91 a-c
Significance								
Concentration (C)		ns	**	**	*	**	*	*
Time (T)		ns	**	**	*	**	*	ns
C × T		ns	ns	***	*	ns	ns	ns

Seeds were germinated at 20℃(24h, light) for 7 days. ²Duncan's multiple range test at P<0.05, ns, *, **, *** non-significant or P=0.05, 0.01 and 0.001, respectively.

표 26. SNP drum-priming 처리가 청치마상추의 고온(30℃)에서의 발아에 미치는 영향

Conc. (μM)	Incu. (h)	GP (%)	MGT (day)	T50 (day)	GRI	GR (%·day-1)	GU	HS (%)
0	16	69 ^{ab} _z	1.2 a	0.8 b	65.9 ab	83.4 ab	-0.31 ab	67 a-c
	24	67 a-c	1.2 a	0.8 b	64.6 ab	84.2 ab	0.02 ab	66 a-c
5	16	48 d	1.5 a	3.7 a	43.3 ab	74.4 ab	0.87 ab	46 d
	24	70 ab	1.6 a	2.3 ab	58.8 b	70.3 ab	0.54 ab	59 b-d
50	16	65 a-d	1.1 a	0.7 b	63.7 ab	91.8 ab	-0.46 ab	63 a-d
	24	59 b-d	1.1 a	0.8 b	57.7 ab	91.9 b	-0.66 b	58 b-d
100	16	70 ab	1.0 a	0.7 b	70.0 a	100.0 b	-1.00 b	70 ab
	24	50 cd	1.0 a	0.9 b	50.0 a	100.0 b	-1.00 b	50 cd
300	16	82 a	1.4 a	0.7 b	77.1 ab	76.3 ab	0.76 ab	77 a
	24	77 ab	1.6 a	0.8 b	69.8 b	65.3 a	1.61 a	70 ab
Untreated	0	48 d	1.5 a	0.9 b	44.3 ab	78.2 ab	0.52 ab	46 d
Significance								
Concentration (C)		**	*	*	*	*	*	**
Time (T)		*	ns	ns	ns	ns	ns	*
C × T		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Seeds were germinated at 30℃(24h, light) for 7 days. ²Duncan's multiple range test at P<0.05, ns, *, ** non-significant or P=0.05, 0.01 respectively.

표 27. SNP drum-priming 처리가 적치마상추의 고온(30°C)에서의 발아에 미치는 영향

SNP. (μ M)	Incu. (h)	GP (%)	MGT (day)	T50 (day)	GRI	GR (%·day ⁻¹)	GU	HS (%)
0	16	91 ^{nsz}	1.6 ^{ab}	0.7 ^b	79.8 ^{ab}	70.0 ^{ns}	0.30 ^{ns}	84 ^{ns}
	24	91	1.4 ^b	0.7 ^b	81.5 ^{ab}	72.9	0.11	86
5	16	97	1.4 ^b	0.6 ^b	87.6 ^a	75.0	0.09	91
	24	96	1.6 ^{ab}	0.7 ^b	82.2 ^{ab}	61.7	1.09	92
50	16	96	1.3 ^b	0.6 ^b	87.7 ^a	79.0	-0.38	92
	24	91	1.6 ^{ab}	0.8 ^b	76.8 ^{ab}	64.5	0.55	90
100	16	96	1.6 ^{ab}	0.7 ^b	82.6 ^{ab}	65.1	0.54	88
	24	94	1.4 ^b	0.6 ^b	85.1 ^a	75.4	0.24	90
300	16	95	1.4 ^b	0.6 ^b	86.7 ^a	76.8	0.05	89
	24	93	1.4 ^b	0.7 ^b	83.3 ^a	70.8	0.30	89
Untreated	0	93	2.0 ^a	1.0 ^a	70.5 ^b	56.1	1.23	86
Significance								
Concentration (C)		ns	ns	**	ns	ns	ns	ns
Time (T)		ns	*	***	**	ns	ns	ns
C × T		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Seeds were germinated at 30°C(24h, light) for 7 days. ²Duncan's multiple range test at P<0.05, ns, *, **, *** non-significant or P=0.05, 0.01 and 0.001, respectively.

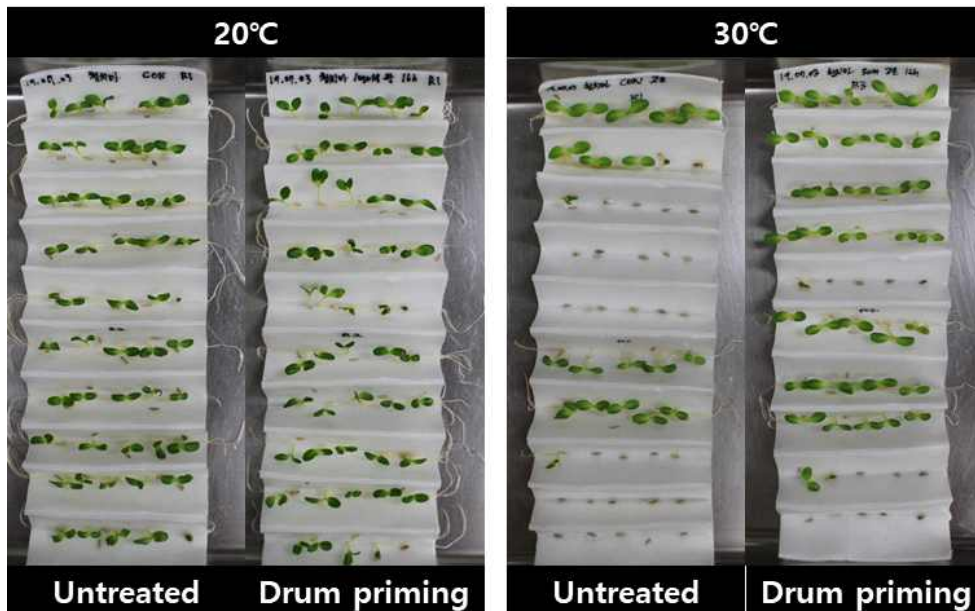


그림 15. 드럼프라이밍 처리 상추 종자의 발아사진(파종 후 7일차)

(4) 상추 종자의 우수 종자프라이밍 처리 종자의 항산화특성 및 유묘생장 비교

이상의 결과를 기반으로 선발한 우수 처리 조건으로 3가지 처리를 선정하였다. 선정한 3가지의 수화프라이밍(SNP 100 μ M의 농도로 7시간 동안 hydration), 드럼프라이밍(SNP 50 μ M 농도로 90분 hydration 하여 종자 수분함량 60% 맞춘 후 16시간 incubation), 삼투프라이밍(CaCl₂ 200 mM 농도에서 16시간 hydration)처리 종자에 대해 항산화 특성을 측정하였다.

(가) DPPH 라디칼 소거능

선정한 프라이밍 처리 종자의 파종 온도 및 파종 후 수분흡수 시간에 따른 DPPH 라디칼 소거능을 확인한 결과, 20°C 적온에 파종 후 3시간 된 종자의 DPPH 라디칼 소거능(Untreated: 66.0%, HP: 63.9%, DP: 66.2%, OP: 69.3%)은 건조 종자(Untreated: 32.4%, HP: 35.3%, DP: 33.1%, 32.8%)에 비해 크게 향상된 결과를 보였다. 파종 후 7시간 종자(Untreated: 72.1%, HP: 67.7%, DP: 68.4%, OP: 70.6%)는 3시간 파종한 종자보다 라디칼 소거능이 증가하였다. 30°C의 고온 환경에 파종한 종자의 라디칼 소거능은 적온과 유사한 양상을 보였다. 파종 후 3시간 종자는 65.0% (Untreated), 67.8% (HP), 68.1% (DP), 71.9% (OP)의 소거능으로 건조 종자에 비해 향상된 소거능을 보였다. 파종 후 7시간 종자는 68.7% (Untreated), 70.5% (HP), 78.0% (DP), 72.1% (OP)의 라디칼 소거능을 보여 파종 후 3시간 종자보다 라디칼 소거능이 증가된 결과를 보였다. 발아가 저해되는 고온에서는 무처리 종자보다 프라이밍 처리 종자의 DPPH 라디칼 소거능이 증가되는 결과를 보였다(그림 16).

(나) ABTS+ 라디칼 소거능

선정한 프라이밍 처리 종자의 ABTS+ 라디칼 소거능을 조사한 결과, DPPH와 같이 적온에서 파종 후 3시간 종자의 ABTS+ 라디칼 소거능은 90.0%(Untreated), 91.5%(HP), 91.2%(DP), 90.1%(OP)으로 건조 종자(Untreated: 87.6%, HP: 87.6%, DP: 85.7%, OP: 83.5%)보다 증가된 ABTS+ 라디칼 소거능이 보였다. 파종 후 7시간 후 종자는 91.3% (Untreated), 92.2% (HP), 91.6% (DP), 90.1% (OP)의 라디칼 소거능을 보여 파종 후 3시간 종자보다 증가된 라디칼 소거능을 보였다. 고온에 파종한 종자의 경우 파종 후 3시간 종자에서 90.1% (Untreated), 91.4% (HP), 91.7% (DP), 90.7% (OP)의 라디칼 소거능을 보여 건조 종자보다 라디칼 소거능이 증가되었으며, 파종 후 7시간의 종자는 라디칼 소거능이 89.1% (Untreated), 94.4% (HP), 90.6% (DP), 90.4% (OP)이었다. 수화프라이밍 처리 종자는 파종 후 7시간 종자가 파종 후 3시간 종자보다 증가된 라디칼 소거능을 보였다. 흡습처리된 HP처리 종자는 고온스트레스 환경에서 무처리나 다른 프라이밍처리 종자보다 증가된 결과를 보였다(그림 17).

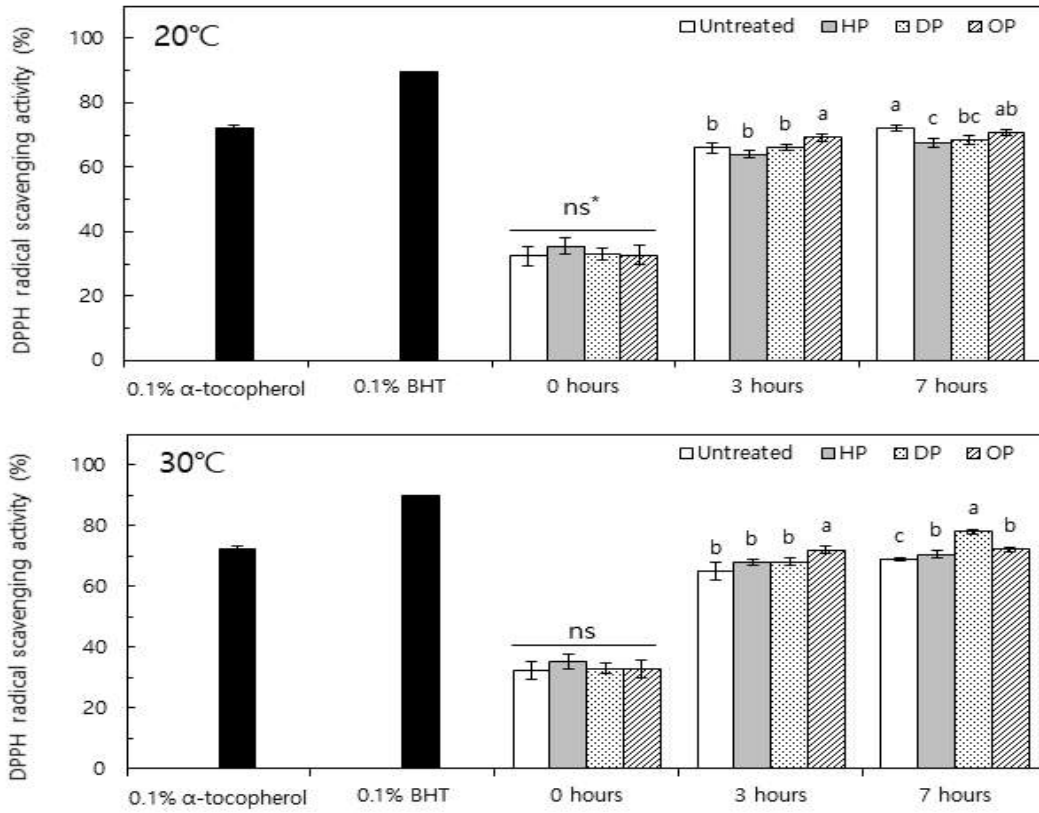


그림 16. 프라이밍 상추 종자의 흡습시간에 따른 DPPH 라디칼 소거능

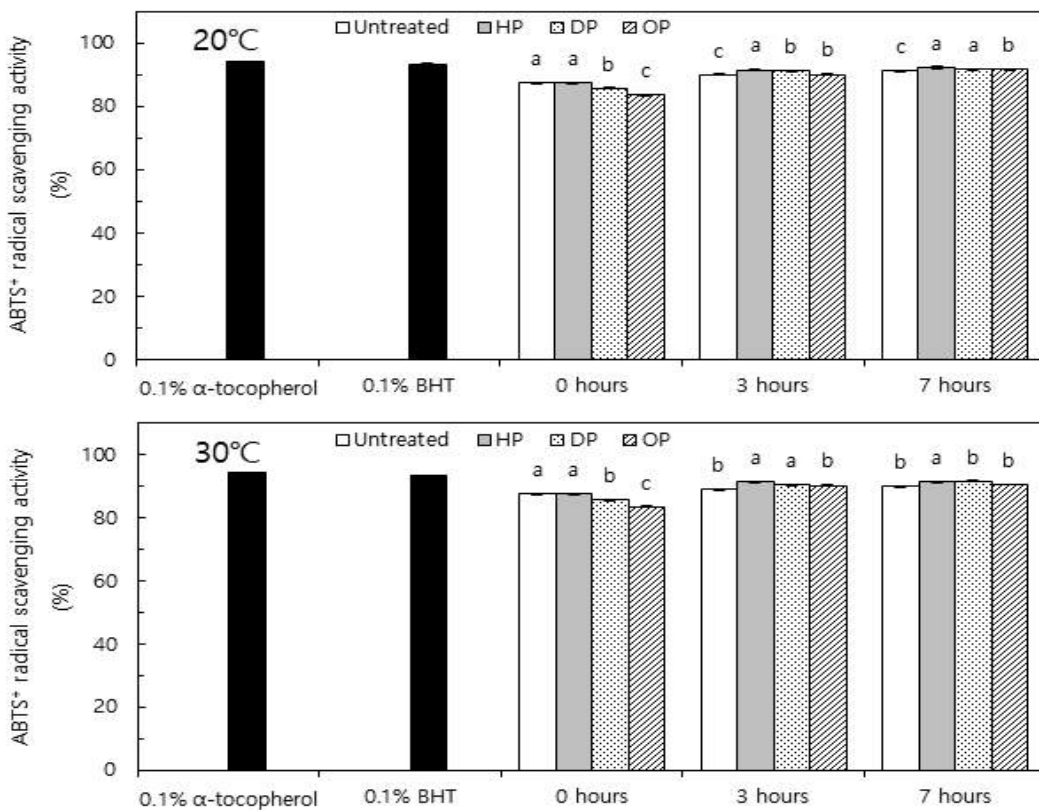


그림 17. 프라이밍 상추 종자의 흡습시간에 따른 ABTS+ 라디칼 소거능

(다) 총 폴리페놀 함량

프라이밍 처리된 종자를 20℃와 30℃에 파종 후 0, 3, 7시간 후 추출액의 총 폴리페놀 함량을 측정된 결과, 20℃ 적온에 파종 후 3시간 된 종자는 무처리 종자는 521.1 100 mg GAE/g, 프라이밍 처리 종자가 550.3 (HP), 560.5 (DP), 527.4 (OP) 100 mg GAE/g으로 프라이밍 처리 종자의 폴리페놀 함량이 향상되었으며, 파종 후 7시간 종자에서는 무처리 대조군 종자는 477.4 100mg GAE/g으로 파종 후 3시간 종자의 폴리페놀 함량보다 낮아졌으나 프라이밍 처리 종자는 567.4, 578.2, 537.4 100mg GAE/g으로 파종시간이 증가함에 따라 폴리페놀 함량이 증가된 결과가 나타났다. 30℃ 고온에 파종한 경우, 파종 후 3시간 종자에서 무처리 종자는 524.2 (Untreated), 처리 종자는 575.3 (HP), 596.2 (DP), 527.8 (OP) 100 mg GAE/g의 값으로 프라이밍 처리 종자가 무처리 대조군보다 높은 폴리페놀 함량을 보였으며, 파종 후 7시간의 종자에서 무처리 종자는 510.3 (Untreated), 프라이밍 처리 종자는 612.4 (HP), 621.5 (DP), 554.4 (OP) 100 mg GAE/g의 값으로 파종 3시간 후 종자의 폴리페놀 함량에 비해 무처리 대조군은 감소하였고 프라이밍 처리 종자는 증가된 결과를 보였다(표 28).

표 28. 20, 30℃에서 0, 3, 7시간 수분흡수 시킨 상추 종자의 총 폴리페놀 함량 측정 결과

Treatment	Total polyphenol contents(100 mg GAE1)/g				
	0 hours	20℃		30℃	
		3 hours	7 hours	3 hours	7 hours
HP2)	464 ± 2.03) d	550 ± 1.3 b	567 ± 4.8 c	575 ± 2.2 b	612 ± 2.6 b
DP	486 ± 1.3 a	561 ± 1.6 a	578 ± 0.6 a	596 ± 2.0 a	622 ± 2.0 a
OP	478 ± 2.5 b	527 ± 1.4 c	537 ± 1.3 b	528 ± 1.6 c	554 ± 1.9 c
Untreated	469 ± 2.4 c	521 ± 0.7 d	477 ± 0.4 d	524 ± 5.3 c	510 ± 1.6 d

Duncan's multiple range test at P <0.05. ns: non-significant. respectively. HP: hydro priming, DP: modified drum priming, OP: osmo priming.

1)GAE, gallic acid equivalent.

2)HP: hydro priming, DP: modified drum priming, OP: osmo priming.

3)The polyphenol contents are expressed as mean±SD of triplicate determinations.

(라) 유묘 성장 조사

우수 프라이밍 방법으로 처리한 청치마 품종의 종자를 상토에 파종하여 14일 차 유묘의 성장을 조사한 결과, 적온의 경우 드럼프라이밍과 염류프라이밍에서 개체 당 평균 본엽수가 무처리 종자에 비해 3.1개에서 3.8, 3.6개로 증가하였으며, 개체 당 평균 지상부·지하부의 길이와 건물중은 프라이밍 처리 종자와 무처리 종자간의 유의차가 없었다(표 29). 고온의 경우 개체 당 평균 지하부 길이가 무처리 종자 116.1 mm에 비해 프라이밍 처리 종자는 수화프라이밍 125.9 mm, 드럼프라이밍 147.3 mm, 삼투프라이밍 136.1 mm로 향상되었으며, 지상부·지하부의 개체 당 평균 건물중도 무처리 종자는 34.09, 12.69 mg으로 프라이밍 처리 종자는 수화프라이밍 53.69, 17.97 mg, 드럼프라이밍 52.46, 19.30 mg, 삼투프라이밍 44.52, 19.29 mg으로 신장된 결과를 나타냈다(표 30).

표 29. 20℃에서 상추 14일차 유묘의 성장조사 결과

Treatment	No. of leaves (ea)	Length (mm)		Dry weight (mg)	
		Shoot	Root	Shoot	Root
HP	3.3 b	51.9 ns*	101.0 ns	14.26 ns	6.50 a
DP	3.8 a	53.3	108.8	13.63	6.57 a
OP	3.6 a	44.0	97.5	16.09	2.47 b
Untreated	3.1 b	50.4	126.3	14.06	6.76 a

Duncan's multiple range test at $P < 0.05$. ns: non-significant. respectively. HP: hydro priming, DP: modified drum priming, OP: osmo priming.

표 30. 30℃에서 상추 14일차 유묘의 성장조사 결과

Treatment	No. of leaves (ea)	Length (mm)		Dry weight (mg)	
		Shoot	Root	Shoot	Root
HP	4.3 a	49.4 a	125.9 bc	53.69 a	17.97 a
DP	4.3 a	49.9 a	147.3 a	52.46 a	19.30 a
OP	3.6 b	43.2 b	136.1 ab	44.52 ab	19.29 a
Untreated	4.1 a	52.2 a	116.1 c	34.09 b	12.69 b

Duncan's multiple range test at $P < 0.05$. ns: non-significant. respectively. HP: hydro priming, DP: modified drum priming, OP: osmo priming.

2. 고추 종자의 발아특성 증진을 위한 프라이밍 처리기술 개발

가. 연구목표

가지과 작물 중 고추 종자는 대표적인 수출용 종자로 품질향상을 위해 프라이밍 처리 종자로 판매된다. 발아율이 높은 수입품을 대체할 프라이밍 처리 기술의 개발이 본 연구의 목적이다. 불량환경에서의 발아율, 발아속도, 균일성의 향상뿐만 아니라, 기계파종을 위한 필요 처리 기술인 펠렛 또는 필름 코팅 처리 시 부수적으로 발생할 수 있는 발아 저해의 문제를 프라이밍 기술로 극복할 수 있도록 프라이밍 기술개발이 필요하다. 본 과제에서는 저온과 염류 스트레스환경에서 발아특성의 향상과 관련된 프라이밍 처리 종자와 유묘의 내성과 관련된 항산화 물질의 변화도 분석하였다.

(1) 가지과 작물 종자의 발아특성 증진을 위한 삼투프라이밍 처리 기술 개발

KNO_3 , K_2HPO_4 , $NaNO_3$ 등과 같은 다양한 무기 염류들과 polyethylene glycol (PEG)와 같은 삼투용액의 삼투포텐셜을 이용하는 삼투프라이밍에서 염류의 효과 여부를 동일 삼투포텐셜 조건에서 프라이밍 효과와 비교하여 적정 프라이밍 소재를 탐색하고, 선발한 프라이밍 조건에 발아 및 건전유묘율 향상에 효과적인 것으로 알려진 liquid smoke의 혼용처리와 초음파 처리 효과를 검증하였다.

(2) 가지과 작물 종자의 발아특성 증진을 위한 (초)음파와 혼연액 혼용 프라이밍 처리

종자의 발아속도가 빠를수록 토양 착생이 빨리되고 유묘는 다양한 환경스트레스에서 생존할 수 있는 능력이 향상되므로 작물의 성장에서는 빠른 발아는 종자 가공산업에서 중요한 요소이다. 발아특성향상을 위한 다양한 처리 중 환경오염 등의 단점이 있는 화학적 처리를 대체

할 수 있는 물리적 전처리 방법의 개발을 위하여 제1협동 과제에서 개발한 초음파와 광처리 기기의 활용을 위한 처리 조건 등을 평가하고자 하였다.

가지과 종자는 호압성 종자로 효과를 기대하기 어려울 것으로 예상하여 염류프라이밍과의 혼용처리 효과를 평가하여 적용가능성을 평가하고자 한다. Liquid smoke (가래나무과 hikory 나무의 혼연액)는 식물체를 태울 때 발생하는 연기의 포화액으로 주성분인 Butenolide (3-methyl-2Hfuro[2,3-c]pyran-2-one, karrikinolide)은 고농도에서 피해가 보이나, 추출물은 매우 적은 농도인 10^{-9} M에서도 효과적이고, GA₃보다 더 효과적이거나 GA₃ 처리와는 달리 도장발생의 단점이 없다. LS의 발아촉진 유효성분은 분리시약 1 mg에 \$280로 매우 고가라 다른 첨가물이 들어 있지 않는 저렴한 식품 첨가제를 사용하여 발아특성에 미치는 영향을 조사하였다.

나. 재료 및 방법

(1) 고추 종자의 발아특성 증진을 위한 삼투프라이밍 처리

프라이밍 처리 온도인 20°C에서 삼투포텐셜 범위가 -0.46 to -1.54 MPa인 Na₂SO₄, K₂SO₄, KNO₃ 3종의 무기염류를 100, 200, 300 mM 3수준의 농도와 PEG 8000 (17%, 23%, 27%)을 프라이밍 소재로 사용하였다. 제1협동과제에서 제작한 프라이밍 장비에 5 g의 종자를 500 mL의 용액에 넣은 후 삼각플라스크를 20°C 항온의 물에 충분히 잠기도록 배치한 후 산소 공급기를 꼽고 암상태에서 4일, 6일, 4일+2일(농도 순차처리) 처리하였다. 농도 순차처리는 100 mM (또는 17% PEG)에 4일 프라이밍 처리 후 바로 300 mM (27%)에 2일간 총 6일간 처리 또는 300 mM (또는 27% PEG)에 4일 프라이밍 처리 후 바로 100 mM (17%)에 2일간 처리하여 삼투포텐셜을 순차적 조절처리를 하였다. 프라이밍 처리 후 삼투용액에서 꺼낸 종자를 페이퍼 타월로 용액이 묻어나지 않을 때 까지 용액을 닦아낸 후 WP4C dew point potential meter (Decagon, Pullman, WA, USA)를 이용하여 처리종자의 삼투포텐셜을 측정하고 동시에 수분함량을 조사하였다. 프라이밍 처리된 종자는 흐르는 수돗물에 충분히 수세한 후 증류수로 세척 후 20°C 40% 상대습도에서 5-7% 수준으로 종자를 건조 처리하였다.

(2) 고추 종자의 발아특성 증진을 위한 (초)음파와 혼연액 혼용 프라이밍 처리

15°C K₂SO₄ 100 mM 에 침지한 상태에서 초음파 처리 후 동일 염류조건에서 6일 처리 후 건조하였다. 수화프라이밍은 15°C 증류수에 침지상태에서 초음파처리 후 15°C 증류수에 4일간 수화프라이밍 처리 후 종자를 건조하였다.

(3) 고추 종자의 발아특성 증진을 위한 수화프라이밍

고추 종자는 2019년 1월에 (주)코레곤종묘로부터 '역강홍장군' 품종을 분양 받았으며, 4°C 냉장보관 후 실험에 사용하였다.

고추종자의 수화프라이밍은 petri dish (60×15 mm)에 종자 1.5 g과 증류수, 24-epibrassinolide (Epi) 10-5, 10-6, 10-7 M, sodium nitroprusside (SNP) 10-3, 10-4, 10-5 M, polyamine 3종 spermine, spermidine, putrescine (put)을 각각 25, 50 mM 용액 8 ml를 넣은 후 20°C 또는 25°C, 암 조건의 인큐베이터에서 교반기를 이용하여 20, 30, 40, 50 시간동안 100 rpm으로 회전 처리하였다. 처리 된 종자는 흐르는 물과 증류수에 세척 후 송풍건조기를 통해 25°C에서 24시간 건조하여 지퍼백에 담아 4°C에 냉장 보관하였다.

(4) 고추 종자의 발아특성 증진을 위한 drum priming

고추 종자의 드럼프라이밍은 고가의 장비가 필요 없도록 변형된 방법으로 처리하였으며, 두 단계로 나눠 진행되었다. 첫 번째 단계는 종자에 수분을 흡습 시키는 hydration 단계로, petri dish (60×15 mm)에 종자 1.5 g과 증류수 8 ml를 넣은 후 고추 종자의 수분함량을 40, 50, 60, 70% (dry weight)로 만들기 위해 20℃, 암 조건의 인큐베이터에서 교반기를 이용하여 5, 10, 15, 20시간 동안 100 rpm으로 회전 처리하였다. Hydration 단계가 끝난 후 paper towel을 이용해 종자 겉면의 물기를 제거한 후 vial에 담았으며, 종자가 담긴 vial을 상대습도 99.9%의 밀폐용기에 넣었다. 이후, 드럼프라이밍의 두 번째 단계로 종자의 수분함량을 유지시키는 incubation을 진행하였으며 총 5가지(48, 60, 72, 84, 96시간) 수준의 시간 동안 26 rpm으로 회전처리를 하였다. 처리가 끝난 종자는 송풍건조기를 통해 25℃에서 24시간 건조 후 지퍼백에 담아 4℃에 냉장 보관하였다.

(5) 종자프라이밍 처리된 고추 종자와 유묘의 항산화 분석

(가) 항산화물질 시료 추출

정상적인 환경과 염 스트레스 환경에서의 종자와 유묘의 항산화물질을 분석하기 위해 0, 10, 100 mM NaCl 환경에서 0, 1, 2일간 흡습시킨 종자와 파종 후 2주차 유묘의 지상부를 시료로 사용하였다. 추출은 시료 1 g을 액체질소를 이용하여 균질화 후 메탄올 20 ml에 넣어 8시간동안 3회 반복 추출하여 총 60 ml을 추출하였다. 이후 추출액을 정성여과지를 통해 여과시킨 후 감압농축기를 이용하여 50 ml의 추출액을 종자는 2 ml, 유묘는 4 ml로 농축하였다. 농축된 시료는 25℃에서 25,000 rpm으로 5분간 원심분리 후 상등액을 이용하여 항산화물질을 측정하였다.

(나) 총 폴리페놀 함량(Total polyphenol contents, TPC) 측정

시료 25 μ l와 0.2 N Folin-Ciocalteu 250 μ l를 섞은 후 실온의 암 상태에서 5분간 반응 후 혼합액에 7% Na₂CO₃ 500 μ l를 섞어 실온의 암 상태에서 1시간 반응을 시켰다. 반응이 끝난 후 분광광도계(Legend micro 17R, Thermo Scientific, USA)를 이용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 값의 총 폴리페놀 함량은 6가지 수준의 gallic acid (0, 62.5, 125, 250, 500, 1000 μ g/ml) 표준 곡선을 이용하여 계산되었다.

(다) ABTS+ 라디칼 소거능 측정

7.4 mM ABTS 5 ml와 2.6 mM potassium peroxadisulfate 5 ml를 섞은 후 암 상태에서 16시간 동안 안정화 한 다음 안정화된 ABTS 용액은 734 nm에서 흡광도 값이 0.75-0.78이 되도록 3차 증류수를 이용하여 희석하였다. 시료 25 μ l와 ABTS (0.75-0.78) 975 μ l를 섞은 후 암 상태에서 6분간 반응시킨 다음 분광광도계를 이용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였으며 양성대조군으로 0.1% α -tocopherol과 0.1% butylated hydroxytoluene (BHT)을 사용하였다.

(라) 고추 종자와 유묘의 malondialdehyde (MDA) 분석

① Malondialdehyde (MDA) 시료 추출

정상적인 환경과 염 스트레스 환경에서 종자와 유묘의 MDA를 분석하기 위해 0, 100 mM NaCl 환경에서 0, 2일간 흡습시킨 종자와 파종 후 2주차 유묘의 지상부를 시료로 사용하였다. 액체질소를 이용하여 균질화된 시료 10 mg을 300 μ l MDA lysis buffer [3 μ l BHT (100 \times)포함]

를 이용하여 추출하였다. 추출액은 13,000 g으로 10분간 원심분리 후 상등액을 사용하였다.

② MDA 측정

MDA는 lipid peroxidation assay kit (Biovision, K739-100)를 이용하여 측정하였다. 200 μ l 상등액과 600 μ l TBA reagent를 섞은 후 95°C에서 60분 동안 반응시켰다. 반응 후 상온에서 10분간 식혀준 후 532 nm에서 측정하였다. 측정된 값의 총 MDA는 6가지 수준의 MDA 표준 곡선을 이용하여 계산되었다.

(마) 고추 종자와 유묘의 항산화효소 분석

① 항산화효소 시료 추출

정상적인 환경과 염 스트레스 환경에서 종자와 유묘의 항산화효소를 분석하기 위해 0, 100 mM NaCl 환경에서 0, 2일간 흡습시킨 종자와 파종 후 2주차 유묘의 지상부를 시료로 사용하였다. 종자 30립을 액체질소를 이용하여 균질화 후 시료 250 mg (유묘는 120 mg)과 10 mM L-Ascorbic acid (ASA)와 0.1% polyvinyl-pyrrolidone (PVP)이 첨가된 50 mM phosphate buffer 1500 μ l (유묘는 350 μ l)를 섞은 후 12,000 rpm으로 10분간 원심분리 후 상등액을 사용하여 항산화효소를 측정하였다.

② 항산화효소 측정

SOD 활성은 Enzychrom™ superoxide dismutase assay kit (ESOD-100)를 사용하여 측정하였다. 20 μ l 시료, 160 μ l working reagent (160 μ l assay buffer + 5 μ l xanthine + 5 μ l WS T-1), 20 μ l 희석된 XO enzyme을 섞고 나서 440 nm의 파장에서 흡광도를 측정 후 암 상태에서 60분간 반응을 시켰다. 반응이 끝난 후 440 nm로 흡광도를 측정하였으며 측정된 값의 총 SOD 활성은 8가지 수준의 SOD 표준 곡선을 이용하여 계산되었다.

CAT 활성은 Enzychrom™ catalase assay kit (ECAT-100)를 사용하여 측정하였다. 10 μ l 시료, 90 μ l 50 μ M H₂O₂를 섞은 후 30분간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 100 μ l detection reagent (102 μ l assay buffer + 1 μ l dye reagent + 1 μ l HRP enzyme)를 섞은 후 10분간 반응 뒤 570 nm로 흡광도를 측정하였다.

POD 활성은 Quantichrom™ peroxidase assay kit (Cat# D2PD-100)를 사용하여 측정하였다. 10 μ l 시료와 90 μ l working reagent (95 μ l assay buffer + 0.5 μ l dye reagent + 0.5 μ l 0.6% H₂O₂)를 섞은 후 10분간 반응을 시켰다. 반응이 끝난 뒤 100 μ l stop reagent를 넣은 후 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

GR 활성은 Enzychrom™ glutathione reductase kit (ECGR-100)를 사용하여 측정하였다. 20 μ l 시료와 80 μ l working reagent (8 μ l substrate + 8 μ l cosubstrate + 1 μ l GDH + 0.5 μ l DTNB + 70 μ l assay buffer)를 섞은 후 30분간 반응을 시켰다. 반응이 시작되는 0분부터 반응이 끝나는 30분까지 10분 간격으로 412 nm에서 흡광도를 측정하였다.

(6) 발아평가

종자의 발아특성을 평가하기 위해 petri dish (100×20 mm)에 pleated paper를 넣은 후 25립×4반복 파종하였다. Pleated paper에 증류수 또는 100 mM NaCl 용액(염 스트레스)을 12 ml 또는 15 ml 공급하였으며, NaCl 용액의 균일한 농도를 위해 3일마다 pleated paper를 교체하였다. 발아조사는 30℃/20℃(8시간, 광/16시간, 암) 조건의 인큐베이터 환경에서 14일간 매일 진행하였으며, 유근이 종피를 뚫고 1 mm 이상 돌출 시 발아한 것으로 간주하였다. 종자의 발아특성은 발아율, 평균발아일수, 발아속도, 발아균일성, 건묘율 총 5가지 항목으로 평가하였으며 발아특성의 항목별 계산방법은 상추종자실험과 동일하다.

(7) 유묘평가

고추 종자의 유묘의 성장조사를 위해 germination paper towel에 30립×3반복 파종하였으며, germination paper towel에 증류수 또는 100 mM NaCl 용액(염 스트레스)을 공급하였다. 유묘의 생장은 30℃/20℃ (8시간, 광/16시간, 암) 조건의 인큐베이터 환경에서 2주간 진행 후, 반복마다 20개체의 지상부와 지하부의 길이 및 생체중을 측정하였다(그림 18).



그림 18. 유묘 성장 모습

다. 결과 및 고찰

(1) 고추 종자의 전처리 용액의 삼투프라이밍 처리 기술 개발

종자의 삼투포텐셜은 프라이밍 용액의 삼투포텐셜과 유사한 결과를 보였으며 수분함량은 삼투포텐셜이 낮을수록 감소하였고, 처리 기간에 따른 증가는 보이지 않았다. 순차적 삼투용액 처리구는 최종 처리된 프라이밍용액과 유사한 삼투포텐셜을 보였다(그림 19). 발아적온인 20/30℃에서 발아평가를 한 결과 4일 및 6일 처리구에서는 발아율과 건묘율에서는 처리간 유의차가 없었으나, K₂SO₄ 100 mM 처리구가 대조구 대비 MGT가 5일 단축되고 GR도 2.5배 향상되었다 (표 31, 32와 그림 20). 순차처리는 KNO₃ (300 mM 4일 →100 mM 2일) 처리구에서 MGT, GR, GU, HS(71%)가 무처리구(HS 50%)나 타 처리구(HS 51~56%)에 비해 향상되었다 (표 33). 비적온인 15℃에 파종한 결과 무처리구는 건묘율이 18%로 크게 감소하였으나, 프라이밍 처리구는 적온에서의 건묘율과 유사한 결과를 보였다. 4일간 처리구에서는 PEG 27%에서 발아율 79%, 건묘율 58%로 처리구 중 향상된 발아특성을 보였다(표 34). 6일간 프라이밍 처리에서는 K₂SO₄ 100 mM 처리구가 GP 77%, MGT 4.2일, GR 21%·day⁻¹, GU 1.2, 건묘율 58%로 가장 효과적이었으며 (표 35), 순차적 삼투용액처리는 K₂SO₄ 와 KNO₃ (300 mM 4일→100 mM

2일) 처리구가 효과적이었다(표436). 이상의 결과에서 고추종자는 K_2SO_4 와 KNO_3 (300 mM 4 일→100 mM 2일) 처리로 건묘율과 발아 속도, 균일성이 향상되었다. 선발한 프라이밍 조건으로 초음파와 liquid smoke 전처리와 혼용 효과를 검정 후 필름 코팅과의 복합 처리에 적용하였다.

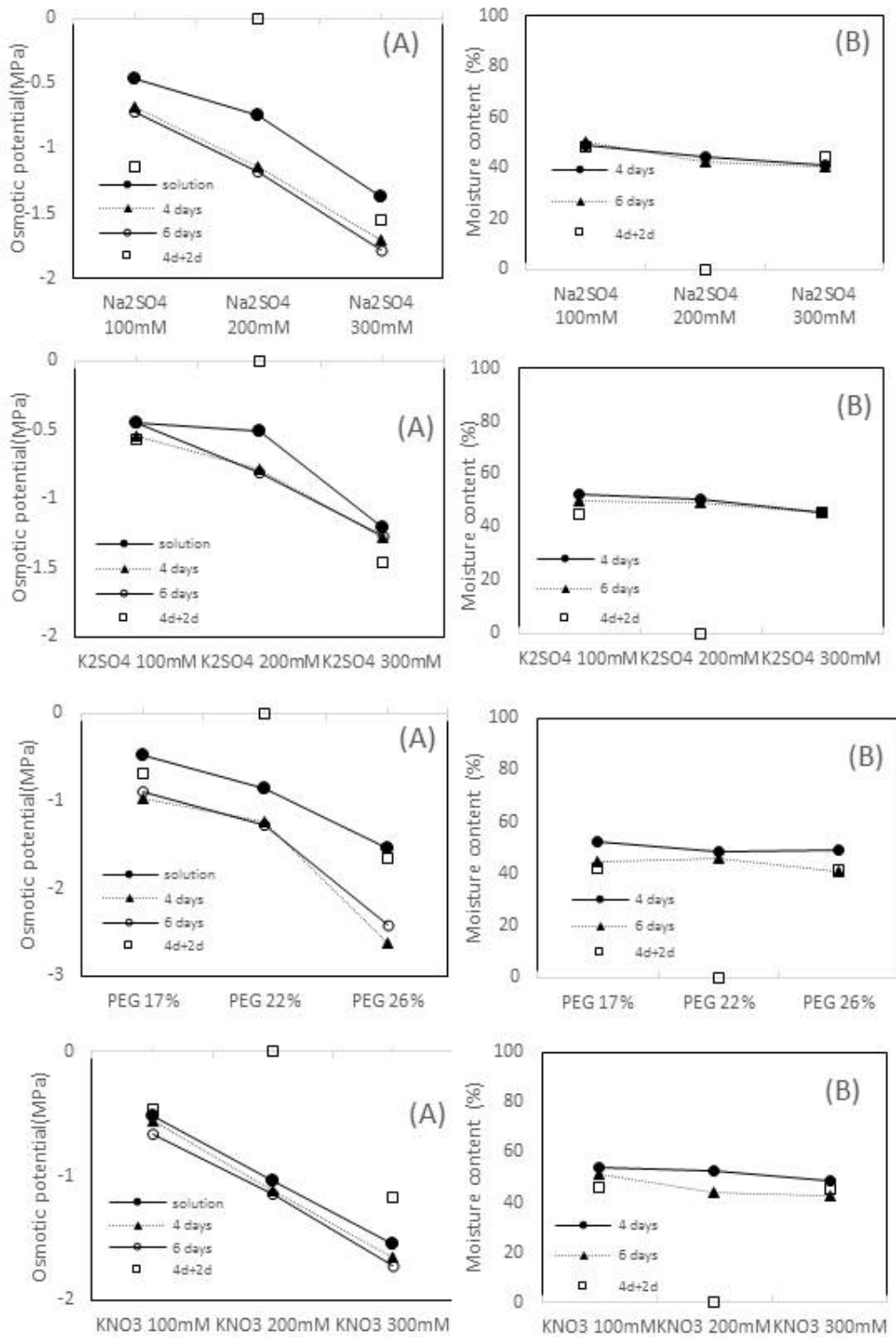


그림 19. 삼투용액의 삼투포텐셜과 삼투용액환경에서 흡습된 고추 종자의 수분함량

표 31. 4일간의 삼투프라이밍 처리가 고추 종자의 발아에 미치는 영향(적온)

Solution	Conc.	GPz (%)	MGT (day)	GR (%·day-1)	GU	HS (%)
Na2SO4	100 mM	65 nsy	5.0 c-e	15.6 ab	2.2 b-d	48 ns
	200 mM	70	4.3 ef	18.8 ab	1.8 cd	55
	300 mM	71	5.5 b-d	16.0 ab	5.2 a	55
K2SO4	100 mM	64	4.9 c-e	15.2 b	3.2 a-c	56
	200 mM	70	4.9 c-e	17.4 ab	2.4 b-d	53
	300 mM	63	5.0 c-e	15.1 b	3.4 a-c	53
PEG 8000	17%	66	6.0 b	14.6 b	4.9 ab	52
	23%	70	5.8 bc	15.8 ab	1.6 cd	63
	27%	76	5.5 b-d	17.0 ab	3.5 a-c	68
KNO3	100 mM	57	4.3 ef	15.2 b	2.0 cd	49
	200 mM	67	3.7 f	19.8 a	0.3 d	56
	300 mM	65	4.7 d-e	16.7 ab	1.6 cd	56
Untreated	0	59	8.1 a	9.8 c	1.4 cd	50

^zGermination percentage(GP), mean germination time (MGT), germination rate (GR), germination uniformity (GU) and healthy seedlings (HS).

^yIn each column, mean values with the same letter are not significantly different from each other (P <0.01; Duncan's test). NS is non significant.

표 32. 6일간의 삼투프라이밍 처리가 고추 종자의 발아에 미치는 영향(적온)

Solution	Conc.	GPz (%)	MGT (day)	GR (%·day-1)	GU	HS (%)
Na2SO4	100 mM	63 nsy	3.6 de	21.6 ab	2.2 ns	54 ns
	200 mM	71	3.9 de	23.9 ab	4.1	62
	300 mM	58	5.3 bc	14.1 c	5.2	48
K2SO4	100 mM	74	3.6 de	25.6 a	2.3	65
	200 mM	69	3.3 e	25.6 a	2.3	62
	300 mM	64	3.6 de	20.6 b	2.0	60
PEG8000	17%	73	4.1 de	23.3 ab	3.8	61
	23%	77	4.5 cd	21.6 ab	3.5	68
	27%	69	5.8 b	15.6 c	3.7	59
KNO3	100 mM	65	4.2 de	19.5 b	4.8	55
	200 mM	71	3.6 de	23.6 ab	1.9	63
	300 mM	61	3.6 de	20.5 b	3.2	52
Untreated	0	59	8.1 a	9.8 d	1.4	50

^zGermination percentage(GP), mean germination time (MGT), germination rate (GR), germination uniformity (GU) and healthy seedlings (HS).

^yIn each column, mean values with the same letter are not significantly different from each other (P <0.01; Duncan's test). NS is non significant.

표 33. 단계적 삼투포텐셜 처리에 따른 고추 종자의 발아특성(적온)

Solution	Conc.	GPz (%)	MGT (day)	GR (%·day ⁻¹)	GU	HS (%)
Na ₂ SO ₄	300mM(4d)→100mM(2d)	63 nsy	4.5 c	18.9 bc	4.1 ab	51 b
	100mM(4d)→300mM(2d)	65	6.2 b	13.4 d	4.1 ab	55 b
K ₂ SO ₄	300mM(4d)→100mM(2d)	71	4.1 c-e	21.2 b	3.9 ab	56 b
	100mM(4d)→300mM(2d)	60	3.6 de	19.2 bc	1.3 b	51 b
PEG 8000	27%(4d)→17%(2d)	70	5.6 b	16.0 cd	5.8 a	53 b
	17%(4d)→27%(2d)	70	5.5 b	16.1 cd	5.9 a	52 b
KNO ₃	300mM(4d)→100mM(2d)	76	3.3 e	27.0 a	1.9 b	71 a
	100mM(4d)→300mM(2d)	65	4.3 cd	19.6 bc	6.3 a	56 b
Untreated	0	59	8.1 a	9.8 e	1.4 b	50 b

^zGermination percentage(GP), mean germination time (MGT), germination rate (GR), germination uniformity (GU) and healthy seedlings (HS).

^yIn each column, mean values with the same letter are not significantly different from each other (P <0.05; Duncan's test). NS is non significant.

표 34. 4일간의 삼투프라이밍 처리가 저온에서 고추 종자의 발아에 미치는 영향

Solution	Conc.	GPz (%)	MGT (day)	GR (%·day ⁻¹)	GU	HS (%)
Na ₂ SO ₄	100mM	64 b-dy	6.8 de	11.6 bc	2.8 ab	50 ab
	200mM	66 a-d	6.4 e	12.6 a-c	0.6 de	45 ab
	300mM	61 cd	7.8 c	12.6 a-c	2.9 a	48 ab
K ₂ SO ₄	100mM	65 b-d	6.6 de	12.4 a-c	1.9 a-e	48 ab
	200mM	69 a-d	6.2 e	13.5 a-c	1.5 a-e	51 ab
	300mM	59 d	7.0 d	12.7 a-c	0.9 b-e	46 ab
PEG 8000	17%	68 a-d	8.6 b	10.5 c	2.2 a-d	43 b
	23%	74 a-c	8.2 bc	12.6 a-c	2.5 a-c	46 ab
	27%	79 a	7.1 d	14.6 ab	1.7 a-e	58 a
KNO ₃	100mM	76 ab	6.7 de	15.1 a	0.6 de	55 ab
	200mM	63 b-d	6.2 e	12.5 a-c	0.9 c-e	52 ab
	300mM	62 cd	6.7 de	13.2 a-c	0.1 e	55 ab
Untreated	0	67 a-d	10.8 a	6.3 d	0.4 de	18 c

^zGermination percentage(GP), mean germination time (MGT), germination rate (GR), germination uniformity (GU) and healthy seedlings (HS).

^yIn each column, mean values with the same letter are not significantly different from each other (P <0.05; Duncan's test).

표 35. 6일간의 삼투프라이밍 처리가 저온에서 고추 종자의 발아에 미치는 영향

Solution	Conc.	GPz (%)	MGT (day)	GR (%·day ⁻¹)	GU	HS (%)
Na ₂ SO ₄	100mM	66 aby	4.6 ef	16.8 b-d	2.8 b	51 a-c
	200mM	74 a	4.1 f	21.7 a	1.6 b	57 ab
	300mM	66 ab	7.5 b	13.0 de	1.8 b	45 a-d
K ₂ SO ₄	100mM	77 a	4.2 df	21.3 a	1.2 b	58 ab
	200mM	74 a	4.2 df	21.8 a	3.0 b	61 a
	300mM	57 bc	4.8 de	13.8 de	2.0 b	50 a-d
PEG 8000	17%	63 ab	5.3 d	15.3 c-e	2.7 b	34 de
	23%	67 ab	5.9 c	13.8 de	2.2 b	37 cd
	27%	70 ab	7.0 b	15.2 c-e	0.6 b	43 b-d
KNO ₃	100mM	73 a	4.8 de	19.4 ab	5.8 a	52 a-c
	200mM	68 ab	4.7 de	17.9 a-c	3.1 b	53 a-c
	300mM	47 c	4.8 de	11.4 e	2.9 b	21 ef
Untreated	0	67 ab	10.8 a	6.3 f	0.4 b	18 f

^zGermination percentage(GP), mean germination time (MGT), germination rate (GR), germination uniformity (GU) and healthy seedlings (HS).

^yIn each column, mean values with the same letter are not significantly different from each other (P <0.01; Duncan's test).

표 36. 단계적 삼투포테셜 처리가 저온에서 고추 종자의 발아특성에 미치는 영향

Solution	Conc.	GPz (%)	MGT (day)	GR (%·day ⁻¹)	GU	HS (%)
Na ₂ SO ₄	300 mM(4d)→100 mM(2d)	62nsy	5.5d	14.1ab	2.5ns	50a
	100 mM(4d)→300 mM(2d)	69	7.7b	13.9ab	1.9	23bc
K ₂ SO ₄	300 mM(4d)→100 mM(2d)	75	5.3d	18.8a	5.4	49a
	100 mM(4d)→300 mM(2d)	66	5.8d	15.1ab	2.1	47ab
PEG8000	27%(4d)→17%(2d)	76	6.6c	14.3ab	2.3	52a
	17%(4d)→27%(2d)	70	6.9c	14.1ab	4.0	35a-c
KNO ₃	300 mM(4d)→100 mM(2d)	65	4.4e	17.7a	4.4	47ab
	100 mM(4d)→300 mM(2d)	46	5.4d	10.9bc	3.7	33a-c
Untreated	0	67	10.8e	6.3c	0.4	18c

^zGermination percentage(GP), mean germination time (MGT), germination rate (GR), germination uniformity (GU) and healthy seedlings (HS).

^yIn each column, mean values with the same letter are not significantly different from each other (P <0.05; Duncan's test). NS is non significant.

200, 300 mM KNO₃ 용액을 이용하여 2, 3일 동안 염류프라이밍을 한 결과, 프라이밍 처리 기간이 길어짐에 따라 초기발아율이 향상되는 결과를 보였다. 평균발아일수는 무처리 종자(5.5일)보다 염류프라이밍 처리 종자(3.7-4.5일)들이 단축되었으며, 프라이밍 처리를 2일 (4.2-4.5일) 보다는 3일(3.7일) 동안 처리했을 때 평균발아일수가 단축되어졌다. 발아속도 또한 무처리 종자

($18.3\% \cdot \text{day}^{-1}$)보다 프라이밍 처리 종자($22.3\text{-}27.7\% \cdot \text{day}^{-1}$)들이 빨라졌으며 처리기간이 길어질수록 향상되는 결과를 보였다. 300 mM KNO_3 용액에서 3일 동안 염류프라이밍 처리 시, 건전묘율은 90%로 염류프라이밍 처리 종자들 사이에서 가장 높았다. 염류프라이밍은 초기발아와 건전묘율이 가장 향상된 300 mM KNO_3 처리를 선정하였다(그림 21과 22).

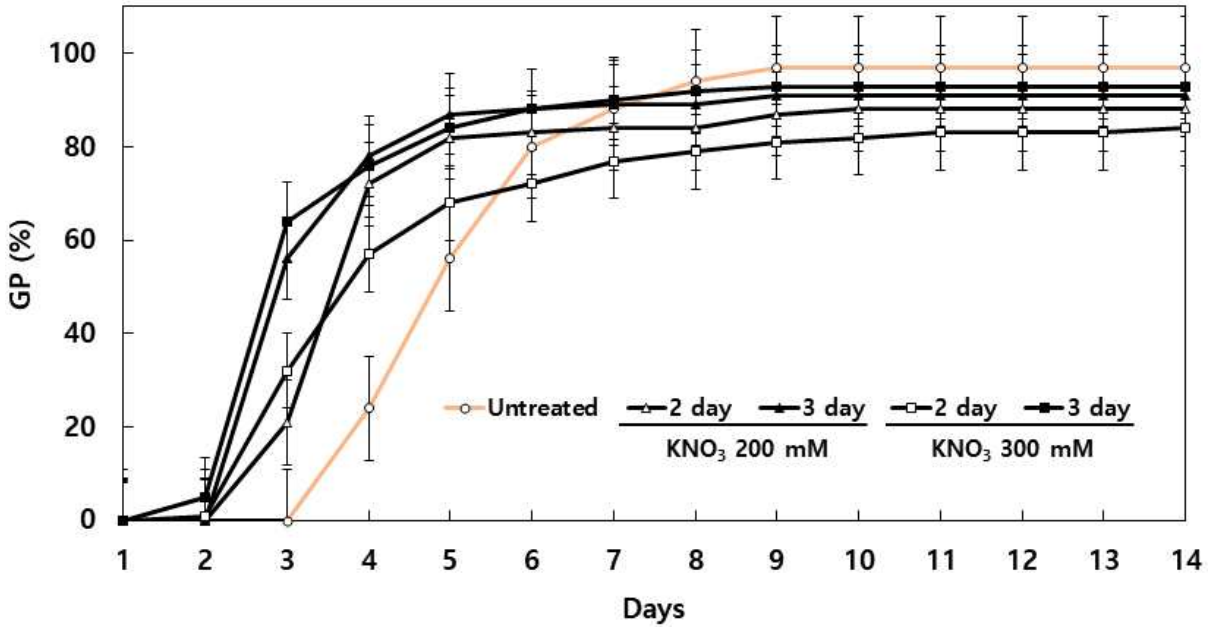


그림 21. 염류프라이밍 처리된 고추 종자의 누적발아율

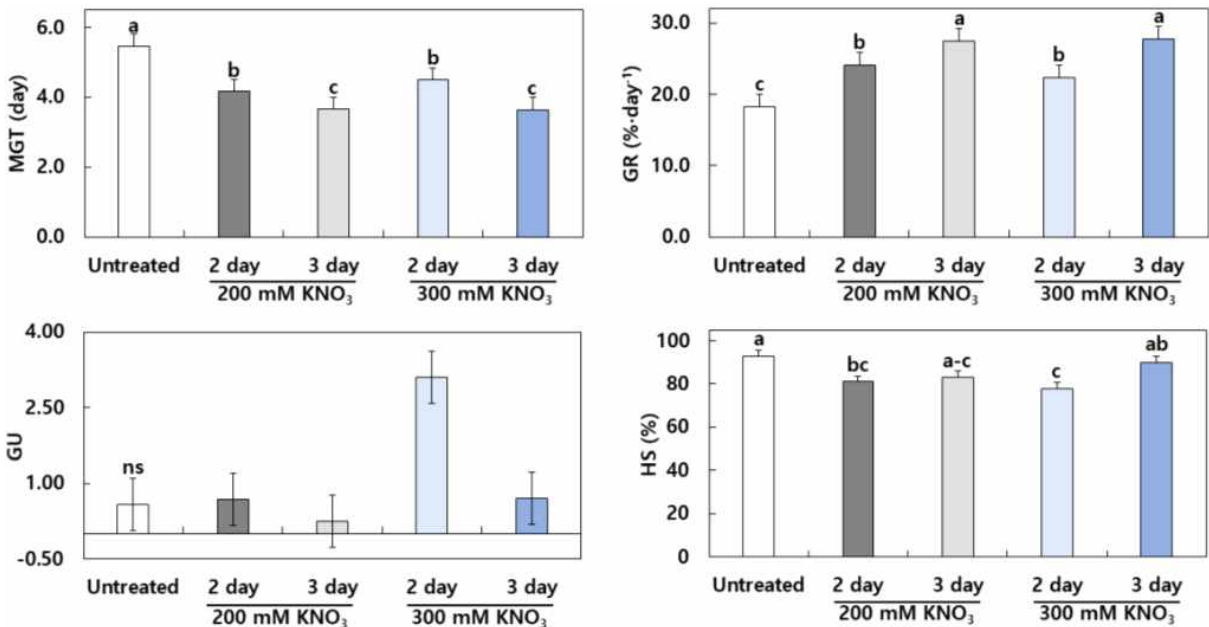


그림 22. 염류프라이밍 처리된 고추 종자의 발아특성

(2) 고추 종자의 발아특성 증진을 위한 초음파와 liquid smoke를 적용한 프라이밍 처리 기술 개발
 (가) 고추종자에 초음파, liquid smoke와 프라이밍과 단·혼용 처리 효과

Liquid smoke (LS)처리는 증류수 또는 100 mM K₂SO₄ 염류용액과 0~10%로 희석한 용액에 5일간 침지 처리 후 종자를 건조하였다. 발아율은 0.5% LS 처리에서 발아율 71%, 건묘율 62%로 대조구 대비 16%와 24%가 향상되었으나 평균발아일수(MGT)는 1일 향상되었다. 염류프라이밍과 0.5% LS 혼용처리에서는 발아율은 대조구와 유의차가 없었으나, 건묘율이 무처리종자보다 62% 향상되었고 MGT가 3일 단축되어, 발아속도가 크게 향상되었다. 염류프라이밍 단용처리 종자와 비교 시 0.5% LS 혼용종자에서 건묘율의 증가가 보였으나 나머지 특성에서는 유의차를 보이지 않았다. 즉, 염류프라이밍과 LS 0.5%혼용처리로 발아속도와 건묘율이 증가하였다. 그러나 LS농도가 5%이상에서는 발아율이 감소하였다(표 37).

20, 26 kHz의 초음파처리와 15.7 kHz의 음파 처리를 5, 10, 20분간 처리한 결과 26.1 kHz 10분 처리에서 발아율이 향상되었으나 통계적 유의차가 없었고 건전묘의 비율이 무처리 종자보다 낮아 초음파처리에 의해 발아율이 저해되는 결과를 보였다(표 38). 초음파와 100 mM K₂SO₄ 염류프라이밍 혼용처리결과 15.7 kHz 10분 처리에서 발아율과 건전묘율이 각각 69%와 61%로 무처리종자의 61%와 50%에 비하여 향상되었다. 염류프라이밍 단용처리종자보다도 향상된 결과를 보여 초음파 영역보다 낮은 음파 영역대가 효과적이었다(표 39).

표 37. 염류프라이밍 및 LS (Liquid smoke) 전처리가 고추 종자의 발아특성에 미치는 영향

Solution	LS (%)	GP (%)	MGT (day)	GR (%day-1)	GU	HS (%)
dH ₂ O	0.0	64abz	9.1 c	11.10b-d	4.95b-d	51 a-c
	0.5	71 a	9.0c	11.23bc	3.63de	62a
	1.0	62ab	9.5a-c	10.53b-e	3.59de	50 a-c
	5.0	51 b	9.4bc	10.63b-d	6.49b	40c
	10.0	22c	10.2ab	9.80de	4.45cd	18 d
K ₂ SO ₄	0.0	64ab	7.3 d	13.68a	5.76bc	57ab
	0.5	66ab	7.4 d	13.60a	5.87bc	62a
	1.0	65ab	7.3 d	13.90a	5.78bc	58ab
	5.0	51 b	8.8c	11.45b	8.30a	43bc
	10.0	31c	10.4 a	9.63e	4.56cd	25 d
Untreated	0	61 ab	10.0ab	10.00c-e	2.26e	50 a-c

Seeds were germinated at 30/20°C (8 hr, light/16 hr, dark) for 14 days. ^zDuncan's multiple range test at P<0.05.

표 38. 음파(soundwave) 전처리가 고추 종자의 발아특성에 미치는 영향

Sound (kHz)	Time (min)	GP (%)	MGT (day)	GR (%day-1)	GU	HS (%)
15.7	5	56nsz	10.7a	9.35b	3.33ns	35 a-c
	10	56	10.1ab	10.00ab	4.29	36 a-c
	20	58	9.9ab	10.15ab	3.63	34 a-c
20.1	5	58	10.7a	9.38b	3.14	33bc
	10	58	9.9ab	10.13ab	3.01	41ab
	20	57	10.4ab	9.65ab	3.44	40ab
26.1	5	58	10.2ab	9.88ab	3.36	34 a-c
	10	66	9.6b	10.45a	3.81	45ab
	20	51	10.7a	9.38b	3.44	23c
Untreated	0	61	10.0ab	10.00ab	2.26	50ab
S		ns	ns	ns	ns	*
Time		ns	*	*	ns	*
S×Time		ns	ns	ns	ns	ns

Seeds were germinated at 30/20°C (8 hr, light/16 hr, dark) for 14 days. ^zDuncan's multiple range test at P<0.05 and ns: non-significant.

표 39. 음파(soundwave)와 염류프라이밍 전처리가 고추 종자의 발아특성에 미치는 영향

Sound (kHz)	Time (min)	GP (%)	MGT (day)	GR (%day-1)	GU	HS (%)
15.7	5	68az	8.1c-f	12.40a-d	5.11a	59a
	10	69a	8.4c-f	12.00b-d	5.24a	61a
	20	55b	8.6c-e	11.68b-e	5.64a	46cd
20.1	5	63ab	7.7ef	13.10ab	5.51a	55a-c
	10	67ab	7.9d-f	12.78a-c	5.37a	59a
	20	64ab	7.8d-f	12.95ab	5.57a	58ab
26.1	5	58ab	8.8b-d	11.43c-f	5.16a	46b-d
	10	56b	9.7ab	10.30ef	5.53a	42d
	20	61ab	9.0bc	11.20d-f	5.65a	50a-d
0	0	64ab	7.3f	13.68a	5.76a	57a-c
Untreated	0	61ab	10.0a	10.00f	2.26b	50a-d
S		ns	***	***	**	**
Time		ns	ns	ns	ns	ns
S×Time		*	ns	ns	ns	ns

Seeds were germinated at 30/20°C (8 hr, light/16 hr, dark) for 14 days. ^zDuncan's multiple range test at P<0.05 and ns: non-significant.

음파처리에서 발아가 저해되어 soundwave (SW)와 100 mM K₂SO₄ 염류프라이밍 혼용처리가 고추종자의 발아특성에 미치는 영향을 평가한 결과, 10.4 kHz 10분 처리구에서 발아율은 통계적 유의차를 보이지 않았으나 건묘율이 무처리종자에 비하여 57.5% 향상되었다. MGT는 무처리 종자대비 1.8일이 빨라졌고 GR도 12.4%로 무처리종자의 10.2%로 비해 크게 향상되었다. 전반적으로 MGT, GR, HS가 음파의 세기에 의해 영향을 받았고 처리시간에는 영향을 받지 않았다. 그러나 염류프라이밍 단독처리와 비교 시 큰 유의차를 보이지 않아 SW의 효과가 아닌 염류 프라이밍의 효과임을 알 수 있었다 (표 40).

표 40. 음파(soundwave)와 염류프라이밍 전처리가 고추 종자의 발아특성에 미치는 영향

Sound (kHz)	Time (min)	GP (%)	MGT (day)	GR (%day-1)	GU	HS (%)
5.2	5	68nsz	7.6cd	13.18ab	3.14ab	49a-c
	10	60	9.1ab	11.05cd	1.97b	44bc
	20	61	8.9ab	11.25cd	5.35a	49a-c
10.4	5	68	7.6cd	13.45ab	3.96ab	58ab
	10	72	8.1b-d	12.40a-c	4.07ab	63a
	20	69	8.4bc	11.95b-d	4.28a	61a
15.7	5	59	8.4bc	12.00b-d	5.17a	54a-c
	10	65	8.5bc	11.80b-d	4.39a	59a
	20	64	7.4cd	13.68ab	4.07ab	59a
0	0	65	7.2d	14.10a	4.10ab	61a
Untreated	0	65	9.9a	10.18d	3.71ab	40c
S		ns	***	***	ns	***
Time		ns	ns	ns	ns	ns
S×Time		ns	ns	*	*	ns

Seeds were germinated at 30/20°C (8 hr, light/16 hr, dark) for 14 days. ^zDuncan's multiple range test at P<0.05 and ns: non-significant.

5.2 kHz SW의 처리 시간과 염류프라이밍 혼용처리 기간에 따른 효과를 평가 한 결과, 음파처리 시간이 길어질수록 발아율이 감소하였고 4일간의 염류프라이밍처리에서 발아속도가 빨라졌으나, 염류프라이밍 단용처리에 비해 향상효과를 보이지 않았다. 전반적으로 고추종자는 (초)음파 단용처리에 의한 발아특성향상 효과를 보이지 않고 염류프라이밍과 혼용처리시 효과를 보였다(표 41).

표 41. 음파(soundwave, 5.2 kHz)와 염류프라이밍 전처리가 고추 종자의 발아특성에 미치는 영향

Sound time (min)	Prim duration (day)	GP (%)	MGT (day)	GR (%day-1)	GU	HS (%)
5	2	69az	9.1ab	11.03cd	5.33ab	58a
	4	63ab	7.8cd	12.95ab	4.66ab	54ab
	6	68ab	7.6cd	13.18a	3.14bc	49a-c
10	2	60ab	8.5bc	11.85bc	5.07ab	49a-c
	4	64ab	7.8cd	12.98ab	6.08a	55ab
	6	61ab	8.9b	11.25cd	5.35ab	49a-c
20	2	57b	8.5bc	11.85bc	4.14ab	49a-c
	4	58ab	7.2d	13.95a	4.03a-c	53ab
	6	60ab	9.1ab	11.05cd	1.97c	44bc
Untreated	0	65ab	9.9a	10.18d	3.71bc	40c
S		*	***	***	*	***
PD		ns	**	**	ns	ns
S×PD		ns	ns	ns	ns	ns

Seeds were germinated at 30/20°C (8 hr, light/16 hr, dark) for 14 days. ^zDuncan's multiple range test at P<0.05 and ns: non-significant.

(3) 고추 종자의 수화 및 드림프라이밍기술 개발

(가) Epi와 SNP를 혼용한 수화프라이밍

종자를 Epi 용액($0, 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7}$ M)과 SNP 용액($0, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}$ M)에 20h 동안 20°C 에서 hydration 처리를 하여 적온과 저온환경에서의 발아특성을 조사하였다. 발아적온($30/20^{\circ}\text{C}$)에서는 Epi 10^{-6}M 에서 발아특성이 가장 향상되었다(표 42). Epi 10^{-6}M 처리구의 MGT는 4.1일로 무처리구에 비해 1.0일 단축되었으며 T_{50} 은 3.5일로 1.0일 단축되었다. GRI와 GR은 각각 26.0과 24.6으로 무처리구에 비해 33%, 26% 향상되었다. 저온(15°C)에서는 표 43과 같으며 SNP와 Epi 용액처리보다 증류수 hydration이 발아특성이 가장 향상되어 고추 종자의 저온환경에서의 발아특성 향상에 대한 효과는 보이지 않았다.

표 42. Epi 및 SNP/hydro priming 혼용 처리가 적온($30/20^{\circ}\text{C}$)에서 고추 종자의 발아 특성에 미치는 영향

Solution	Conc. (M)	GP (%)			MGT (day)	GR (%·day ⁻¹)	GU	HS (%)
		3rdz	4th	14th				
Epi	10-5	0cy	44d	92ns	4.7b	21.6b	-0.50ns	82ns
	10-6	18a	80a	96	4.1c	24.6a	0.75	90
	10-7	14ab	68a-c	92	4.3c	23.3ab	0.44	89
SNP	10-3	16ab	59cd	86	4.4bc	23.0ab	0.57	81
	10-4	14ab	77ab	92	4.1c	24.5a	-0.04	87
	10-5	7bc	63bc	93	4.4bc	22.9ab	-0.60	88
Untreated	0	0c	18e	97	5.1a	19.6c	-0.07	93

Seeds were hydrated for 20 hours in Epi and SNP solution and germinated at $30/20^{\circ}\text{C}$ (8 h r, light/16 hr, dark) for 14 days. ^zGermination percentage on 3rd, 4th and 14th day after sowing. ^yDuncan's multiple range test at $P<0.01$ and ns: non-significant.

표 43. Epi 및 SNP/ hydro priming 혼용 처리가 저온(15°C)에서 고추 종자의 발아 특성에 미치는 영향

Solution	Conc. (M)	GP(%)		MGT (day)	T50 (day)	GRI	GR (%·day)	GU	HS (%)
		4thz	14th						
Epi	0	91ay	93ns	8.6e	8.1d	10.9a	11.7a	-0.19 ns	0 ns
	10-5	57c	87	10.1bc	9.9b	8.7cd	9.9c	0.00	0
	10-6	74b	92	9.6cd	9.1c	10.5ab	10.4b	0.99	0
	10-7	58c	93	10.2b	9.8b	9.3ad	9.8c	0.53	0
SNP	10-3	32d	91	11.1a	10.7a	8.4d	9.0d	0.91	0
	10-4	56c	89	10.1bc	9.9b	9.4ad	9.9c	1.30	0
	10-5	51c	92	10.5b	10.0b	8.9bd	9.5c	0.55	0
Untreated	0	80ab	96n	9.6d	9.0c	10.2ac	10.5b	0.06	0

Seeds were hydrated for 20h in EPL and SNP solution and then germinated at 15°C (8h, light/16h, dark) for 14 days. ^zGermination percentage on 4 rd and 7th day after sowing. ^yDuncan's multiple range test at $P<0.05$, ns, *,*** non-significant or $P=0.05$, and 0.001, respectively.

(나) 처리시간에 따른 수화프라이밍의 효과

고추 종자에 Epi와 SNP의 적정농도를 Epi 10⁻⁶M, SNP 10⁻⁴M로 선정하여 hydro priming 혼용 처리를 하였으며 이때 hydration시간은 30, 40, 50h, 처리온도는 25℃으로 적온(30/20℃)과 저온(15℃)에서 발아평가를 실시하였다. 적온에서는 hydration 대조구(Epi 0M)와 처리구와의 유의차가 없으며 Epi와 SNP의 혼용없이 증류수를 이용한 hydro priming의 효과를 보였다(표 44). 24-EPL 10⁻⁶M 용액에서 50h 수화 처리한 경우 저온에서의 발아특성이 향상되었으며 MGT와 T₅₀은 3.4, 2.9일로 무처리구 5.2, 4.6일에 비해 MGT는 1.8일, T₅₀은 1.7일 단축되었다. hydration을 Epi 10⁻⁶ M 용액에서 50h 수화 처리한 경우 GRI는 27.8로 무처리구에 비해 47% 향상되었으며 GR은 29.1로 무처리구에 비해 51% 향상되었다. Epi 10⁻⁶M, 50h hydration 처리는 15℃의 저온조건에의 초기발아성 증진효과를 보였다. 실험의 결과로, 고추 종자의 수화프라이밍 처리 시간은 초기 발아가 향상되는 50시간으로 선정하였다(표 45).

표 44. Epi 및 SNP/ hydro priming(25℃) 혼용 처리가 적온(30/20℃)에서 고추 종자 발아특성에 미치는 영향

Hydration (h)	Solution (M)	GP(%)		MGT (day)	T50 (day)	GRI	GR (%·day ⁻¹)	GU	HS (%)
		3rdz	14th						
30	Epi 0	23dy	94ns	3.9b	3.5b	24.9b	25.9c	-0.61ns	89ns
	Epi 10-6	24d	89	3.8bc	3.4b	24.1b	26.2bc	-0.28	86
	SNP 10-4	29d	92	4.0b	3.4b	24.6b	25.1c	0.84	88
40	Epi 0	67ab	92	3.4d	2.8cd	28.4a	30.0a	-0.59	88
	Epi 10-6	51c	94	3.6cd	3.0c	27.7a	28.2ab	-0.09	91
	SNP 10-4	60bc	93	3.5d	2.9cd	28.0a	28.9a	0.04	86
50	Epi 0	66ab	91	3.4d	2.7d	27.8a	29.5a	-0.39	82
	Epi 10-6	77a	95	3.3d	2.7d	29.8a	30.1a	-0.11	89
	SNP 10-4	66ab	93	3.3d	2.8cd	28.8a	30.2a	-0.70	90
Untreated	0	0e	97	4.8a	4.3a	20.7c	20.9d	-0.35	90
Significance									
Hydration		***	ns	***	***	***	***	ns	ns
Solution		**	ns	**	***	*	*	ns	ns
Hydration× solution		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Seeds were germinated at 30/20℃(8h, light/ 16h, dark) for 14 days. ^zGermination percentage on 3rd and 7th day after sowing. ^yDuncan's multiple range test at P<0.05, ns, *, **, *** non-significant or P=0.05, 0.01 and 0.001, respectively.

표 45. Hydration(25°C) 처리 시간과 Epi 및 SNP/ hydro priming 혼용 처리가 고추종자의 저온(15°C)에서 발아특성에 미치는 효과

Hydration (h)	Solution (M)	GP (%)		MGT (day)	T50 (day)	GRI	GR (%·day ⁻¹)	GU	HS (%)
		3rdz	14th						
30	Epi 0	23 dy	93ns	3.8d	3.3d	25.9b	26.3b	1.04ns	85ns
	Epi 10-6	24 d	98	4.1c	3.6c	24.3c	24.3c	-0.59	90
	SNP 10-4	29 d	95	4.4bc	3.8b	22.5de	22.9cd	-0.12	89
40	Epi 0	67 ab	92	4.3bc	3.7bc	22.1de	23.2cd	0.34	88
	Epi 10-6	51 c	92	4.5b	3.8b	21.0e	22.2d	-0.35	87
	SNP 10-4	60 bc	96	4.1c	3.6c	23.5cd	24.3c	-0.84	95
50	Epi 0	66 ab	91	4.1c	3.6c	22.5de	24.2c	-0.51	85
	Epi 10-6	77 a	93	3.4e	2.9e	27.8a	29.1a	-0.52	89
	SNP 10-4	66 ab	96	4.3bc	3.6c	23.2cd	23.5cd	-0.33	90
Untreated	0	0 c	95	5.2a	4.6a	18.9f	19.3e	0.02	91
Significance									
Hydration		***	ns	***	***	***	***	ns	ns
Solution		***	ns	***	***	***	***	ns	ns
Hydration× solution		ns	ns	***	***	***	***	ns	ns

Seeds were germinated at 20°C(8h, light/ 16h, dark) for 14 days. Germination percentage on 3rd and 7th day after sowing. ^yDuncan's multiple range test at P<0.05, ns, ***, non-significant, and P=0.001, respectively.

(다) Polyamine과 수화프라이밍의 혼용처리

폴리아민 3종을 2가지 수준의 농도로 25℃에서 수화프라이밍을 50시간 혼용 처리한 결과, 3일차 발아율은 50 mM putrescine에서 가장 높았다. 모든 프라이밍 처리 종자의 4일차 발아율은 무처리 종자보다 향상되었으며, 프라이밍 처리간의 유의차는 없었다. 50 mM putrescine 처리 종자의 평균발아일수는 3.2일로 무처리 종자(5.5일)보다 2.3일 단축되었으며, 발아속도는 74% 증가되었다. Polyamine을 이용한 고추 종자의 수화프라이밍 혼용 처리는 50 mM putrescine이 선정되었다(표 46).

표 46. 폴리아민을 혼용한 수화프라이밍 처리가 고추 종자의 발아특성에 미치는 영향

Polyamine	Concn. (mM)	GP (%)			MGT (day)	GR (%·day ⁻¹)	GU	HS (%)
		3rdz	4th	14th				
Spermine	25	51 ^{cy}	74 ^a	84 ^b	3.6 ^b	28.4 ^a	0.25 ^{ns}	70 ^c
	50	58 ^{bc}	76 ^a	81 ^b	3.4 ^b	30.0 ^a	-0.36	76 ^{bc}
Spermidine	25	58 ^{bc}	74 ^a	83 ^b	3.5 ^b	29.0 ^a	2.14	77 ^{bc}
	50	67 ^{ab}	78 ^a	83 ^b	3.3 ^b	31.2 ^a	1.32	80 ^{a-c}
Putrescine	25	69 ^{ab}	80 ^a	89 ^{ab}	3.4 ^b	29.7 ^a	-0.04	87 ^{ab}
	50	77 ^a	82 ^a	89 ^{ab}	3.2 ^b	31.8 ^a	0.13	83 ^{a-c}
Untreated	0	0 ^d	24 ^b	97 ^a	5.5 ^a	18.3 ^b	0.58	93 ^a

Seeds were hydrated for 50 hours in spermine, spermidine, and putrescine solution and germinated at 30/20℃ (8 hr, light/16 hr, dark) for 14 days. ^zGermination percentage on 3rd, 4th and 14th day after sowing. ^yDuncan's multiple range test at P<0.05 and ns: non-significant.

(라) 고추 종자 수화 및 드럼 프라이밍 혼용처리

고추 종자를 3, 5시간동안 수화(hydration)처리 후 96, 108시간 동안 회전 배양으로 drum priming한 결과는 표 47과 같다. 종자의 활력이 높아 최종 GP와 HS에서는 유의차가 없으나, drum priming 처리 종자는 MGT, 3일차 발아율, T₅₀, GRI, GR의 값이 유의하게 향상되었다. 수화처리 시간은 5시간 처리가 3시간 처리보다 효과적이었다. 5h 수화 처리 후 드럼프라이밍 처리한 시간에 따른 유의차는 보이지 않아 96시간처리를 선정하였다.

표 47. Drum priming이 고추 종자 발아특성에 미치는 영향

Hydration (h)	Incubation (h)	GP (%)		MGT (day)	T50 (day)	GRI	GR (%·day-1)	GU	HS (%)
		3rdz	14th						
3	96	22by	92ns	4.0c	3.5c	23.9b	25.0b	-0.24b	91ns
	108	3c	90	4.7b	3.8b	20.7c	21.6c	1.41a	86
5	96	76a	93	3.3d	2.6d	29.6a	30.3a	-0.13b	87
	108	77a	93	3.4d	2.6d	29.7a	30.0a	0.29ab	91
Untreated	0	0c	97	5.4a	4.7a	18.9c	18.6d	0.90ab	95
Significance									
Hydration		***	ns	***	***	***	***	ns	ns
Incubation		***	ns	***	***	***	***	*	ns
Hydration× incubation		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Seeds were germinated at 30/20°C (8h, light/ 16h, dark) for 14 days. ^zGermination percentage on 3rd and 14th day after sowing. ^yDuncan's multiple range test at P<0.05, ns, *, ***, non-significant or P=0.05, and 0.001, respectively.

적정 hydration 처리 조건의 규명을 위하여 5, 10, 15, 20h (종자수분함량, SMC 40, 50, 60, 70%) 처리와 48, 60, 72, 84, 96h drum priming 처리를 하여 표 4.48과 같이 수화 시간에 따른 종자의 수분함량변화를 측정하였다. SMC 60% incubation 96h 처리종자와 SMC 70% incubation 84, 96h 처리종자들은 처리 중 종자들이 발아하였다. 이외의 모든 처리구들은 무처리 종자 보다 MGT, T₅₀, GRI, GR, GU, HS가 유의한 차이를 보였다(그림 23과 표 49). SMC 50% 종자를 96h 드럼프라이밍한 종자의 발아특성이 가장 향상되어 2일차와 3일차 GP가 각각 43%, 90%로 무처리 대조구(0%, 1%) 와 다른 처리구(0-16%)에 비해 발아가 빨리 시작되었으며 MGT, T₅₀이 2.8, 2.2일로 무처리구에 비해 MGT는 2.4일, T₅₀은 2.5일 단축되었다. GRI는 38.4로 무처리 종자에 비해 105% 향상되었으며 GR은 35.7로 무처리종자에 비해 86% 향상되었다. SMC 50%(10h)/incubation 96h 처리 종자는 발아특성은 향상되었으나 총처리기간이 4.5일로 처리 기간 단축을 위한 추가적 실험을 수행하였다.

표 48. 고추종자의 hydration 시간에 따른 수분함량 변화

Hydration (h)	Seed moisture content (SMC, %)
5	38±1.8z
10	50±1.9
15	64±3.9
20	69±10.8

^zmeans±S.E.

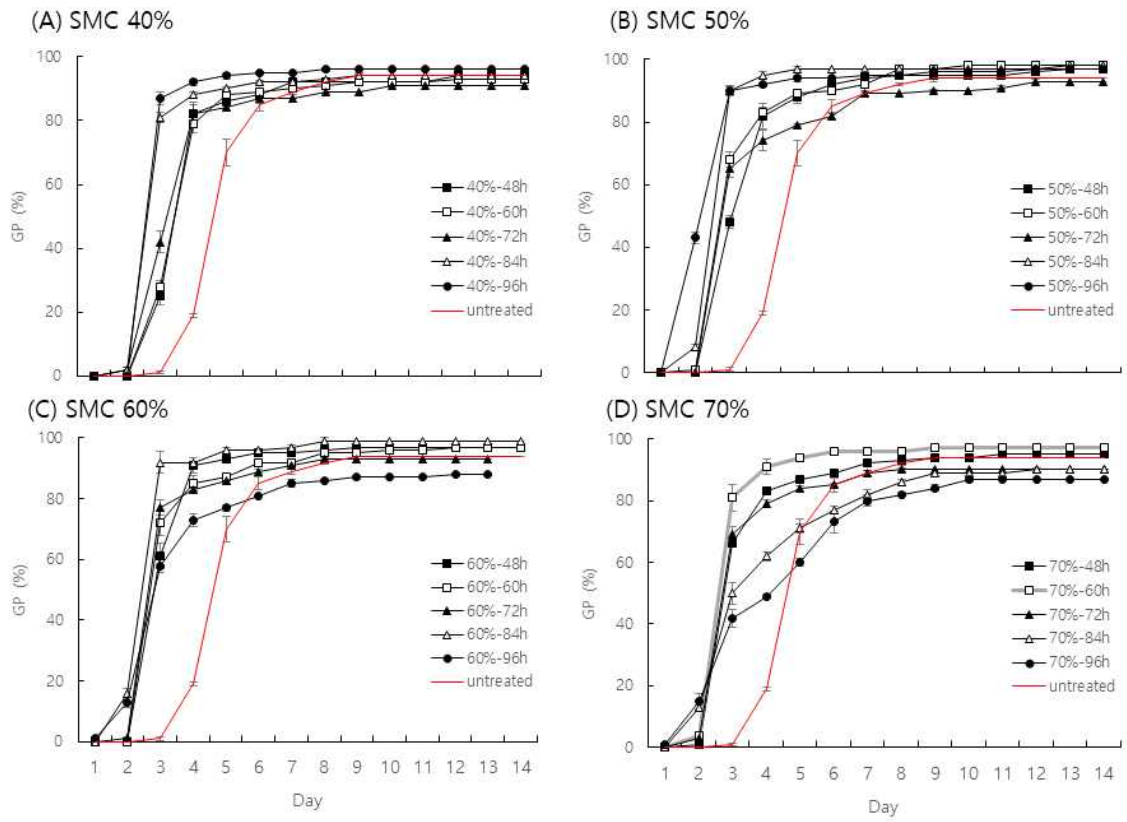


그림 23. 고추 종자의 수화시간 및 drum priming에 따른 누적발아율

표 49. Drum priming이 고추 종자 발아특성에 미치는 영향

SMC (%)	Incubation (h)	GP (%)			MGT (day)	T50 (day)	GRI	GR (%·day ⁻¹)	GU	HS (%)
		2ndz	3rd	14th						
40	48	0ey	25j	94ns	4.1bd	3.5b	24.5h	24.4ij	1.12ac	83bd
	60	0e	28ij	93	4.0be	3.4bc	24.5h	24.9hj	0.60ac	90ad
	72	2de	42hi	91	3.8cg	3.2bd	25.7gh	26.3gj	0.71ac	82cd
	84	2de	81ac	94	3.3gj	2.6dh	30.1cf	30.7bf	-0.10c	93ac
	96	0e	87ab	96	3.2hj	2.6eh	31.0be	31.5bd	-0.56c	90 ad
50	48	0e	48gh	97	3.9cf	3.1bf	27.0dh	25.8gj	1.35ac	94ab
	60	1e	68ce	98	3.7ch	2.7dh	29.0cg	27.1ej	1.05ac	93ac
	72	0e	65cf	93	4.0bf	2.8dg	26.8eh	25.5gj	2.70ab	87ad
	84	8cd	90a	98	3.1ij	2.5fh	33.1bc	32.2ac	0.18bc	93ac
	96	43a	90a	97	2.8j	2.2h	38.4a	35.7a	0.87ac	92 ac
60	48	0e	61eg	97	3.5di	2.9bg	28.8dg	28.5ci	-0.14c	94ab
	60	0e	72ce	97	3.7ci	2.7dh	29.1cg	27.7di	1.25ac	92ac
	72	1e	77ad	93	3.4fj	2.7dh	29.0cg	29.4bg	0.18bc	90ad
	84	16b	92a	99	3.1ij	2.5gh	34.5b	32.9ab	-0.07c	94ab
	96	13bc	58eh	88	3.6ci	2.9cg	28.1dh	28.2ci	1.49ac	81 d
70	48	1e	66cf	95	3.7ci	2.8dh	28.3dh	27.6di	0.90ac	88ad
	60	4de	81ac	97	3.3gj	2.6dh	31.2bd	31.0be	-0.29c	95a
	72	3de	69ce	90	3.5ei	2.7dh	27.9dh	29.1bh	0.19bc	83bd
	84	13bc	50fh	90	4.2bc	3.2be	26.3fh	24.4ij	2.97a	80d
	96	15b	42hi	87	4.5b	4.4a	24.9gh	23.2j	2.97a	69e
Untreated	0	0e	1k	94	5.2 a	4.7 a	18.7 i	19.2 k	0.13bc	88 ad
Significance										
Hydration		***	***	ns	***	***	***	***	ns	**
Incubation		***	***	ns	***	***	***	***	ns	**
Hydration× incubation		***	**	ns	ns	ns	*	***	*	**

Seeds were germinated at 30/20°C (8h, light/ 16h, dark) for 14 days. ^zGermination percentage on 2nd, 3rd and 14th day after sowing. ^yDuncan's multiple range test at P<0.05, ns, *, **, *** non-significant or P=0.05, 0.01 and 0.001, respectively.

① 고추 종자 SNP 단용 처리

SNP가 발아에 미치는 영향을 SNP 5수준의 농도로 (0.10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} M) 단용 처리 후 조사하였다. 고추 종자에 SNP 단용 처리는 효과가 없어 SNP와 priming 혼용 처리를 진행하였다(표 50).

표 50. SNP 단용처리가 고추 종자의 발아특성에 미치는 영향

SNP (M)	GP (%)	MGT (day)	T50 (day)	GRI	GR (%·day ⁻¹)	GU	HS (%)
10 ⁻⁴	94nsz	5.6ns	4.9ns	18.0ns	17.8ns	1.88ns	88ns
10 ⁻⁵	98	5.9	5.2	17.3	17.1	0.41	94
10 ⁻⁶	98	5.5	4.8	18.4	18.2	0.32	95
10 ⁻⁷	94	5.7	5.1	17.4	17.7	0.85	90
0	92	6.1	5.5	16.2	16.6	1.85	85

Seeds were germinated at 30/20°C (8h, light/ 16h, dark) for 14 days. ²Duncan's multiple range test at P<0.05, ns, non-significant.

② 고추 종자 SNP와 hydro priming 혼용 처리

고추 종자에 SNP와 hydro priming을 혼용 처리효과와 hydration 처리온도, hydration 후 종자의 건조 유무에 따른 영향을 조사하였다. 20°C에서 hydration 처리 시, T₅₀ 과 HS만 유의차가 있었으며 GP, MGT, GRI, GR, GU에서는 유의차가 없었다. SNP 10⁻⁴ M 농도에서 hydration 이후 건조한 처리구의 T₅₀이 4.7일로 가장 단축되었으며 무처리구의 T₅₀ 5.5일에 비해 0.8일 단축되었다. SNP 10⁻⁴ M 처리구를 제외한 SNP 10⁻⁵, 10⁻⁶, 10⁻⁷ M 처리구들의 발아특성은 SNP 0M 처리구와 유의차를 보이지 않았다(표 51).

25°C에서 hydration 처리 시의 결과 MGT, T₅₀, GRI, GR, HS에서 유의차를 보였으나, SNP의 처리효과는 미미하였다. 처리 후 건조 처리종자는 무건조 종자보다 MGT, T₅₀, GRI, GR의 값이 향상되었다. hydration 처리온도는 20°C 보다 25°C가 효과적이고 SNP와 hydro priming 혼용 처리 후에는 종자의 건조처리도 가능한 프라이밍 처리방법임을 보였다(표 52).

표 51. 고추 종자를 20°C에서 5h hydration 처리 후 건조 유무에 따른 발아 특성 평가

Dry	SNP (M)	GP (%)		MGT (day)	T50 (day)	GRI	GR (%·day ⁻¹)	GU	HS (%)
		5thz	14th						
Dry	0	60ay	98ns	5.6ns	4.9ab	18.2ns	18.1ns	-0.13ns	93a
	10-4	69a	97	5.5	4.7b	19.0	18.4	1.30	87a
	10-5	55ab	92	5.7	5.0ab	16.6	17.5	0.25	85ab
	10-6	54ab	95	5.6	5.0ab	17.6	18.0	0.24	86a
	10-7	63a	95	5.7	5.0ab	17.6	17.9	0.83	85ab
No dry	0	57ab	90	5.7	5.3ab	17.1	17.7	1.33	73b
	10-4	57ab	94	5.4	4.9ab	18.4	18.6	0.51	87a
	10-5	47ab	92	5.7	5.1ab	17.5	17.8	1.69	85ab
	10-6	51ab	90	5.6	5.0ab	16.9	18.0	0.92	82ab
	10-7	29b	95	6.2	5.6a	16.1	16.1	1.41	85ab
Untreated	0	41ab	92	6.1	5.5a	16.2	16.6	1.85	85ab
Significance									
Dry		*	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns
SNP		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Dry×SNP		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*

Seeds were germinated at 30/20°C (8h, light/ 16h, dark) for 14 days. ^zGermination percentage on 5th and 14th day after sowing. ^yDuncan's multiple range test at P<0.05, ns, *, non-significant, and P=0.05, respectively.

표 52. 고추 종자를 25°C에서 5h hydration 처리 후 건조 유무에 따른 발아 특성 평가

Dry	SNP (M)	GP (%)		MGT (day)	T50 (day)	GRI	GR (%·day ⁻¹)	GU	HS (%)
		5thz	14th						
Dry	0	68ay	98ns	5.4cd	4.6d	19.2a	18.5ab	1.07ns	87ab
	10-4	65a	91	5.2d	4.7d	18.2ac	19.2a	0.60	82b
	10-5	52ac	93	5.6bd	5.0bd	17.5ac	17.9ac	0.95	86ab
	10-6	72a	90	5.4cd	4.7d	17.6ac	18.5ab	1.65	81b
	10-7	65a	97	5.5bd	4.8d	18.6ab	18.2ac	1.40	90ab
No dry	0	34cd	97	6.0bc	5.4bc	16.8bd	16.7bd	0.79	93ab
	10-4	61ab	96	5.6bd	4.9cd	17.9ac	17.9ac	0.43	93ab
	10-5	62ab	94	5.5bd	4.8d	17.9ac	18.3ac	0.85	92ab
	10-6	20d	94	6.7a	6.0a	14.9d	15.0d	1.62	88ab
	10-7	54ac	99	5.7bd	5.0bd	17.8ac	17.6ac	0.01	96a
Untreated	0	41bc	92	6.1b	5.5b	16.2cd	16.6cd	1.85	85ab
Significance									
e Dry		***	ns	***	***	*	***	ns	*
SNP		ns	ns	*	**	*	*	ns	ns
Dry×SNP		***	ns	*	**	ns	*	ns	ns

Seeds were germinated at 30/20°C (8h, light/ 16h, dark) for 14 days. ^zGermination percentage on 5th and 14th day after sowing. ^yDuncan's multiple range test at P<0.05, ns, *, **, *** non-significant or P=0.05, 0.01 and 0.001, respectively.

③ 고추종자의 SNP와 drum priming 혼용 처리

hydration처리 시 증류수 대신 SNP 용액(0.10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} M)을 10h 처리 후 96시간 드럼프라이밍한 결과 SNP(10^{-4} M)/drum priming 처리 종자의 발아특성이 크게 향상되었다. 무처리 종자의 3일차 발아율이 1%, MGT 4.5일, T₅₀ 3.9일, GR 21.6%·day에 비해 SNP(10^{-4} M)/drum priming 처리 종자는 각각 94%, 3.0, 2.5일, 33.4%·day로 향상되었다(표 53).

표 53. SNP와 drum priming 혼용 처리가 고추 종자의 발아특성에 미치는 영향

Dry	SNP (M)	GP (%)		MGT (day)	T50 (day)	GRI	GR (%·day)	GU	HS (%)
		3thz	7th						
Hydration	0	83by	94ns	3.2b	2.6b	30.7b	31.8b	-0.62ns	84a
10h	10-4	94a	98	3.0c	2.5b	33.4a	33.5a	-0.83	94a
+	10-5	86ab	92	3.1bc	2.6b	30.6b	32.6ab	-0.79	86a
Incubation	10-6	87ab	94	3.1bc	2.6b	30.7b	32.3b	-0.88	87a
96h	10-7	88ab	99	3.2b	2.6b	31.9ab	31.8b	-0.74	77a
Untreated	0	1c	95	4.5a	3.9a	21.6c	22.2c	-0.47	52b
Significance		***	ns	***	***	***	***	ns	***

Seeds were germinated at 30/20°C(8h, light/ 16h, dark) for 7 days. ^zGermination percentage on 3rd and 7th day after sowing. ^yDuncan's multiple range test at P<0.05, ns, ***, non-significant, and P=0.001, respectively.

(4) 고추 종자의 우수 종자프라이밍 전처리 방법 선정을 위한 특성 비교

표 54와 같이 고추 종자에 적합한 프라이밍 처리 조건들을 선정하여 정상적인 환경(0 mM NaCl)과 염 스트레스 환경(100 mM NaCl)에서 발아특성 평가를 수행하였다.

표 54. 고추 종자에 선정된 프라이밍 처리 방법 및 조건

Priming methods	Treatment	Solution	Treatment condition
Hydro	D.W	Distilled water	25°C, 50 hr
	Epi	10-6 M Epi	
	SNP	10-4 M SNP	
	Put	50 mM putrescine	
Drum	D2060	Distilled water	Hydration: 20°C, 20 hr, incubation: 20°C, 60 hr
Halo	KNO3	300 mM KNO3	20°C, 72 hr

(가) 최적 환경(0 mM NaCl)에서의 발아특성 평가

최적 환경에서 프라이밍 처리 종자들의 발아특성을 평가한 결과, 무처리 종자는 평균발아율에 도달하는데 10일 소요되었으나, 프라이밍 처리 종자들이 평균발아율에 도달하기까지 3-4일 소요되었다. Epi, SNP, Put을 수화프라이밍과 혼용 처리했을 때의 평균발아일수는 3.0-3.4일로 수화프라이밍 단용 처리의 평균발아일수 4.0일보다 단축된 결과를 보였다. 발아속도는 무처리 종자가 가장 낮았으며, Put, D2060, Epi, SNP, KNO₃, D.W 처리 종자의 순서로 향상된 결과를 보였다. 프라이밍 처리를 한 결과, 무처리 종자에 비해 발아가 균일하게 되었으며, Epi, SNP, Put과 D2060 처리 종자에서 발아균일성이 크게 향상되었다. 건전묘율은 D2060 처리가 96%로 가장 높았으며, 이외의 프라이밍 처리 종자들은 무처리 종자와 유의차가 없었다. 따라서 프라이밍 처리는 최적 환경에서의 고추 종자의 최종발아율과 건전묘율에는 영향이 없었으나, 초기 발아와 발아균일성을 향상시키는 결과를 보였다(그림 24, 25와 26).

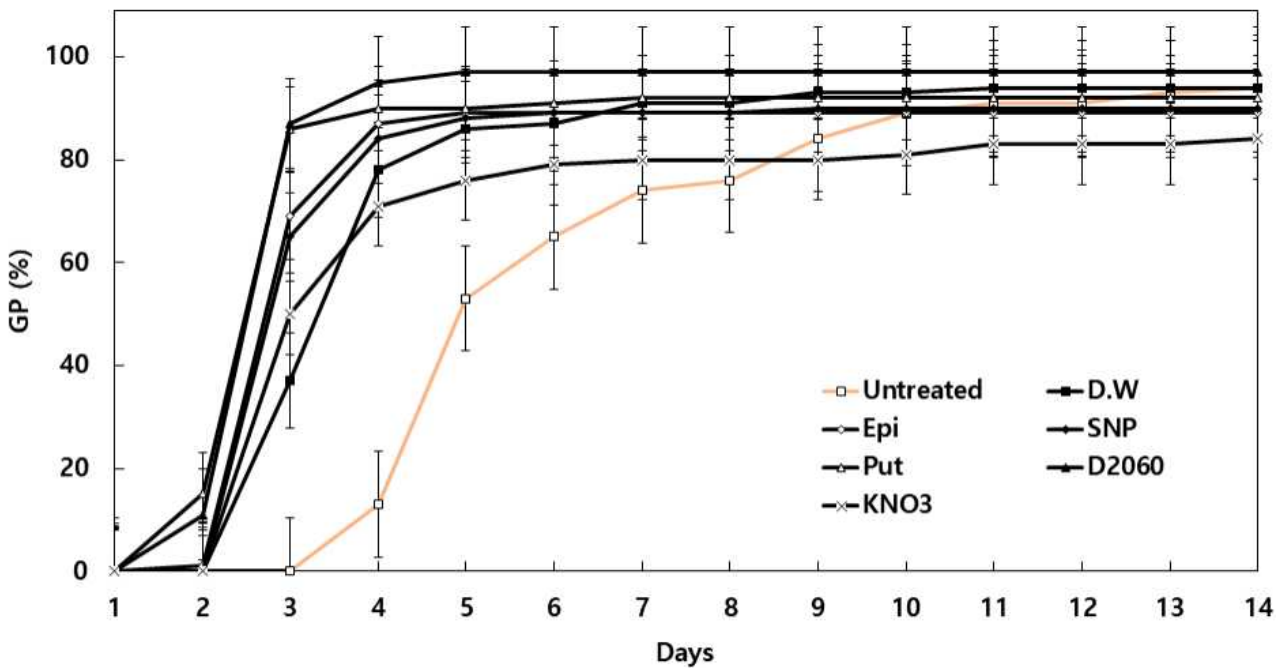


그림 24. 정상적인 환경(0 mM NaCl)에서 프라이밍 처리 종자들의 누적발아율

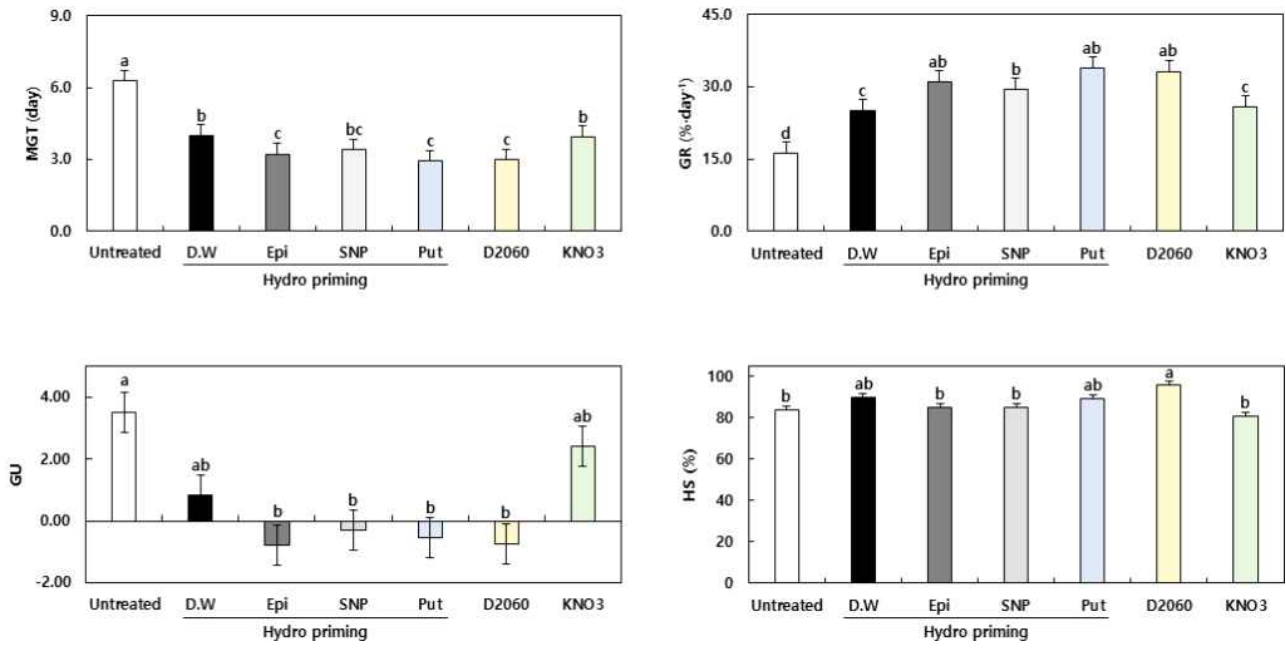


그림 25. 정상적인 환경(0 mM NaCl)에서 프라이밍 처리 종자들의 발아특성

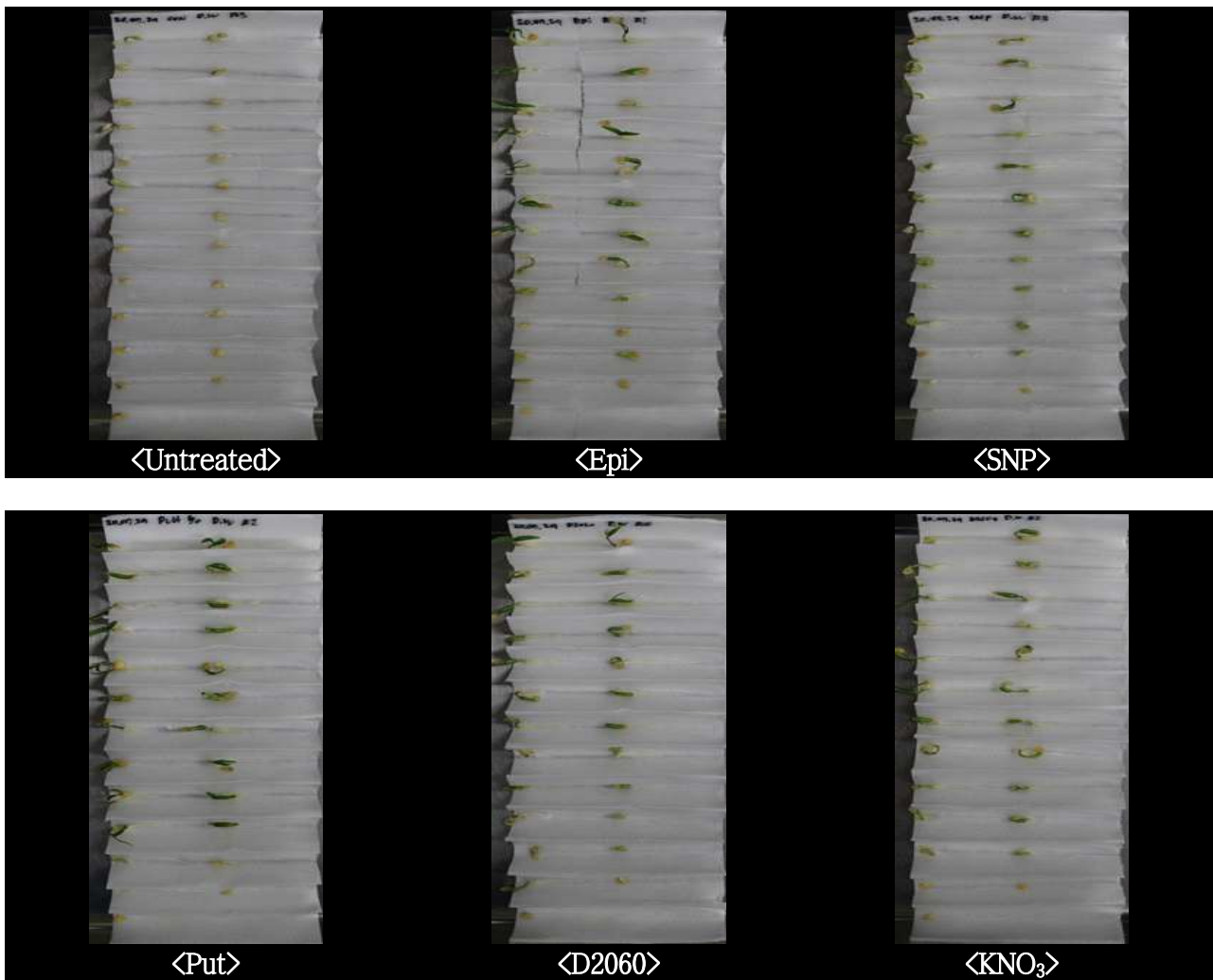


그림 26. 정상적인 환경(0 mM NaCl)에서 고추 종자의 발아모습(파종 후 7일차)

(나) 염 스트레스 환경(100 mM NaCl)에서의 발아특성 평가

100 mM NaCl 용액을 사용한 염 스트레스 환경에서 프라이밍 처리 종자들의 발아특성을 평가하였다. 무처리 종자의 4일차 발아율은 0%로 발아가 되지 않았지만, 프라이밍 처리 종자들의 4일차 발아율은 31-88% 결과를 보였으며, Epi 처리 종자가 88%로 가장 높았다. 프라이밍 처리 종자들의 평균발아일수는 4.0-5.4일로 무처리 종자의 평균발아일수 6.6일 보다 1.2-2.6일 단축되었다. 증류수를 이용한 수화프라이밍 단용 처리 종자의 평균발아일수는 5.4일인데 반해 Epi, SNP, Put 혼용 처리 종자의 평균발아일수는 4.1-4.4일의 결과를 보였다. 발아속도는 D2060 처리 종자($25.2\% \cdot \text{day}^{-1}$)가 무처리 종자($15.2\% \cdot \text{day}^{-1}$)보다 66% 향상되어 가장 빨랐으며, 발아균일성은 유의차가 없었다. 염 스트레스 환경에서의 건전묘율은 무처리 종자가 66%로 가장 낮았으며, 프라이밍을 처리했을 때 건전묘율이 최소 77%에서 최대 94%까지 향상된 결과를 보였다. 따라서 프라이밍 처리는 염 스트레스 환경에서 고추 종자의 발아속도 증가와 함께 건전묘율을 향상시켰고, 프라이밍 처리로 인해 염 스트레스에 의해 유발된 고추 유묘의 생육 저해가 완화된 결과를 보였다(그림 27, 28과 29).

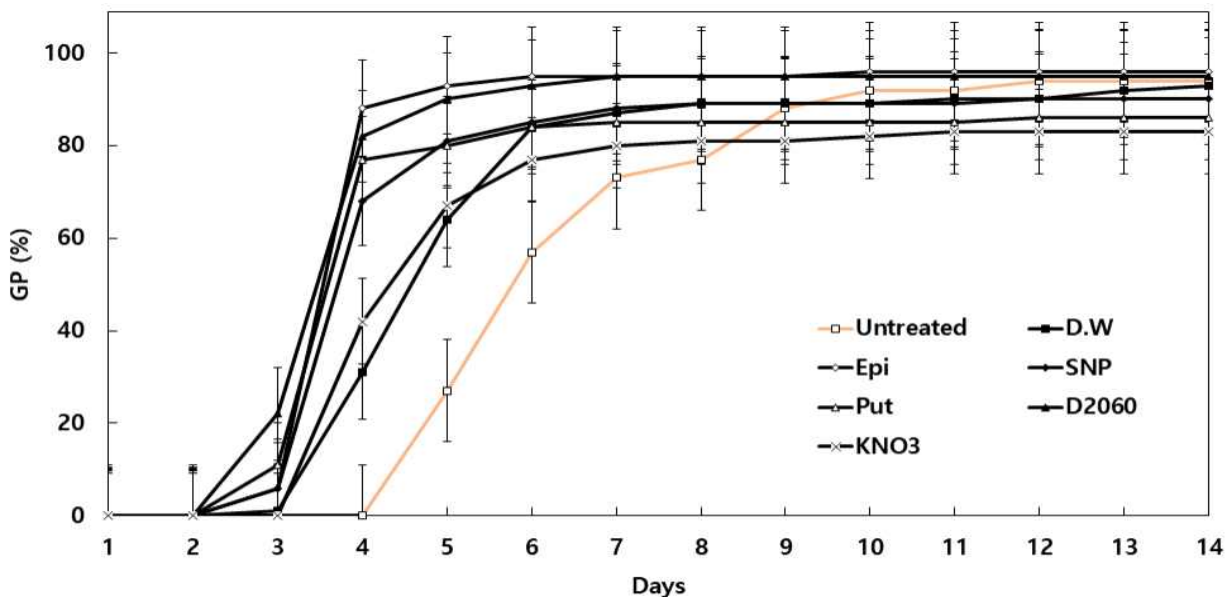


그림 27. 염 스트레스 환경(100 mM NaCl)에서 프라이밍 처리 종자들의 누적발아율

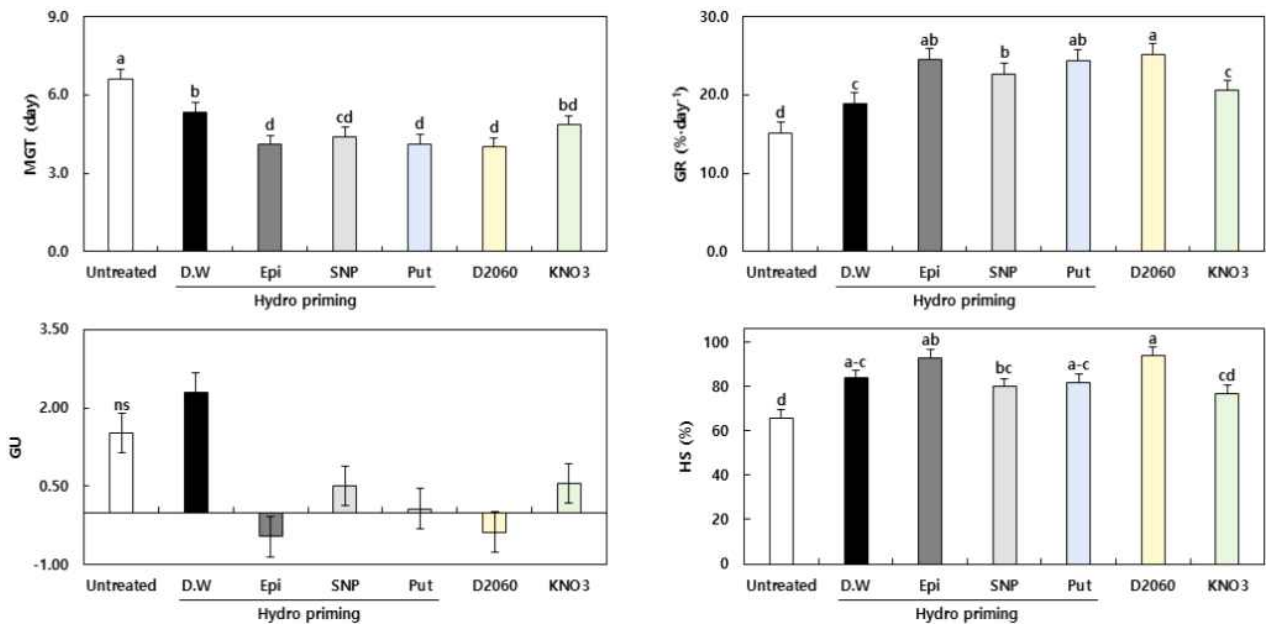


그림 28. 염 스트레스 환경(100 mM NaCl)에서 프라이밍 처리 종자들의 발아특성

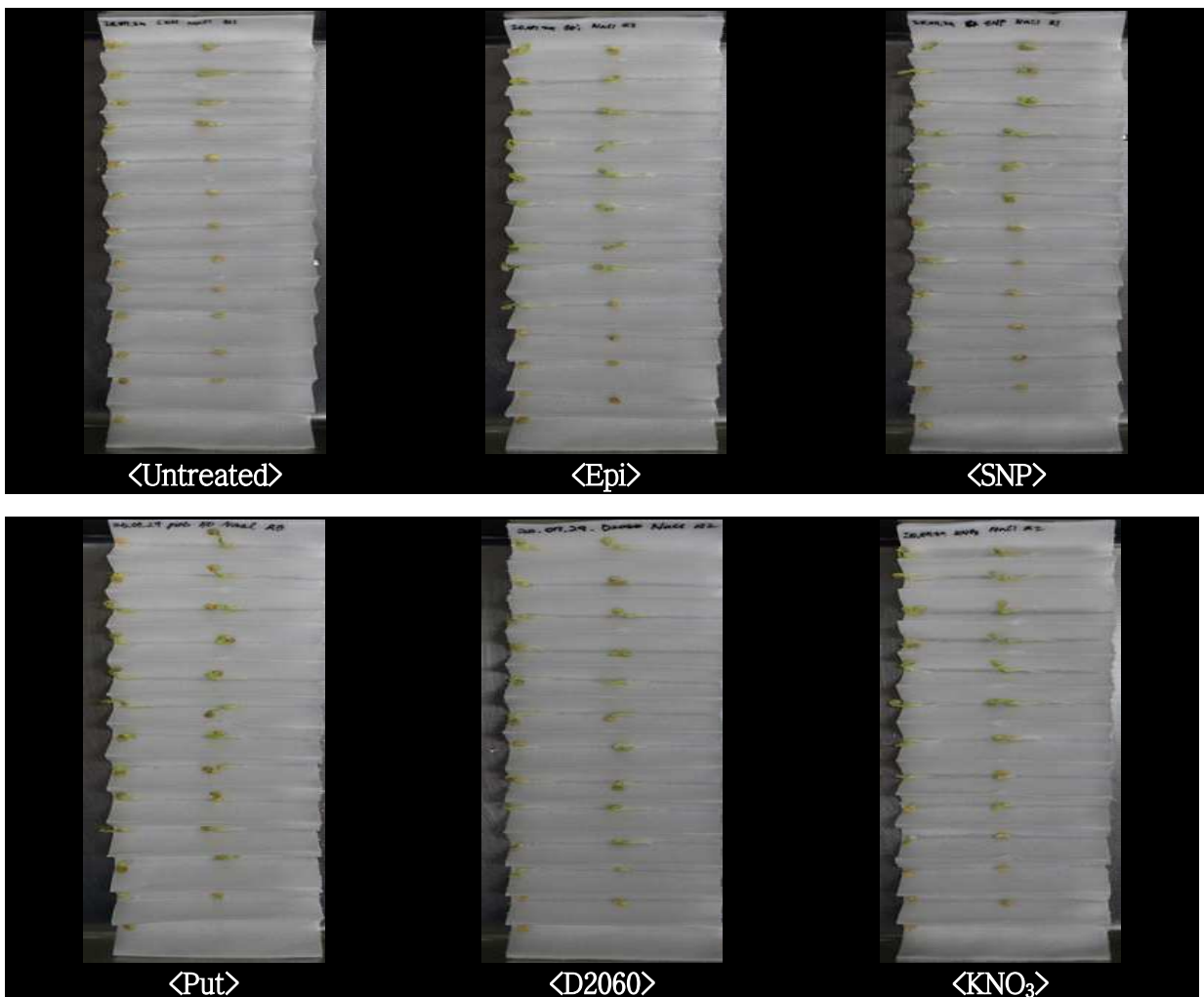


그림 29. 염 스트레스 환경(100 mM NaCl)에서 고추 종자의 발아모습(파종 후 7일차)

(5) 종자 전처리가 항산화 활성에 미치는 영향

(가) 종자전처리가 종자의 총 폴리페놀 함량에 미치는 영향

종자의 수분흡수에 따른 총 폴리페놀 함량을 측정하기 위해 0, 100 mM NaCl 용액에 0, 1, 2일간 종자를 흡습시켰다. 그 결과, 흡습되어진 종자가 흡습되지 않은 건조종자보다 폴리페놀 함량이 증가되었다. 종자를 흡습시키지 않은 경우, 증류수(D.W), Epi, SNP, D2060 처리 종자의 폴리페놀 함량은 각각 402, 394, 400, 472 100 mg GAE/g으로 무처리 종자의 폴리페놀 함량(377 100mg GAE/g)보다 증가되었다. 정상적인 환경에서 1일 흡습한 경우, D.W, Epi, SNP, D2060 처리종자가 무처리 종자보다 폴리페놀 함량이 높았으며, 수화프라이밍 단용 처리(464 100mg GAE/g)보다 Epi와 SNP를 혼용처리(512, 512 100 mg GAE/g) 했을 때 폴리페놀 함량이 향상되었다. 정상적인 환경에서 2일 흡습된 종자의 폴리페놀 함량은 Epi, SNP, D2060 처리 종자가 509-514 100 mg GAE/g으로 무처리 종자(488 100 mg GAE/g)보다 높았다. 염 스트레스 환경에서 1일 흡습한 종자는 Epi, D2060 처리종자가 가장 높았으며, 수화프라이밍 단용 처리 종자(430 100 mg GAE/g)보다 Epi와 SNP 혼용 처리 종자(502, 467 100 mg GAE/g)에서 폴리페놀 함량이 더 높은 결과를 보였다. 염 스트레스 환경에서 2일 흡습한 경우, Epi와 D2060 처리종자의 폴리페놀 함량이 530, 541 100 mg GAE/g으로 무처리 종자(484 100 mg GAE/g)보다 증가되었다(표 55).

표 55. 흡습된 고추 종자의 총 폴리페놀 함량

Priming	Treatment	Total polyphenol contents (100 mg GAEz/g)				
		0 mM NaCl			100 mM NaCl	
		0 day	1 day	2 day	1 day	2 day
Hydro	D.W	402 ^{by}	464 ^c	444 ^{cd}	430 ^d	458 ^c
	Epi	394 ^b	512 ^b	510 ^a	502 ^a	530 ^a
	SNP	400 ^b	512 ^b	514 ^a	467 ^b	477 ^b
	Put	343 ^d	440 ^d	456 ^c	442 ^{cd}	459 ^c
Drum	D2060	472 ^a	553 ^a	509 ^a	500 ^a	541 ^a
Halo	KNO ₃	356 ^d	405 ^e	439 ^d	446 ^c	441 ^d
	Untreated	377 ^c	442 ^d	488 ^b	435 ^{cd}	484 ^b

^zGAE, galic acid equivalent. ^yDuncan's test at P <0.001.

(나) 종자전처리가 종자의 ABTS⁺ 라디칼 소거능에 미치는 영향

종자의 수분흡수에 따른 ABTS⁺ 라디칼 소거능을 측정하기 위해 0, 100 mM NaCl 용액에 0, 1, 2일간 종자를 흡습시켰다. 흡습되지 않은 건조종자에서는 KNO₃ 처리 종자를 제외한 모든 프라이밍 처리 종자들의 ABTS⁺ 라디칼 소거능이 무처리 종자보다 향상되었으며, D2060 처리 종자가 77.2%로 가장 높았다. 정상적인 환경에서 1일 동안 흡습한 경우, 모든 프라이밍 처

리종자들의 ABTS⁺ 라디칼 소거능은 72.8-85.4%로 무처리 종자(67.7%)에 비해 증가되었다. 2일 동안 흡습한 결과, Put 처리 종자를 제외한 모든 프라이밍 처리 종자가 무처리 종자보다 ABTS⁺ 라디칼 소거능이 높았으며, SNP와 D2060 처리 종자가 84.4, 83.9%의 결과를 보였다. 염 스트레스 환경에서 1일 동안 흡습한 경우, 무처리 종자의 ABTS⁺ 라디칼 소거능(67.0%)보다 모든 프라이밍 처리 종자에서 향상되었으며, SNP와 D2060 처리종자가 83.6, 83.5%로 가장 높았다. 염 스트레스 환경에서 2일 흡습된 종자의 ABTS⁺ 라디칼 소거능은 Put 처리종자를 제외한 모든 프라이밍 처리 종자(77.2-87.0%)가 무처리 종자(76.4%)보다 향상되었으며 D2060 처리 종자가 87.0%로 가장 높았다(그림 30과 31).

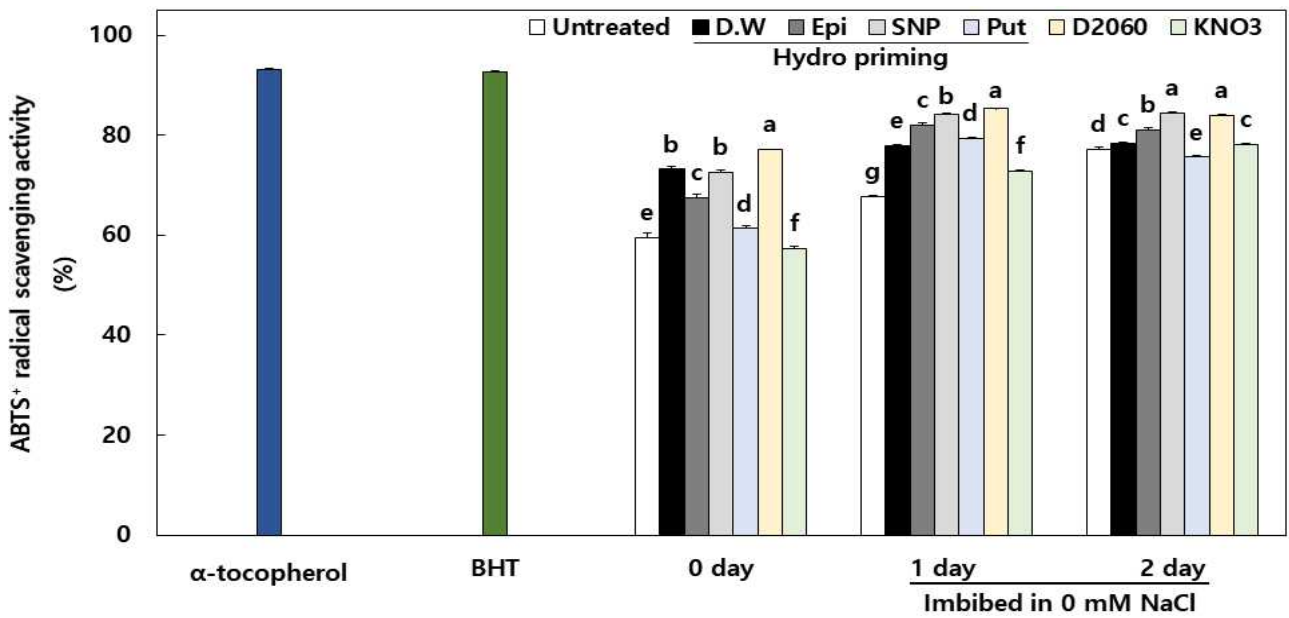


그림 30. 정상적인 환경(0 mM NaCl)에서 흡습된 고추 종자의 ABTS⁺ 자유 라디칼 소거능

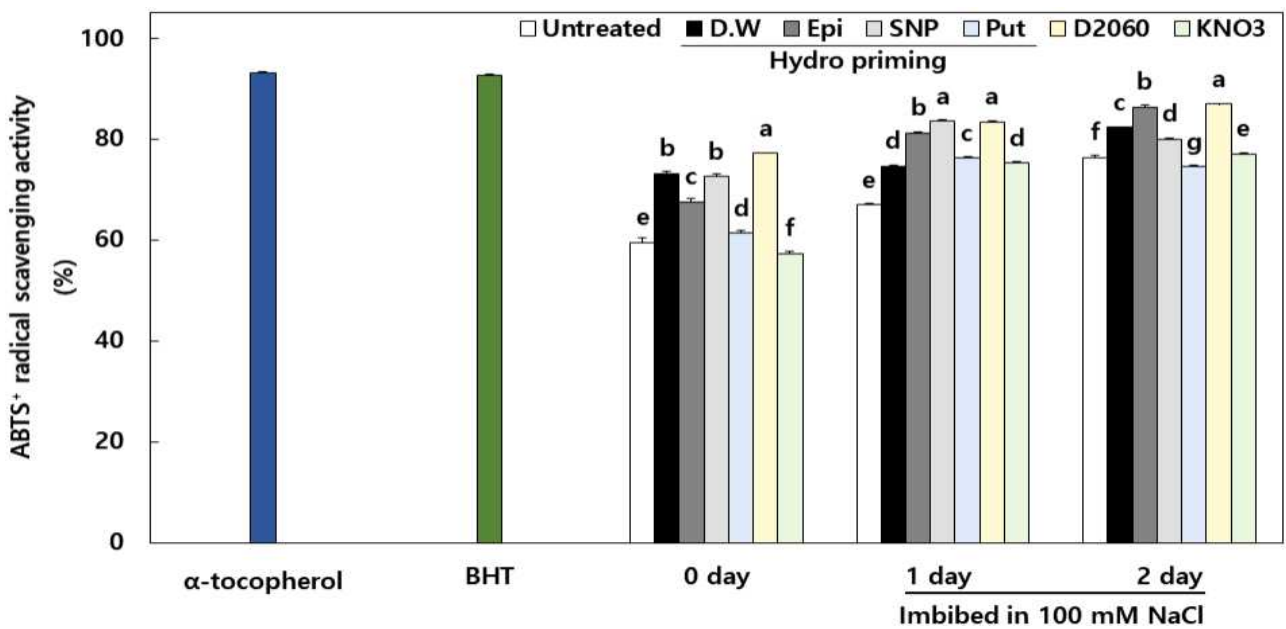


그림 31. 염 스트레스 환경(100 mM NaCl)에서 흡습된 고추 종자의 ABTS⁺ 자유 라디칼 소거능

(다) 종자전처리가 종자의 malondialdehyde (MDA) 함량에 미치는 영향

종자를 0, 100 mM NaCl 용액에 0, 2일간 흡습시킨 후 MDA를 측정된 결과, 흡습되지 않은 건조종자의 상태에서는 Epi, SNP, Put을 이용한 수화프라이밍 혼용 처리 종자와 KNO₃ 처리 종자에서 MDA가 감소된 결과를 보였다. 정상적인 환경(0 mM NaCl)에서 흡습한 경우, Epi와 KNO₃ 처리 종자를 제외한 프라이밍 처리종자들의 MDA값이 감소되었으며, 염 스트레스 환경(100 mM NaCl)에서는 D.W, KNO₃ 처리 종자의 MDA값이 무처리 종자보다 증가되었다(그림 32). Malondialdehyde (MDA)는 지질이 활성산소 등에 의해 발생하는 과산화반응을 통해 생성되는 것으로, 시료의 산화적 스트레스를 나타내는 지표로 사용된다(Bailly et al., 1996). 본 실험 결과 무처리 종자보다 프라이밍종자의 함량이 낮으므로 프라이밍처리로 MDA의 함량이 저하되었음을 보인다. 정상적인 조건에서 흡습되었을 때 수화프라이밍 단용 처리의 MDA는 낮게 측정되었지만 염 스트레스 환경에서 흡습된 경우, 단용 처리와 KNO₃ 처리의 MDA가 높게 측정되었다.

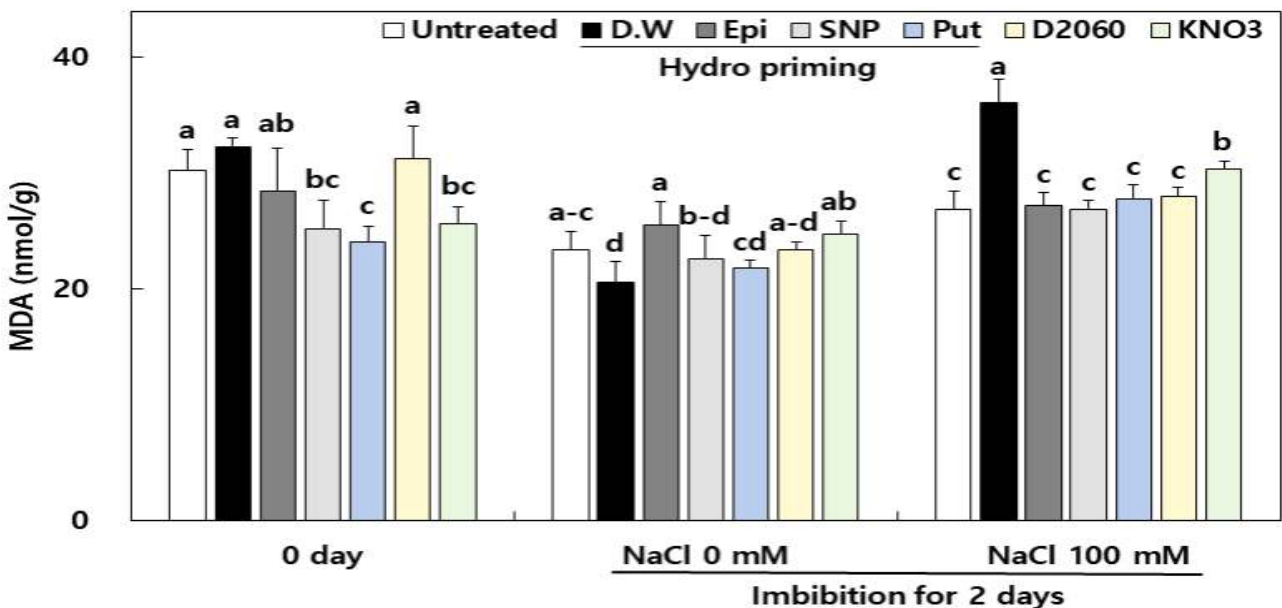


그림 32. 흡습된 고추 종자의 총 MDA 함량

(라) 종자전처리가 종자의 항산화효소활성에 미치는 영향

종자의 수분흡수에 따른 항산화효소 활성을 측정하기 위해 0, 100 mM NaCl 용액에 0, 2일간 종자를 흡습한 후 SOD, CAT, POD, GR을 측정한 결과는 다음과 같다. SOD는 정상적인 환경에서 종자를 흡습한 경우, 수화프라이밍을 단용으로 처리 했을 때 SOD의 활성이 무처리 종자보다 23% 감소되었지만 Epi, SNP, Put을 혼용 처리 시 단용 처리 종자(D.W)의 SOD 활성보다 25%, 41%, 27% 향상되었다. CAT 활성은 정상적인 환경에서 흡습한 경우, D.W 처리 종자가 무처리 종자에 비해 6% 증가되었으며, 염 스트레스 환경에서는 D2060 처리 종자의 CAT 활성이 무처리 종자보다 12% 향상되었다(그림 33). 종자의 POD 활성은 수화프라이밍을 단용 처리했을 때 무처리 종자보다 감소하였으며, Epi, SNP, Put 혼용 처리 종자는 단용 처리 종자보다 POD의 활성이 증가되었다. 염 스트레스 환경에서 종자를 흡습시킨 경우, 무처리, 증류수(D.W), SNP, Put, KNO₃ 처리 종자의 POD 활성이 정상적인 환경에서 흡습된 종자보다 증가

되었다. 흡습되지 않은 건조종자의 경우, D2060 처리 종자의 POD 활성이 무처리 종자보다 38% 향상되었으며, SNP 처리 종자는 22% 향상된 결과를 보였다. POD 활성은 정상적인 환경에서 흡습했을 때 Epi 처리 종자가 무처리 종자 대비 40% 증가되었으며, 염 스트레스 환경에서는 SNP 처리 종자가 무처리 종자 대비 14%로 가장 향상되었다. 흡습되지 않은 건조 종자의 경우, GR의 활성은 모든 프라이밍 처리 종자들이 무처리 종자에 비해 향상되었으며, Put 처리 종자와 D2060 처리 종자가 무처리 종자보다 24%, 21% 향상되었다. 종자를 흡습한 경우, 정상적인 환경보다 염 스트레스 환경에서 모든 처리 종자들의 GR 활성이 증가되었으며 염 스트레스 환경에서 흡습한 경우, Epi, SNP 처리 종자의 GR 활성이 무처리 종자보다 10%, 14% 향상되었다(그림 34).

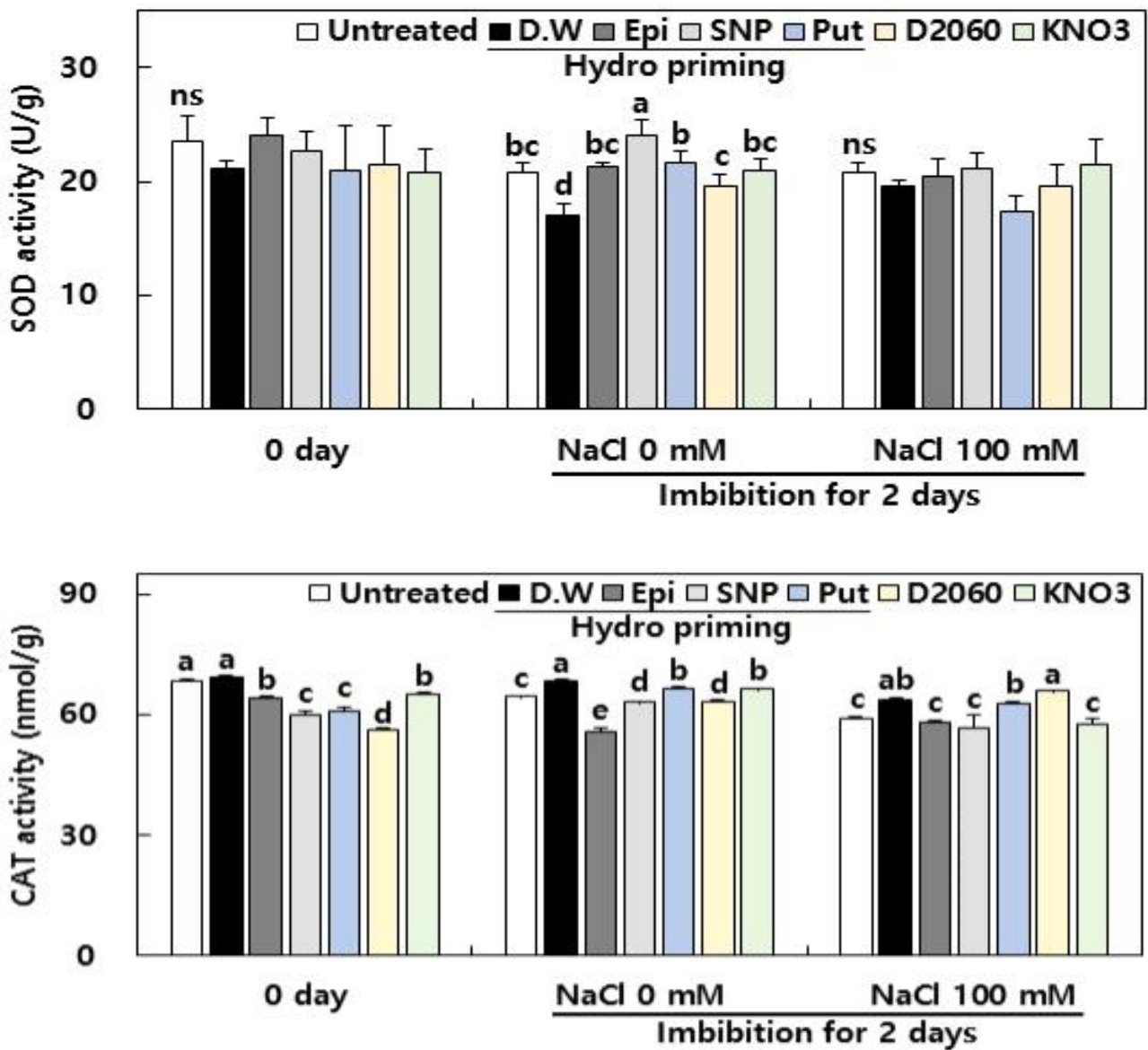


그림 33. 흡습된 고추 종자의 SOD, CAT 활성

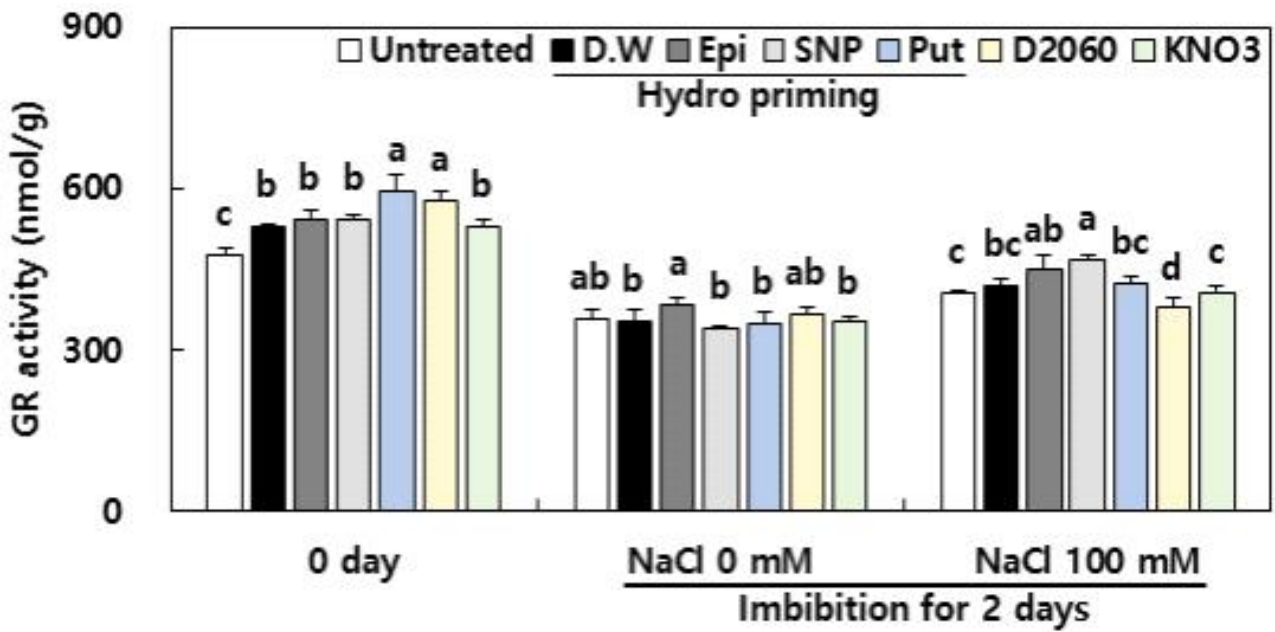
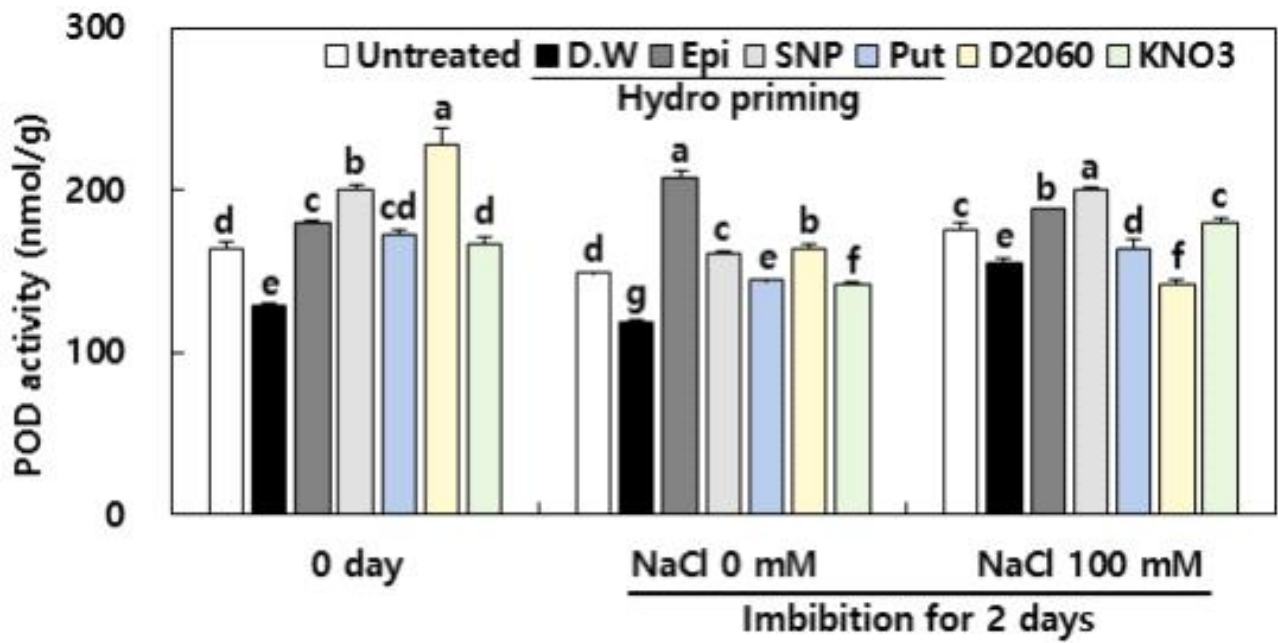


그림 34. 흡수된 고추 종자의 POD, GR 활성

(6) 유묘 성장조사 및 항산화활성 분석

(가) 유묘 성장조사

0, 100 mM NaCl 환경에서 생육된 2주차 유묘의 성장조사 결과, 정상적인 환경에서는 Epi 처리 유묘의 지상부 길이(30.28 mm)와 생체중(30.23 mg)이 무처리 유묘(28.21 mm/26.76 mg) 보다 증가되었다. 염 스트레스 환경에서는 모든 프라이밍 처리 유묘들이 무처리 유묘보다 지상부의 길이와 생체중이 향상된 결과를 보였으며, 지하부의 생체중은 Epi 처리 유묘가 12.03 mg 으로 가장 증가되었다(표 56과 57).

표 56. 정상적인 환경(0 mM NaCl)에서 2주차 고추 유묘의 성장조사

Treatment	Length (mm)		Fresh weight (mg)	
	Shoot	Root	Shoot	Root
Hydro	29.19abz	146.57ns	26.32c	13.55b
Epi	30.28ab	145.06	30.23ab	14.78b
SNP	27.00c	143.41	26.95bc	15.12b
Put	28.86a-c	141.23	29.39a-c	17.00a
D2060	24.73d	136.91	26.06c	15.13b
KNO3	28.62a-c	140.74	30.53a	17.47a
Untreated	28.21bc	139.06	26.76c	15.09b

Seeds were germinated at 30/20°C (8 hr, light/16 hr, dark) for 14 days. ²Duncan's test at P<0.05 and ns: non-significant.

표 57. 염 스트레스 환경(100 mM NaCl)에서 2주차 고추 유묘의 성장조사

Treatment	Length (mm)		Fresh weight (mg)	
	Shoot	Root	Shoot	Root
Hydro	15.83bcz	74.83ns	22.15a	10.49bc
Epi	17.57a-c	86.30	23.96a	12.03a
SNP	16.15bc	81.00	22.67a	10.88a-c
Put	17.03a-c	72.78	24.46a	9.84c
D2060	17.96ab	79.37	24.68a	10.24bc
KNO3	18.87a	84.05	22.68a	11.66ab
Untreated	15.31c	80.05	18.50b	10.07c

Seeds were germinated at 30/20°C (8 hr, light/16 hr, dark) for 14 days. ²Duncan's test at P<0.05 and ns: non-significant.

(나) 유묘 총 폴리페놀 함량

0, 100 mM NaCl 환경에서 성장한 유묘의 총 폴리페놀 함량을 측정한 결과, 모든 환경에서 프라이밍 처리 유묘들의 총 폴리페놀 함량은 무처리 유묘보다 낮은 함량을 보였다. 염 스트레스 환경에서의 폴리페놀 함량이 감소된 비율을 측정한 결과, 무처리 유묘가 30%로 가장 크게 감소되었으며, Epi 처리 유묘는 14%로 가장 작게 감소된 결과를 보였다(표 58).

표 58. 2주차 고추 유묘의 총 폴리페놀 함량

Priming	Treatment	Total polyphenol contents (100 mg GAEz/g)		
		0 mM NaCl	100 mM NaCl	% (-)
Hydro	D.W	438 ^{by}	318 ^c	27
	Epi	414 ^c	357 ^b	14
	SNP	384 ^d	296 ^d	23
	Put	438 ^b	357 ^b	18
Drum	D2060	404 ^c	311 ^c	23
Halo	KNO3	384 ^d	315 ^c	18
	Untreated	589 ^a	411 ^a	30

^zGAE, galic acid equivalent. ^yDuncan's test at P <0.001.

(다) 유묘 ABTS⁺ 라디칼 소거능

0, 100 mM NaCl 환경에서 성장한 유묘의 ABTS⁺ 라디칼 소거능을 측정한 결과는 그림 35 와 같다. 정상적인 환경과 염 스트레스 환경 모두 무처리 유묘의 ABTS⁺ 라디칼 소거능이 가장 높았으며 모든 처리 유묘들의 ABTS⁺ 라디칼 소거능은 정상적인 환경보다 염 스트레스 환경에서 감소된 결과를 보였다. Epi를 이용한 혼용 처리 유묘의 감소폭은 12%로, 수화프라이밍 단 용 처리 유묘의 감소폭(24%)보다 낮아졌다.

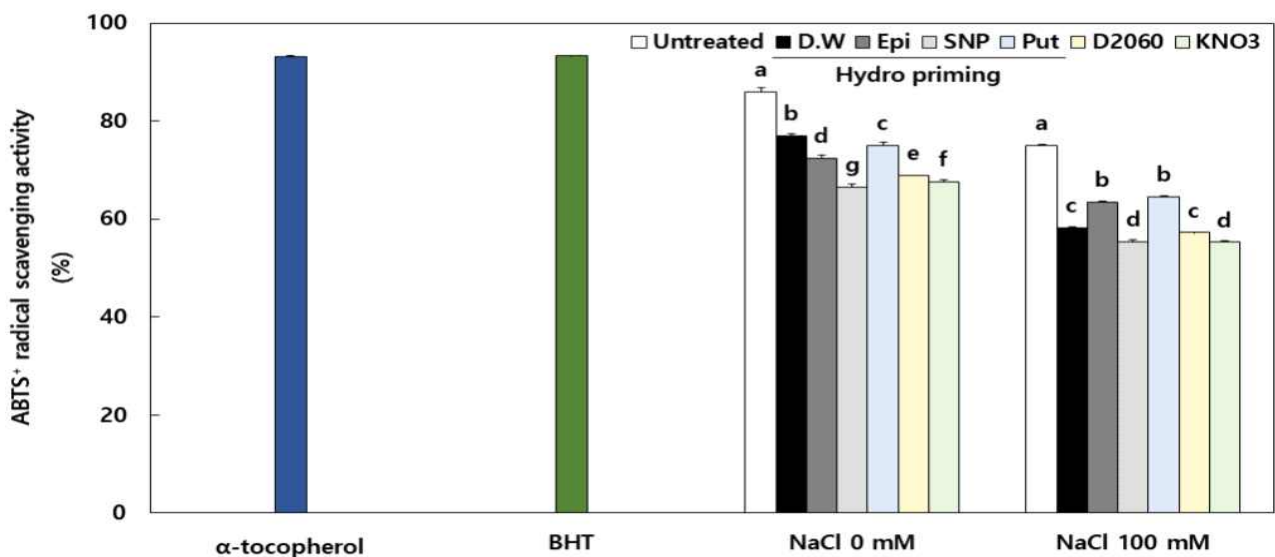


그림 35. 2주차 고추 유묘의 ABTS⁺ 자유라디칼 소거능

(라) 유묘 MDA

0, 100 mM NaCl 환경에서 성장한 유묘의 MDA를 측정된 결과, 정상적인 환경에서 MDA 값은 SNP 처리 유묘에서 가장 낮은 결과를 보였으며, 무처리 유묘의 MDA 값은 염 스트레스 환경에서 정상적인 환경보다 39% 높은 결과를 보였다. 모든 프라이밍 처리 유묘들은 염 스트레스 환경에서 무처리 유묘보다 낮은 MDA 값이 측정되었다(그림 36).

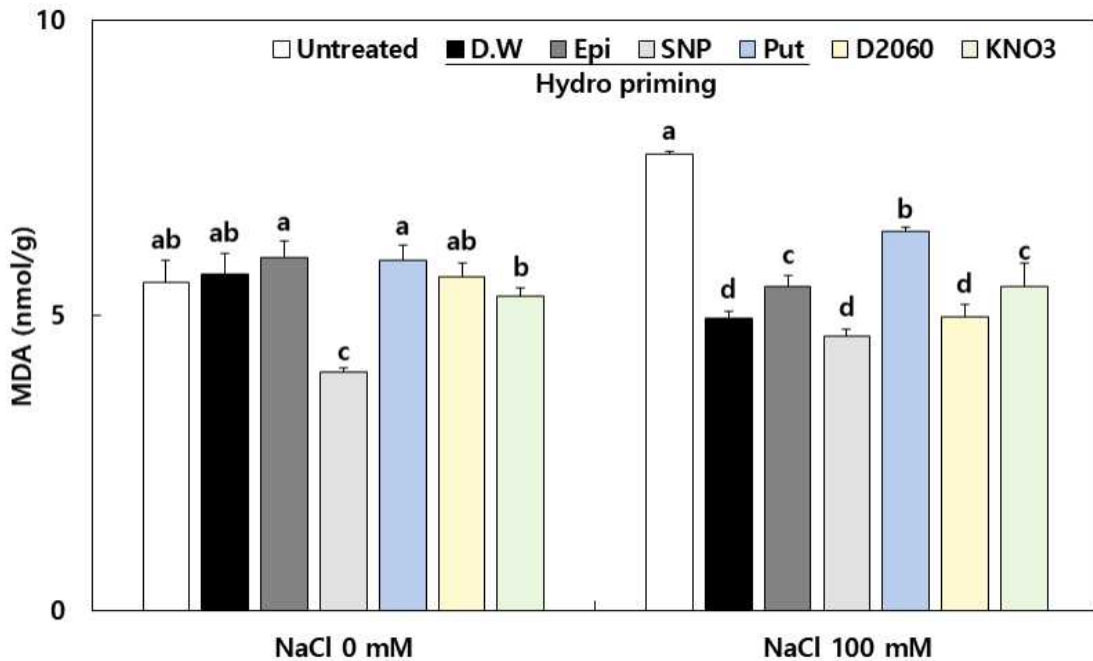


그림 36. 2주차 고추 유묘의 MDA 함량

(마) 유묘 항산화효소

0, 100 mM NaCl 환경에서 성장한 유묘의 SOD, CAT, POD, GR의 활성을 측정된 결과는 다음과 같다. 정상적인 환경에서의 SOD 활성은 모든 프라이밍 처리 유묘들이 무처리 유묘보다 10-18% 향상되었으며, 염 스트레스 환경에서는 처리간의 유의차가 없었다. CAT의 활성은 염 스트레스 환경에서 무처리 유묘보다 프라이밍 처리 유묘들이 향상된 결과를 보였다(그림 4.37). POD의 활성은 정상적인 환경에서 Epi, SNP 처리 유묘들이 무처리 유묘보다 34%, 24% 증가되었으며, 염 스트레스 환경에서는 수화프라이밍 단용 처리 유묘에 비해 Epi, SNP, Put 혼용 처리 유묘가 90%, 27%, 151% 증가된 결과를 보였다. GR의 활성은 정상적인 환경에서 수화프라이밍 단용 처리 시 무처리 유묘 대비 29% 향상되었으며, 염 스트레스 환경에서는 SNP 혼용 처리의 GR 활성이 단용 처리에 비해 10% 증가된 결과를 보였다(그림 38).

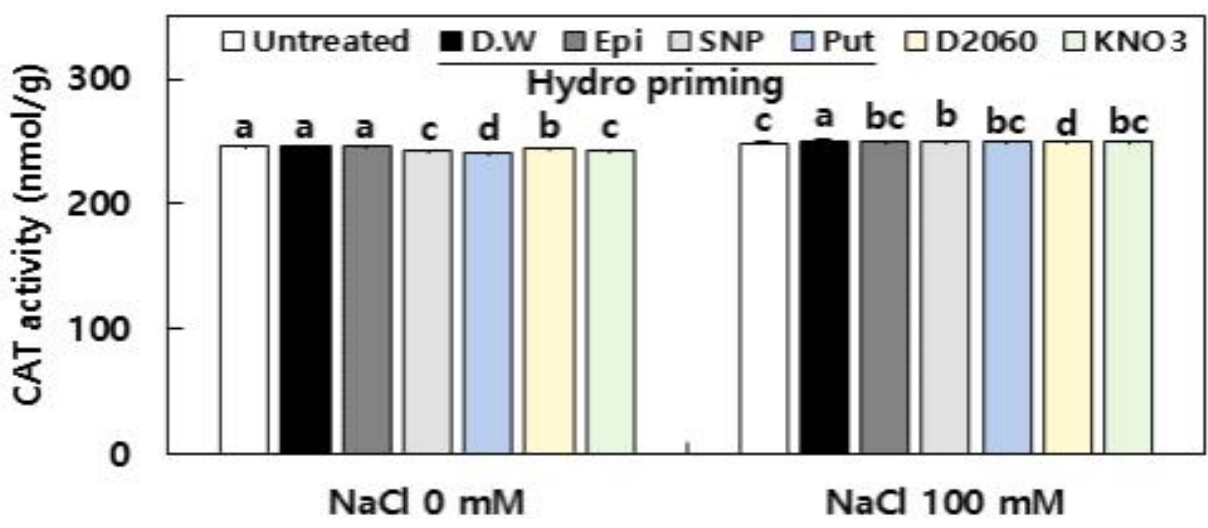
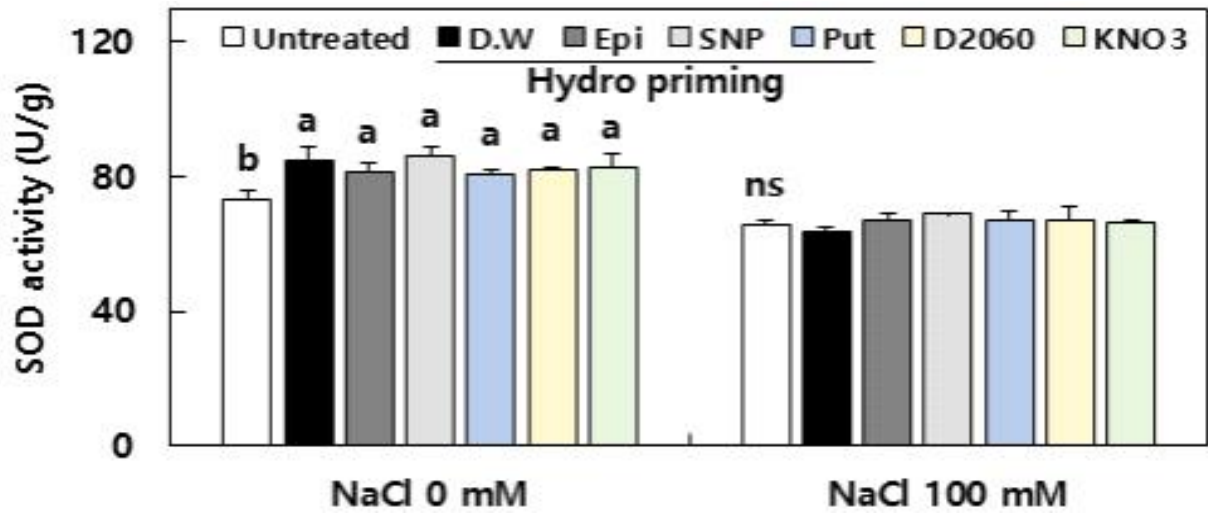


그림 37. 2주차 고추 유묘의 SOD, CAT 활성

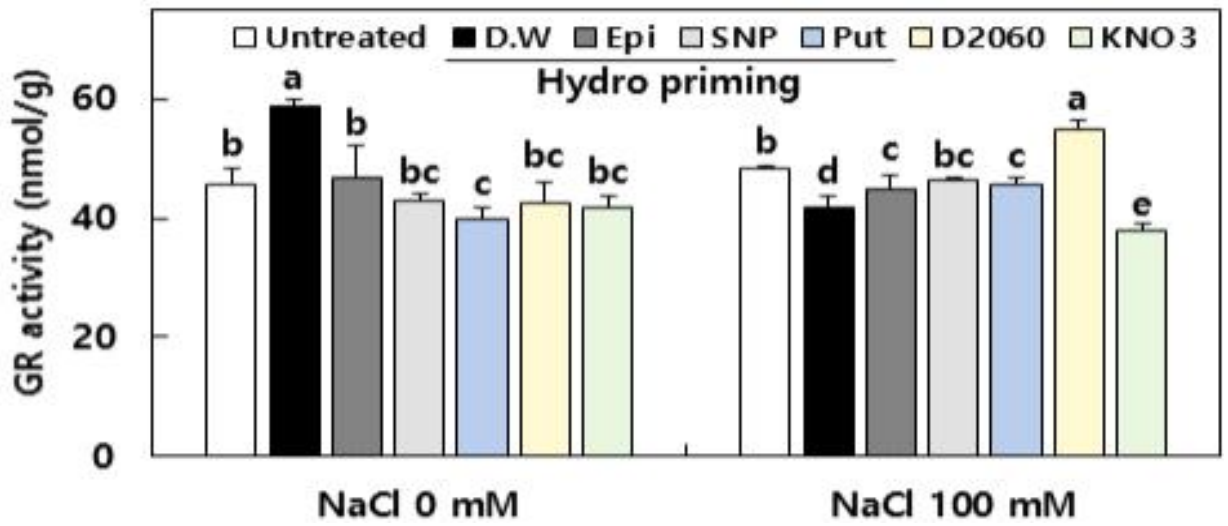
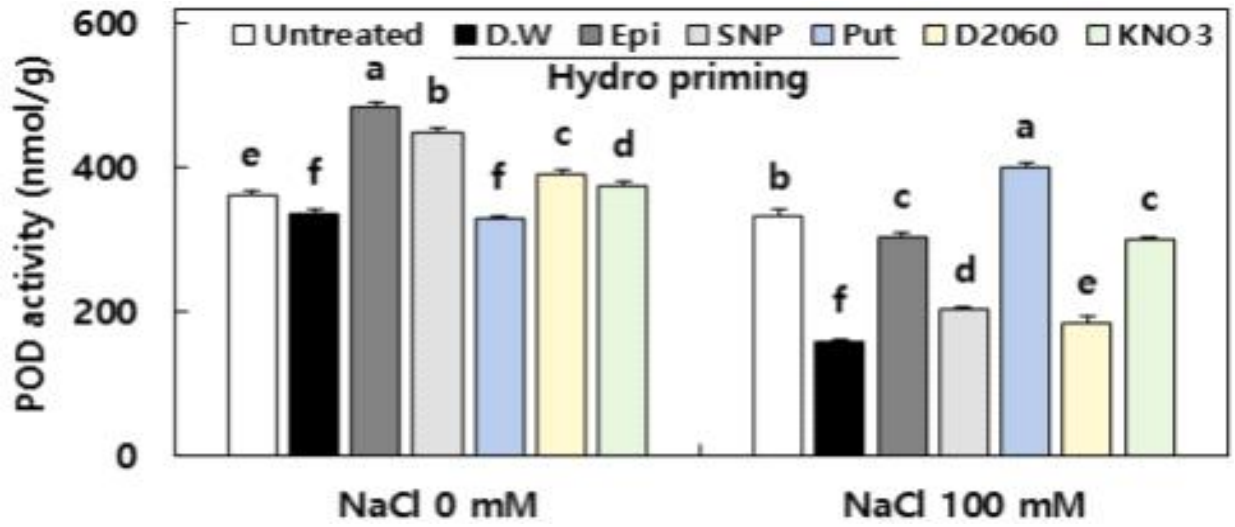


그림 38. 2주차 고추 유묘의 POD, GR 활성

3. 토마토 종자의 발아특성 증진을 위한 프라이밍 처리기술 개발

가. 연구목표

가지과 작물 중 토마토 종자는 대표적인 고가 종자로 프라이밍 처리 종자로 판매된다. 발아율이 높은 수입품을 대체할 프라이밍 처리 기술의 개발이 본 연구의 목적이다. 불량환경에서의 발아율, 발아속도, 균일성의 향상뿐만 아니라, 기계파종을 위한 필요 처리기술인 펠렛 또는 필름 코팅 처리 시 부수적으로 발생할 수 있는 발아저해의 문제를 프라이밍 기술로 극복할 수 있도록 프라이밍 기술을 개발하여 복합처리에 적용하고자 하였다.

이를 위하여 다양한 프라이밍 처리 기술을 적용하여 최적의 기술을 선별하고자 하였다. 삼투프라이밍, (초)음파와 혼연액 혼용 프라이밍 처리, 수화 및 드럼 프라이밍처리방법을 수행하고 저온스트레스 환경에서의 발아특성을 조사하여 최적방법을 선별하였다.

나. 재료 및 방법

(1) 토마토 종자의 발아특성 증진을 위한 삼투프라이밍 처리

삼투포텐셜 범위가 프라이밍 처리 온도인 20°C 온도에서 -0.46 to -1.54 MPa인 a_2SO_4 , K_2SO_4 , KNO_3 3종의 무기염류를 100, 200, 300 mM 3수준의 농도와 PEG 8000 (17%, 23%, 27%)를 프라이밍 소재로 사용하였다. 협동과제에서 제작한 프라이밍 장비에 5 g의 종자를 500 mL의 용액에 넣은 후 삼각플라스크를 20°C 항온의 물에 충분히 잠기도록 배치한 후 산소공급기를 꼽고 암상태에서 2일, 4일, 6일, 4일+2일(농도순차처리) 처리하였다. 농도순차처리는 100 mM (또는 17% PEG)에 4일 프라이밍 처리 후 바로 300 mM (27%)에 2일간 총 6일간 처리 또는 300 mM (또는 27% PEG)에 4일 프라이밍 처리 후 바로 100 mM (17%)에 2일간 처리하여 삼투포텐셜을 순차적 조절처리 하였다. 프라이밍 처리 후 삼투용액에서 꺼낸 종자를 페이퍼 타월로 용액이 묻어나지 않을 때 까지 용액을 닦아낸 후 WP4C dew point potential meter (Decagon, Pullman, WA, USA)를 이용하여 처리종자의 삼투포텐셜을 측정하고 동시에 수분함량을 조사하였다. 프라이밍 처리된 종자는 흐르는 수돗물에 충분히 수세한 후 증류수로 세척 후 20°C 40% 상대습도에서 5-7% 수준으로 종자를 건조처리하였다.

(2) 토마토 종자의 발아특성 증진을 위한 (초)음파와 liquid smoke 혼용 프라이밍 처리

5, 10, 20 kHz에서 5, 10, 20분간 처리 하였다. 염류프라이밍 혼용 처리는 15°C KNO_3 100 mM 에 침지한 상태에서 초음파 처리 후 동일 염류조건에서 4일 처리 후 건조하였다. 수화프라이밍은 15°C dH_2O 에 침지상태에서 초음파처리 후 15°C dH_2O 에 4일간 수화프라이밍 처리 후 종자를 건조하였다.

(3) 토마토 종자의 발아특성 증진을 위한 modified drum priming 처리

Modified drum priming 처리는 최적의 종자 수분함량 및 처리 조건을 규명하기 위해 hydration 처리와 incubation 처리로 구분하였다. Hydration 처리는 60 mm 지름의 petri dish 에 1 g 종자와 8 ml의 증류수를 넣고 산소공급을 위하여 100 rpm에서 3, 4, 5, 6, 시간 (hydration) 동안 15°C 온도에서 처리하였다. 처리 후 filter paper에 수분이 묻어 나오지 않도록 종자를 닦아내고 종자 수분함량을 측정하였으며 종자 수분함량이 40, 50, 60%(dry weight base) 종자를 incubation에 사용하였다. Incubation은 상대습도 99%의 26 rpm으로 회전하는 밀폐 용기에 넣어 20°C 환경에서 60, 72, 84시간 동안 진행하였다. 처리 후 25°C의 송풍건조기에서 종자 수분함량이 7%(fresh weight base) 미만이 되도록 건조하였다.

(4) 우수 종자프라이밍 전처리 방법으로 선정된 처리된 토마토 종자의 항산화 분석은 고추와 동일하게 수행하였다.

(5) 발아평가

25립 4반복으로 두 장의 filter paper를 깔고 10-cm 지름의 petri dish에 파종한 후 30/20℃ (8h/16h) 와 15 °C (12/12h) 조건에서 14일간 매일 발아율을 조사하였다. 발아특성 조사 항목은 고추종자와 동일하게 적용하였다.

다. 결과 및 고찰

(1) 토마토 종자의 삼투프라이밍 처리 기술 개발

토마토 종자도 프라이밍 용액의 삼투포텐셜과 프라이밍 처리 종자는 유사한 삼투포텐셜을 보였다. 수분함량은 삼투포텐셜이 낮을수록 감소하였고, 처리 기간에 따라 수분함량이 증가하여 6일간 처리 종자에서 43~57%의 높은 수분함량을 보였다. 순차적 삼투용액 처리구는 최종 처리된 프라이밍용액의 유사한 삼투포텐셜을 보였다 (그림 39). 제시된 결과는 파종 9일차까지의 조사값으로 건묘율은 포함되지 않았다.

발아적온 (30/20℃)에서 평가 한 결과, 2일 및 4일 처리구에서는 발아율은 처리간 유의차가 없었으나, KNO₃100 mM 처리가 MGT (2일), GR (64%)이 대조구(MGT 4일, GT 24%)에 비해 크게 향상되었으나 6일간 처리 시 크게 감소하였다 (표 59, 60과 61). 순차처리는 GP는 유의차가 없어, MGT와 GR을 고려한 결과 KNO₃ (100 mM 4일 → 300 mM 2일) 처리구가 효과적이었다 (표 62).

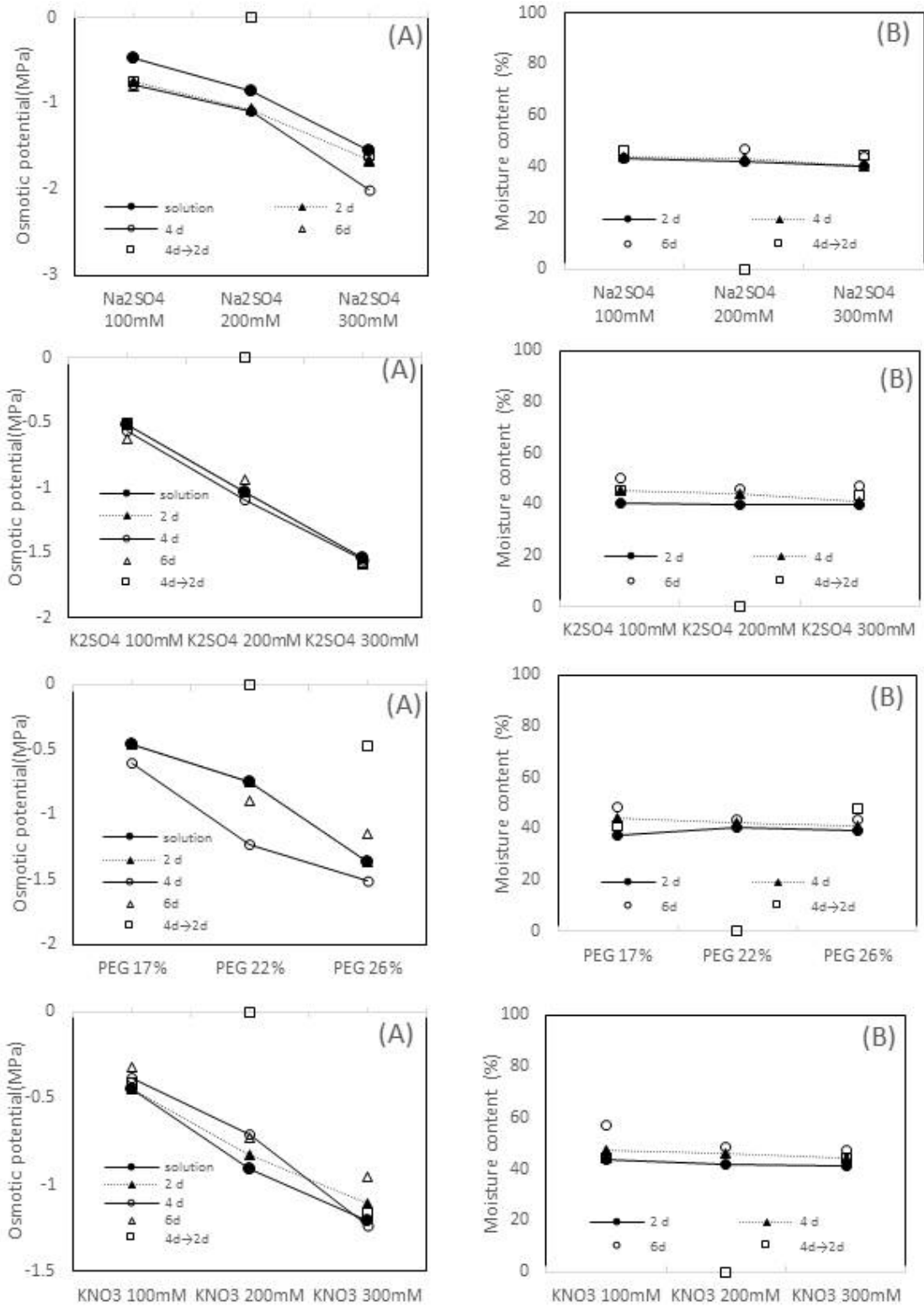


그림 39. 삼투용액의 삼투포텐셜과 삼투용액환경에서 흡습된 토마토 종자의 수분 함량

표 59. 2일간의 삼투프라이밍 처리가 적온(30/20℃)에서 토마토 종자의 발아에 미치는 영향

Solution	Conc.	GP (%)	MGT (day)	GRI	GU
Na2SO4	100 mM	96ns	2.9b	29.2b	-0.32ns
	200 mM	92	3.1b	26.9bc	-0.50
	300 mM	92	2.9b	28.5b	-0.15
K2SO4	100 mM	93	2.9b	29.9b	-0.24
	200 mM	90	2.9b	28.0b	-0.20
	300 mM	87	3.0b	26.8bc	-0.32
KNO3	100 mM	95	2.3c	36.4a	0.20
	200 mM	90	2.5c	33.4a	-0.42
	300 mM	94	2.5c	33.9a	-0.34
PEG8000	17%	92	2.9b	28.7b	-0.24
	23%	91	3.0b	27.3bc	-0.16
	27%	93	2.9b	28.1b	0.01
Untreated	0	96	3.6a	23.9c	-0.65
Solution		ns	***	***	ns
Conc.		ns	***	***	ns
Solution*Conc.		ns	ns	ns	ns

In each column, mean values with the same letter are not significantly different from each other ($p < 0.01$; Duncan's test). *, ** and *** indicate significant at $p < 0.05$, 0.01, and 0.001 level, ns: non-significant.

표 60. 4일간의 삼투프라이밍 처리가 적온(30/20℃)에서 토마토 종자의 발아에 미치는 영향

Solution	Conc.	GP (%)	MGT (day)	GRI	GU
Na2SO4	100 mM	96ns	2.8b	29.9cd	-0.53ns
	200 mM	94	3.3a	26.2de	-0.33
	300 mM	95	3.8b	29.9cd	-0.60
K2SO4	100 mM	97	3.0b	31.9c	-0.21
	200 mM	96	3.0b	29.0c-e	-0.57
	300 mM	94	3.0b	27.6c-e	-0.35
KNO3	100 mM	96	1.4d	59.9a	0.15
	200 mM	94	2.0c	42.0b	-0.35
	300 mM	93	2.1c	39.4b	-0.16
PEG8000	17%	93	3.0b	31.2cd	-0.21
	23%	92	3.0b	27.7c-e	-0.55
	27%	97	2.7b	30.1cd	0.15
Untreated	0	96	3.6a	23.9e	-0.65
Solution		ns	***	***	ns
Conc.		ns	***	***	ns
Solution*Conc.		ns	ns	ns	ns

In each column, mean values with the same letter are not significantly different from each other ($p < 0.01$; Duncan's test). *, ** and *** indicate significant at $p < 0.05$, 0.01, and 0.001 level, ns: non-significant.

표 61. 6일간의 삼투프라이밍 처리가 저온(15°C)에서 토마토 종자의 발아에 미치는 영향

Solution	Conc.	GP (%)	MGT (day)	GRI	GU
Na2SO4	100 mM	90a	2.5b-d	30.3c-e	-0.24b-d
	200 mM	95a	2.9b	28.7de	-0.68d
	300 mM	96a	2.6b-d	32.0cd	-0.55b-d
K2SO4	100 mM	95a	2.6b-d	35.8b-d	-0.36b-e
	200 mM	94a	2.7bc	31.5c-e	-0.21b-d
	300 mM	92a	2.7bc	29.0c-e	-0.70d
KNO3	100 mM	61b	2.3c-e	45.7a	-0.16b
	200 mM	90a	2.0e	46.4a	0.71a
	300 mM	94a	2.0de	40.9ab	-0.48b-d
PEG8000	17%	92a	2.5b-e	36.8bc	-0.34b-d
	23%	95a	3.7bc	32.2cd	-0.07bc
	27%	93a	2.6b-d	32.2cd	-0.46b-d
Untreated	0	96a	3.6a	23.9e	-0.65cd
Solution		***	***	***	**
Conc.		***	***	***	**
Solution*Conc.		***	ns	ns	ns

In each column, mean values with the same letter are not significantly different from each other ($p < 0.01$; Duncan's test). *, ** and *** indicate significant at $p < 0.05$, 0.01, and 0.001 level, ns: non-significant.

표 62. 단계적 삼투포텐셜 처리가 적온(30/20°C)에서 토마토 종자의 발아에 미치는 영향

Solution	Conc.	GP (%)	MGT (day)	GRI	GU
Na2SO4	300 mM(4d)→100 mM(2d)	92ns	3.0bc	29.3c-e	-0.57b
	100 mM(4d)→300 mM(2d)	97	3.1bc	29.2de	-0.59b
K2SO4	300 mM(4d)→100 mM(2d)	92	2.7cd	31.0cd	-0.59b
	100 mM(4d)→300 mM(2d)	95	3.1b	30.2c-e	-0.24ab
KNO3	300 mM(4d)→100 mM(2d)	87	1.4e	58.1a	-0.57b
	100 mM(4d)→300 mM(2d)	93	1.3e	63.6a	0.29a
PEG8000	27%(4d)→17%(2d)	96	2.4d	38.7b	-0.24ab
	17%(4d)→27%(2d)	90	2.7cd	36.0bc	0.14a
Untreated	0	96	3.6a	23.9e	-0.65b
Solution		ns	***	***	*
Conc.		ns	***	***	**
Solution*Conc.		ns	***	***	ns

In each column, mean values with the same letter are not significantly different from each other ($p < 0.01$; Duncan's test). *, ** and *** indicate significant at $p < 0.05$, 0.01, and 0.001 level, ns: non-significant.

비적온인 15°C에서 평가한 결과 프라이밍 처리 기간이 2일, 4일간 처리구에서는 대조구 대비 큰 효과가 없었으나(표 63과 64), 6일 처리구에서 Na₂SO₄, KNO₃에서 향상하였으나 무처리구의 활력이 좋아 타 작물에서와 같은 뚜렷한 효과는 보이지 않았다(표 65). 건전묘결과 검토 후 추가 소재 탐색 및 혼용처리 실험을 수행하였다.

표 63. 2일간의 삼투프라이밍 처리가 저온(15°C)에서 토마토 종자의 발아에 미치는 영향

Solution	Conc.	GP (%)	MGT (day)	GRI	GU
Na ₂ SO ₄	100 mM	94 ^{ns}	5.2 ^{cd}	17.2 ^{ab}	-0.35 ^{ns}
	200 mM	94	5.4 ^{bc}	16.8 ^{a-c}	-0.42
	300 mM	91	4.8 ^d	18.2 ^a	-0.35
K ₂ SO ₄	100 mM	90	5.9 ^a	14.8 ^c	0.03
	200 mM	89	5.2 ^{cd}	17.2 ^{ab}	-0.15
	300 mM	88	5.0 ^{cd}	17.2 ^{ab}	-0.25
KNO ₃	100 mM	91	6.0 ^a	14.6 ^c	0.15
	200 mM	91	5.3 ^{bc}	17.3 ^{ab}	0.04
	300 mM	89	4.8 ^d	17.5 ^a	0.01
PEG8000	17%	90	5.8 ^a	15.1 ^{bc}	0.06
	22%	89	5.7 ^{ab}	15.0 ^{bc}	-0.13
	27%	91	5.0 ^{cd}	17.2 ^{ab}	-0.16
Untreated	0	96	5.3 ^{bc}	17.5 ^a	0.16
Solution		ns	***	ns	ns
Conc.		ns	***	**	ns
Solution*Conc.		ns	ns	ns	ns

In each column, mean values with the same letter are not significantly different from each other(p < 0.01; Duncan's test). *, ** and *** indicate significant at p < 0.05, 0.01, and 0.001 level, ns: non-significant.

표 64. 4일간의 삼투프라이밍 처리가 토마토 종자의 발아에 미치는 영향(저온)

Solution	Conc.	GP (%)	MGT (day)	GRI	GU
Na ₂ SO ₄	100 mM	93 ^{ns}	5.5 ^b	16.3 ^{bc}	-0.35 ^{bc}
	200 mM	96	5.4 ^b	17.2 ^{bc}	-0.05 ^{bc}
	300 mM	91	4.6 ^c	18.7 ^{bc}	-0.35 ^{bc}
K ₂ SO ₄	100 mM	86	5.6 ^{ab}	15.9 ^c	0.53 ^b
	200 mM	93	5.3 ^b	16.5 ^{bc}	-0.47 ^c
	300 mM	92	5.3 ^b	16.8 ^{bc}	-0.08 ^{bc}
KNO ₃	100 mM	92	3.7 ^d	35.7 ^a	1.78 ^a
	200 mM	92	4.7 ^c	18.7 ^{bc}	0.02 ^{bc}
	300 mM	92	4.5 ^c	19.8 ^b	-0.04 ^{bc}
PEG8000	17%	84	6.1 ^a	17.4 ^{bc}	1.71 ^a
	22%	93	5.7 ^{ab}	15.6 ^c	-0.23 ^{bc}
	27%	87	4.7 ^c	17.3 ^{bc}	-0.46 ^c
Untreated	0	96	5.3 ^b	17.5 ^{bc}	0.16 ^{bc}
Solution		ns	***	***	*
Conc.		ns	***	***	***
Solution*Conc.		ns	***	***	**

In each column, mean values with the same letter are not significantly different from each other(p < 0.01; Duncan's test). *, ** and *** indicate significant at p < 0.05, 0.01, and 0.001 level, ns: non-significant.

표 65. 단계적 삼투포텐셜 처리에 따른 토마토 종자의 발아특성(저온)

Solution	Conc.	GP (%)	MGT (day)	GRI	GU
Na2SO4	300 mM(4d)→100 mM(2d)	89ns	5.1a	16.9e	0.14c
	100 mM(4d)→300 mM(2d)	96	5.3a	17.6e	-0.10c
K2SO4	300 mM(4d)→100 mM(2d)	95	5.0ab	20.9cd	-0.27c
	100 mM(4d)→300 mM(2d)	96	4.4c	18.3de	-0.04c
KNO3	300 mM(4d)→100 mM(2d)	90	3.4e	29.2a	0.52bc
	100 mM(4d)→300 mM(2d)	90	3.9d	24.6b	1.05b
PEG8000	27%(4d)→17%(2d)	96	4.5c	23.0bc	0.47bc
	17%(4d)→27%(2d)	96	4.7bc	28.0a	1.94a
Untreated	0	96	5.3a	17.5e	0.50bc
Solution		ns	***	***	***
Conc.		ns	***	***	***
Solution*Conc.		ns	ns	ns	ns

In each column, mean values with the same letter are not significantly different from each other(p < 0.01; Duncan's test). *, ** and *** indicate significant at p < 0.05, 0.01, and 0.001 level, ns: non-significant.

(2) 토마토 종자의 발아특성 증진을 위한 (초)음파와 liquid smoke 프라이밍 처리 기술 개발
가지과 고추 종자에서 초음파처리에 의한 발아 저해를 보여 토마토종자에서는 낮은 음파를 5-20분간 처리하였다. 수침한 상태에서 음파 단용처리 결과 5.2 kHz 10분 처리에서 평균발아일수, 발아속도, 건묘율이 무처리구에 비해 향상되었다(표 66).

표 66. 음파의 진동수와 처리시간이 토마토 종자의 발아특성에 미치는 영향

Soundwave (kHz)	Time (min)	GP (%)	MGT (day)	GR (%day-1)	GU	HS (%)
5.2	5	95ns	3.0b-e	34.43a-c	0.90ns	87ns
	10	98	2.7de	37.25a	1.37	93
	20	95	2.6e	39.40a	-0.38	90
10.4	5	97	3.3a-c	30.45bc	-0.15	85
	10	92	3.5a	29.00c	0.99	83
	20	97	3.3a-d	31.08bc	-0.23	90
15.7	5	95	2.9c-e	35.15ab	0.18	84
	10	97	2.9b-e	34.20a-c	-0.29	84
	20	94	3.0b-e	33.90a-c	-0.03	84
Untreated	0	95	3.5ab	29.23c	-0.44	86
SW		ns	***	***	ns	ns
Time		ns	ns	ns	ns	ns
SW*Time		ns	ns	ns	ns	ns

In each column, mean values with the same letter are not significantly different from each other(p < 0.01; Duncan's test). *, ** and *** indicate significant at p < 0.05, 0.01, and 0.001 level, ns: non-significant.

음파처리와 4일간의 수화프라이밍혼용처리결과 5.2 kHz 5분 처리와 4일간의 수화프라이밍 혼용처리구에서 무처리종자에 비해 MGT가 49%, GR이 91% 향상되었다. 수화프라이밍 단용처리 종자와 비교시 MGT 14.3%, GR 18.6%가 향상되었다(표 67).

표 67. 음파의 진동수와 수화프라이밍 혼용처리가 토마토 종자의 발아특성에 미치는 영향

Sonication (kHz)	Time (m)	GP (%) at			T50 (days)	GRI	GU	HS (%)
		1 d	2 d	14 d				
5.2	5	34 b	87 a	95 ns	1.3 d	62.6 bc	-0.25 ns	91 ns
	10	34 b	84 ab	97	1.3 cd	62.5 bc	1.30	92
	20	55 a	85 ab	94	0.9 e	71.9 a	2.40	79
10.4	5	21 c	84 ab	93	1.5 b-d	55.1 c-e	-0.41	87
	10	15 cd	82 ab	92	1.5 b-d	51.0 de	1.48	86
	20	19 c	75 b	89	1.6 b	51.1 de	-0.14	85
15.7	5	33 b	85 ab	95	1.3 cd	61.5 bc	0.32	89
	10	35 b	88 a	97	1.3 d	63.8 b	1.07	92
	20	24 bc	88 a	95	1.4 b-d	57.5 b-d	0.41	90
-	0	4 de	90 a	95	1.5 bc	48.2 e	-0.13	89
Untreated	0	0 e	1 c	95	2.8 a	28.7 f	-0.44	86
Sonication		***	***	ns	***	***	ns	ns
Time		***	***	ns	***	***	ns	ns
Sonication*Time		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

In each column, mean values with the same letter are not significantly different from each other ($p < 0.01$; Duncan's test). *, ** and *** indicate significant at $p < 0.05$, 0.01 , and 0.001 level, ns: non-significant.

5.2 kHz의 처리시간과 수화프라이밍 처리 시간을 평가한 결과, 건묘율은 음파 20분과 수화프라이밍 1일 처리에서 94%로 가장 높았으나 발아속도의 증가가 높지 않았다. 처리 기간의 단축 효과로는 20분 음파처리와 1일 수화프라이밍 최적이었고 발아속도는 5.2 kHz, 5분처리와 4일간의 수화프라이밍에서 효과적이었다(표 68).

표 68. 음파처리와 수화프라이밍(HP) 전처리가 토마토 종자의 발아특성에 미치는 영향

Sound time (min)	Primg duration (day)	GP (%)	MGT (day)	GR (%day-1)	GU	HS (%)
5	1	92ns	2.7b	38.23d	0.81ns	81cd
	2	91	2.4b-d	42.68cd	-0.66	93ab
	3	93	2.0ef	51.80ab	-0.87	87a-d
	4	95	1.8f	55.78a	-0.25	91a-c
10	1	95	2.5bc	40.80d	-0.43	91a-c
	2	95	2.5bc	39.98d	0.04	89a-d
	3	94	2.2c-e	45.40b-d	0.27	85a-d
	4	97	2.0d-f	50.30a-c	1.30	92a-c
20	1	98	2.3b-e	44.63b-d	-0.40	94a
	2	94	2.4bc	41.13d	-0.46	93ab
	3	92	2.4bc	42.30cd	0.67	82b-d
	4	94	1.8f	56.78a	2.40	79d
0	0	95	3.5a	29.23e	-0.44	86a-d
SW		ns	***	***	ns	ns
PD		ns	***	***	ns	ns
SW*PD		ns	ns	ns	ns	**

In each column, mean values with the same letter are not significantly different from each other ($p < 0.01$; Duncan's test). *, ** and *** indicate significant at $p < 0.05$, 0.01 , and 0.001 level, ns: non-significant.

음파처리와 염류프라이밍 혼용처리 결과 5.2 kHz 20분 처리에서 무처리구에 비해 MGT가 60%, GR이 150% 향상되었다. 염류프라이밍 단용구와 비교 시 MGT 44%, GR 76.9%가 향상되어 음파처리와 혼용시 발아속도가 유의하게 증가되었다(표 69).

표 69. 음파와 염류프라이밍 혼용처리가 토마토 종자의 발아특성에 미치는 영향

Sonication (kHz)	Time (m)	GP (%) at			T50 (days)	GRI	GU	HS (%)
		1 d	2 d	14 d				
5.2	5	27cd	93a	97ns	1.3cd	61.2bc	-0.61 ns	87ns
	10	34bc	82a	93	1.3cd	60.9bc	0.38	86
	20	66a	92a	96	0.8f	80.2a	-0.61	89
10.4	5	48b	89a	97	1.0e	70.7ab	0.77	91
	10	45b	89a	92	1.1de	67.7b	-0.15	90
	20	11ef	85a	92	1.5bc	49.5de	0.52	89
15.7	5	45b	88a	93	1.1de	67.4b	0.63	84
	10	17de	86a	94	1.5c	54.2cd	-0.74	88
	20	20c-e	86a	91	1.4c	54.5cd	-0.72	89
0	0	0f	67b	92	1.8b	41.1e	0.31	83
Untreated	-	0f	1c	95	2.8a	28.7 f	-0.44	86
Sonication		***	***	ns	***	***	ns	ns
Time		***	***	ns	***	***	ns	ns
Sonication*Time		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

In each column, mean values with the same letter are not significantly different from each other($p < 0.01$; Duncan's test). *, ** and *** indicate significant at $p < 0.05$, 0.01, and 0.001 level, ns: non-significant.

(3) 토마토 종자의 발아특성 증진을 위한 modified drum priming 처리 기술 개발

토마토 종자의 수분함량과 드럼-인큐베이션 처리가 발아특성에 미치는 영향을 평가하였다. 종자를 물에 3-7시간 동안 침지하였을 때 그림 4.40과 같이 수분함량이 증가하였다. 20°C에서 3시간, 5시간, 7시간 처리하였을 때 종자수분함량이 각각 40%, 50%, 60%(dry weight)로 조절되었다(그림 40). 종자수분함량을 40, 50, 60%로 조절한 후 60, 72, 84시간 드럼-인큐베이션 한 결과, 60% 종자수분의 종자를 72 시간 드럼-인큐베이션 하였을 때 파종 후 3일 차 발아율이 79%, T₅₀이 1.8일, GRI가 36.9로 무처리 종자(3일 차 GP 19%, T₅₀ 4.0일, GRI 20.1)와 비교하여 3일 차 발아율이 60%, GRI가 184% 향상되었으며, T₅₀은 2.2일 단축되었다. GP, GU, HS에서는 처리 간의 유의성이 미비하거나 없었다(표 70).

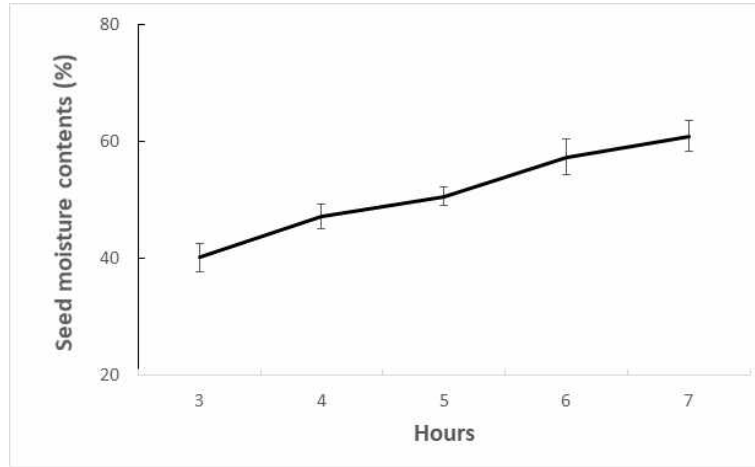


그림 40. 흡습 시간에 따른 토마토 종자의 수분함량

표 70. 종자수화처리(SMC)와 드럼처리시간이 토마토종자의 발아특성에 미치는 영향

SMC (%)	Incubatio n (h)	GP (%) at		T50 (days)	GRI	GU	HS (%)
		3 d	14 d				
40	60	65ab	87ns	2.7bc	29.8bc	0.37a-c	87ns
	72	27c	88	3.6a	22.5de	1.04a	85
	84	53b	88	3.0b	27.5cd	0.22a-c	88
50	60	64ab	80	2.7bc	27.4cd	0.30a-c	77
	72	69ab	79	2.5bc	30.5bc	0.27a-c	77
	84	75a	80	2.6bc	28.6cd	-0.65c	79
60	60	67ab	73	2.6bc	29.1cd	-0.44a-c	72
	72	79a	83	1.8d	36.9a	-0.52bc	81
	84	72a	81	2.4c	35.3ab	0.99ab	76
Untreated	0	19c	80	4.0a	20.1e	0.12a-c	78
SMC		***	ns	***	***	ns	ns
Incubation		***	ns	***	***	ns	ns
SMC*Incubation		ns	ns	ns	ns	*	ns

Incubation was performed 99% relative humidity rotative cage on 20°C. In each column, mean values with the same letter are not significantly different from each other ($p < 0.01$; Duncan's test). *, ** and *** indicate significant at $p < 0.05$, 0.01, and 0.001 level, ns: non-significant.

(4) 토마토 종자의 우수 종자프라이밍 전처리 방법 선정을 위한 특성 비교

우수 전처리 조건 규명에 사용된 전처리는 다음과 같다. 염류프라이밍(Halo-priming, OP) 방법은 100 mM KNO_3 4일처리, 음파염류프라이밍(Sonation with halo-priming, SP)처리는 5.2kHz의 세기로 20분간 처리 후 염류프라이밍처리, modified 드럼프라이밍(Drum priming, DP)은 SMC 60% 종자를 72시간 incubation 처리한 조건을 사용하였다.

(가) 실험실에서의 발아 검정

종자처리에 따른 발아적온(30/20°C)과 저온(15°C)에서 발아율은 통계적 유의차가 보이지 않았다. 적온에서의 3일차 발아율이 무처리 종자(46%) 보다 전처리 종자의 발아율이 염류프라이밍은 64%, 음파염류프라이밍은 71%, 드럼프라이밍은 76% 향상되었으며, 저온에서는 4일차 발아율이 드럼프라이밍 처리만 12%로 무처리 종자(0%) 보다 향상되었다(그림 41). T_{50} 도 발아적온에서는 무처리 종자

(3.7일) 보다 처리종자가 평균 1일이 단축되었으며, 저온에서는 드럼프라이밍이 8.6일에서 6.1일로 2.5일이 단축되었다. 발아적온에서 전처리 종자의 GRI가 염류프라이밍은 31.0, 음파염류프라이밍은 32.2 드럼프라이밍은 31.2로 무처리 종자(22.3)보다 향상되었으며, 저온에서는 드럼프라이밍이 무처리 종자(9.4)보다 14.6으로 가장 많이 향상되었다. GU는 발아적온에서는 통계적 유의차가 없었으나 발아균일도의 값이 향상이 되었으며, 저온에서는 염류프라이밍과, 음파염류프라이밍이 향상되었다(그림 42).

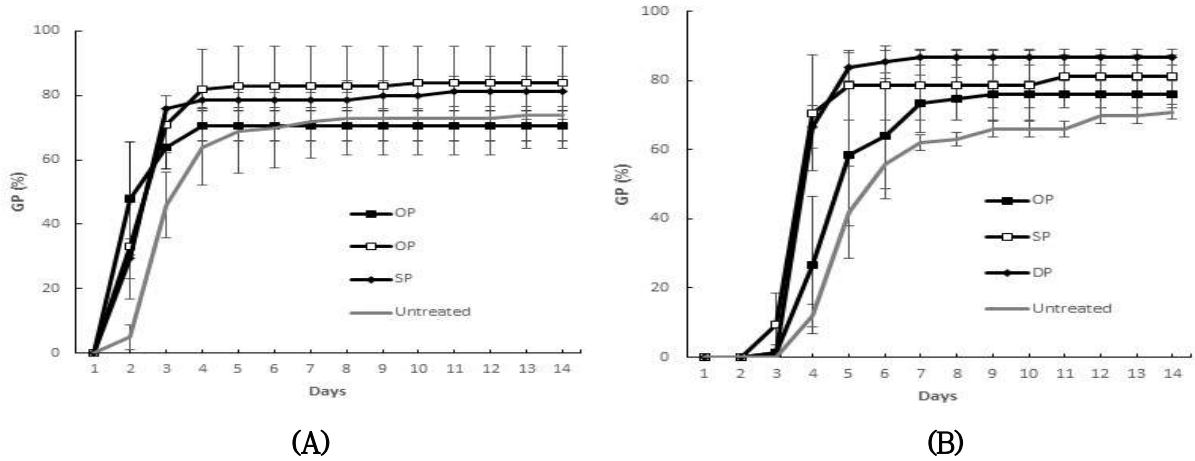


그림 41. 염류프라이밍(OP), 음파-염류프라이밍(SP), 드럼프라이밍(DP) 토마토 종자의 누적발아율 (A) 적온(30/20°C) (B) 저온(15°C)

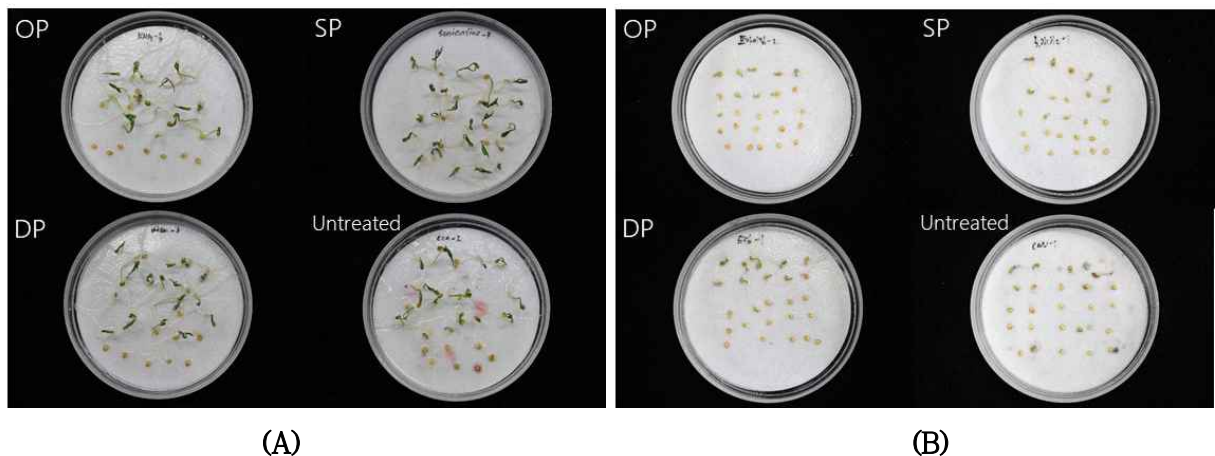


그림 42. 염류프라이밍(OP), 음파-염류프라이밍(SP), 드럼프라이밍(DP) 토마토 종자의 발아모습 (파종 후 7일차) (A) 적온(30/20°C) (B) 저온(15°C)

(나) 종자 전처리가 항산화 효소 활성화에 미치는 영향

종자전처리에 따른 항산화효소(SOD, POD, GR, CAT) 의 활성을 측정한 결과는 그림 43과 같다. SOD와 GR의 활성은 처리종자가 무처리 종자보다 낮았으며 처리간 유사한 경향을 보였다. POD 활성은 전처리 종자가 무처리 종자보다 높았으며 음파염류프라이밍 종자에서 가장 증가되었다. CAT의 활성은 음파염류프라이밍과 드럼프라이밍 종자는 무처리 종자보다 감소되었으나 염류프라이밍 종자는 증가하였다. MDA함량은 모든 전처리종자에서 무처리 종자보다 감소하였다(그림 44).

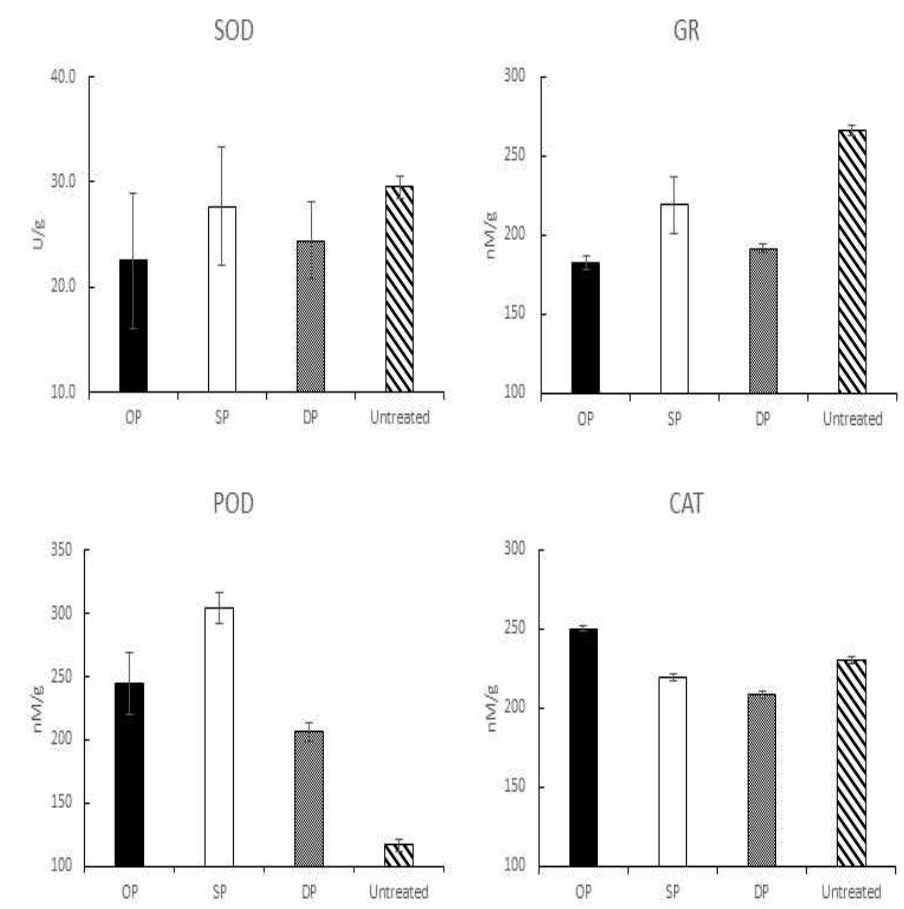


그림 43. 염류프라이밍(OP), 음파-염류프라이밍(SP), 드림프라이밍(DP) 토마토 종자의 항산화효소활성

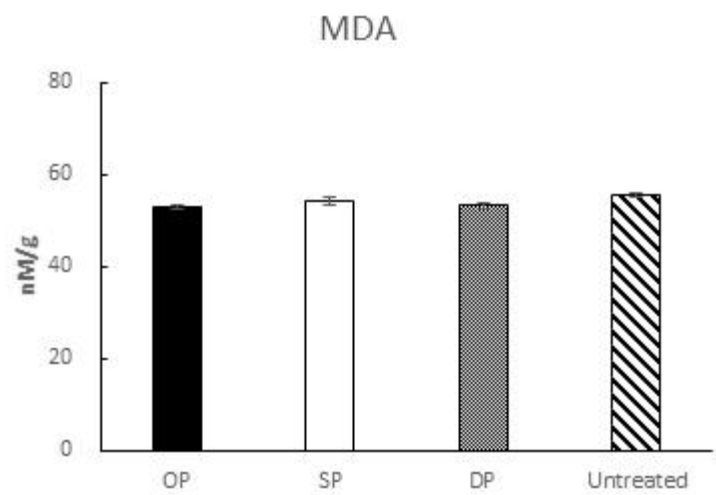


그림 44. 염류프라이밍(OP), 음파-염류프라이밍(SP), 드림프라이밍(DP) 토마토 종자의 MDA 함량

4. 상추 및 가지과 작물(고추, 파프리카, 토마토) 종자의 필름코팅 소재평가 및 방법 구축

가. 연구목표

필름코팅은 종자의 원형을 유지하면서 입묘율 향상을 위하여 살균제, 살충제, 생물방제제, 유용 미생물의 첨가와 외형을 위한 색소 및 착색제등을 가하는 종자 가공방법이다. 현재 국내에서는 착색제를 수입에 의존하고 있는데, 위탁과제에서 개발한 제품과 국외제품의 형태·생리적 영향을 비교하고, 제1협동과제에서 개발한 장비를 활용한 필름코팅 가공 방법을 개발하고자 하였다.

나. 재료 및 방법

(1) 노루홀딩스 개발 필름코팅 소재 평가 및 처리방법의 표준화

(가) 필름코팅 소재

종자시료는 국립종자원에서 제공한 종자를 사용하였다. 필름코팅제별 외형적 특성 및 발아 특성에 미치는 영향을 비교하기 위하여 위탁과제기관인 노루홀딩스(4종; NSC1, NSC2, P1030, P2030) 및 다국적 종자처리 기업인 인코텍(1종) 제품을 사용하였다.

(2) 필름코팅처리 방법의 표준화를 위한 처리 방법 비교

필름코팅 5종에 대해 표 71과 같은 처리 조건으로 필름 코팅을 수행하였다.

표 71. 품목별 필름코팅 처리 조건

품목(종)	종자무게(g)		코팅제량(ml)	회전속도(rpm)	
	기존기기	제1협동 개발기기 (300ml)		기존기기	1협동 개발기기
고추	50 g	170 g	20, 25	533	750
파프리카	50 g	150 g	20, 25	533	750
토마토	50 g	120 g	20, 25	533	750
상추	50 g	150 g	5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20	427, 533	750

1 단계: 종자투입



2 단계: 코팅제 투입



3 단계: 건조



4 단계: 배출



5 단계: 재건조 및 완료



그림 45. 필름코팅처리 처리방법의 표준화

(3) 필름코팅 종자의 평가

(가) 필름코팅종자의 외형적 특성 평가

① 발림성

가지과 종자는 10 립의 양면에 대해 총 20면 각각에 대해 조사하였다. 발림이 완전하지 않은 종자는 0점, 완전한 발림을 보이는 것을 1점으로 점수화하여 총점 20점으로 평가 후 백분율로 환산하였다. 상추 종자는 한 면을 5 등분하여 등분 별로 1점 만점으로 평가하여 양면의 총 10개 구역에 대한 점수를 총점 10점 만점으로 평가한 후 백분율로 환산하였다(그림 46).

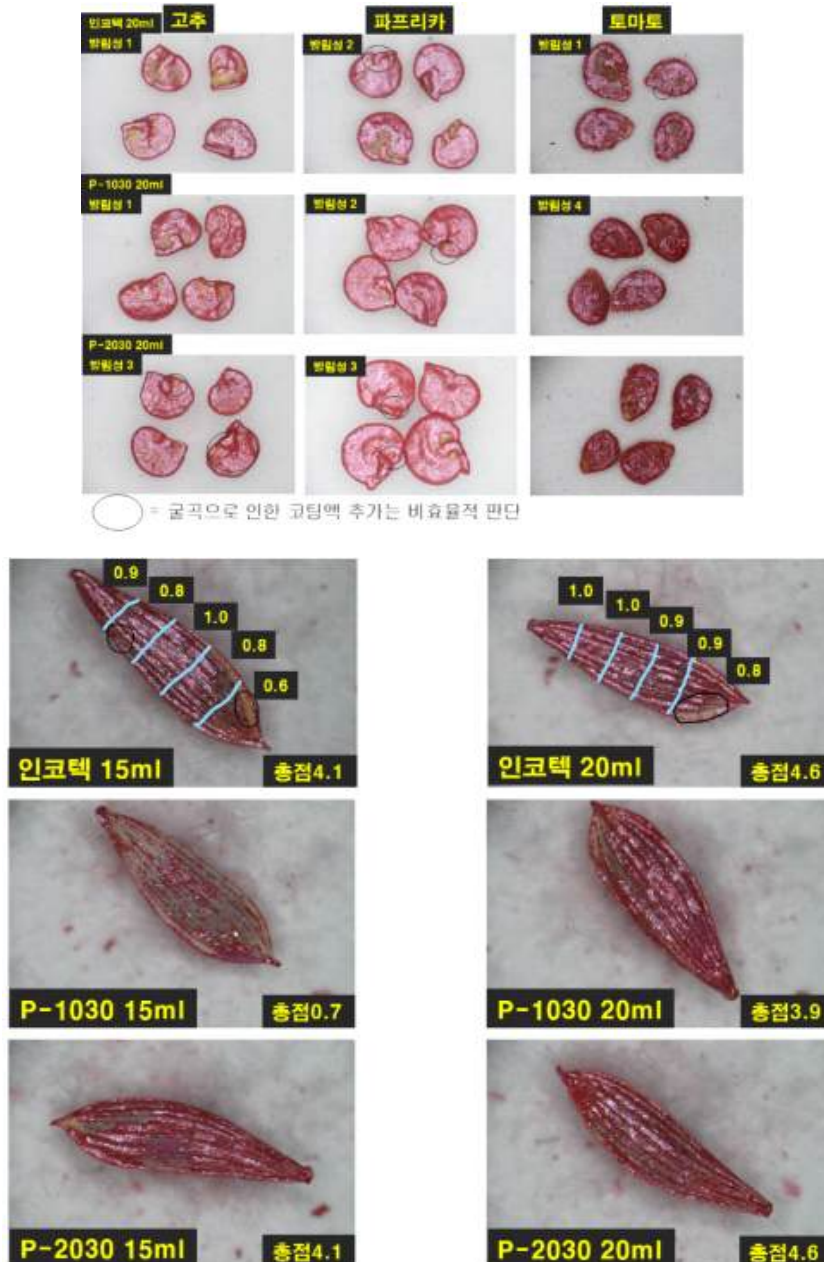


그림 46. 필름코팅 처리된 가지과(고추, 파프리카, 토마토) 및 상추 종자의 발림성 평가

② 이중립

고추는 코팅종자 2 g (350~414립), 파프리카는 코팅종자 2 g (254~275립), 토마토와 상추는 코팅종자 1 g에 대한 2 립 이상 뭉친 종자의 무게비율을 3반복으로 측정하였다.

③ 용해성

10 ml 증류수에 1시간 침지 후 용해 정도의 비교 또는 발아 용지의 용해 정도로 비교하였다 (그림 47).

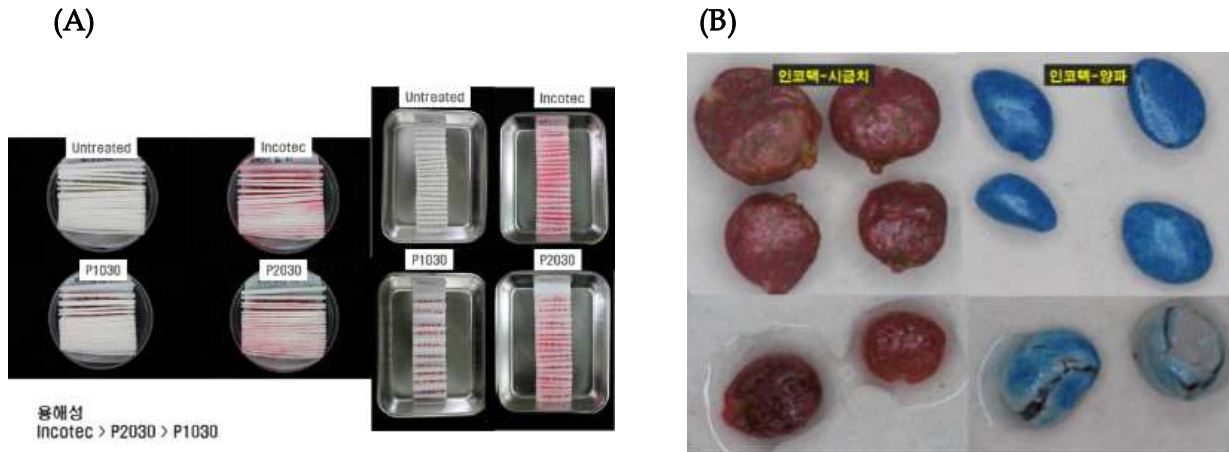


그림 47. 필름코팅 종자의 필름코팅제별 용해성 비교

다. 결과 및 고찰

(1) 상추 종자의 필름코팅 소재평가 및 방법 구축

필름코팅제 및 처리량에 따라 외형적 특성을 비교한 결과, 기존 기기를 이용하여 427 rpm 속도로 종자 50 g에 필름코팅제의 종류에 따라 필름코팅량을 5~10 ml로 처리 했을 때 제품에 따른 유의차는 없었고 필름코팅량에 따라 차이를 보여서 5 ml의 처리 시 가장 낮은 발림성을 보였다. 이중립 비율은 필름코팅제와 코팅량에 영향을 받았고, 특히 NSC-P2030 코팅제에서 높은 비율을 보였고 7 ml 처리에서 이중립의 비율이 낮았다(그림 48과 표 72).

제1협동기관에서 제작한 장비를 가지고 150 g (300 ml) 종자에 필름코팅액 15를 20 ml로 처리하였을 때 발림성과 이중립의 비율을 비교한 결과 인코텍 용액 20 ml를 처리하였을 때 발림성이 93%로 가장 우수하였고 이중립의 비율은 2.4%로 다른 조건에 비해 높아서 코팅제와 코팅량에 따라 발림성과 이중립 비율에 유의한 차이를 보였다(표 73).





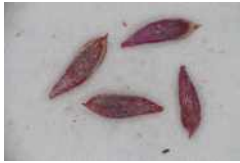








필름코팅제종류	발림성(필름코팅제량(ml))		용해성(필름코팅제량(ml))	
	15	20	15	20
Incotec				
NSC-P1030				
NSC-P2030				
Untreated				

그림 48. 필름코팅제 종류 및 처리량에 따른 상추 종자의 외적 특성 평가(NSC-P1030,2030: 노루홀딩스제조)

표 72. 필름코팅제 및 처리량이 상추 종자의 형태특성에 미치는 영향

필름코팅제	필름코팅양(ml)	발림성(%)	이중립(%)
NSC-P1030	5	67.0 d	2.8 c
	6	86.0 bc	1.1 de
	7	89.0 a-c	0.8 e
	8	94.0 a-c	0.6 e
	9	98.0 a	1.8 c-e
	10	98.0 a	2.8 c
NSC-P2030	5	65.0 d	6.1 a
	6	85.0 c	4.5 b
	7	89.0 a-c	0.7 e
	8	94.0 a-c	1.3 de
	9	97.0 a	1.0 e
	10	95.0 ab	2.3 cd
필름코팅제		ns	***
필름코팅량		***	***
코팅제×코팅량		ns	***

* 기존 기기, 종자 50 g, 회전판 속도 427 rpm,

** 이중립: 1.0 g 종자 중 2 립 이상 종자의 무게비율

표 73. 필름코팅제 및 처리량이 상추 종자의 형태특성에 미치는 영향

필름코팅제	필름코팅양(ml)	발림성(%)	이중립(%)
Incotec	15	68.0 bc	1.2 a-c
	20	93.0 a	2.4 a
NSC-P1030	15	44.0 d	1.3 a-c
	20	72.0 b	1.9 ab
NSC-P2030	15	54.0 cd	0.1 c
	20	76.0 b	0.7 bc
필름코팅제		***	*
필름코팅량		***	*
코팅제×코팅량		ns	ns

* 신농기기, 종자 150 g (300 ml), 회전판 속도 750 rpm, NSC-P1030,2030: 노루홀딩스제조

필름코팅제별로 코팅액의 용해 정도를 받아 용지에 코팅제가 녹은 정도로 평가한 결과 고추, 파프리카 필름코팅종자와 유사하게 인코텍 > NSC-P2030 > NSC-P1030 순으로 코팅제의 용해도를 보였다(그림 49). 파종 후 3-5일 차의 초기 발아율은 가지과 종자와는 달리 NSC-P2030 필름코팅 종자가 우수하였다(그림 50). NSC1과 NSC2 두 개의 노루홀딩스 제품간의 비교 시에도 발아율과 건묘율에서는 유의차가 없었으나, 발아속도에서 제품과 처리량에 따라 유의차를 보였으나 필름코팅과 처리량은 상호작용하지 않았다(표 74). 인코텍사와 노루홀딩스 제품을 비교 시 발아특성에서 유의차가 보이지 않았다(표 75). 외국산(I사)의 처리 제품과 위탁과제의 개선품(P2030-1) 처리종자의 발아특성을 비교한 결과 통계적 유의차는 보이지 않았다(표 4.76와 그림51).

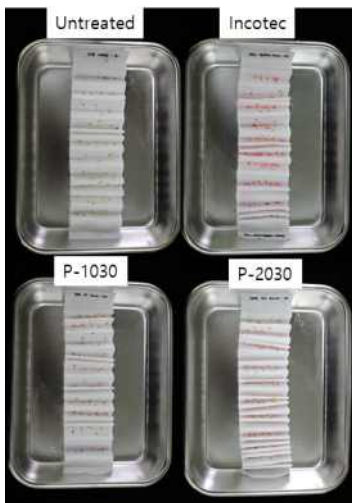


그림 49. 필름코팅제별 상추 필름코팅종자의 용해성 비교

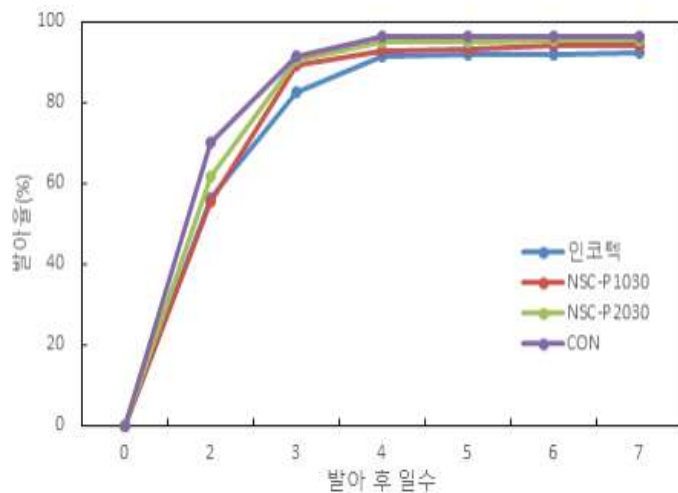


그림 50. 필름코팅제의 종류가 상추 종자의 발아에 미치는 영향

표 74. 필름코팅제 및 처리량이 상추 종자의 발아특성에 미치는 영향

Film coating solution (FCS)	FCS volume (ml)	GP (%)	MGT (day)	GR (%day-1)	GU	HS (%)
NSC1	4	95 ns	2.3 b	43 b	-0.35 b	76 bc
	6	96	2.4 b	43 b	-0.45 b	85 ab
	8	98	2.7 a	37 c	0.09 a	79 bc
NSC2	4	97	2.4 b	42 b	-0.51 b	91 ab
	6	98	2.5 b	40 b	-0.17 ab	96 a
	8	97	2.8 a	35 c	-0.22 ab	73 c
Untreated	0	98	2.1 c	48 a	-0.43 b	85 ab
FCS		ns	***	***	ns	ns
Volume (V)		ns	***	***	*	*
FCS×V		ns	ns	ns	ns	**

* 기준기기, 종자 50 g, 회전판속도 427 rpm

표 75. 필름코팅제의 종류가 상추 종자의 발아특성에 미치는 영향

필름코팅제	GP (%)	MGT (day)	GR (%day-1)	GU	HS (%)
Incotec	91 ns	1.8 ns	56.65 ns	0.09 ns	85 ns
NSC-P1030	92	2.0	49.83	0.38	87
NSC-P2030	90	1.7	58.09	-0.03	89
Untreated	92	1.8	56.22	0.24	88

* 기준기기, 종자 150 g (300 ml), 필름코팅용액 20 ml, 회전판속도 533 rpm

표 76. 국외제품(Incotec)과 위탁과제 개발 필름코팅제(노루 P2030-1)가 발아특성에 미치는 영향 비교

필름코팅제	GP (%)	MGT (day)	GR (%·day-1)	GU	HS (%)
P2030-1	96 ns	2.3 ns	43.10 ns	-0.62 ns	87 ns
Incotec	96	2.3	44.60	-0.37	85
Untreated	99	2.2	49.00	-0.42	89

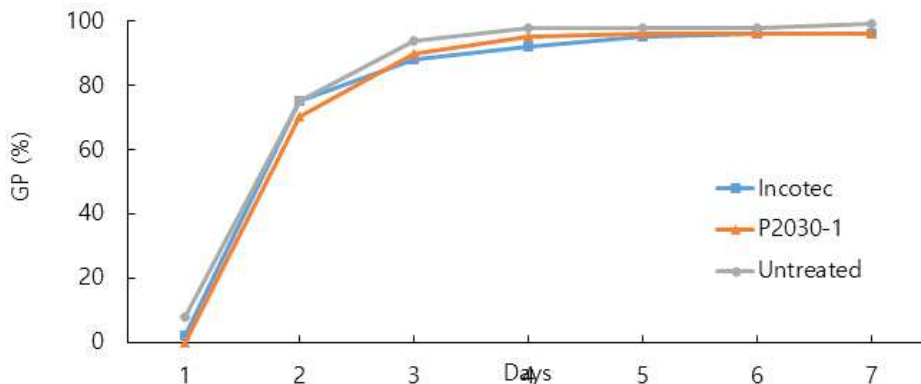


그림 51. 필름코팅제(노루 P2030-1 vs. Incotec)가 상추 종자의 발아에 미치는 영향

(2) 고추 종자의 필름코팅 소재평가 및 방법 구축

필름코팅제 및 처리량에 따라 외형적 특성을 비교한 결과, 필름코팅제의 종류에 따라 필름코팅량이 20 ml일 때는 노루홀딩스의 NSC-P2030이 41%, NSC-P1030 20%, 인코텍이 13.5%로 노루홀딩스제품이 가장 우수하였으나, 25 ml 처리 시 필름코팅제의 종류에 따른 차이가 없었다. 이중립의 비율은 용액의 양이 20 ml일 때 노루홀딩스제품이 14.6~16.9%로 인코텍의 6% 보다 높았으나, 25 ml로 처리 시 이중립의 비율이 감소하였다. 필름코팅제의 종류와 처리량 두 개의 요인 모두가 발림성과 이중립의 비율에 영향을 미쳤다. 적절한 외형적 특성을 나타내기 위해서는 25 ml 이상의 처리량이 필요함을 나타내었다(그림 52과 표 77).














필름코팅제 종류	발림성(필름코팅제량(ml))		용해성(필름코팅제량(ml))	
	20	25	20	25
Incotec				
NSC-P1030				
NSC-P2030				
Untreated				

그림 52. 필름코팅제 종류 및 처리량에 따른 고추 종자의 외적 특성 평가

표 77. 필름코팅제 및 처리량이 고추 종자의 형태특성에 미치는 영향

필름코팅제	필름코팅제량(ml)	발림성(%)	이중립(%)
인코텍	20	13.5 d	6.0 d
	25	81.7 a	5.3 d
NSC-P1030	20	20.0 b	16.9 a
	25	85.0 a	4.4 d
NSC-P2030	20	41.7 c	14.6 b
	25	86.7 a	8.7 c
코팅제		***	***
코팅량		***	***
코팅명×코팅량		**	***

* 신농기기, 종자 170g (300 ml), 회전판속도 750 rpm, 이중립: 2 g 종자 중 2 립 이상 종자의 무게비율

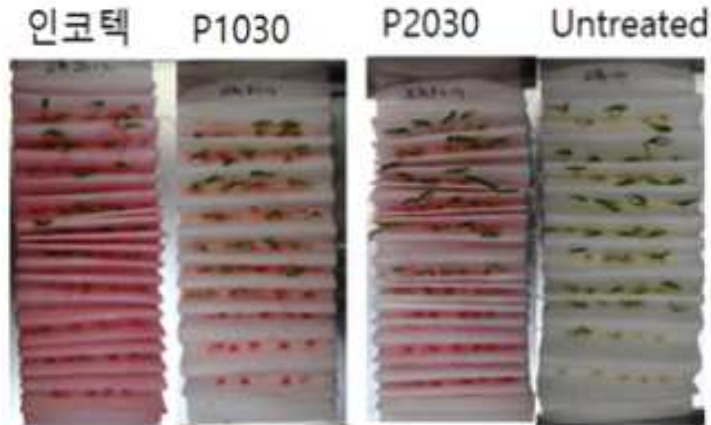


그림 53. 필름코팅제별 고추 필름 종자의 용해성 비교

필름코팅제별로 코팅액의 용해 정도를 발아 용지에 코팅제가 녹은 정도로 평가한 결과 인코텍> NSC-P2030> NSC-P1030 순으로 코팅제의 용해도를 보였다(그림 4.53). NSC1과 NSC2 필름코팅제와 처리량이 고추 종자의 발아특성에 미치는 영향을 평가한 결과 코팅제의 종류와 처리량은 발아율과 건묘율에 유의한 차이를 주지 않았다. 그러나, 무처리구와 비교 시 발아속도는 처리량이 증가할수록 늦어졌다(표 78).

표 78. 필름코팅제 및 처리량이 고추 종자의 발아특성에 미치는 영향

Film coating solution (FCS)	FCS volume (ml)	GP (%)	MGT (day)	GR (%day-1)	GU	HS (%)
NSC1	8	52 ns	9.9 ab	10 bc	5.17 a	38 ns
	12	59	10.0 ab	10 bc	4.51 a-c	48
	16	57	10.2 a	10 c	3.05 c	36
NSC2	8	60	9.0 bc	11 ab	5.01 ab	50
	12	52	9.7 a-c	10 a-c	3.36 bc	35
	16	56	10.1 a	10 c	4.18 a-c	38
Untreated	0	61	8.8 c	11 a	4.58 a-c	52
FCS		ns	*	*	ns	ns
Volume (V)		ns	*	*	*	ns
FCS×V		ns	ns	ns	*	ns

* 기준기기, 종자 50 g, 회전판속도 533 rpm, (NSC1,2: 노루홀딩스제조)

파종 후 3-5일 차의 초기 발아율은 인코텍사의 필름코팅 처리종자에서 빨랐으나, 6일차 이후 NSC P-2030 필름코팅 종자에서 발아율이 증가하였다(그림 54). NSC P-1030과 NSC P-2030 필름코팅제가 고추 종자의 발아특성에 미치는 영향을 평가 결과 동일량을 처리하였을 때 코팅제의 종류에 따른 발아특성의 통계적 유의차는 보이지 않았으나, 노루홀딩스의 P-2030코팅제가 무처리구에 비해 발아특성이 향상되었다(표 79)

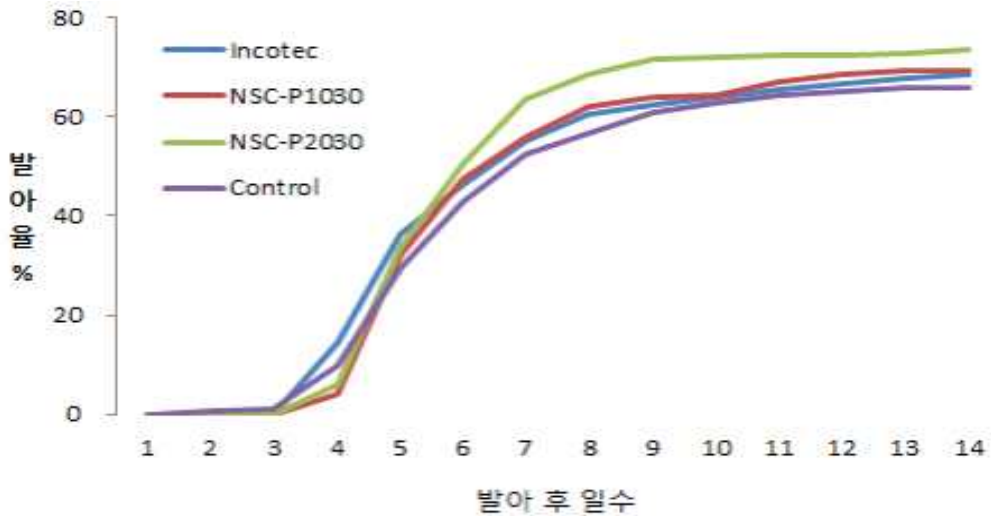


그림 54. 필름코팅제의 종류가 고추 종자의 발아에 미치는 영향

표 79. 필름코팅제의 종류가 고추 종자의 발아특성에 미치는 영향

필름코팅제	GP (%)	MGT (day)	GR (%day-1)	GU	HS (%)
인코텍	69ns	6.1ns	16.55ns	3.46ns	64ns
NSC-P1030	70	6.3	15.90	2.73	67
NSC-P2030	74	6.1	16.56	1.47	72
Untreated	66	6.2	16.05	3.27	60

*처리 조건: 기존 기기, 종자 170g (300 ml), 필름코팅용액 25 ml, 회전판속도 533 rpm, NSC-P1030,2030: 노루홀딩스제조

(3) 파프리카 종자의 필름코팅 소재평가 및 방법 구축

필름코팅제 및 처리량에 따라 외형적 특성을 비교한 결과, 필름코팅제의 종류에 따라 필름코팅량이 20 ml일 때는 노루홀딩스의 NSC-P2030이 81.7%, NSC-P1030 76.7%, 인코텍이 26.7%로 고추 종자와 동일하게 노루홀딩스 필름코팅제가 우수하였다. 25 ml 처리량도 20 ml 처리와 동일하게 노루홀딩스의 NSC-P2030, NSC-P1030, 인코텍의 순으로 발림성이 우수하였다. 이중립의 비율은 고추종자에 비해 낮아 1.3~3.2%의 비율을 보였으며 필름코팅제와 처리량에 대해 통계적 유의차가 없었다. 파프리카 종자에서는 필름코팅제의 종류와 처리량 두 개의 요인이 발림성에 상호작용을 하여 적절한 처리를 위해서는 300 ml의 종자에 처리 시 25 ml 이상의 양이 필요함을 나타내었다(그림 55과 표 80).














필름코팅제 종류	발림성(필름코팅제량(ml))		용해성(필름코팅제량(ml))	
	20	25	20	25
Incotec				
NSC-P1030				
NSC-P2030				
Untreated				

그림 55. 필름코팅제 종류 및 처리량에 따른 파프리카 종자의 외형적 특성 평가

표 80. 필름코팅제 및 처리량이 파프리카 종자의 외형적 특성에 미치는 영향

필름코팅제	필름코팅제량(ml)	발림성(%)	이중립(%)
Incotec	20	26.7c	1.3ns
	25	83.3b	2.6
NSC-P1030	20	76.7b	1.8
	25	86.7ab	1.4
NSC-P2030	20	81.7b	3.0
	25	95.0a	3.2
코팅제		***	ns
코팅량		***	ns
코팅명×코팅량		***	ns

* 신평기기, 종자 150 g (300 ml), 회전판속도 750 rpm, 이중립: 2 g 종자 중 2 립 이상 종자의 무게비율, NSC-P1030,2030: 노루홀딩스제조

필름코팅제별로 코팅액의 용해 정도를 발아 용지에 코팅제가 녹은 정도로 평가한 결과 고추필름코팅종자와 유사하게 인코텍> NSC-P2030> NSC-P1030 순으로 코팅제의 용해도를 보였다(그림 56). 파종 후 3-5일 차의 초기 발아율은 무처리 종자와 유사하게 인코텍사의 필름코팅 종자에서 빨랐으며, NSC P-1030필름코팅 종자에서 발아율이 감소하였으나(그림 57), 발아율과 건묘율에서는 필름코팅제의 종류에 따른 유의차를 보이지 않았다. 그러나 발아속도와 균일도에서 인코텍 필름코팅 종자가 위탁과제(노루홀딩스) 필름코팅종자에 비해 우수한 특성을 보였다(표 81). 외국산(I사)의 처리 제품과 위탁과제의 개선품(P2030-1) 처리 종자의 발아특성을 비교한 결과 통계적 유의차는 보이지 않았다(표 82와 그림 58)

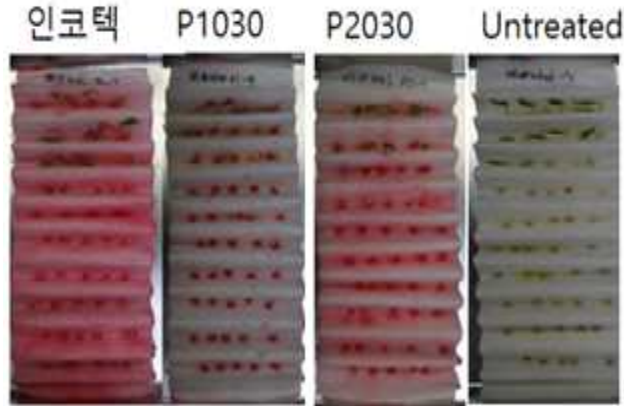


그림 56. 필름코팅제별 파프리카 필름코팅종자의 용해성 비교

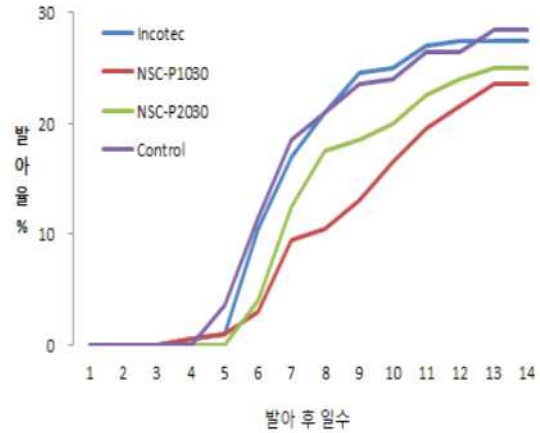


그림 57. 필름코팅제의 종류가 파프리카 종자의 발아에 미치는 영향

표 81. 필름코팅제의 종류가 파프리카 종자의 발아특성에 미치는 영향

Film coating solution (CS)	GP (%)	MGT (day)	GR (%day-1)	GU	HS (%)
Incotec	28ns	7.4b	13.63a	1.74b	26ns
NSC-P1030	24	9.0a	11.21b	4.79a	22
NSC-P2030	25	8.2ab	12.33ab	2.38b	23
Untreated	29	7.5b	13.31a	3.82ab	26

* 처리 조건: 기존 기기, 종자 150 g (300 ml), 필름코팅용액 25 ml, 회전판속도 533 rpm, NSC-P1030,2030: 노루홀딩스제조

표 82. 필름코팅제(노루 P2030-1 vs. Incotec)가 파프리카 종자의 발아특성에 미치는 영향

Film coating solution (CS)	GP (%)	MGT (day)	GR (%day-1)	GU	HS (%)
P2030-1	19ns	11.2ns	1.87ns	2.31ns	0ns
Incotec	23	11.9	1.94	-0.01	0
Untreated	23	10.9	2.15	0.98	0

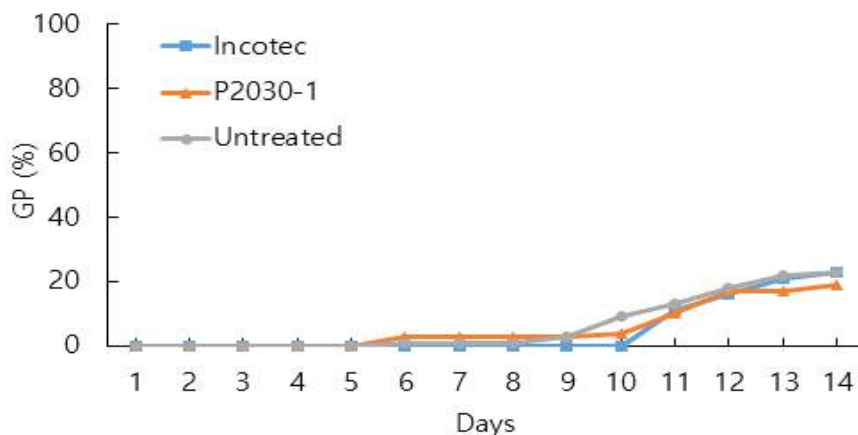


그림 58. 필름코팅제(노루 P2030-1 vs. Incotec)가 파프리카 종자의 발아에 미치는 영향

(4) 토마토 종자의 필름코팅 소재평가 및 방법 구축

필름코팅제 및 처리량에 따라 외형적 특성을 비교한 결과, 필름코팅제의 종류에 따라 필름코팅량이 20 ml일 때는 노루홀딩스의 NSC-P2030이 63.5%, NSC-P1030 63.5%, 인코텍이 23.5%로 고추, 파프리카 종자와 동일하게 노루홀딩스 필름코팅제가 우수하였다. 25 ml 처리는 필름코팅제의 종류에 상관없이 95% 이상의 우수한 발림성을 보였다. 토마토 종자는 표면에 털이 있어 이중립의 비율이 11.0~32.2%로 고추와 파프리카 종자에 비해 높은 비율을 보였다. 고추와 파프리카 종자에서는 25 ml 처리 종자에서 발림성과 이중립 비율이 낮았으나, 토마토에서는 이중립의 비율이 높았다. NSC-P2030 처리 종자의 이중립 비율이 12%로 30% 이상의 이중립을 나타낸 인코텍과 NSC-P1030 필름코팅제에 비해 유의하게 낮았다. 토마토 종자는 필름코팅제의 종류와 처리량 두 개의 요인이 발림성과 이중립 비율에 높은 상호작용을 보였다(그림 59와 표 83).














필름코팅제 종류	발림성(필름코팅제량(ml))		용해성(필름코팅제량(ml))	
	20	25	20	25
Incotec				
NSC-P1030				
NSC-P2030				
Untreated				

그림 59. 필름코팅제 종류 및 처리량에 따른 토마토 종자의 외적 특성 평가. (NSC-P1030,2030: 노루홀딩스제조)

표 83. 필름코팅제 및 처리량이 토마토 종자의 형태특성에 미치는 영향

필름코팅제	필름코팅제량(ml)	발림성(%)	이중립(%)
Incotec	20	23.5c	21.2b
	25	96.5a	32.2a
NSC-P1030	20	63.5b	15.0bc
	25	96.5a	31.2a
NSC-P2030	20	63.5b	11.0c
	25	95.0a	12.0c
코팅제		*	***
코팅량		***	***
코팅제×코팅량		*	*

* 신흥기기, 종자 120 g (300 ml), 회전관속도 750 rpm, 이중립: 1 g 종자 중 2 립 이상 종자의 무게비율, NSC-P1030,2030: 노루홀딩스제조

필름코팅제별로 코팅액의 용해 정도를 발아용지에 코팅제가 녹은 정도로 평가한 결과 고추, 파프리카 필름코팅종자와 유사하게 인코텍> NSC-P2030> NSC-P1030 순으로 코팅제의 용해도 정도를 보였다(그림 4.60). 파종 후 3-5일 차의 초기 발아율은 고추와 파프리카와 유사하게 인코텍사의 필름코팅처리 종자에서 빨랐다(그림 4.61). 대조구의 발아율과 유묘율이 특히 낮았던 것은 발아시 곰팡이 발생이 심하여 저하되었고, 반복 간 발아율의 차이가 커서 필름코팅제의 종류에 따른 통계적 유의차가 보이지 않았다(표 4.84). 외국산(I사)의 필름코팅처리 제품과 위탁 과제의 개선품(P2030-1) 필름코팅처리종자의 발아특성을 비교한 결과 통계적 유의성은 보이지 않았으나 초기 발아와 발아 특성은 수치상 외국산(I사)이 우수하였으나 위탁과제에서 개발한 제품은 본 과제의 목표 수준 이상의 결과를 보였다(표 4.85와 그림 4.62)

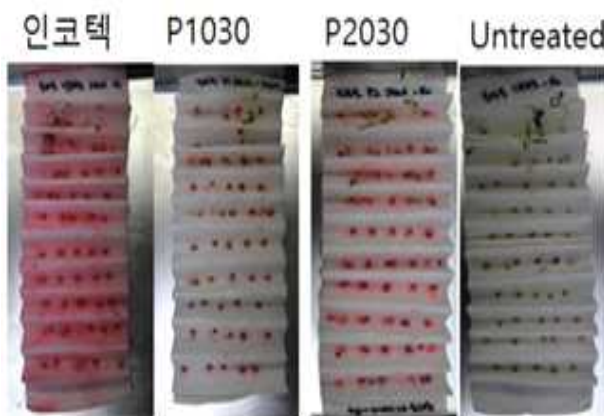


그림 60. 필름코팅제별 토마토 필름코팅종자의 용해성 비교

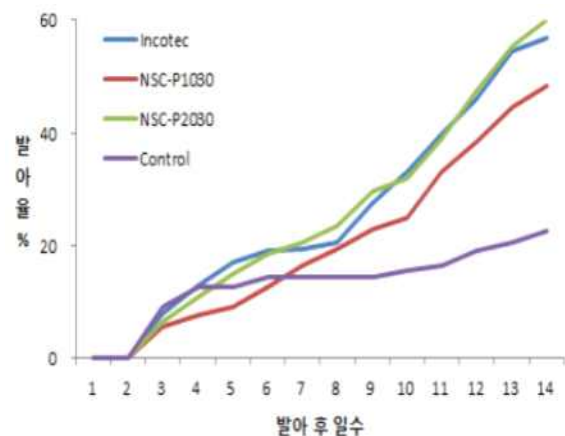


그림 61. 필름코팅제의 종류가 토마토 종자의 발아에 미치는 영향

표 84. 필름코팅제의 종류가 토마토 종자의 발아특성에 미치는 영향

Film coating	GP (%)	MGT (day)	GR (%day-1)	GU	HS (%)
Incotec	57ns	8.4ns	12.08ns	12.31ns	19ns
NSC-P1030	49	8.2	13.23	9.65	21
NSC-P2030	60	9.0	11.33	11.80	25
Untreated	23	6.5	15.87	15.70	6

* 처리 조건: 기존기기, 종자 120 g (300 ml), 필름코팅용액 25 ml, 회전관속도 533 rpm

표 85. 필름코팅제(노루 P2030-1 vs. Incotec)가 토마토 종자의 발아특성에 미치는 영향

Film coating solution (CS)	GP (%)	MGT (day)	GR (%day-1)	GU	HS (%)
P2030-1	72ns	4.0ns	18.8ns	0.12ns	67ns
Incotec	80	3.7	22.7	0.18	64
Untreated	77	4.3	19.3	1.01	72

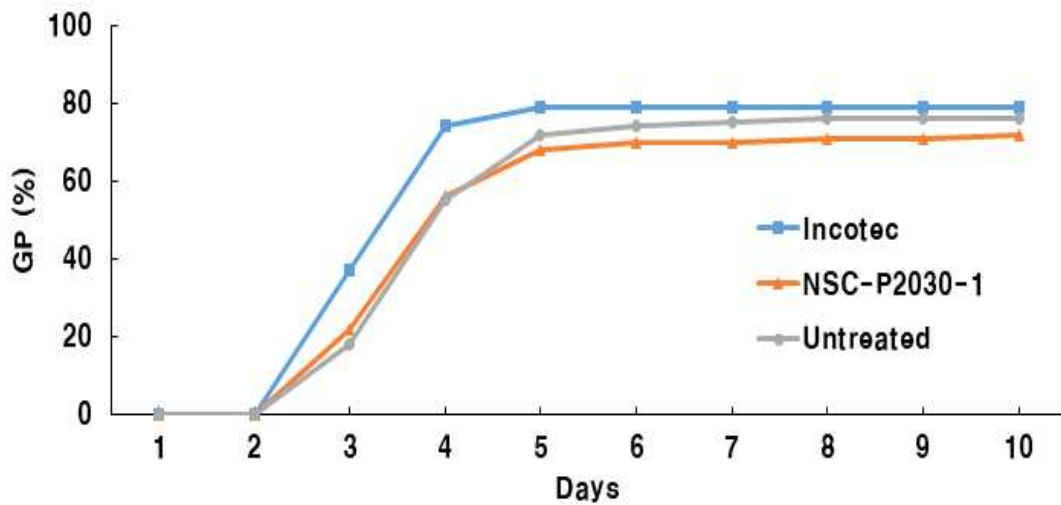


그림 62. 필름코팅제(노루 P2030-1 vs. Incotec)가 토마토 종자의 발아에 미치는 영향

5. 필름 코팅소재 및 장비 평가 기준 수립(기존 시판품과 제1협동기관 제작 코팅기기 비교)

가. 연구목표

본 연구과제의 위탁과제기관(노루홀딩스)에서 개발한 필름코팅소재와 선지국의 다국적기업 (Incotec)에서 개발한 제품을 사용하여 외형적 특성과 발아 등의 생리적 특성에 미치는 영향을 비교하여 본과제의 목표인 국내산 개발에 내실을 다지고자 하였다. 또한 1협동이 개발한 장비와 기존에 시판하고 있는 장비를 이용한 필름코팅 제작 결과물을 비교하고, 제작 기관(학교, 기업체)에 따른 제품의 재연성을 평가하였다.

나. 재료 및 방법

(1) 종자의 필름코팅 처리 평가 기준 설정

필름코팅제 평가를 위한 생리적·물리적 평가 항목 설정 및 평가 점수의 5단계화를 품목별 설정하였다.

(2) 협동과제간 작물에 대한 필름코팅 재연성 평가

필름코팅의 재연성 평가를 위하여 동일 작물에 대해 동일 기기와 조건에서 1협동 연구대상 품목(양배추, 배추, 무, 당근, 양파)에 대해 종자량 500ml, 750rpm 회전속도 조건에서 필름코팅을 한 후 발림성 및 이중립의 비율을 비교하였다.

다. 결과 및 고찰

(1) 종자의 필름코팅 처리 평가 기준표 설정

- 발아율: 나종자 대비 발아율
- 발아세: 나종자 대비 발아세
- 표면 코팅율: 코팅작업이 완료된 종자 50개~100개를 선택 후 각 종자의 코팅된 면적 비율의 평균값
- 이중립 생성: 코팅작업 후 종자 100개중 이중립 개수
- 물 용해력: 25℃의 물에 코팅된 종자의 침지 후 코팅이 벗겨지는 시간
- 코팅 작업 소요 시간: 종자 1 Kg 기준 코팅작업 소요 시간
- 코팅 후 분진 발생 정도: 코팅된 종자 100 g을 알맞은 용기에 넣어 위아래로 강하게 흔든 후 질량감소율
- 표면 균일성: 코팅작업이 완료된 종자 50개~100개를 육안 또는 실제현미경으로 관찰하여 표면의 매끄러운 정도

표 86. 고추종자 대상 필름 코팅 소재 평가표

평가항목	필름코팅 제조사	아주나쁨	나쁨	보통	좋음	아주좋음
발아율1	Incotec	~80%	80%~85%	85%~90%	90%~95%	95%이상
	노루(P2030-1)	~80%	80%~85%	85%~90%	90%~95%	95%이상
발아세2	Incotec	~80%	80%~85%	85%~90%	90%~95%	95%이상
	P2030-1	~80%	80%~85%	85%~90%	90%~95%	95%이상
표면 코팅율3	Incotec	~80%	80%~85%	85%~90%	90%~95%	95%이상
	P2030-1	~80%	80%~85%	85%~90%	90%~95%	95%이상
이중립 생성 정도4	Incotec	40개	30개	20개	10개	0개
	P2030-1	40개	30개	20개	10개	1개
물 용해력5	Incotec	>72H	48H~72H	24H~48H	24H~12H	<12H
	P2030-1	>72H	48H~72H	24H~48H	24H~12H	<12H
코팅 작업 소요 시간6	Incotec	5분이상	4분	3분	2분	1분이내
	P2030-1	5분이상	4분	3분	2분	1분이내
코팅후 분진 발생 정도7	Incotec	2%이상	1.5%	1.0%	0.5%	0%
	P2030-1	2%이상	1.5%	1.0%	0.5%	0%
전반적 작업 용이성	Incotec	50점 이하	51~60점	61~70점	71~80점	90점 이상
	P2030-1	50점 이하	51~60점	61~70점	71~80점	90점 이상
표면 균일성8	Incotec	좋지않음	보통이하	보통	좋음	아주좋음
	P2030-1	좋지않음	보통이하	보통	좋음	아주좋음

※ 종자량 94 ml (50 g), 코팅액 7.8 ml (Incotec: dH₂O, 1:1) & P2030-1, 750 rpm, dry 1 m 30 s, 신평장비

1 : 나종자 대비 발아율

2 : 나종자 대비 발아세

3 : 코팅작업이 완료된 종자 50개~100개를 선택 후 각 종자의 코팅된 면적 비율의 평균값

4 : 코팅작업 후 종자 100개중 이중립 개수

5 : 25℃의 물에 코팅된 종자의 침지 후 코팅이 벗겨지는 시간

6 : 종자 1 Kg 기준 코팅작업 소요 시간

7 : 코팅된 종자 100 g을 알맞은 용기에 넣어 위아래로 강하게 흔든 후 질량감소율

8 : 코팅작업이 완료된 종자 50개~100개를 육안 또는 실체현미경으로 관찰하여 표면의 매끄러운 정도

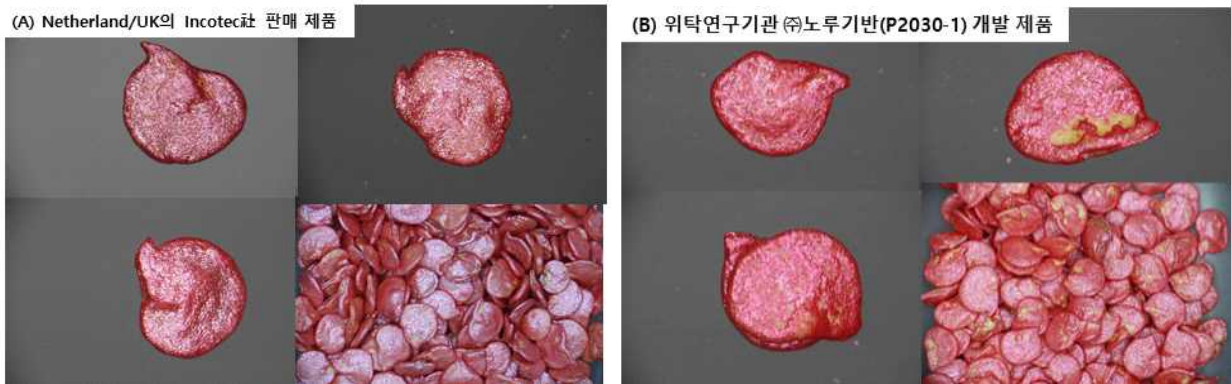


그림 63. 필름코팅 소재별 종자의 외형 평가

(2) 품목별 필름 코팅 적용 후 소재 평가

상추, 고추, 토마토 종자에 필름 코팅을 처리한 후 Netherland/UK의 Incotec社 제품과 ㈜노루홀딩스의 시제품(P2030-1) 필름코팅 소재평가를 위한 평가기준을 표 16와 같이 정한 후 외형 및 발아특성을 조사하였다. 두 가지의 필름 코팅 소재는 평가항목에서 큰 차이가 없었으며 P2030-1의 표면 코팅율이 낮은 것을 확인할 수가 있었다. P2030-1의 필름 코팅 소재가 incotec의 필름 코팅 소재에 비해 점성이 높아 필름코팅 처리 시 종자끼리 붙어 소재가 제대로 부착되지 않아 P2030-1의 표면 코팅율이 낮은 것으로 보인다. 따라서 P2030-1의 표면 코팅율을 개선하기 위해 필름 코팅 소재의 자체적인 점성을 낮추거나 사용자의 필요에 따라 희석을 통하여 점성을 낮춘 사용이 필요하다.

(3) 필름코팅 종자의 발아 특성 평가

고추 필름코팅 종자의 발아 특성 평가는 표 16과 같으며 모든 발아특성 항목에서 유의차가 없었다. Netherland/UK의 Incotec社의 시판 제품과 ㈜노루홀딩스에서 개발한 P2030-1 제품을 사용하였을 때 발아율 및 발아속도의 특성에서 나종자와 차이가 없었으며 두 가지의 필름 코팅 소재는 고추 종자의 필름코팅에 적합하였다(표 87).

표 87. 고추 필름코팅 종자의 발아 특성 비교

Film coating solution	GP (%)	MGT (day)	T50 (day)	GRI	GR	GU	HS (%)
Incotec 시판제품	90nsz	4.8ns	4.1ns	19.7ns	20.8ns	0.76ns	86ns
협동연구기관 (주)노루홀딩스 제품 (DTK5 + D.W)	90	4.8	4.1	20.0	21.1	0.98	85
Untreated	94	5.1	4.0	21.2	19.9	3.13	84

Seeds were germinated at 30/20°C (8h, light/ 16h, dark) for 14 days. ²Duncan's multiple range test at P<0.05, ns, non-significant.

상추

필름코팅소재 평가 항목

평가항목		아즈나복	나름	보통	중음	아주중음
발아율 ¹	인코텍	<80%	80%~85%	85%~90%	90%~95%	95%이상
	P2030-1	<80%	80%~85%	85%~90%	90%~95%	95%이상
발아세 ²	인코텍	<80%	80%~85%	85%~90%	90%~95%	95%이상
	P2030-1	<80%	80%~85%	85%~90%	90%~95%	95%이상
표면 코팅율 ³	인코텍	<80%	80%~85%	85%~90%	90%~95%	95%이상
	P2030-1	<80%	80%~85%	85%~90%	90%~95%	95%이상
이중립 생성 정도 ⁴	인코텍	40개	30개	20개	10개	7개
	P2030-1	40개	30개	20개	10개	0개
물 용해력 ⁵	인코텍	>72H	48H~72H	24H~48H	24H~12H	<12H
	P2030-1	>72H	48H~72H	24H~48H	24H~12H	<12H
코팅 작업 소요 시간 ⁶	인코텍	5분이상	4분	3분	2분	1분이내
	P2030-1	5분이상	4분	3분	2분	1분이내
코팅후 결진 발생 정도 ⁷	인코텍	2%이상	1.5%	1.0%	0.5%	0%
	P2030-1	2%이상	1.5%	1.0%	0.5%	0%
전반적 작업 용이성	인코텍	50점 이하	51~60점	61~70점	71~80점	90점 이상
	P2030-1	50점 이하	51~60점	61~70점	71~80점	90점 이상
표면 균일성 ⁸	인코텍	중지않음	보통이하	보통	중음	아주중음
	P2030-1	중지않음	보통이하	보통	중음	아주중음

* 종자량 300ml (160g), 코팅액 25ml (Incotec: dH₂O, 1:1) & P2030-1, 750rpm, dry 1m30s, 산농정비

• 인코텍: 코팅제:물=1:1로 희석하여 사용

• P2030-1: 원액 사용



상추 P2030-1
[노루, 위탁과제 개발제품]



상추 Incotec 社제품]

그림 64. 상추 종자의 필름 코팅 소재 평가 결과표와 필름코팅 처리된 종자

토마토

필름코팅소재 평가 항목

평가항목		아주나쁨	나쁨	보통	좋음	아주좋음
박아율 ¹	인코텍	~80%	80%~85%	85%~90%	90%~95%	95%이상
	P2030-1	~80%	80%~85%	85%~90%	90%~95%	95%이상
박아세 ²	인코텍	~80%	80%~85%	85%~90%	90%~95%	95%이상
	P2030-1	~80%	80%~85%	85%~90%	90%~95%	95%이상
표면 코팅율 ³	인코텍	~80%	80%~85%	85%~90%	90%~95%	95%이상
	P2030-1	~80%	80%~85%	85%~90%	90%~95%	95%이상
이중립 생성 정도 ⁴	인코텍	40개	30개	20개	10개	9개
	P2030-1	40개	30개	20개	10개	8개
부패해령 ⁵	인코텍	>72H	48H~72H	24H~48H	24H~12H	<12H
	P2030-1	>72H	48H~72H	24H~48H	24H~12H	<12H
코팅 작업 소요 시간 ⁶	인코텍	5분이상	4분	3분	2분	1분이내
	P2030-1	5분이상	4분	3분	2분	1분이내
코팅후 변질 발생 정도 ⁷	인코텍	2%이상	1.5%	1.0%	0.5%	0%
	P2030-1	2%이상	1.5%	1.0%	0.5%	0%
전반적 작업 용이성	인코텍	50점 이하	51~60점	61~70점	71~80점	90점 이상
	P2030-1	50점 이하	51~60점	61~70점	71~80점	90점 이상
표면 균일성 ⁸	인코텍	좋지않음	보통이하	보통	좋음	아주좋음
	P2030-1	좋지않음	보통이하	보통	좋음	아주좋음

* 종자량 300ml (160g), 코팅액 25ml (Incotec:dH₂O, 1:1) & P2030-1, 750rpm, dry 1m30s, 산농장비

*인코텍: 코팅제:물=1:1로 희석하여 사용

*P2030-1: 원액 사용



토마토 P2030-1
[노루, 위탁과제 개발제품]



토마토 Incotec 社제품

그림 65. 상추 종자의 필름 코팅 소재 평가 결과표와 필름코팅 처리된 종자

고추종자를 대상으로 동일한 처리 조건하(동일종자량 및 코팅액량)에서 필름코팅 장비에 따른 형태적 품질을 비교한 결과 발림성에서 코팅기기와 코팅기계에 따른 유의차가 보였으나 이중립에서는 유의차를 보이지 않았다. 기존 기기가 발림성이 우수하였고 코팅액의 종류에 따른 차이가 보였으며, 제1협동기관(주) 신농)에서 제작한 장비는 코팅액의 종류에 따른 큰 유의차는 보이지 않았으나 노루 제품에서 발림성의 향상이 관찰되었다. 이는 기존 기기의 원반지름의 크기가 300 mm이고, 신농 기기가 500 mm로 기존장비가 상대적으로 작은 크기이기 때문에 충분한 종자량에 인하여 발림성의 향상을 보였다. 종자량이 충분할수록 발림성이 향상되고 코팅액의 종류는 노루홀딩스의 NSC-P2030제품이 우수하였다(표 88).

표 88. 코팅장비 및 필름코팅제가 필름코팅 고추종자의 발림성과 이중립에 미치는 영향

코팅장비	코팅액	발림성(%)	이중립(%)
기존	Incotec	91.5b	6.9ns
	NSC-P1030	83.3c	8.7
	NSC-P2030	100.0a	8.6
신농	Incotec	81.7c	5.3
	NSC-P1030	85.0bc	4.4
	NSC-P2030	86.7bc	8.7
	코팅기	**	ns
	코팅액	**	ns
	코팅기×코팅액	*	ns

* 종자 170 g (300 ml), 코팅액 25 ml, rpm: 회전판속도 기존기기 533 rpm, 신농장비 750 rpm

상추종자를 대상으로 동일한 처리 조건하(동일종자량 및 코팅액량)에서 필름코팅 장비에 따른 형태적 품질을 비교한 결과 발림성에서는 코팅기기에 따른 유의차를 보이지 않았고 이중립의 비율에서 유의차를 보였다. 기존 장비에서는 고추 종자에서와 같이 발림성이 노루홀딩스의 NSC-P2030제품, 인코텍 제품의 순서로 우수하였으며, 제1협동(신농) 개발 기기는 인코텍 제품이 발림성이 우수하였으나, 이중립의 비율이 높았다. 발림성에서 기존장비가 신농 장비에 비해 차이가 보이는 것은 표 13의 결과와 같이 장비에 대한 종자량의 비율 차이에 의한 것으로 유추된다(표 89).

표 89. 상추종자의 기기 및 필름코팅제 종류별 처리별 비교












코팅기기	코팅액	발림성(%)	이중립(%)
기준	Incotec	84.0ab	6.9a
	NSC-P1030	69.0c	1.6b
	NSC-P2030	94.0a	1.0b
신농	Incotec	93.0a	2.4b
	NSC-P1030	72.0bc	1.9b
	NSC-P2030	76.0bc	0.7b
코팅기		ns	***
코팅액		***	ns
코팅기×코팅액		**	ns

* 종자 150 g (300 ml), 코팅액 20 ml, rpm: 회전판속도 기준기기 533 rpm, 신농 기기 750 rpm

(4) 협동과제간 작물 품목에 대한 필름코팅 재연성 평가

필름코팅의 재연성을 비교하기 위해 협동과제별 작물에 대해 동일 기기를 가지고 동일처리 조건(종자량, 필름코팅액, 속도)에서 코팅 형태를 비교하였다. 제1협동 과제의 소립종에 대해 처리 결과를 비교한 결과 발림성과 이중립에서 유사한 결과를 보였다(표 90).

표 90. 협동 과제별 작물에 따른 필름코팅 재연성 비교

필름코팅제	양배추	배추	무	당근	양파
Incotec					
NSC-P1030					
NSC-P2030					
Untreated					

*신농개발 코팅장비사용, 종자량 500 ml, 회전판속도 750 rpm

이상의 결과를 종합한 결과 노루홀딩스의 NSC-P2030 코팅액은 가지과(고추, 파프리카, 토마토) 및 상추 종자에서 Incotec제품과 형태적 및 발아특성에서 동일하거나 우수한 결과를 보였다. 가지과 종자는 종자량 300 ml에 25 ml 코팅액으로 처리된 NSC-P2030와 대조구로 Incotec 처리 종자와 상추 종자는 종자량 300 ml에 20 ml 코팅액 처리구와 대조구로 Incotec처리 종자를 수명평가대상 종자로 주관 과제로 제공하여 수명평가를 실시하였다(가공 종자의 저장성은 주관기관 결과 참조).

6. 상추 및 가지과 작물 종자의 펠렛코팅 소재 평가 및 가공기술 구축

가. 연구목표

현재 우리나라의 종자 펠렛 소재는 외국에서 수입하거나 영세하게 조제하여 사용하는 수준으로 원재료의 국외 의존도가 높은 분야이다. 본 연구과제의 목표인 선진국 수준의 펠렛소재 및 펠렛코팅 기술개발을 현재 수준 10%에서 30%로 높이고 산업화 기반을 구축하기 위하여 처리 기술을 개발하고 본 과제에서 개발한 펠렛소재의 평가와 기계화 파종에 적합한 펠렛종자 가공(분진 저감, 경도 조절) 기술을 구축하고자 하였다.

나. 재료 및 방법

(1) 상추 종자의 펠렛 물질 소재평가 기준 구축

위탁 연구기관인 (주)노루홀딩스에서 개발한 펠렛 소재인 DTK2, DTK3, DTK4, DTK5, DTK6을 사용하여 청치마, 적치마 품종의 상추의 종자펠렛코팅을 수행하였다. 또한 6 작물(고추, 당근, 무, 상추, 양배추, 양파)에 대하여 펠렛분말 소재 DTK5를 적용하여 소재평가 및 주관 과제에 저장성 실험용으로 제공하였다. 소재평가는 경도, 크기, 잔여 분진율, 녹는 형태 등을 수행하였다. 경도와 크기는 경도 측정기(BAOSHISHAN, GY-4), 캘리퍼를 이용하였으며, 5 반복으로 측정하였다. 잔여 분진율은 100립의 펠렛 종자 무게와 지퍼백(10 × 14cm)의 무게를 측정 후 100립의 펠렛종자를 지퍼백에 넣은 후 100회 흔들었다. 지퍼백 잔류 분진율은 100회 흔들 후 지퍼백 무게와 처리 전 무게의 차이를 처리전 지퍼백의 무게로 나누어 백분율로 환산하였다. 녹는 형태는 펠렛 종자에 수분을 흡수시킨 후 시간대별 변화를 관찰하였다.

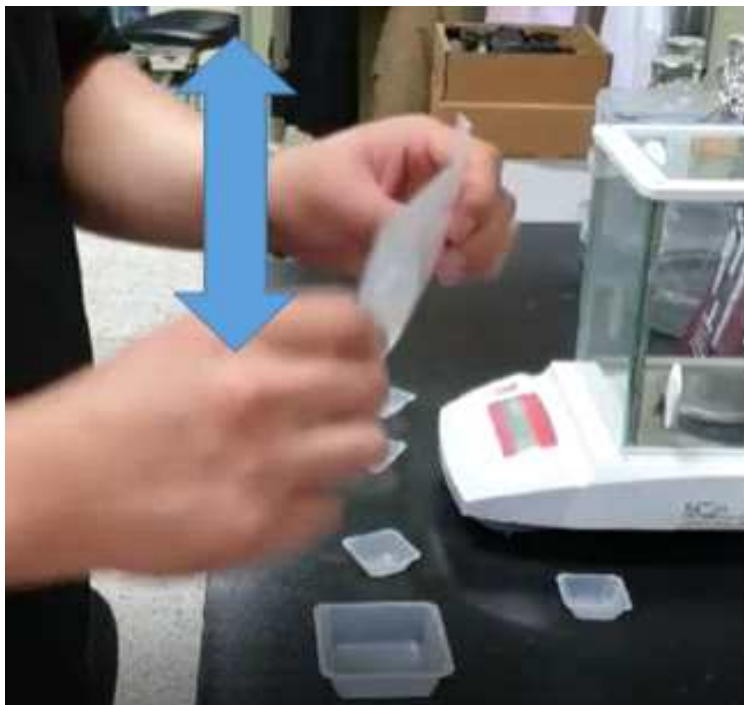


그림 66. 분진율 평가를 위해 지퍼백을 흔드는 모습

(2) 상추 펠렛 코팅 종자의 분진 저감을 위한 처리

펠렛 기기에 펠렛 처리된 상추 펠렛 종자 85 ml을 넣은 후 종자 표면만 젖을 정도로 물 18 ml을 천천히 넣어주며 회전(교반기 A: 700 rpm, 교반기 B: 1300 rpm)하였다. 처리 후 25℃ 송풍 건조기에 24시간 이상 건조하였다.

(3) 고추 종자 펠렛코팅 처리 및 형태 및 발아특성 평가

고추 종자 420 g과 노루 펠렛 물질(DTK5), 증류수를 사용하여 로터리타임 펠렛코팅장치에서 펠렛코팅을 수행하였다. 펠렛 제작 시 회전 속도는 각각 교반기 A는 600~1500 rpm, 교반기 B는 1813 rpm을 이용하여 제작하였으며, 제작 후 25℃ 송풍 건조기에서 건조를 하였다. 건조가 완료된 종자는 펠렛 코팅 종자의 시간별 용해 형태, 경도, 크기 비율을 측정하였다.

다. 연구결과

(1) 상추, 고추 등 6 품목 종자의 펠렛 코팅 소재평가

(가) ㈜노루홀딩스 개발(위탁연구기관)의 펠렛 소재평가 및 발아특성 조사

적치마 펠렛코팅종자를 이용한 펠렛 소재를 평가한 결과, DTK2이 1,230 g의 경도로 가장 단단하였고, DTK6으로 갈수록 경도가 낮아졌다. 크기 비율은 DTK2가 가장 구형에 가까웠다(표 91과 그림 67). 펠렛코팅된 종자를 물에 넣어 녹는 형태를 시간대별(5, 10, 30분) 관찰한 결과 DTK4, 5, 6은 빠른 시간 안에 종자가 부풀어 오르며 한 겹씩 벗겨지는 형태로 녹았고, DTK2, 3은 반으로 갈라지는 결과를 나타냈다(그림 68). 적치마품종의 펠렛종자를 적온에 파종한 결과, 펠렛 종자도 14일차 최종 발아율은 무처리 종자와 차이가 없었다. MGT와 T₅₀의 경우 DTK4가 2.1일, 1.5일로 가장 빨랐으며, DTK2와 비교하여 각 0.9일, 1.2일 단축되었다. 또, GR과 GRI도 DTK4가 49.5, 58.0로 DTK2보다 향상된 결과를 나타냈다(표 92). 고온에 파종한 경우 펠렛종자(26-61%)의 발아율이 무처리(90%) 종자보다 크게 감소되었는데 펠렛종자 중에서 DTK4 펠레종자의 GP가 61%로 가장 높았다(표 93). 청치마품종의 경우 DTK3으로 제작한 펠렛종자는 적온에서 발아율이 78%로 98%의 발아율을 보인 무처리종자보다 크게 감소된 결과를 보였다(표 94).

표 91. 노루 개발 펠렛소재 별 적치마 상추 펠렛코팅종자의 형태적 특성 평가(CMC 0.5% binder 사용)

피복물질	경도(g)	크기(mm)	크기 비율(%)
DTK2	1,230	4.11 x 3.38	82.2
DTK3	1,120	4.29 x 3.20	74.6
DTK4	640	4.21 x 2.98	70.8
DTK5	490	4.20 x 3.14	74.8
DTK6	460	3.69 x 2.80	75.9

* 크기 비율: 100%에 가까울수록 구형[{작은 값/큰 값}×100]

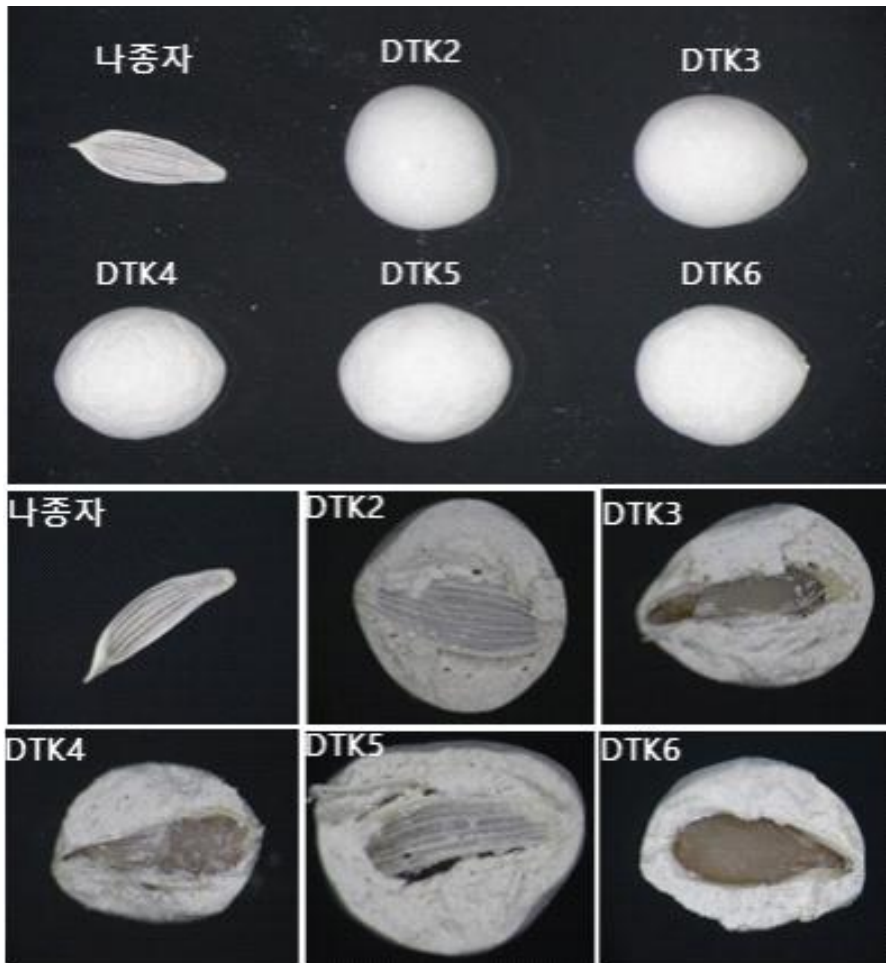


그림 67. 펠렛종자의 크기 비교 및 단면 사진(적치마상추)

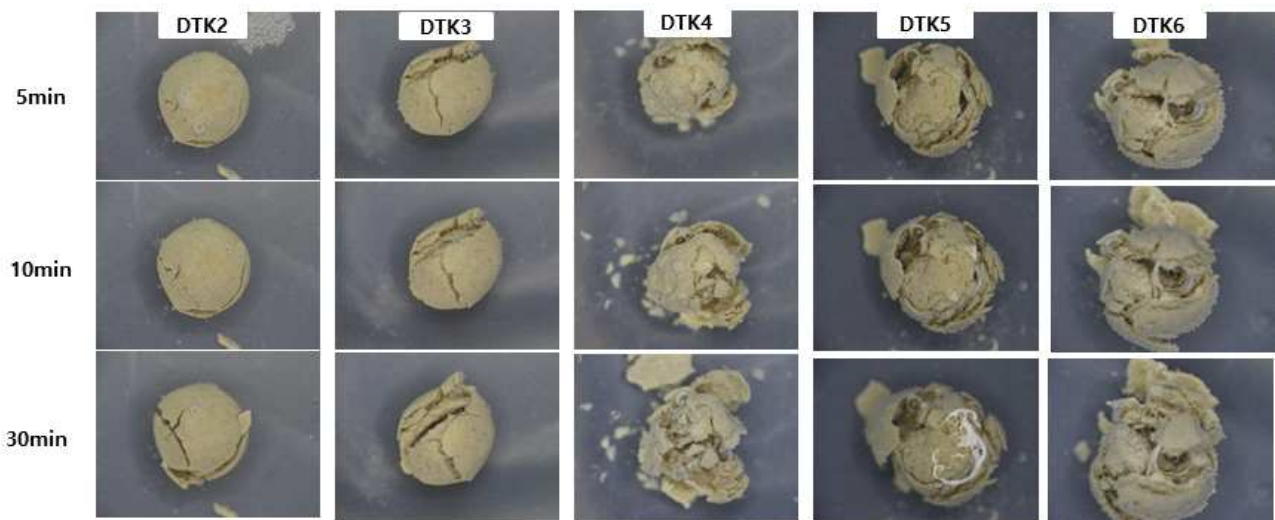


그림 68. 과제 개발된 노루펠렛물질의 종류 및 시간대별 펠렛코팅종자의 용해 형태(적치마상추)

표 92. 펠렛코팅 소재별 적치마 상추의 적온(20℃) 파종 시 발아특성 비교

노루 소재	GP (%)	MGT (day)	T50 (day)	GR (%·day ⁻¹)	GRI	GU	HS (%)
DTK2	86 nsz	3.0 a	2.7 a	33.1 c	37.2 d	1.60 ns	66 b
DTK3	87	2.5 bc	2.2 ab	40.2 bc	46.9 cd	0.88	63 b
DTK4	90	2.1 c	1.5 c	49.5 b	58.0 b	0.51	70 b
DTK5	90	2.5 bc	2.0 bc	40.2 bc	49.8 bc	1.02	69 b
DTK6	92	2.7 ab	2.2 ab	37.8 c	47.2 cd	0.95	71 b
Untreated	95	1.3 d	0.7 d	81.9 a	86.5 a	-0.64	86 a

Seeds were germinated at 20℃(24h, light) for 14 days. ^zDuncan's multiple range test at P<0.05 and, ns, non-significant.

표 93. 펠렛코팅 소재별 적치마 상추의 고온(30℃) 파종 시 발아특성 비교

노루 소재	GP (%)	MGT (day)	GR (%·day ⁻¹)	GRI	GU	HS (%)
DTK2	26 cz	10.1 a	9.9 c	2.9 c	3.77 ns	17 c
DTK3	39 c	10.4 a	9.7 c	3.9 c	1.73	13 c
DTK4	61 b	8.3 b	12.1 c	10.0 c	7.10	38 b
DTK5	55 b	3.2 c	30.9 b	28.6 b	3.71	41 b
DTK6	26 c	3.1 c	27.3 b	9.8 c	3.56	14 c
Untreated	90 a	2.7 c	36.9 a	53.5 a	2.30	72 a

Seeds were germinated at 30℃(24h, light) for 7 days. ^zDuncan's multiple range test at P<0.05 and, ns, non-significant.

표 94. 펠렛코팅 소재별 청치마 상추의 적온(20℃) 파종 시 발아특성 비교

소재	GP (%)	MGT (day)	T50 (day)	GR (%·day ⁻¹)	GRI	GU	HS (%)
DTK3	79 bz	2.6 a	2.0 a	38.4 d	36.6 e	0.70 ns	72 c
DTK4	96 a	2.3 b	1.6 b	44.5 d	50.8 d	0.03	82 a-c
DTK5	97 a	1.5 d	0.8 d	67.2 b	78.4 b	-0.15	88 ab
DTK6	93 a	1.8 c	1.2 c	55.8 c	65.1 c	-0.04	78 bc
Untreated	98 a	1.2 e	0.6 d	84.8 a	91.0 a	-0.69	92 a

Seeds were germinated at 20℃(24h, light) for 14 days. ^zDuncan's multiple range test at P<0.05 and, ns, non-significant.

(2) 작물별 선발한 노루 펠렛소재의 적용 및 형태 특성 평가

(주)노루홀딩스가 개발한 펠렛소재(DTK5)를 이용하여 6개 작물을 대상으로 펠렛코팅을 실시하였다. 경도, 크기, 분진율 등의 형태 평가를 한 결과, 양배추의 경우 경도가 약해 측정이 되지 않았으며, 잔여 분진율은 모든 작물에서 0.10% 이상으로 높았다(표 95).

제2협동(코레곤)에서 제작된 펠렛코팅종자를 대상으로 플러그 파종을 평가한 결과 경도 미흡, 기계화 파종 시 결주율 발생 및 분진 발생, 펠렛제작의 낮은 용이성, 이중립 생성, 코팅 비형성 잔류종자의 높은 비율 등의 문제점이 제기되어 노루에서 추가적 소재개발과 가공기술 구축을 시도하였다.

표 95. 노루개발 펠렛코팅 소재(동아대 제작)를 이용한 6개 작물의 펠렛코팅 종자의 형태특성 평가

작물	경도(g)	크기(mm)	크기 비율(%)	잔여 분진율(%)
고추	654±154Z	5.97±0.5×5.39±0.2	90	0.29
당근	258±25	3.81±0.2×3.12±0.1	82	0.12
무	542±90	5.24±0.2×4.71±0.3	90	0.45
상추	398±76	3.73±0.1×3.12±0.1	84	0.27
양배추	-	3.23±0.1×3.11±0.1	96	0.04
양파	388±51	4.38±0.2×3.95±0.2	90	0.17

* 크기 비율: 100%에 가까울수록 구형[{작은 값/큰 값}*100]. -: 측정불가, ^Z평균값±표준표차

(3) 펠렛코팅 소재 Netherland/UK(인코텍), 일본(스미토모)제품과 위탁참여기관 (주)노루홀딩스 개발 제품과의 비교

본 연구의 목적인 세계 종자 가공시장에 준하는 펠렛코팅소재 개발을 위하여 전 세계 종자 코팅 시장의 44%를 점유하는 1등 기업인 인코텍社 펠렛코팅 종자를 대조구로 선정하여 과제에서 개발한 코팅소재를 비교하고자 하였다.

무, 양파, 상추 3개 품목을 대상으로 동일한 seedlot을 정하여 인코텍 아시아 지점(호주)에 펠렛코팅 제작을 의뢰하여 비교 대조군인 인코텍 펠렛코팅종자를 확보하였다. 동일한 seedlot의 종자를 제1협동(신농)과 제3협동(동아대)에 보내어 제1협동에는 일본의 스미토모社와 노루개발의 분말로 펠렛코팅종자를 가공하였다. 제3협동에서는 노루 개발의 분말(DTK5)을 소재로 펠렛코팅을 제작하였다.

인코텍, 스미토모, 노루의 펠렛소재로 종자펠렛코팅 후 평가한 결과, 인코텍 펠렛소재로 만든 종자들의 경도가 가장 높았고, 노루 펠렛소재의 경도가 가장 낮았다. 분진율의 경우 인코텍, 신농 소재의 펠렛종자는 0.10% 이하였으나, 노루 소재의 펠렛종자는 0.17 ~ 0.45%였다(표 96, 그림 69). 인코텍 펠렛종자의 접착제 사용 여부를 알 수 없으나 신농과 동아대에서는 펠렛코팅 제작 시 종자 활력에 미치는 영향을 최소화하기 위하여 접착제(binder) 없이 물로 제작하였다.

표 96. 펠렛코팅 소재별 펠렛종자의 외형적 특성 평가

평가 항목	무	양파	상추
Netherland/UK 기업 Incotec 社 소재(인코텍제작, 바인더 사용여부 불명)			
경도(g)	1,334±123Z	1,062±79	1,174±114
크기(mm)	5.06±0.2×4.46±0.2	4.19±0.2×3.64±0.2	4.11±0.2×3.26±0.2
크기 비율(%)	88	87	79
잔여 분진율(%)	0.09	0.03	0.02
일본 스미토모 社 분말 (신농제작), 바인더 대신 물로 가공			
경도(g)	1,218±67	746±120	494±78
크기(mm)	5.69±0.2×5.48±0.1	4.19±0.2×3.97±0.3	3.51±0.1×3.02±0.2
크기 비율(%)	96	95	86
잔여 분진율(%)	0.02	0.02	0.06
(주) 노루홀딩스 개발제품 DTK5 (동아대 제작), 바인더 대신 물로 가공			
경도(g)	542±90	388±51	398±76(물) 308±32(CMC 0.5%바인더)
크기(mm)	5.24±0.2×4.71±0.3	4.38±0.2×3.95±0.2	3.73±0.1×3.12±0.1
크기 비율(%)	90	90	84
잔여 분진율(%)	0.45	0.17	0.27(물) 0.15(CMC 바인더)

* 크기 비율: 100%에 가까울수록 구형[{작은 값/큰 값}*100], ^Z평균값±표준표차

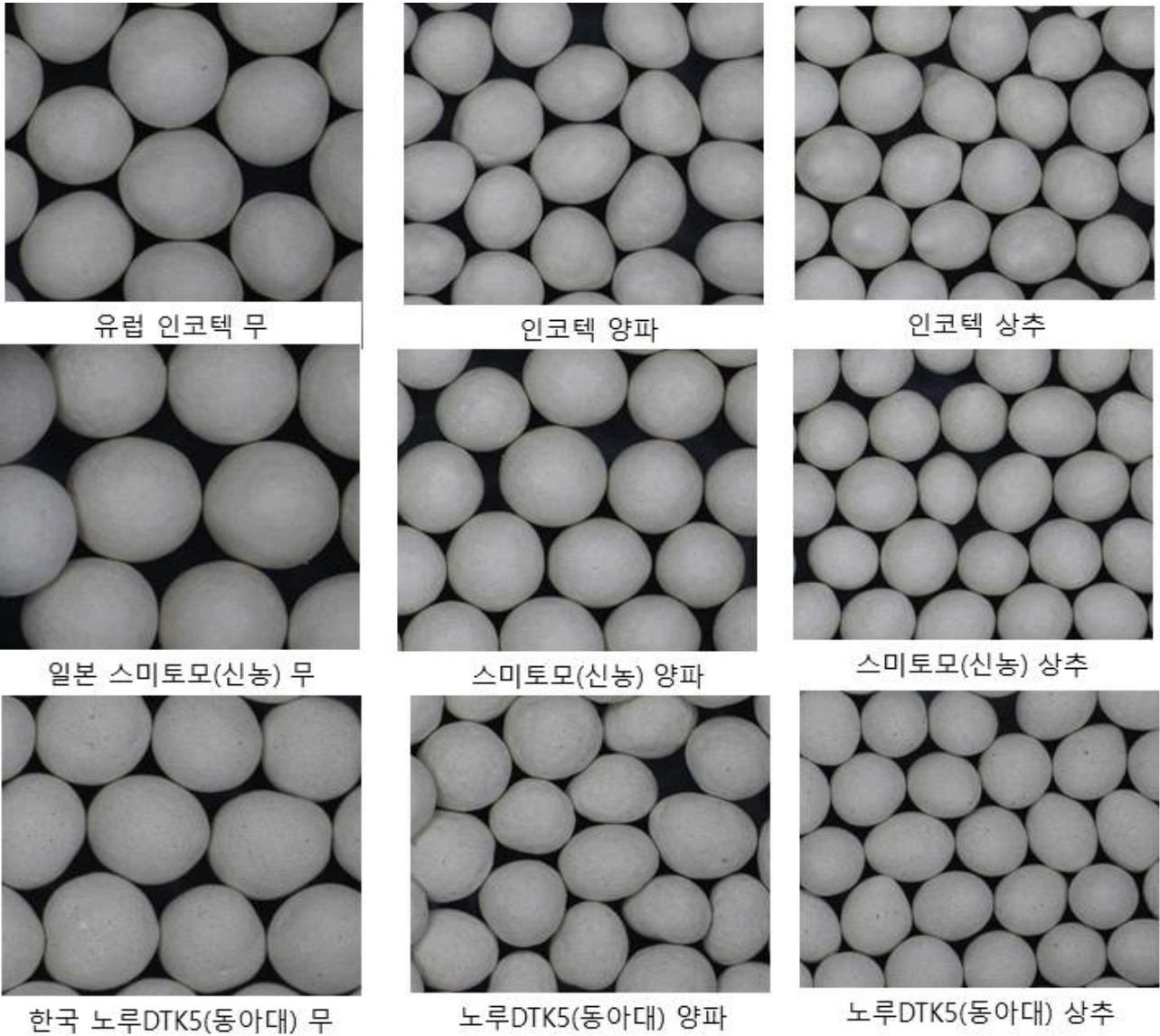


그림 97. 펠렛코팅 소재별 펠렛코팅 종자 사진

상추종자를 대상으로 펠렛종자의 품질을 표 27과 같이 비교한 결과 노루 분말과 CMC접착제(바인더)를 사용하였을 때 분진율이 0.15%로 물로 펠렛을 제작했을 때의 0.27% 보다 크게 감소하였다(표 97과 그림 70). 인코텍社에서 제작한 펠렛종자도 2가지 타입으로 A 타입은 경도가 높고 분진율로 매우 낮았으나 B 타입은 노루 제품보다도 월등하게 높은 분진율과 낮은 경도를 보여 바인더의 사용 여부, 펠렛종자의 사용 용도에 따른 펠렛종자의 특성도 고려할 필요가 있다.

표 4.97. 상추펠렛코팅종자의 형태 특성 비교

측정 항목	인코텍 분말 및 제작 코팅종자		노루 DTK5+CMC 0.5%	노루 DTK5+물
	상추 A	상추 B	청치마상추	청치마상추
펠렛종자 소실 분진율(%)	0.04	8.46	0.01	0.13
지퍼백 잔류 분진율(%)	0.02	7.12	0.15	0.27
경도(g)	1,174±114Z	232±28	308±36	398±76
분진 평가 후 펠렛종자 깨짐	없음	없음	없음	없음

^Z평균값±표준표차



그림 4.70. 상추펠렛코팅종자의 노루와 인코텍社 펠렛소재 별 분진 비교

(4) 펠렛 분진 저감을 위한 처리

펠렛제작 공정 직후 후처리로 분진을 저감을 목적으로 공회전 처리를 표 98과 같이 수행하였다. 노루(DTK5 + CMC 0.5%)와 노루(DTK5 + 물) 펠렛종자 모두 공회전을 하지 않은 종자는 분진율이 0.15%, 0.27%로 높았으나 공회전 처리 결과 펠렛종자의 분진율이 0.01-0.02%로 크게 감소되었다. 경도는 공회전 처리 시간이 증가함에 따라 향상되었으며, 처리시간과 펠렛 분진 평가 후 손상된 종자는 없었다(표 4.98). 공회전 처리 후 종자에 얼룩무늬가 생겼으며, 바인더를 사용하지 않은 펠렛종자보다 CMC 0.5%를 사용한 펠렛종자에서 얼룩이 선명하게 나타나서 상업적 사용에는 어려움이 있다(그림 71과 72).

표 98. 상추펠렛종자의 공회전 처리 시간에 따른 분진 저감 효과

측정 항목	노루 DTK5+CMC 0.5%			노루 DTK5+물		
	0	10	20	0	10	20
공회전(분)	0	10	20	0	10	20
펠렛종자 소실 분진율(%)	0.01	0.10	0.06	0.13	0.03	0.01
지퍼백 잔류 분진율(%)	0.15	0.02	0.01	0.27	0.01	0.02
경도(g)	308±36Z	370±82	384±59	398±76	408±28	428±96
분진 평가 후 펠렛종자 깨짐	없음	없음	없음	없음	없음	없음

^Z평균값±표준표차

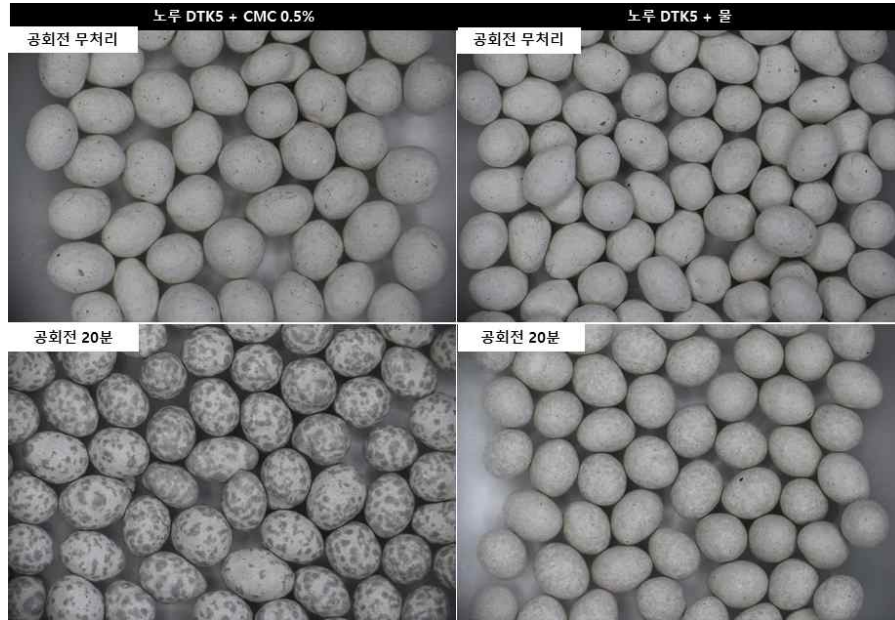


그림 71. 공회전 처리 후 펠렛종자

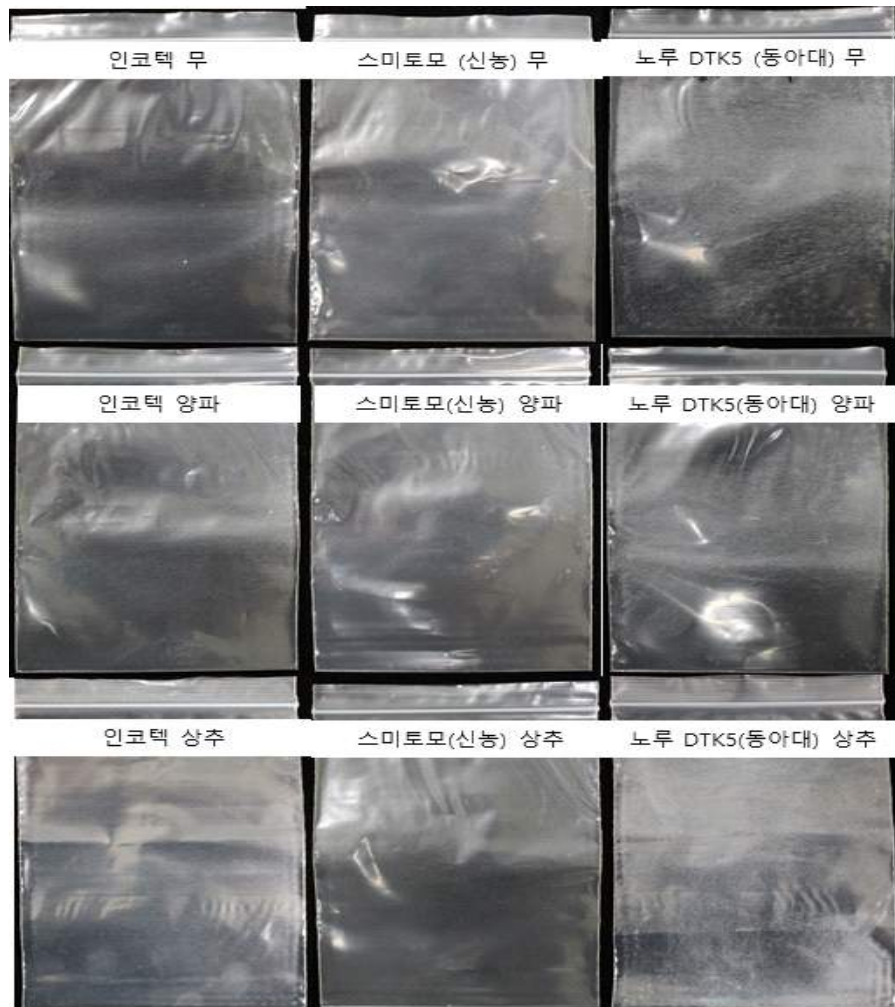


그림 72. 분진 저감을 위한 공회전 처리한 종자의 포장재 잔류 분진 저감

(5) 바인더 무사용 펠릿코팅 종자 가공기술 구축

(가) 물로 가공한 펠릿코팅 종자의 흡수 형태 관찰

고추 종자를 본 연구과제의 위탁연구기관인 (주)노루홀딩스의 펠릿피복물질 DTK5와 접착제 대신 증류수를 이용하여 펠릿코팅한 종자의 외형과 녹는 형태를 관찰하였다(그림 73과 74).



그림 73. 고추의 나종자와 펠릿종자의 외형 및 단면



그림 74. 고추 펠릿종자의 수분 흡수형태(좌측부터 침지 후 0, 5, 10, 30분 경과) 및 발아 모습

고추 종자를 위탁연구기관인 (주)노루홀딩스의 펠릿피복물질 DTK5와 접착제 대신 증류수를 이용하여 펠릿코팅한 종자의 발아 평가한 결과는 표 44와 같다. 발아 조사 7일 차에서 펠릿종자와 나종자의 유의차는 GP, MGT, GR에서 나왔으며 GP는 나종자가 84%, 펠릿종자가 60%로 나종자의 발아율에 비해 감소되는 결과를 보였다 (표 99).

표 99. 고추 펠릿종자와 나종자의 발아 특성 비교

Pellet treatment	GPz (%)		MGT (day)	T50 (day)	GRI	GR (%·day-1)	GU
	3rd	7th					
Untreated (나종자)	0by	84a	5.1a	4.7ns	17.1ns	19.9b	-0.44ns
협동연구기관 (주)노루홀딩스 제품 (DTK5 + D.W)	11a	60b	4.3b	4.5	14.5	23.2a	-0.28

Seeds were germinated at 30/20°C(8h, light/16h, dark) for 7 days. ^zGermination percentage on 3rd and 7th day after sowing. ^yDuncan's multiple range test at P<0.05. ns: non-significant.

(6) 공정과정에 따른 펠렛코팅종자의 형태특성 비교

펠렛종자 공정과정에서 교반기의 속도(700, 1200 rpm)와 건조온도(25, 50℃)가 펠렛코팅종자의 형태와 특성에 미치는 영향을 알아보았다. 상추 종자를 이용하여 펠렛공정을 하였으며 2.7-3.5 mm의 크기로 펠렛종자를 제작하였다. 상추 펠렛종자의 구형률은 82.2-85.8%로 완전한 구형이 아닌 타원형의 형태를 보였다. 25℃에서 건조 시 펠렛종자의 경도는 357-373 g이었으나, 50℃로 건조한 경우에는 431-502 g의 경도를 보이며 건조 온도가 증가됨에 따라 경도가 증가되는 결과를 보였다. 50℃ 건조, 1200 rpm으로 제작한 펠렛종자의 지퍼백 잔류 분진율은 0.0138%로 모든 처리 중에서 가장 낮은 분진율을 보였다(표 100과 그림 75). 교반기의 최대속도를 700 rpm으로 처리 시 상추 펠렛코팅종자의 수율은 89.5%의 결과를 보였으며, 교반기의 최대 속도가 1,200 rpm인 경우는 78.3%의 수율을 보였다. 이는 펠렛공정 과정 중에서 교반기의 속도가 증가 됨에 따라 강해지는 원심력에 의해 종자에서 펠렛코팅소재가 떨어져 나가거나 종자가 서로 달라붙는 빈도가 증가하여 수율이 감소되는 것으로 사료된다(표 101). 완성된 상추 펠렛코팅종자를 물에 침지하여 60분간 관찰한 결과는 그림 4.76과 같다. 50℃, 700 rpm 처리 종자는 침지 후 1분 만에 균열이 일어나 종자가 외부로 가장 빠르게 노출되었다. 그다음으로는, 50℃, 1200 rpm, 25℃ 1200 rpm, 25℃ 700 rpm 처리 종자 순으로 균열이 일어났다. 경도가 높은 50℃ 건조 종자들은 녹는 형태가 쪼개지는 경향을 보였다. 25℃ 건조 종자들은 부풀어 오르면서 펠렛소재가 겹겹이 벗겨지는 경향을 보였다.

표 100. 건조온도와 교반기 회전 속도에 따른 상추펠렛종자들의 특성

특성	25℃ (건조)		50℃ (건조)	
	700 rpm	1200 rpm	700 rpm	1200 rpm
길이(mm)	3.45±0.15z	3.55±0.31	3.53±0.2	3.58±0.15
너비(mm)	2.84±0.17	3.03±0.08	3.01±0.17	2.94±0.12
구형율(%)	82.3±4.2	85.8±5.5	85.5±5.8	82.19±5.5
경도(g)	373±71	357±90	431±116	502±77
지퍼백 잔류 분진율(%)	0.0944	0.0922	0.0921	0.0138

*구형율: 100%에 가까울수록 구형 [(작은 값/큰 값)*100]

**지퍼백 잔류 분진율: [흔든 후 지퍼백 무게-지퍼백 무게]/지퍼백 무게*100]

^z10립 평균값±표준편차

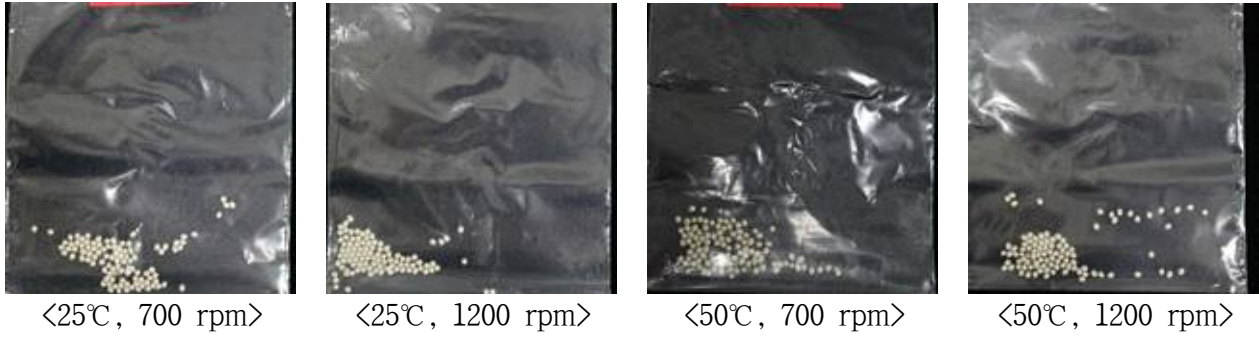


그림 75. 펠렛코팅종자 100립을 이용한 분진 검사

표 101. 교반기의 회전속도가 펠렛 종자의 품질에 미치는 영향

제작조건	700 rpm	1200 rpm
수율(%)	89.5	78.3
이중립률(%)	1	0
비립률(%)	3	3

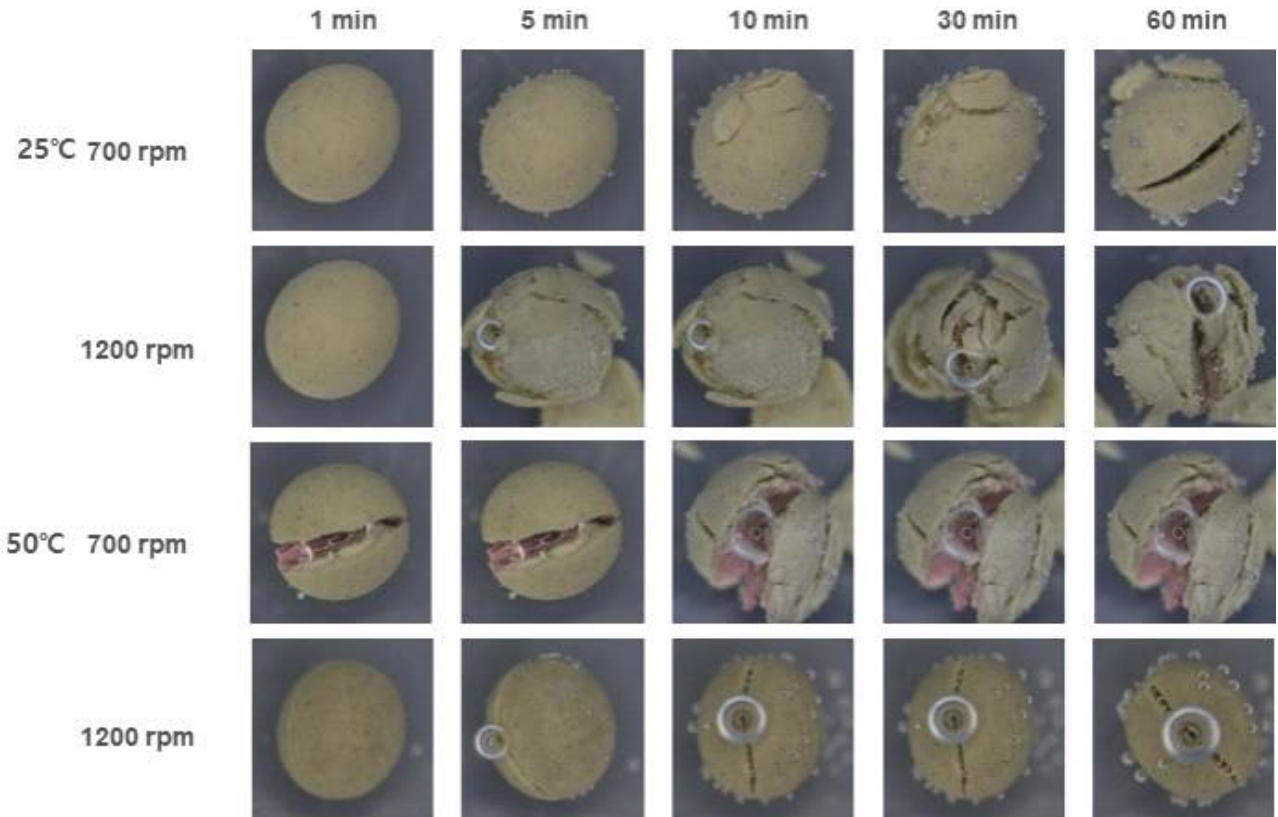


그림 76. 침수 시 펠렛종자의 녹는 형태

(7) 추가 펠렛코팅소재 평가(DTK7과 DTK 8)

새로운 펠렛코팅소재인 DTK7과 DTK8를 증류수를 이용하여 상추와 양배추 종자를 펠렛코팅 가공 후 발아 특성을 평가하였다. 상추 펠렛코팅종자의 발아율은 나종자와 유의차가 없었으며 평균발아일수는 8.9-9.2일로 나종자(2.6일)에 비해 6.3-6.6일 느려진 결과를 보였다. DTK8의 건전묘율은 86%로 가장 높았으며, 발아 균일성은 3.38로 DTK7 (8.20) 보다 낮은 값을 보였다 (표 102). 양배추 펠렛코팅종자의 발아율과 건전묘율은 DTK8이 99, 96%로 가장 높았다. 발아 속도는 나종자에 비해 감소된 결과를 보였으며, 펠렛코팅종자의 평균발아일수는 4.3-4.6으로 나종자(2.2일)보다 2.1-2.4일 늦어졌다(표 103).

표 102. 펠렛코팅처리가 상추 종자의 발아특성에 미치는 영향

Pellet coating	GP (%)	MGT (day)	GR (%·day-1)	GU	HS (%)
DTK7	77 nsz	8.9a	11.5b	8.20a	67b
DTK8	90	9.2a	10.9b	3.38b	86a
Uncoated	80	2.6b	38.8a	1.39b	78ab

Seeds were germinated at 20°C (24 hr, light) for 14 days. ²Duncan's test at P<0.05 and ns: non-significant.

표 103. 펠렛코팅처리가 양배추 종자의 발아특성에 미치는 영향

Pellet coating	GP (%)	MGT (day)	GR (%·day-1)	GU	HS (%)
DTK7	91 bz	4.6a	22.1b	6.63ns	84b
DTK8	99a	4.3a	23.2b	7.34	96a
Uncoated	96ab	2.2b	45.6a	2.80	84b

Seeds were germinated at 20°C (24 hr, light) for 14 days. ²Duncan's test at P<0.05 and ns: non-significant.

노루홀딩스에서 제공한 펠렛코팅소재 DTK7, DTK8와 스미토모社의 펠렛코팅소재를 이용하여 제작한 펠렛코팅종자들의 형태와 특성은 다음과 같다(표 4.104와 그림 4.77). 같은 크기로 제작된 상추 종자의 경우, 스미토모社의 상추 펠렛코팅종자는 경도가 367 g이었으나, DTK7, 8로 제작된 상추 펠렛코팅종자의 경도는 682, 769 g으로 DTK8의 경도가 가장 높았다. 스미토모社를 이용한 펠렛코팅종자들의 단면은 매끄럽고 가루들이 골고루 퍼져있었으며, DTK를 이용한 펠렛코팅종자들의 표면은 불균일한 형태를 보였다. 펠렛코팅 종자를 물에 침지한 결과, 스미토모社를 이용한 펠렛코팅종자들은 물에 떠있는 상태였으며, 펠렛코팅종자에서 기포가 났다. 펠렛코팅종자들의 균열은 DTK8을 이용한 상추 펠렛코팅종자의 균열이 가장 빠르게 일어났으며, 60분이 경과한 뒤에는 DTK 7, 8 상추와 DTK8 양배추 펠렛코팅종자에 균열이 생겼으나 스미토모社의 펠렛코팅종자는 균열이 일어나지 않았다(그림 78).

표 104. 펠릿소재와 작물별 종자크기, 교반기, 경도 비교

조사항목	양과		상추		양배추	
	스미토모	스미토모	DTK7	DTK8	DTK7	DTK8
종자크기(mm)	3.5-4.3	2.7-3.5	2.7-3.5	2.7-3.5	2.7-3.5	2.7-3.5
교반기(rpm)	78-354	96-279	400-1000	400-1000	400-1200	400-1200
경도(g)	606±224z	367±89	682±316	769±109	412±142	547±158

^z평균값±표준편차

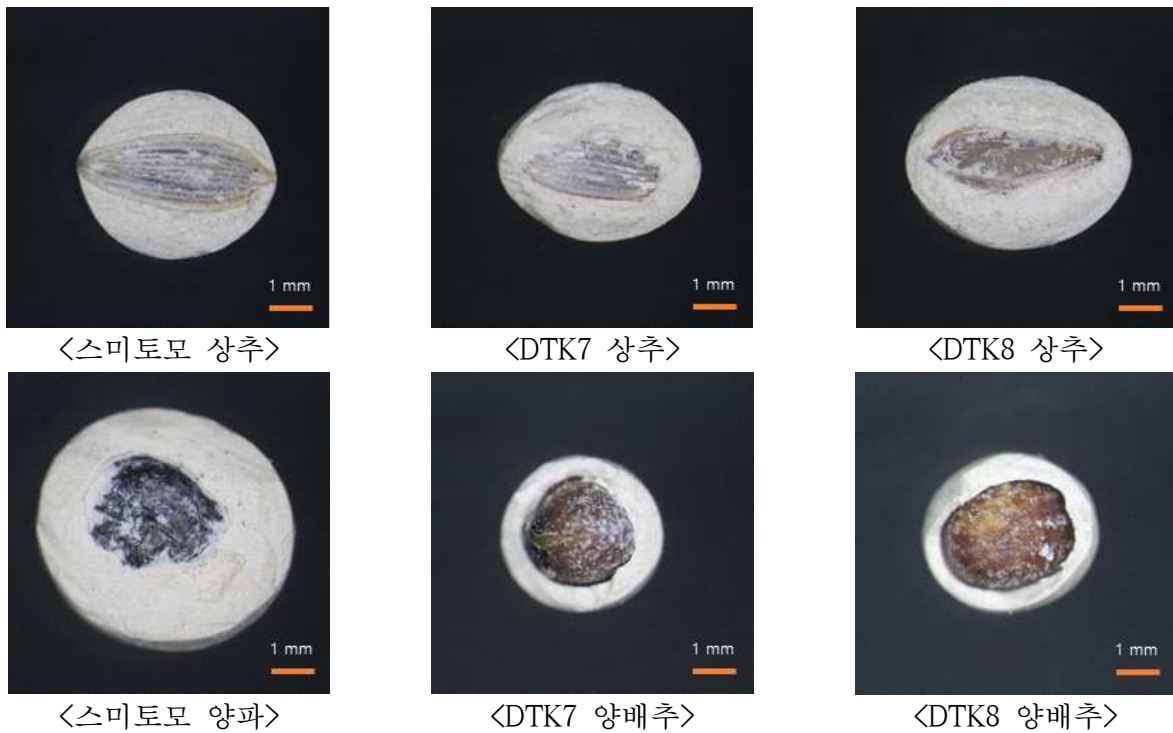


그림 77. 펠릿종자들의 단면 모습

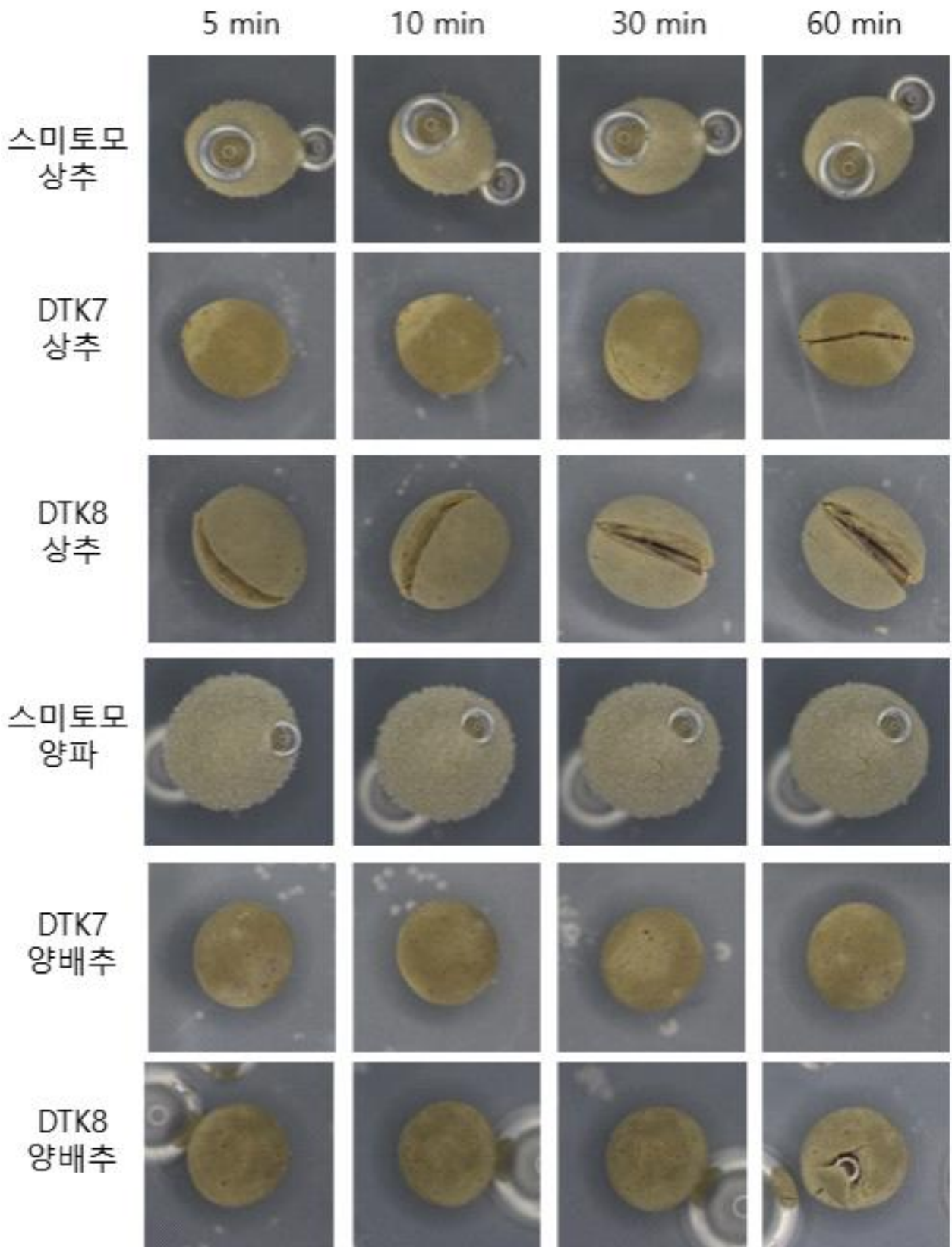


그림 78. 침수 시 펠릿종자들의 변화

(8) 과제 개발 장비 기능 향상을 위한 기기 평가

(가) 제1협동기관에서 제작하여 보급한 로터리 타입의 코팅장비는 필름코팅과 펠렛코팅 모두 사용이 가능하다. 고속의 회전이 가능하여 접착제 대신 물의 이용한 펠렛코팅 제작이 가능하여 친환경적 펠렛코팅의 제작이 가능하다.

(나) 장비를 개발한 제1협동기관(신농)에서 분진 저감을 위한 균일한 수분의 공급을 위하여 간이 자동 분사 장비를 보완하였다(그림 79). 물의 관주 위치에 따른 뭉침이 발생하여 위치 선정 등의 추가적 보완이 필요하다.



그림 79. 코팅장비의 기능 향상을 위한 수분자동장치 추가; 초기형태(좌), 수분자동장치 추가설치 모습(우)

7. 상추 및 가지과 작물 종자의 종자 가공처리의 융·복합 처리 기술개발

가. 연구목표

본 과제의 목표인 코팅 소재 및 코팅기술개발이라는 목표 달성의 일환으로 프라이밍을 적용한 발아특성이 증진된 종자를 필름 및 펠렛코팅과 융복합처리를 함으로서 코팅종자의 품질을 향상시키고자 하였다. 이를 위하여 품목별 우수종자프라이밍으로 선발된 처리를 한 종자를 대상으로 필름코팅 또는 펠렛코팅을 하여 적정환경 또는 스트레스 환경에서 나종자와 무처리 펠렛코팅종자의 발아평가를 수행하여 프라이밍광의 융·복합 처리 기술의 효과를 증명하고자 하였다.

나. 재료 및 방법

(1) 프라이밍 종자와 필름코팅 혼용 처리

(가) 상추 종자의 프라이밍과 필름코팅 복합처리

상추 종자의 우수한 종자 전처리로 선정한 SNP 100 uM hydro priming, SNP 50 uM drum priming, CaCl₂ 200 mM osmo priming 전처리한 종자를 대상으로 코팅기에 상추 종자 80 ml을 넣은 후 교반기 A (750rpm) 및 교반기 B (1500rpm)를 회전하며 코팅액(P2030-1) 6.6 ml을 교반기 B에 일정한 속도로 주입하였다. 코팅액 주입 후 50℃ 드라이기로 2분간 건조 후 종자를 25℃ 송풍 건조기에 24시간 이상 건조하였다.

(나) 고추 종자 프라이밍과 필름코팅 복합처리

고추 종자의 우수한 종자 전처리로 선정한 수화 프라이밍 20(H20), 50(H50)시간과 드럼 프라이밍(수화 10시간 후 28시간 드럼처리(D1048), 수화 20시간 후 36시간 드럼 처리(D2036)종자를 대상으로 로터리타입 장비를 통하여 처리하였다. 종자 50 g (seed lot 100%)과 필름코팅 소재는 Netherland/UK의 종자 가공 전문기업인 인코텍(Incotec)社의 판매제품의 원액을 50%로 희석한 것과 본 과제의 제1위탁연구기관인 (주)노루홀딩스의 P2030-1, 7.8 ml을 사용하였다. 장비의 교반기 A는 750 rpm, B는 1817 rpm으로 사용하였다. 필름 코팅 소재의 주입 후 50℃의 드라이기로 1분 30초 동안 1차 건조 후 25℃ 송풍 건조기에서 24h 동안 2차 건조를 하였다. 건조가 끝난 후 필름코팅 종자의 발아율, 발아세, 표면 코팅율, 이중립 생성 정도, 물 용해력, 코팅 작업 소요 시간, 코팅 후 분진 발생 정도, 전반적 작업 용이성, 표면 균일성에 대해 필름코팅 소재를 평가하였다.

(2) 프라이밍 종자와 펠렛코팅 혼용 처리

(가) 상추 종자의 프라이밍과 펠렛코팅 복합처리

상추 종자의 우수한 종자 전처리로 선정한 SNP 100 uM hydro priming, SNP 50 uM drum priming, CaCl₂ 200 mM osmo priming 전처리한 종자를 대상으로 DTK5와 증류수를 이용하여 상추 종자를 펠렛코팅 처리하였다.

(나) 고추 종자 프라이밍과 펠렛코팅 복합처리

고추의 우수한 종자 전처리로 선정한 수화 프라이밍 20(H20), 50(H50)시간과 드럼 프라이밍(수화 10시간 후 28시간 드럼 처리(D1048), 수화 20시간 후 36시간 드럼 처리(D2036) 종자를 대상으로 DTK5와 증류수를 이용하여 고추 종자를 펠렛코팅 처리하였다.

(다) 토마토 종자 프라이밍과 펠렛코팅 복합처리

토마토에서 우수 프라이밍 전처리로 선정된 방법은 염류 프라이밍(Halo priming, OP, 100

mM KNO₃ 4일처리), 음파 염류 프라이밍(Sonation with halo priming, SP, 음파 5.2 kHz의 세기로 20분간 처리 후 염류 프라이밍처리), modified 드럼 프라이밍(Drum priming, DP, SMC 60% 종자를 72시간 incubation 처리)이었다. 이들 프라이밍 처리된 종자를 대상으로 두 가지 소재를 대상으로 펠렛처리를 하였다. DTCS 펠렛피복물질(제3협동 동아대 제작)과 PVA 바인더, DTK 펠렛피복물질(연구 2년 차 노루제작)과 carboxymethyl cellulose(CMC) 바인더를 적용하였다. 프라이밍 종자로 펠렛처리한 종자를 대상으로 실험실의 필터페이퍼와 온실의 상토가든 플러그용기에서 발아평가, 유묘 성장조사 및 항산화 활성의 특성을 분석하였다.

다. 연구결과

(1) 프라이밍 종자와 필름코팅 혼용 처리

(가) 상추 종자의 프라이밍 및 필름코팅의 융·복합 처리 기술 개발

상추 종자의 우수한 종자 전처리로 선정된 SNP 100 uM hydro priming, SNP 50 uM drum priming, CaCl₂ 200 mM osmo priming 전처리한 종자와 위탁연구기관인 (주)노루홀딩스에서 개발한 필름코팅제(P2030-1)를 혼용 처리하여 발아특성을 평가하였다. Hydro priming과 필름코팅 혼용 처리에서 적온의 경우 무처리 대조군과 처리군 사이의 유의차는 없었다(표 105). 고온에 파종한 경우, priming 단용 처리가 GP 83%, MGT 1.2일, GRI 78.7, GR 84.7, HS 65%로 대조군의 16%(GP), 11.1(GRI), 44.5%(GR), 11%(HS) 비해 크게 증가하였고, MGT는 1.4 일 단축되었다. 필름코팅 처리군은 GP 66%, MGT 1.2일, GRI 61.2, GR 86.3, HS 56%로 대조군보다 향상되었지만 priming 단용 처리 종자보다 발아특성이 저하되었다(표 106과 그림 80). Drum priming과 필름코팅 혼용 처리 시 고온에서 필름코팅 처리군이 GP 77%, MGT 1.3일, GRI 68.3, GR 77.8, HS 56%로 무처리 대조군보다 크게 향상되었다. Osmo priming과의 혼용 처리 결과 발아 적온에서는 무처리 종자와 priming 처리 종자 간의 유의차는 없었다. 고온에 파종한 경우, 필름코팅 처리군이 GP 58%, MGT 1.5일, GRI 51.3, GR 70.2, HS 41%로 대조군보다 크게 향상되었다. Drum priming과 osmo priming에서 필름코팅 처리종자와 priming 처리종자간의 발아특성에 대한 유의차는 없었다.

표 105. 우수 종자 전처리 및 필름코팅 혼용처리가 적온(20°C)에서의 청치마 상추의 발아에 미치는 영향

Treatment	GP (%)	MGT (day)	T50 (day)	GRI	GR (%·day ⁻¹)	GU	HS (%)
Priming							
Hydro	99 ^{ns}	1.3 ^{bz}	0.7 ^{ns}	87.3 ^{ab}	78.0 ^a	-0.60 ^c	94 ^a
Drum	98	1.8 ^b	1.0	73.0 ^c	58.4 ^b	0.31 ^a	83 ^{bc}
Osmo	100	1.2 ^b	0.7	88.5 ^a	81.1 ^a	-0.77 ^c	95 ^a
Priming + Film coating							
Hydro	100	1.3 ^b	0.7	86.5 ^{ab}	76.4 ^a	-0.60 ^c	95 ^a
Drum	100	1.7 ^a	0.8	76.0 ^{bc}	58.3 ^b	0.13 ^{ab}	75 ^c
Osmo	98	1.5 ^{ab}	0.8	80.1 ^{a-c}	69.3 ^{ab}	-0.39 ^{bc}	86 ^{ab}
Untreated	98	1.2 ^b	0.6	88.7 ^a	83.2 ^a	-0.80 ^c	95 ^a
Significance							
Treat (T)	ns	***	ns	**	***	***	***
Coated (C)	ns	ns	ns	ns	*	ns	**
T × C	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Seeds were germinated at 20°C (24h, light) for 7 days. ²Duncan's multiple range test at P<0.05, ns, *, **, *** non-significant or P=0.05, 0.01 and 0.001, respectively.

표 106. 우수 종자 전처리 및 필름코팅 혼용처리가 고온(30°C)에서의 청치마 상추의 발아에 미치는 영향

Treatment	GP (%)	MGT (day)	GRI	GR (%·day ⁻¹)	GU	HS (%)
Priming						
Hydro	83 ^a	1.2 ^b	78.7 ^a	84.7 ^a	-0.41 ^b	65 ^a
Drum	76 ^{ab}	1.4 ^b	69.0 ^{ab}	74.1 ^a	0.44 ^b	58 ^a
Osmo	62 ^{bc}	1.4 ^b	55.6 ^{bc}	73.3 ^a	0.22 ^b	49 ^{ab}
Priming + film coating						
Hydro	66 ^{a-c}	1.2 ^b	61.2 ^{bc}	86.3 ^a	-0.81 ^b	56 ^{ab}
Drum	77 ^{ab}	1.3 ^b	68.3 ^{ab}	77.8 ^a	-0.41 ^b	56 ^{ab}
Osmo	58 ^c	1.5 ^b	51.3 ^c	70.2 ^a	0.38 ^b	41 ^b
Untreated	16 ^d	2.6 ^a	11.1 ^d	44.5 ^b	3.19 ^a	11 ^c
Significance						
Treat (T)	***	***	***	**	*	***
Coated (C)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
T × C	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Seeds were germinated at 30°C (24h, light) for 7 days. ²Duncan's multiple range test at P<0.05, ns, *, **, *** non-significant or P=0.05, 0.01 and 0.001, respectively.

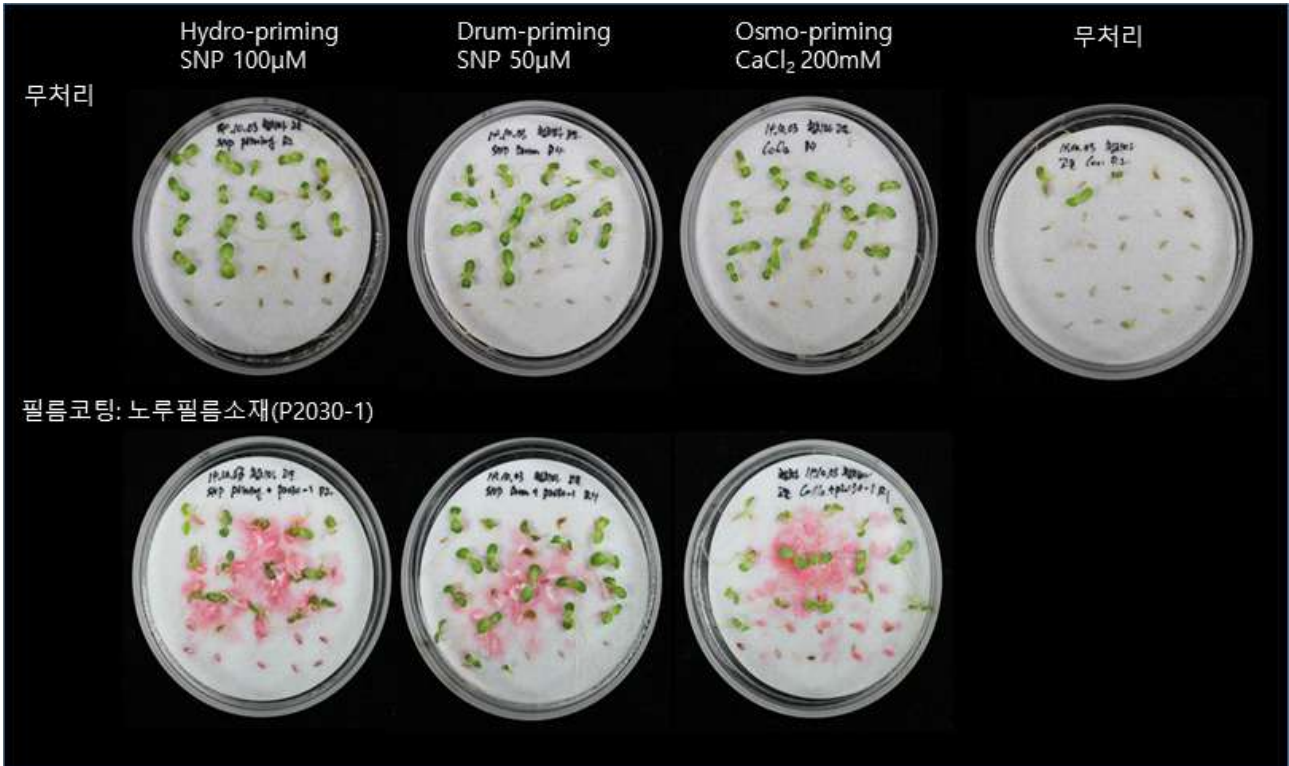


그림 80. 종자 전처리 및 필름코팅 혼용처리한 상추 종자의 고온(30℃)에서의 발아

(나) 고추 종자의 프라이밍 및 필름코팅의 융·복합 처리 기술 개발

고추 종자에 프라이밍과 필름코팅을 혼합 처리한 결과는 표 107과 같다. 수화프라이밍 20(H20), 50(H50)시간과 드럼프라이밍(수화 10시간 후 28시간 드럼처리(D1048), 수화 20시간 후 36시간 드럼(D2036)프라이밍 처리 후 필름코팅한 종자들의 평균발아일수는 3.1-3.5일로 무처리 종자(3.9일)보다 0.4-0.8일 단축되었으며, 프라이밍 처리 시 발아속도가 향상되었다. 모든 처리에서 발아율과 건전묘율의 유의차는 없었으며 필름코팅액 P2030-1은 고추 종자의 발아율과 건전묘율에는 영향을 미치지 않았다.

표 107. 프라이밍과 필름코팅 혼용처리가 고추 종자의 발아특성에 미치는 영향

Frilm coating	Treatment	GP (%)	MGT (day)	GR (%·day-1)	GU	HS (%)
P2030-1	H20	89 ^{nsz}	3.6 ^{bc}	28.3 ^{de}	0.43 ^{ab}	86 ^{ns}
	H50	84	4.2 ^a	24.0 ^{ft}	1.58 ^a	80
	D1048	84	2.9 ^e	35.1 ^a	1.48 ^a	78
	D2036	91	3.5 ^{b-d}	28.9 ^{c-e}	0.70 ^{ab}	87
	Untreated	92	4.0 ^{ab}	25.3 ^{ef}	0.70 ^{ab}	89
Uncoated	H20	92	3.3 ^{cd}	30.3 ^{b-d}	-0.14 ^{ab}	89
	H50	88	3.5 ^{b-d}	28.7 ^{c-e}	-0.33 ^b	86
	D1048	93	3.1 ^{de}	33.1 ^{ab}	0.54 ^{ab}	89
	D2036	90	3.1 ^{c-e}	32.5 ^{a-c}	0.28 ^{ab}	88
	Untreated	91	3.9 ^{ab}	25.9 ^{ef}	0.08 ^{ab}	87

Seeds were germinated at 30/20°C (8 hr, light/16 hr, dark) for 14 days. ^zDuncan's multiple range test at P<0.05 and ns: non-significant.

(2) 프라이밍 종자와 펠릿코팅 혼용처리

(가) 상추 종자의 프라이밍 및 펠릿코팅 용·복합 처리 기술 개발

상추 종자를 수화, 드럼프라이밍 처리 후 필름코팅 및 펠릿코팅 가공 처리를 하였다. 상추 종자에 P2030-1을 이용하여 필름코팅 처리 시, 모든 발아특성 항목에서 유의차는 없어 필름코팅액이 상추 종자의 발아에는 영향을 미치지 않는 것을 확인하였다(표 4.108).

표 108. 프라이밍과 펠릿코팅 혼용처리가 상추 종자의 발아특성에 미치는 영향

Pellet coating	Treatment	GP (%)	MGT (day)	GR (%·day-1)	GU	HS (%)
DTK5	Untreated	80 ^{bz}	6.7 ^b	15.1 ^{bc}	8.17 ^a	82 ^a
	Hydro	91 ^a	6.2 ^b	16.4 ^b	7.69 ^a	76 ^a
	Drum	70 ^c	8.8 ^a	11.6 ^c	9.42 ^a	65 ^b
Uncoated	Untreated	80 ^b	2.6 ^c	38.8 ^a	1.39 ^b	78 ^a

Seeds were germinated at 20°C (24 hr, light) for 14 days. ^zDuncan's test at P<0.05.

(다) 고추 종자의 프라이밍 및 펠렛코팅 융·복합 처리 기술 개발

고추 종자에 DTK5와 증류수를 이용하여 펠렛코팅 처리를 한 결과는 표 4.109와 같았다. 나종자의 발아율은 90%로 가장 높았으며, 무처리 펠렛코팅종자의 발아율은 75%로 감소되었다. 드럼프라이밍과 펠렛코팅처리를 혼용 처리 하였을 때, 발아율은 87%로 향상되었으며 나종자와 유의차가 없었다. 무처리 또는 수화 프라이밍과 펠렛코팅을 혼합 처리 한 경우, 발아속도가 느려지고 건전묘율은 감소되는 결과를 보였으나, 드럼프라이밍과 펠렛코팅을 혼합 처리 시 발아속도와 건전묘율이 나종자와 유의차가 없는 결과를 보였다(그림 81).

표 109. 프라이밍과 펠렛코팅 혼용처리가 고추 종자의 발아특성에 미치는 영향

Pellet coating	Treatment	GP (%)	MGT (day)	GR (%·day ⁻¹)	GU	HS (%)
DTK5	Untreated	75bz	8.4ab	12.1 b	15.29b	71c
	Hydro 20hr	76b	8.0b	12.5 b	14.82b	74bc
	Hydro 50hr	76b	9.3ab	10.9b	27.04a	70c
	Drum	87a	6.7c	15.0a	14.76b	82ab
Uncoated	Untreated	90a	6.2c	16.4a	7.77b	85a

Seeds were germinated at 30/20°C (8 hr, light/16 hr, dark) for 28 days. ²Duncan's test at P<0.05.



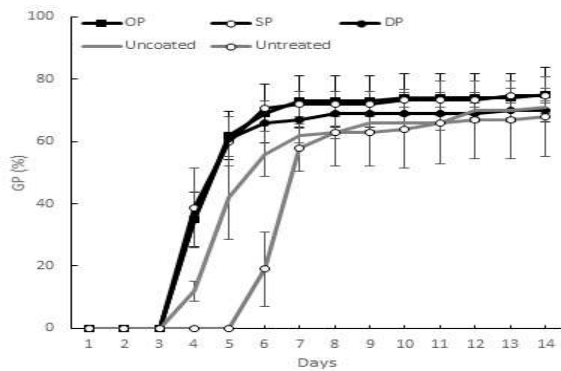
그림 81. 고추 펠렛코팅종자의 발아 사진(파종 후 14일차)

(다) 토마토종자의 프라이밍 및 펠렛코팅 융·복합 처리 기술 개발

① 토마토 종자 프라이밍처리 후 DTCS 펠렛피복물질과 PVA바인더를 이용한 펠렛코팅

처리 종자를 실험실에서 필터페이퍼에 파종한 결과, 발아적온(30/20°C)과 저온(15°C)에서 발아율은 통계적 유의차가 보이지 않았으나, 발아적온에서의 3일차 발아율이 무처리 펠렛코팅 종자(7%)보다 전처리 펠렛코팅 종자의 발아율이 염류프라이밍(Halo priming, OP): 55, 음파-염류프라이밍(Sonation with halo priming, SOP: 52, 드럼프라이밍(Drum priming, DP : 64%)로 향상되었으며, 무처리 종자의 발아율 46% 보다 높았다(그림 82). T₅₀과 GRI는 적온에서는 드럼프라이밍 처리(T₅₀ 2.9일, GRI 32.5)가 무처리 종자(T₅₀ 3.7일, GRI 32.5) 보다 향상 되었으며, 저온에서는 음파-염류프라이밍(T₅₀ 7.9일, GRI 10.6)과 드럼프라이밍 종자(T₅₀ 7.4일, GRI 11.7)가 무처리 종자(T₅₀ 8.6일, GRI 9.35)보다 향상되었다. GU는 발아적온과 저온에서 모든 전처리 종자가 무처리 종자보다 향상되었다(그림 83과 84).

(A)



(B)

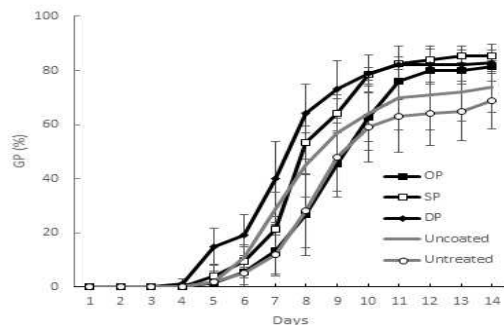
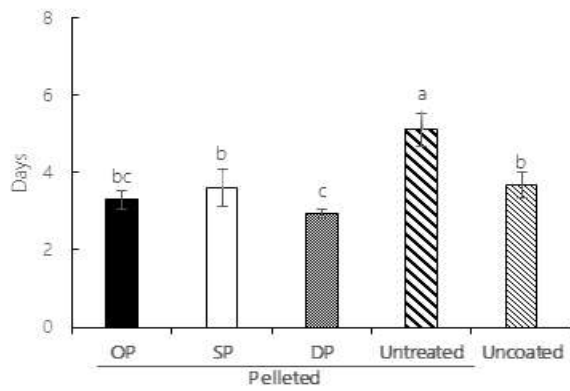


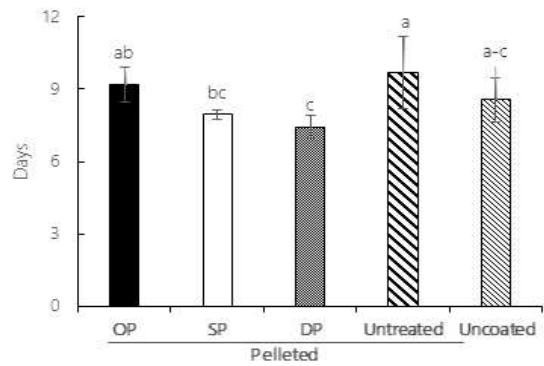
그림 82. 염류프라이밍(OP), 음파-염류프라이밍(SP), 드럼프라이밍(DP) 처리와 DTCS를 이용한 토마토 펠렛코팅종자의 누적발아율 (A) 적온(30/20°C) (B) 저온(15°C)

DTCS 펠렛코팅과 프라이밍 전처리의 단·혼용처리가 온실의 상토 환경에서의 발아특성에 미치는 영향을 그림 4.85와 같이 조사하였다. 최종 발아율은 통계적 유의차가 보이지 않았으나 4일차 발아율이 무처리 종자(12%)보다 염류프라이밍 펠렛코팅(OP, 35%), 음파-염류프라이밍 펠렛코팅(SP 39%), 드럼프라이밍 펠렛코팅(DP, 35%)종자의 발아율이 향상되었고, T₅₀도 무처리 종자(5.4일)보다 전처리 펠렛코팅 종자(OP 4.5, SP 4.5, DP 4.6일)가 단축 되었다. GRI 또한 무처리 종자(13.0) 보다 염류 프라이밍 펠렛코팅(OP 16.1), 음파-염류프라이밍 펠렛코팅(SP 16.1), 드럼프라이밍 펠렛코팅(DP 15.3)이 향상되었으며, GU는 모든 전처리 펠렛코팅 종자가 무처리 종자보다 향상되었다(그림 4.85과 4.86).

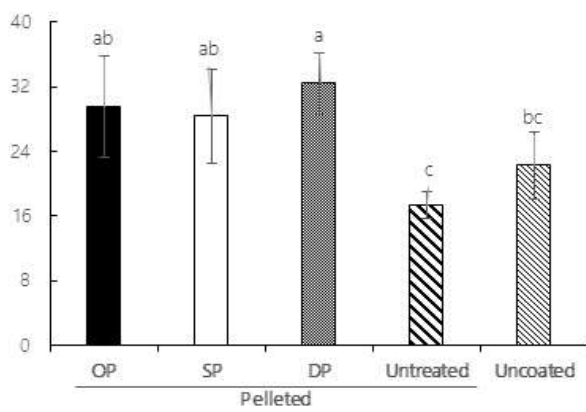
(A)
T₅₀



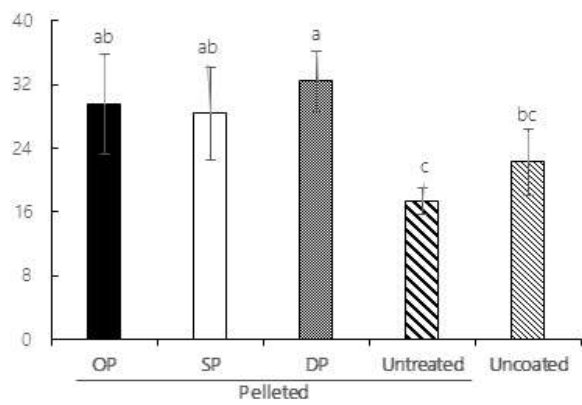
(B)
T₅₀



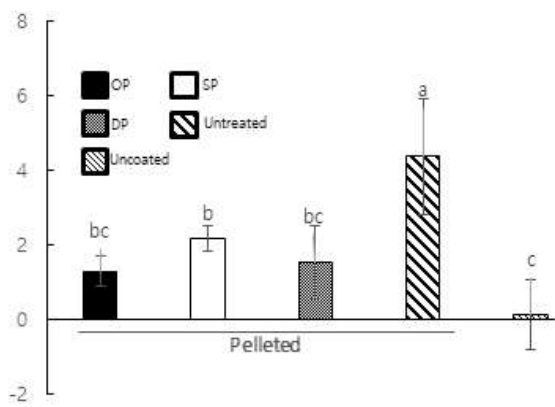
GRI



GRI



GU



GU

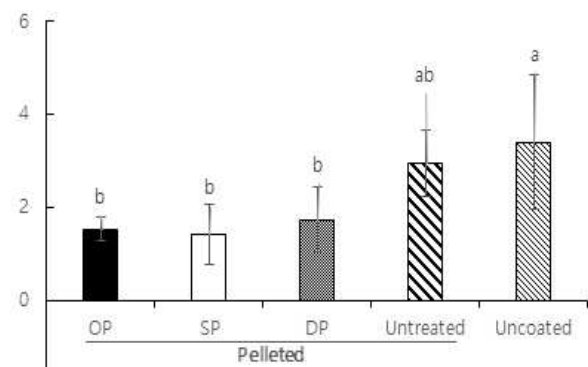
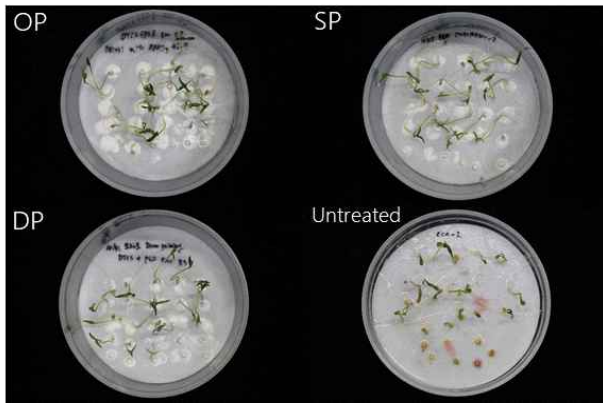


그림 83. 염류프라이밍(OP), 음파-염류프라이밍(SP), 드럼프라이밍(DP) 처리와 DTCS를 이용한 토마토 펠렛코팅종자의 발아특성 (A) 적온(30/20°C) (B) 저온(15°C)

(A)



(B)



그림 84. DTCS를 이용한 토마토 펠릿종자의 발아모습(파종후 7일차) (A) 적온(30/20°C) (B) 저온(15°C)

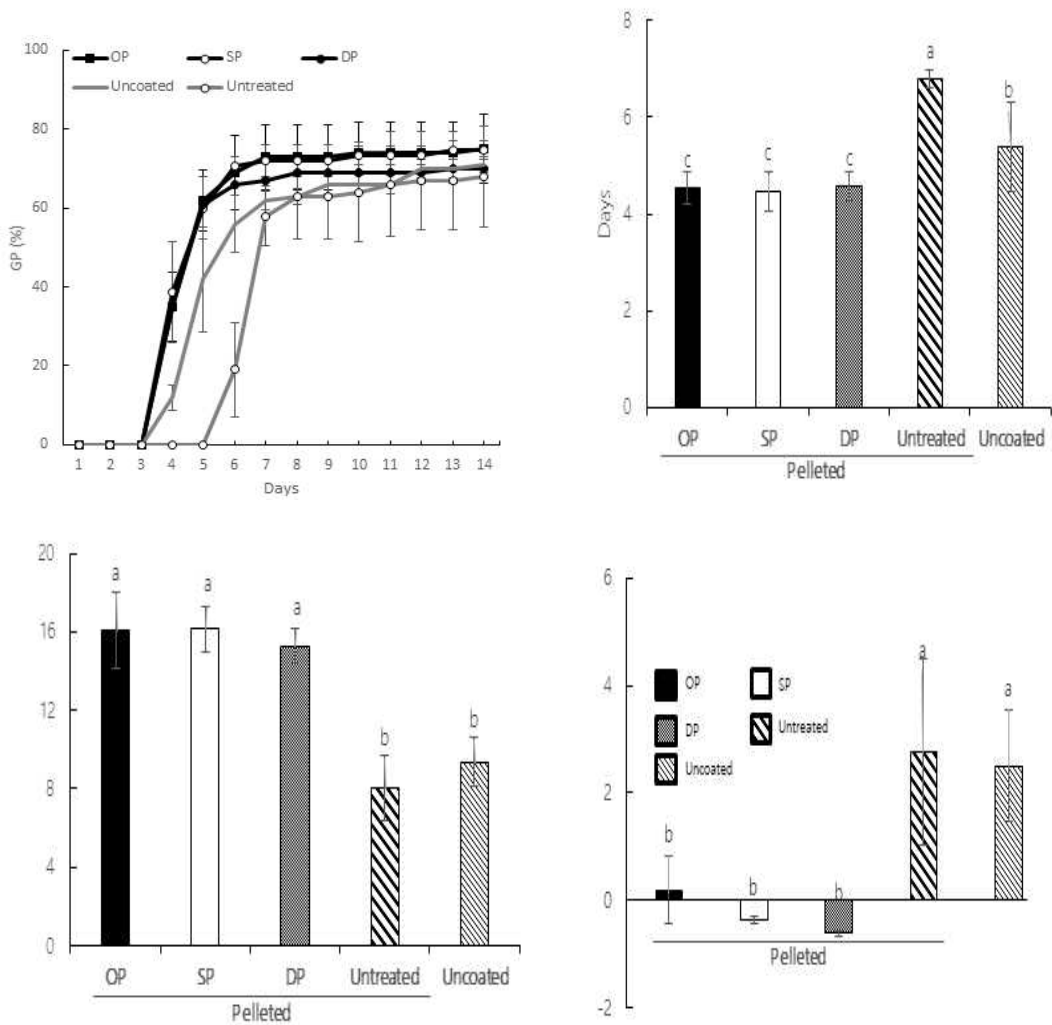


그림 85. 온실환경에서 염류프라이밍(OP), 초음파-염류프라이밍(SP), 드럼프라이밍(DP) 처리와 DTCS를 이용한 토마토 펠릿코팅종자의 발아특성

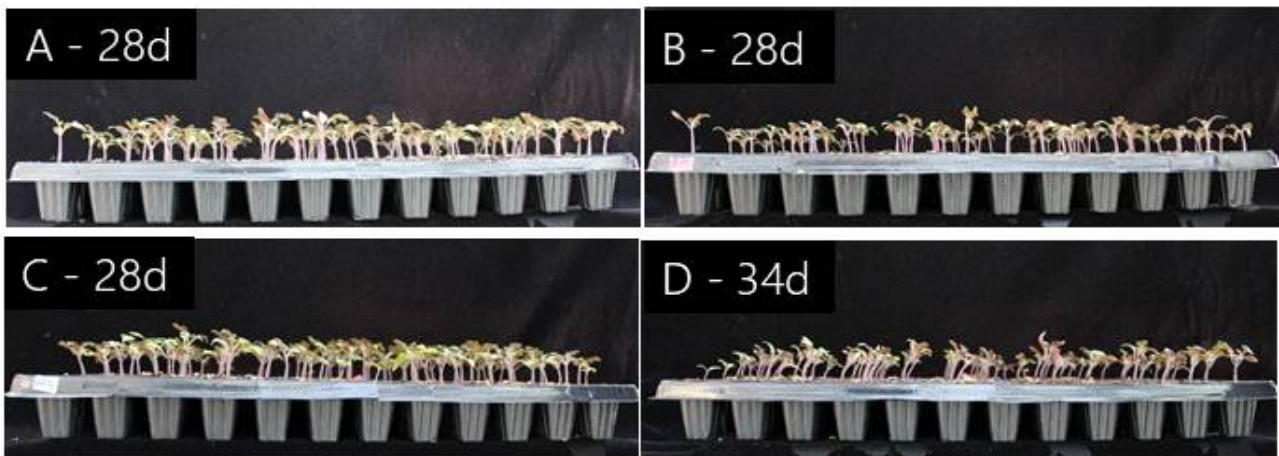
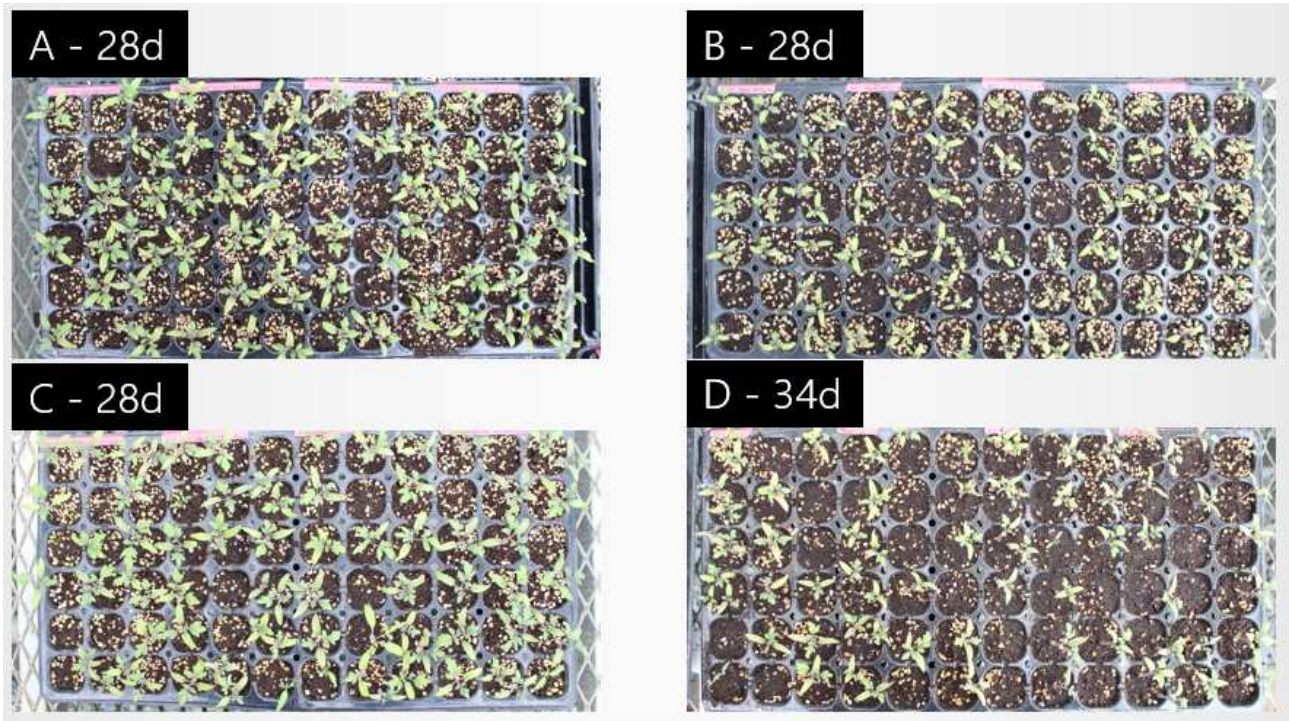


그림 86. 온실 환경에서 염류프라이밍(OP), 초음파-염류프라이밍(SP), 드럼프라이밍(DP) 처리와 DTCS를 이용한 토마토 펠렛코팅종자의 유묘. (A) Osmotic priming, (B) Sonication, (C) Drum priming, (D) Uncoated.

② 토마토 종자 프라이밍처리 후 DTK 펠렛피복물질과 PVA바인더를 이용한 펠렛코팅

처리 종자를 실험실에서 필터페이퍼에 파종한 결과, DTK 펠렛피복물질과 carboxymethyl cellulose(CMC) 바인더를 이용한 펠렛코팅 처리와 종자전처리와의 단용 및 혼용처리가 발아특성에 미치는 영향을 그림 4.87과 같이 조사하였다. 발아적온과 저온에서 모두 발아율에는 통계적 유의차가 보이지 않았으나 적온에서의 3일차 발아율이 무처리 펠렛코팅 종자(0%)보다 음과-염류프라이밍 종자의 발아율이 61%로 향상되었으며, 무처리 나종자(46%)보다 높았다(그림 87). T_{50} 은 적온에서 음과-염류프라이밍 종자가 2.9일로 무처리 종자 (3.7일)대비 가장 많이 향상되었으며, 저온에서는 음과-염류프라이밍 처리가 무처리 종자와 동일하게 8.6일 소요되었다. GRI는 적온과 저온 모두 음과-염류프라이밍 처리가 적온에서는 18.3, 저온에서는 10.4로 무처리 종자의 적온 13.1, 저온 9.4 보다 향상되었다. 발아균일도는 발아적온에서는 전처리 펠렛코팅 종자가 무처리 종자와 유사하였으며, 저온에서는 통계적 유의차는 없었으나 무처리 종자 보다 향상되었다(그림 88과 89).

DTK 펠렛코팅과 프라이밍 전처리의 단·혼용처리가 온실의 상토 환경에서의 발아특성에 미치는 영향을 그림4.90과 같이 조사하였다. 최종 발아율은 음과-염류프라이밍 종자가 87%로 무처리 종자(71%)보다 높았으며, 파종 후 4일차 발아율도 무처리 종자 12%에서 33% 발아율로 유의한 차이를 보였다. T_{50} 도 무처리 종자(5.4일)보다 음과-염류프라이밍 종자(4.4일)가 단축되었으며, GRI 또한 음과-염류프라이밍 종자(18.3)가 무처리 종자(13.0)보다 향상되었다. GU는 모든 전처리 종자가 무처리 종자보다 향상되었다(F그림 90과 91).

펠렛코팅과 프라이밍 전처리의 단·혼용처리가 온실의 상토 환경에서의 유묘 성장에 미치는 영향을 표 4.110과 같이 조사하였다. 프라이밍 처리 종자의 생장은 음과-염류프라이밍 처리가 지상부 건물중(SW 3.0 mg), 지하부 건물중(RW 0.75 mg)과 T/R율(4.1), 지상부 길이(SL 45.3 mm)가 무처리 종자(SW 1.7 mg, RW 0.52 mg, T/R rate 3.4, SL 34.8 mm)보다 생장이 좋았으며, DTCS 펠렛코팅 종자의 성장조사는 드럼프라이밍 처리가 SW (2.9 mg), RW (0.35 mg), SL (42.4), 본엽수가 3엽으로 무처리 종자(SW 1.760 mg, RW 0.512 mg, SL 34.8 mm, 본엽수 2엽)보다 생장이 좋았으며, DTK 펠렛코팅 종자의 성장조사는 SW (3.0 mg), RW (0.87 mg), SL (43.3), 본엽수가 3엽으로 무처리 종자(SW 1.8 mg, RW 0.51 mg, SL 34.8 mm, 본엽수 2엽)보다 생장이 향상되었다(표 110).

(A)

(B)

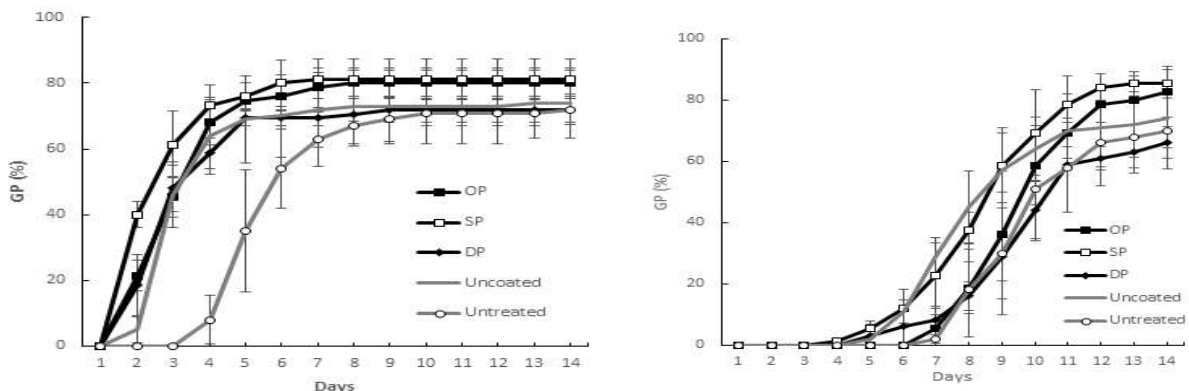
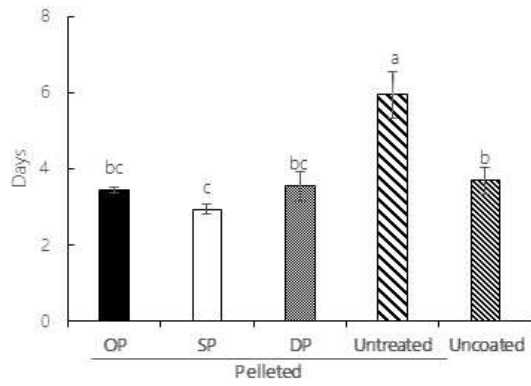
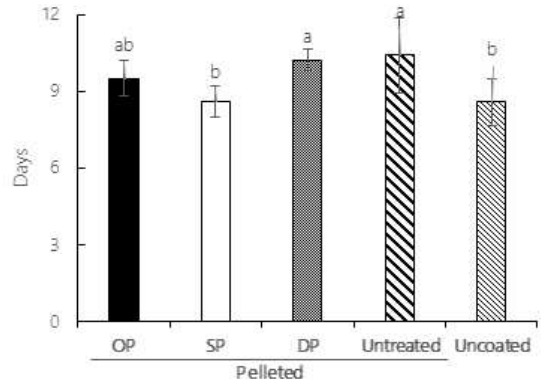


그림 87. 염류프라이밍(OP), 초음과-염류프라이밍(SP), 드럼프라이밍(DP) 처리와 DTK를 이용한 토마토 펠렛코팅종자의 누적발아율 (A) 적온(30/20°C) (B) 저온(15°C)

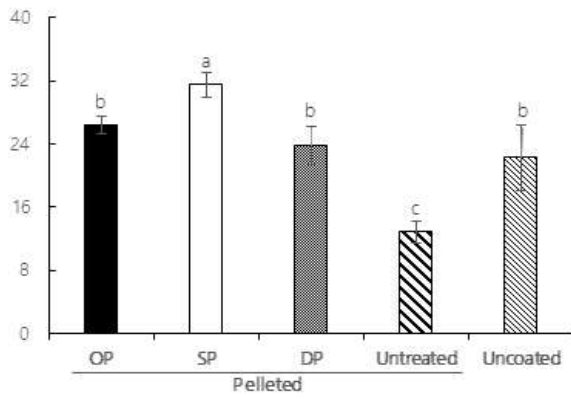
(A)
T₅₀



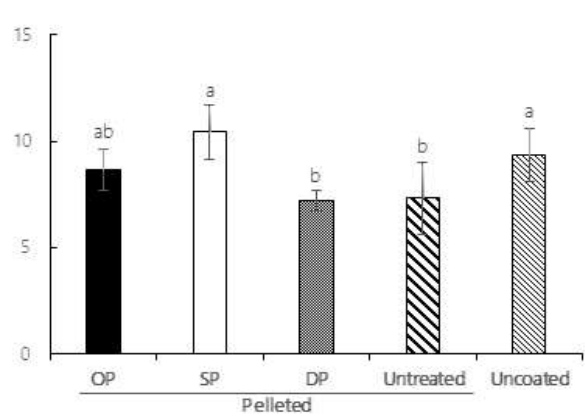
(B)
T₅₀



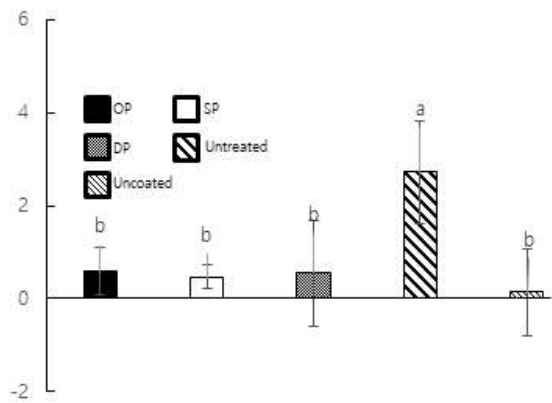
GRI



GRI



GU



GU

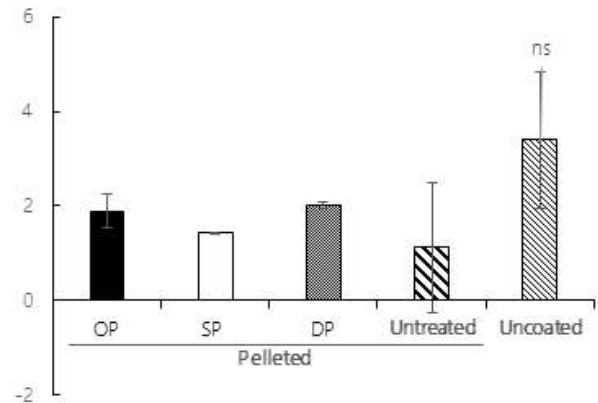
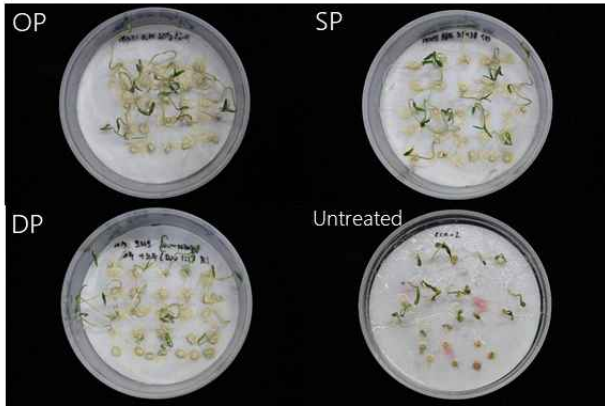


그림 88. 염류프라이밍(OP), 초음파-염류프라이밍(SP), 드럼프라이밍(DP) 처리와 DTK를 이용한 토마토 펠릿코팅종자의 발아특성 (A) 적온(30/20°C) (B) 저온(15°C)

(A)



(B)



그림 89. DTK를 이용한 토마토 펠렛종자의 발아모습(파종후 7일차) (A) 적온(30/20°C) (B) 저온(15°C) (C) drum primed, (D) Untreated seeds.

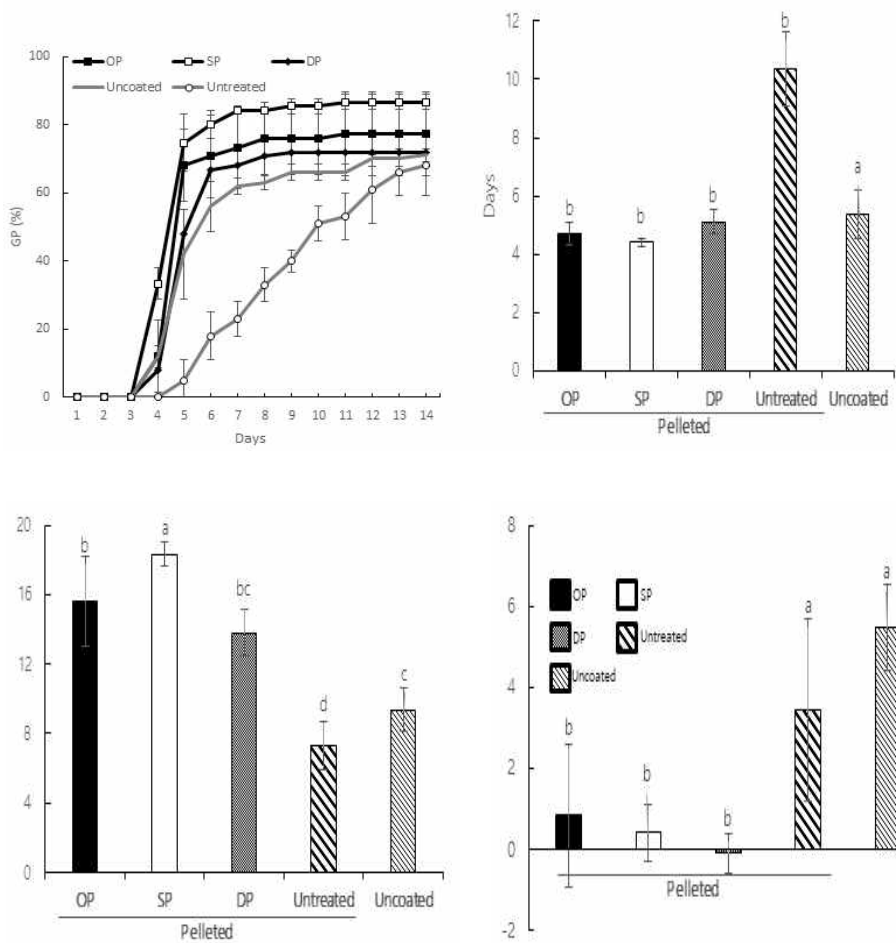


그림 90. 온실환경에서 염류프라이밍(OP), 초음파-염류프라이밍(SP), 드럼프라이밍(DP) 처리와 DTK를 이용한 토마토 펠렛코팅종자의 발아특성

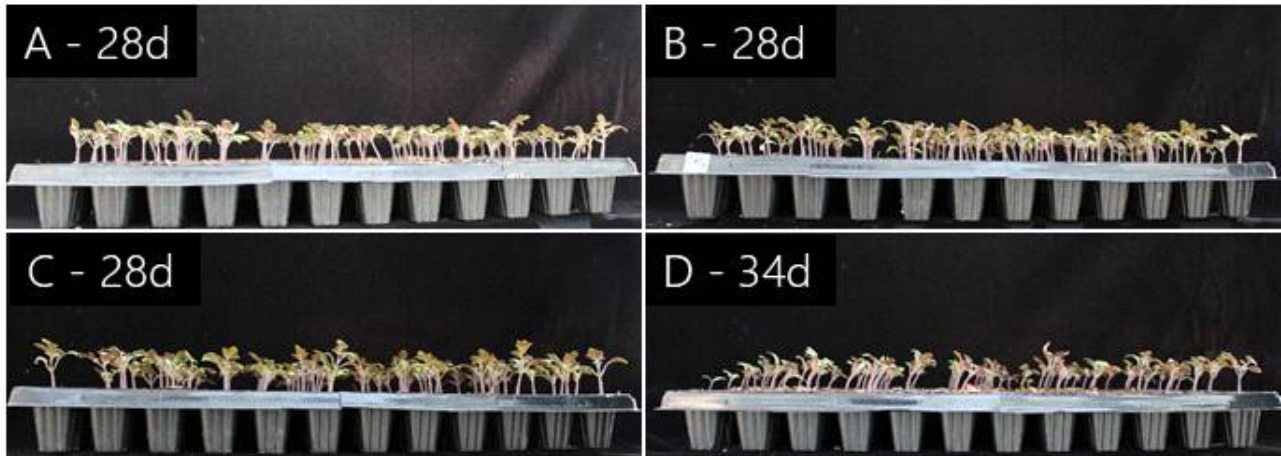
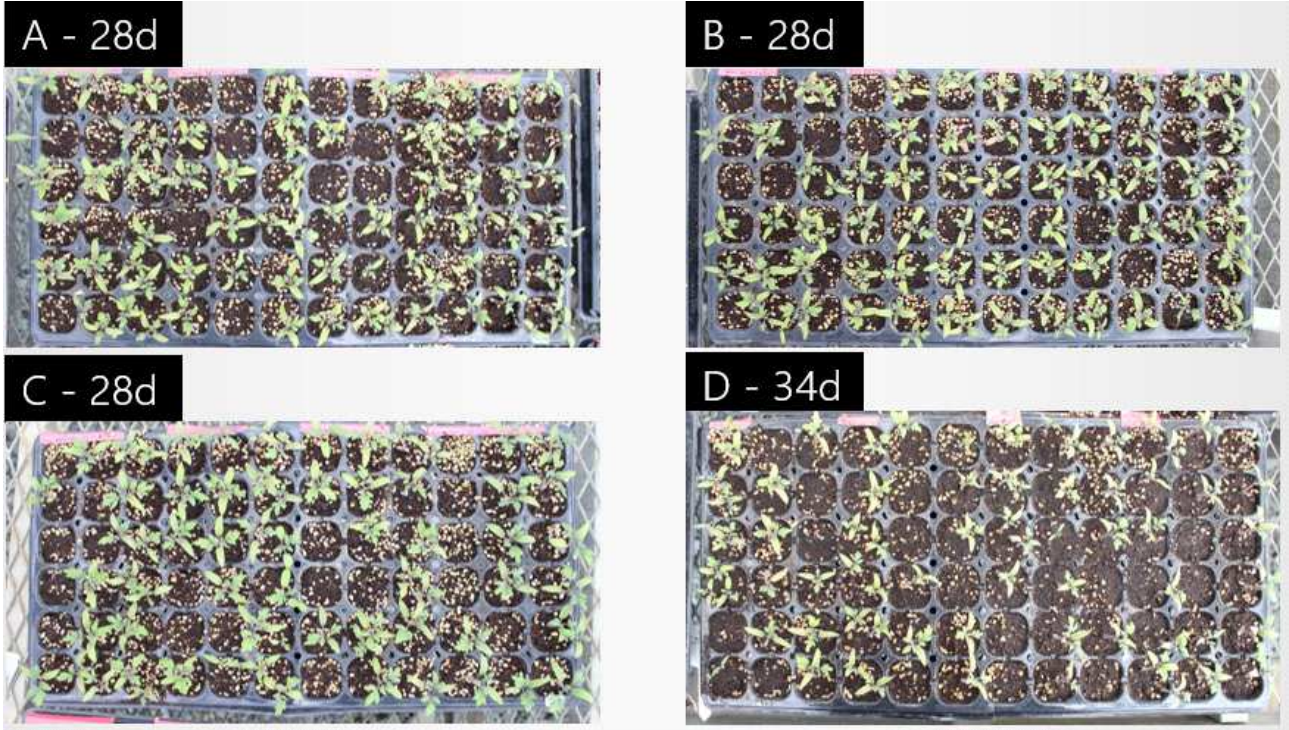


그림 91. 온실 환경에서 염류프라이밍(OP), 초음파-염류프라이밍(SP), 드럼프라이밍(DP) 처리와 DTK를 이용한 토마토 펠렛코팅종자의 유묘. (A) Osmotic priming, (B) Sonication, (C) Drum priming, (D) Uncoated.

표 110. 온실 환경에서 프라이밍 및 펠릿코팅 처리 토마토 유묘의 성장조사

Pelleted	Treated	SW (mg)	RW (mg)	SW+RW (mg)	T/R rate	SL (mm)	leaves
-	OP	1.518 c	0.478 b	1.996 bc	3.2 b	39.3 b	2 ns
-	SP	3.089 a	0.747 a	3.836 a	4.1 a	45.3 a	2
-	DP	1.517 c	0.385 c	1.902 c	4.0 a	35.4 c	2
-	Untreated	1.760 b	0.512 b	2.272 b	3.4 b	34.8 c	2
DTCS	OP	2.561 b	0.592 b	3.153 b	4.4 a	41.4 a	2 b
Pelleted	SP	1.457 d	0.420 c	1.877 d	3.5 b	32.7 b	2 b
	DP	2.925 a	0.854 a	3.779 a	3.4 b	42.4 a	3 a
-	Untreated	1.760 c	0.512 b	2.272 b	3.4 b	34.8 b	2 b
DTK	OP	2.393 b	0.638 b	3.031 b	3.8 ab	40.8 ab	2 c
Pelleted	SP	2.234 b	0.558 b	2.793 bc	4.0 a	37.3 bc	3 b
	DP	3.001 a	0.871 a	3.872 a	3.5 b	43.3 a	3 a
-	Untreated	1.760 c	0.512 b	2.272 c	3.4 b	34.8 c	2 c

*SW: shoot weight, RW: root weight, SL: shoot length. Data presented are means from four replicates with standard deviations. Means with same letter are not different at $p < 0.05$ according to DMRT.

[제4협동: 신속 정확한 비파괴 종자선별 및 품질 검정기술 개발]

1. 연구목표

주요 연구목표는 발아 가능한 종자와 발아 불가능한 노화종자의 차이를 조사하기 위한 것으로써 X-ray 컴퓨터 단층 촬영(CT) 검사 및 2D 투사 영상, 종자의 물리화학적 특성을 분광영상으로 시각화 할 수 있는 초분광 적외선(Infrared, NIR) 영상 분석을 이용하여 종자의 발아여부 판별 모델 구축을 통해 종자 품질 검사기술 개발하는 것이다. 구체적인 연구 목표는 아래와 같다.

- 가. X-ray CT 및 2D 영상을 이용하여 종자 내부의 형상과 발아여부 관련성을 구명하고, X-ray 영상을 이용하여 신속하게 종자 선별이 가능한 판별모델을 개발한다.
- 나. 초분광 영상 기술을 이용하여 종자의 발아에 영향을 미치는 분광 및 화학성분 변화 구명과 적외선 분광 분석을 이용한 발아 가능 종자 선별 모델을 개발한다.
- 다. 현장에서 실시간으로 종자의 발아 판별을 할 수 있는 비파괴 신속 온라인 선별시스템을 개발하고 성능검증을 실시한다.

2. 연구재료 및 방법

가. X-ray 영상 분석

1) CT 영상

가) 수박 및 참외 종자 분류

① 종자 샘플

실험을 위한 종자 샘플(수박 및 참외)은 사용할 때까지 동일한 온도를 유지하기 위해 냉장고에서 4℃로 보관되었다. X-ray CT 영상 분석을 위해 종자를 무작위로 총 200개의 종자(각 100개의 종자)를 측정하였다.

② CT 영상 획득

Skyscan 1172 CT 스캐너(Bruker, Billerica, 미국)는 CT 영상을 생성하는 데 사용되었는데, X선 소스 20-100 kV(10W), X선 검출기(11 Mpixel) 및 광섬유와 결합된 12 비트 냉각 CCD로 구성되어 있다. 영상을 얻기 위해, 단일 종자를 샘플 홀더 상단에 왁스로 붙이고, 각 종자 당 평균 8분의 시간을 소요하여 총 1000-1150번의 스캔이 진행된다. 종자들은 종자의 하단부터 상단까지 세로로 스캔 되는데, 예로 수박과 참외 종자 평균 길이가 각각 8.72 mm, 9.47 mm 이므로 개별 종자의 mm당 약 123, 113번 스캔이 수행되었다. 측정된 영상들은 TIFF 포맷으로 저장되고, 1000 X 1000 pixel (가로 X 세로)의 원본 영상의 재구성을 위해 NRecon 재구성 프로그램(version: 1.6.9.3, 2014)이 사용되었다. 결과 파일 형식은 BMP 였다. 표 1은 CT 영상 스캐닝 매개변수를 보여준다. 영상 획득을 마친 후, 각각의 종자는 96-well plate에 숫자를 구분해 넣었고, 발아 테스트를 할 때까지 냉장고에 저장되었다. X-ray 측정은 방사선에 노출되는 것이므로 일반적으로 살아있는 재료들에 해로운 영향을 미칠 수 있다. 영상 획득 동안, 종자들의 발아에 악영향을 미치지 않도록 상대적으로 낮은 전압 전압과 전류(40kV, 250 μ A)에 노출되도록 장치를 제어하였다(Simak & Gustafsson, 1953; Bino et al., 1993).

표 1. Scanning parameters for the CT imaging

Parameters	Values
Scanner	Skyscan1172
Camera	Hamamatsu c9300
Camera pixel size	8.82 μm
Image pixel Size	11.77 μm
Depth	16 bits
Exposure time	35 ms
Source voltage	40 kV
Source current	250 μA
Camera binning	4x4
Object to source distance	70.310 mm
Camera to source distance	210.666 mm

③ CT 영상 재분할

측정된 영상의 재분할 과정은 일련의 다듬어지지 않은 CT 영상으로부터 3가지의 다른 평면(수직, 정중면, 그리고 앞면)을 만들어내는데, 세 가지의 다른 방향에서 종자 내부 특징의 가시화를 증가시키기 때문에 유익한 정보를 제공한다. 영상 재분할의 개념은 Bushberg et al., (2002)에 의해 도입되었다. CT 스캔 영상의 재구성을 통해 종자의 하단부터 상단까지 가상의 일련의 횡단면 수평면(XY 단면)을 생산하였다. 일련의 가로 단면으로부터 시상 및 정면 평면(XZ면 및 YZ면)을 생성하기 위해, 재분할 기술은 MATLAB을 사용해 개발된 알고리즘을 사용하였다(2015a, The MathWorks, Natick, MA, USA). 재분할 과정은 그림 1과 같다. 재분할 작업 동안, 각각의 면에 대해 30개의 조각이 나누어졌고(한 샘플 당 총 90 조각), 그 후 종자 구성요소의 최대로 가시화된 면적을 얻기 위해 종자의 중심점에 따라 모든 샘플로부터 3개의 조각을 사용하였다(각 면당 1개).

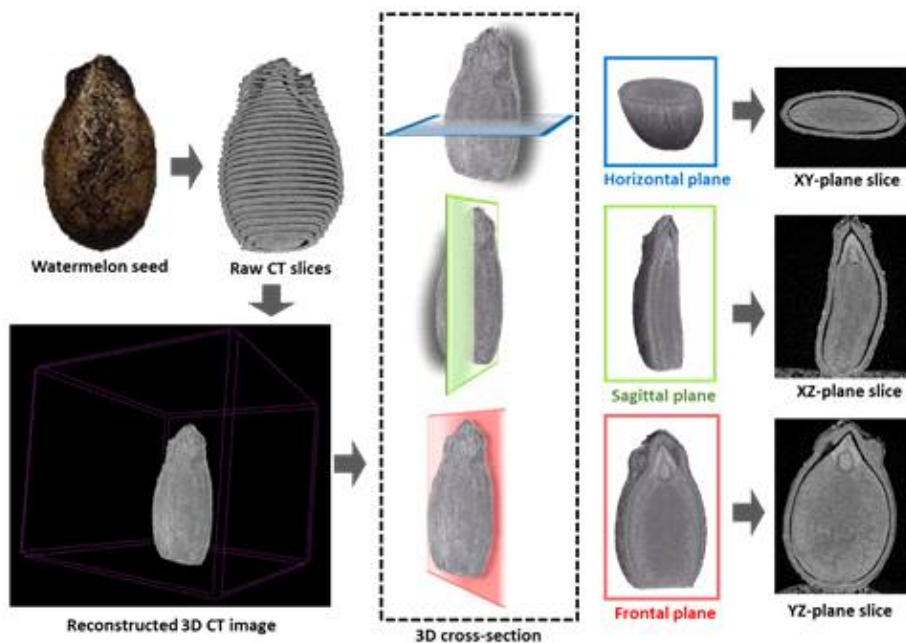


그림 1. Illustration of the CT image re-slicing process for multiple projections.

④ 종자 구성 요소의 면적 측정

수박과 참외 종자는 쌍떡잎 종자들이고, 종자의 주요 요소들은 종자 피질과 배아이다. 본 연구에서 면적을 측정하기 위해 종자피질 두께, 배아 크기 그리고 기실이 선택되었다. 영상 분석을 위한 open-access 도구인 ImageJ 소프트웨어는 지정 매개변수의 면적을 측정하기 위해 이용되었다. 종자 샘플의 중간 지점에서, Digital Vernier Caliper (CD-15CPX, Mitutoyo Corp, Kawasaki, Japan)로 너비를 측정하였다. 그리고 같은 종자의 CT 영상을 imageJ 소프트웨어를 사용해 열고, 종자 영상의 중간 지점(원본 종자 샘플과 같은 위치)에 선을 그리고, 눈금을 설정하기 위해 측정된 너비 값을 mm 단위로 표시하였다. 선택된 재분할 CT 영상에서 종자의 전 영역을 측정한 후, 종자의 기실 면적을 측정하였다. 그리고 마지막으로 배아의 면적을 측정하였다. 오로지 종자피질의 면적만 찾기 위해 전체 면적에서 배아와 기실의 면적의 차를 구하였다(전체 종자의 면적 - 배아와 기실 면적 = 종자 피질 면적). 그리고 기실 면적을 구하기 위해 배아의 면적과 배아-기실의 면적의 차를 구하였다(배아와 기실 면적 - 배아 면적 = 기실 면적).

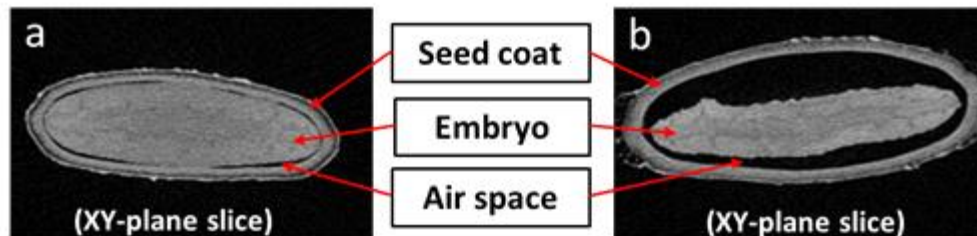


그림 2. Different components of watermelon seeds that were selected as observed parameters. (a) Normal viable seed. (b) Nonviable/abnormal viable seed.

⑤ 분산분석(ANOVA) 검사

ANOVA 검사는 둘 혹은 그 이상의 평균 사이에 유의미한 차이가 있는지를 판단하기 위한 통계적인 방법이다. 일원분산분석 검사는 오로지 하나의 독립적인 변수만 고려될 때 수행된다. 본 연구에서, 일원 분산분석 검사만 수행되었는데 그 이유는 각각의 분석에 있어서, 오로지 하나의 독립적인 변수만 고려되기 때문이다. 귀무가설은 모든 수준의 평균은 동일하다는 것이고, 대립 가설은 하나 혹은 하나 이상의 수준 평균이 다르다는 것이다. P값이 0.05보다 작거나 같으면 ($P \leq 0.05$) 귀무가설은 기각되고, 대립 가설을 채택한다. 일원분산분석 검사를 수행하기 위해 MATLAB 소프트웨어를 사용하였다.

나) 참외 종자 분류

① 영상 품질 향상

영상 획득과 재분할 과정 이후, 노이즈를 최소화하여 영상 품질, 강도, 대비를 향상시키는 것은 영상 처리에서 중요한 단계이다. 본 연구에서 3개의 XY면 분할 영상, 1개의 XZ면 분할 영상, 그리고 1개의 YZ 면 분할 영상(총 5개의 영상)을 최대한 가시화된 종자 배젖의 영역에 따라 선택하였다. 이 영상으로부터, 영상 품질 향상에 기반을 둔 총 3세트(set_A, set_B, and set_C)의 영상이 만들어졌다. Set_A는 강도 조정(최대값과 표준 편차 크기 조정)이 적용되었

다. 그다음, 대조-강화된-CT 영상들(set_B)을 구성하기 위해, 조정된 평균값과 최대 기법은 5개의 최종 CT 영상에 적용되었다.

5개의 인접 디스크 모양의 평면 구조 요소가 사용된 높은 grayscale 강도 영역에서 top hat 연산을 활용하여 조정된 CT 영상을 구성하였다. 그다음, 낮은 grayscale 강도 영역에, 같은 구조적 요소들이 bottom hat 영상을 생성하기 위해 적용되었다. 마지막으로 조정된 영상과 top hat의 영상을 더하여, 5개의 최종 대조-강화된-CT-영상(set_B)들의 마지막 세트를 구성하기 위해 bottom hat 영상이 추출되었다. 이 방법은 고강도 영역의 강도를 높였다. 반면에, 저강도 영역의 강도가 줄어들었다.

디지털 영상의 노이즈를 줄이기 위해, 중간값 필터는 윤곽선의 흐림 없이 노이즈 수준을 줄이는데 효과적인, 영상 처리에서 널리 사용되는 방법이다. 필터는 각 값을 인접 픽셀의 중앙값으로 바꾸면서 픽셀 단위로 영상을 스캔하여 작동한다. 이웃하는 집단은 창이라고 부르며, 전체 영상을 픽셀 단위로 나눈다. 3X3의 창 크기는 노이즈-감소된-CT-영상 (set-C)를 생성하기 위해 각각의 대조-강화된-CT-영상들 (set_B)에 적용된다. 최종적으로 각 종자 샘플에 대해 총 15개의 처리된 CT 영상을 얻었다.

② CT 영상 이진화

영상 분할의 목적은 각각의 픽셀 값에 직접적으로 연관된 개체의 부분 혹은 영역을 기준으로 영상을 나누는 것이다. 일반적으로 같은 값을 포함하는 픽셀들은 다른 값을 포함하는 인접 픽셀이 별도의 영역을 만드는 지역에 형성된다. 본 연구에서 종자는 관심 영역(ROI)으로서 선택되었고, 이진영상 mask는 막대그래프 경계화 방법(Anjos & Shabazkia, 2008)을 사용해서 구해진다. 이 방법을 통해 CT 영상에서 전경(종자)과 배경(기공)을 나누었다(그림2). 전경에서 픽셀값은 1-흰색, 배경 픽셀값은 0-검정색으로 구성되며, 최적의 임계점 규모는 최저의 grayscale 영상 값을 계산함으로써 평균 CT 영상 히스토그램으로부터 구할 수 있다.

③ 특징 추출

특징 추출은 분류하고자 하는 특징(질감, 형태, 위치, 주요 경계면 등)을 영상으로 부터 추출하는 과정을 의미한다. 영상 특징 추출은 주어진 영상에서 가장 중요한 정보를 강조하는 것을 목표로 한다. 물체의 특징을 발견하기 위한 특징 추출은 특징 벡터로서 일컬어지는 일련의 매개변수를 구하는 것이다. 본 연구에서, 영상 품질 강화 부분에서 설명된 각각의 샘플 (Set_A, Set_B 그리고 Set_C)로부터의 모든 결과는 영상 특징을 추출에 사용된다. 이 추출 과정에서, 총 348개의 특징들이 CT 영상마다 추출되었고, 그리고 특징 벡터는 5220개의 성분을 포함한 15개의 CT 영상으로부터 모든 특징을 연관시킴으로써 생성되었다. 각각의 CT 영상에서 추출된 특징들은 표 2와 같다.

표 2. Characteristics of the extracted features from each CT image.

Parameter	Feature name	Number of features	For details, see
Intensity	Basic intensity	6	(Shapiro & Stockman, 2001 Nixon & Aguado, 2008 Mery et al., 2011)
	LBP	234	(Pietikäinen et al., 2000 Ojala et al., 2002 Ahonen et al., 2009 Chai et al., 2013)
	Gabor intensity	67	(Kumar & Pang, 2002 (Zhang et al., 2002 Ng et al., 2005 Zhu et al., 2007)
Contrast	Basic contrast	5	(Kamm, 1998 Mery, 2001 Mery & Filbert, 2002)
Texture	Haralick texture	28	(Haralick et al., 1973 Mery et al., 2010 Donis-González et al., 2013)
	Local FFT texture	8	(Zhou et al., 2001)
Total= 348			

LBP = Local binary patterns, Local FFT texture = Local Fourier transform (FFT) texture features.

④ 특징 선택

특징수 저감화라고도 하는 특징 선택은 원본 데이터 세트에서 가장 관련된 특징들을 선택하여 가장 좋은 성능을 얻기 위한 분류기를 학습시키는데 사용되는 과정이다. 특징 선택은 특징의 수가 샘플의 수보다 더 많을 때 중요한데, 그 이유는 over-fitting이 발생하고 모델을 이해하기 어렵게 하는, 샘플과 관련이 없는 특징들이 존재하기 때문이다. 데이터 시각화의 복잡성을 줄이는 것과 이해 향상, 측정과 저장용량 최소화, 줄어든 학습과 이용시간, 모델의 예측 능력을 향상시키는 차원 감소 등을 포함한 특징 선택의 잠재적 이점은 잘 알려져 있다. 본 연구에서, 순차 전진 선택 (SFS) 방법이 특징 선택에 사용되었다. 이 방법은 전체 데이터 세트에서 최고의 특징을 선택하는데 아주 유용한 방법이다. 이 방법은 먼저 최고의 단일 특징을 고르고 그다음에 선택된 특징들과 결합하여 하나씩 계속해서 특징을 더하여, 최고의 분류 성능을 찾는다. 목적함수들은 분류 잠재력을 측정하기 위해 일반적으로 특징 선택 알고리즘에 포함된다. 또한 최고의 기능을 제공하기 위한 피드백 신호 역할도 한다. 본 연구에서 총 5개의 목적함수들을 사용하여 구축된 알고리즘을 평가하였다. (1) Fisher score (J(W)) (Duda et al., 2012; Gu et al., 2012), (2) 선형 판별 분석법 (LDA) (Duda et al., 2012; Gu et al., 2011), (3) 2차 판별 분석 (QDA) 목적함수 (Bishop,2006), (4) K-최근접 이웃 알고리즘 (KNN) (Song et al., 2007)과 (5) t-test를 목적함수로 사용하였다.

⑤ 분류 (학습 및 검증)

패턴 분류 알고리즘을 개발하기 위해, 종자 발아력에 따라 분류된 2개의 그룹을 지도 학습에 사용하였다. 만약 종자가 발아 테스트에서 발아 가능한 것으로 검출되면 class-1(발아 가능)로 만약 그렇지 않으면 class-0(발아 불가능)으로 구분한다.

분류 모델의 품질을 결정하는 것에 있어서 모델 평가는 필수적이다. 이 과정은 새로운 데이터 셋이나 실제 시스템과 관련해서 모델 로지스틱에 의해 만들어진 가정이 사용 가능한지를 확인한다. 샘플 숫자를 고려하여, 분류기 검증을 위해 10개로 구분된 교차 검증 기술을 사용하고, 분류 pool에 대한 95% 신뢰 구간(CI)으로 분류기 성능의 평균 추정치를 구하였다 (Donis-González et al., 2015). 최종 결과값을 얻기 위해 교차 검증은 10번 반복되었다. 모든 분류기를 사용하여 모델의 실제 성능을 검증하기 위해 20개의 샘플(10개는 발아 가능한 종자, 다른 10개는 발아 불가능한 종자)이 포함된 새로운 예측 데이터 세트를 구성하였다. CT 영상과 함께 패턴 분류 알고리즘을 활용한 과정은 아래와 같다(그림 3).

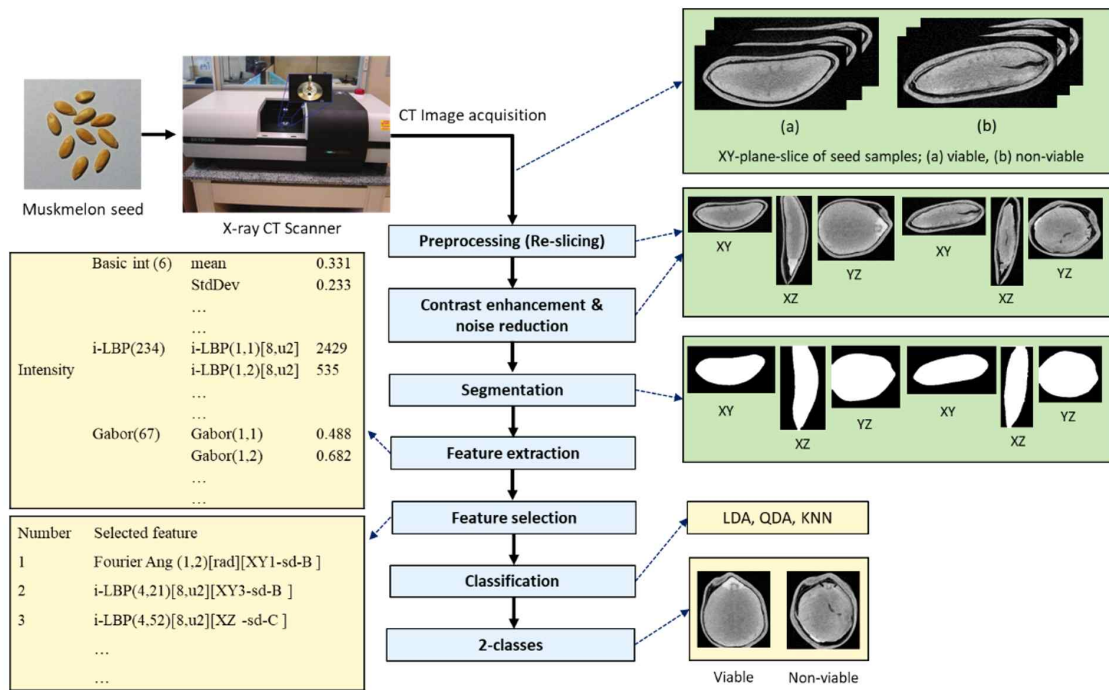


그림 3. The methodology applied to develop the pattern classification algorithm to identify viable and non-viable muskmelon seeds using CT images.

다) 고추 종자 분류

CT 영상으로부터 패턴 인식을 사용한 분류 모델 개발 절차는 그림 4와 같다. 샘플들은 수확 후 5년(August 2012 to August 2017) 동안 특별히 설계된 저장고에서 보관된 것이었다. 저장고의 온도는 약 5°C, 상대 습도(RH)는 40%로 유지되었고, 종자는 밀봉된 플라스틱 용기에 저장되었다. 모든 종자는 사용될 때까지 균일한 온도와 수분을 유지하기 위해 4°C로 밀봉 냉장 보관 되었다. X-ray와 CT 영상 획득을 위해 총 100개의 종자를 무작위로 선별하여 사용하였다.

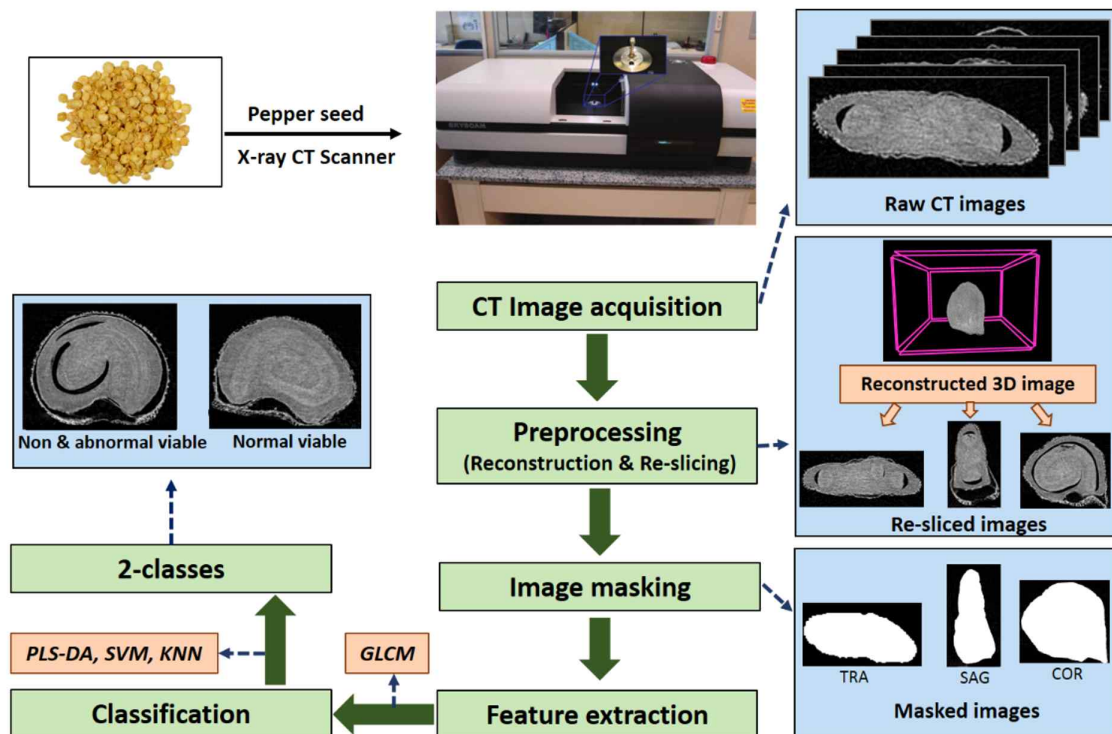


그림 4. Illustration of the working procedure to develop the classification model for pepper seed quality based on their internal condition. TRA= Transaxial plane, SAG= Sagittal plane, and COR= Coronal plane of the resliced images.

① CT 영상 획득

수박 및 참외종자 측정에 사용된 동일한 CT 영상 시스템을 사용하였다. 고추 종자는 영상 재구성 시간을 포함하여 각각 평균 8분의 시간이 소요되었다. 총 285번의 스캔이 진행되었는데 고추 종자의 평균 지름은 3.79 mm이므로 mm당 75번 스캔이 수행되었다. 영상 획득을 마친 후, 모든 종자는 96-well plate에 숫자를 구분해 넣었고, 발아 테스트를 할 때까지 냉장고에 저장되었다.

② 영상 특징 추출

영상 특징 추출은 물체의 특징 인식에 중요한 역할을 한다. 특징 추출은 물체를 통계학적으로 분류하는데 사용될 수 있는 영상의 패턴에 구조적인 정보를 말한다. 본 연구에서 GLCM (Gray Level Co-occurrence Matrix) 구조적인 특징들은 선택된 영상들로부터 추출하였다. GLCM은 영상에서 픽셀의 공간적 관계를 고려하는 2차 통계 정보를 포함한다. 그림 5는 GLCM의 계산 절차를 보여준다.

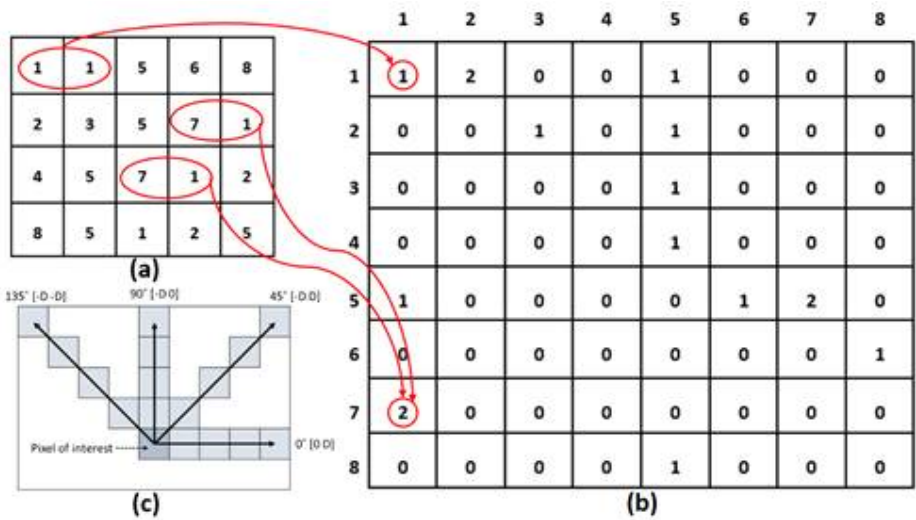


그림 5. Illustration of the Gray Level Co-occurrence Matrix (GLCM) operation methodology from the input image (a) to GLCM image (b). (c) illustrates the spatial relationships of pixels in the array of row-offsets and column-offsets where D represents the distance from the pixel of interest. Red circles indicate that how often a different combination of gray-levels co-occur in the input image and arrows indicate the number of co-occurs in the GLCM image.

GLCM을 만들기 위해서, CT 영상들로부터 특징 추출을 위해 개발된 패턴 인식 알고리즘에서 'GLCM_Features'라고 불리는 MATLAB 함수가 사용되었다. 이 함수는 강도(명암도)값 i 를 가진 픽셀이 지정된 공간 배열에서 값 j 를 가진 픽셀에 얼마나 자주 발생하는지 계산하여 GLCM을 생성한다. GLCM의 각각의 요소(i, j)는 입력 영상에서 값이 j 인 픽셀과 지정된 공간 관계에서 값 i 를 갖는 픽셀이 발생한 횟수의 합계이다. 이 함수는 영상의 전체 동적 범위에 대한 GLCM 계산의 필요한 연산이 많이 요구되어 어렵기 때문에, 스케일 조정을 사용하여 흑백 영상의 강도 값 수를 256개에서 8개로 줄인다. GLCM을 만든 후에 영상의 텍스처에 중요한 정보를 제공할 수 있는 강도 통계 기반 특징(에너지, 엔트로피, 그리고 제곱합)과 텍스처 기반 특징(자기상관, 군집 두각, 대조 그리고 동질성) 등을 추출하였다. 표 3은 GLCM으로부터 계산된 특징의 종류들을 보여준다.

표 4. The Gray Level Co-occurrence Matrix (GLCM) statistical derivation types for creating textural features from 3 different planes of CT images.

Features	Feature number			Features	Feature number		
	transaxial	sagittal	coronal		transaxial	sagittal	coronal
1.Autocorrelation	[1-4]	[89-92]	[177-180]	12.Sum average	[45-48]	[133-136]	[221-224]
2.Contrast	[5-8]	[93-96]	[181-184]	13.Sum variance	[49-52]	[137-140]	[225-228]
3.Correlation	[9-12]	[97-100]	[185-188]	14.Sum entropy	[53-56]	[141-144]	[229-232]
4.Cluster prominence	[13-16]	[101-104]	[189-192]	15.Difference variance	[57-60]	[145-148]	[233-236]
5.Cluster Shade	[17-20]	[105-108]	[193-196]	16.Difference entropy	[61-64]	[149-152]	[237-240]
6.Dissimilarity	[21-24]	[109-112]	[197-200]	17.IMC a[1]	[65-68]	[153-156]	[241-244]
7.Energy / Uniformity	[25-28]	[113-116]	[201-204]	18.IMC [2]	[69-72]	[157-160]	[245-248]
8.Entropy	[29-32]	[117-120]	[205-208]	19. INVb	[73-76]	[161-164]	[249-252]
9.Homogeneity	[33-36]	[121-124]	[209-212]	20. INV in homogeneity	[77-80]	[165-168]	[253-256]
10.Maximum probability	[37-40]	[125-128]	[213-216]	21. INN c	[81-84]	[169-172]	[257-260]
11.Sum of squares: Variance	[41-44]	[129-132]	[217-220]	22. IDN d	[85-88]	[173-176]	[261-264]

a Information measure of correlation, bInversedifference,cInversedifferencenormalized,d Inverse difference moment normalized

③ 분류 (보정과 검증)

종자 샘플들의 발아 테스트에 근거해서, 종자를 두 개의 범주로 나누었다. class-1(정상적으로 발아 가능한)과 class-2(발아 불가능한 & 비정상 발아). 패턴 분류 알고리즘에서 지도 학습 접근은 발아 테스트의 결과를 바탕으로 사용되었다. 분류 도구 상자는 지도된 클래스로 종자를 분류하기 위해 사용되었고, GLCM과 통계학적 방법으로 얻어진 값들은 PLS-DA 모델개발에 사용되었다. PLS-DA는 PLS-R (부분 최소 제곱 회귀)의 수정된 형태의 분류 모델이다. PLS-DA의 일반적인 수식은 다음과 같다.

$$Y = X \times b + E$$

X = 각각의 클래스의 특징 값을 갖는 n × p 행렬

b = 회귀 계수, E = 오차 항

PLS-DA 모델을 개발하기 위해서, X 행렬은 정상적으로 발아 가능한 종자와 발아 불가능한 & 비정상 발아 종자에 대한 특징값을 포함하고, Y 행렬은 샘플이 발아 불가능한 & 비정상 발아 종자 그룹(0)과 샘플이 정상적으로 발아 가능한 종자(1)에 대한 값으로 구성되어 있다. 또 다른 두 지도 분류기들인, SVM과 KNN 방법도 평가하였다. SVM과 KNN은 분류와 회귀 둘 모두를 위해 사용될 수 있는 지도식 기계학습 알고리즘이다. Mahalanobis 거리는 KNN 분류에서 사용되는데 K값은 비교를 위해 1부터 10까지 테스트 되었다. 분류기 각각의 성능은 지도된 범주형 클래스를 참조해서, 올바르게 분류된 종자 샘플로 계산되었다. 모델 품질을 결정하기 위해, 모델 검증은 필수적인 절차인데 5점 교차 검증 기술을 각 분류기에 대해 개별적으로 적용되었다.

2) X-ray 2D 영상

① 수박 종자 샘플

X-ray 영상으로부터 딥러닝 전이학습을 사용한 분류 모델 개발 절차는 그림 6과 같다. 실험을 위해 3가지 품종의 수박 종자(이형림, 삼배체, 최강꿀)를 사용하였다. 샘플들은 6년 (August 2013 to August 2019) 동안 약 5°C와 40%의 상대 습도(RH)에서 밀봉된 플라스틱 용기에 저장되었다. 총 1800개의 종자(각 품종에서 600개)를 X-ray 2D 투사 영상 획득을 위해 무작위로 선택하였다.

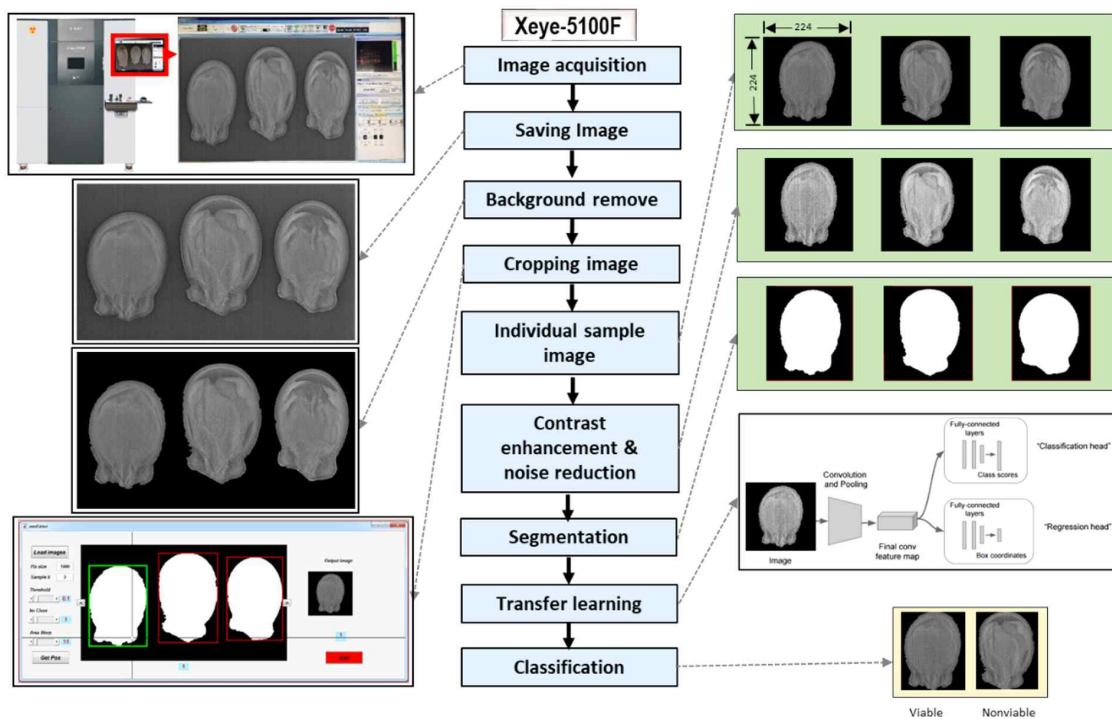


그림 6. Illustration of the working procedure to develop the classification model for watermelon seed quality based on their morphological patterns.

② 영상 획득

제어 소프트웨어와 결합한 X-ray 검사 시스템은 10-100 kV 미소 초점 폐관(5 μm 초점 크기)의 X선 소스 및 높은 해상도의 평평한 판 검출기와 결합하여 종자의 X-ray 투사 영상을 만들어내기 위해 사용되었다. 시스템은 높은 확대율과 4개의 축의 조종기 배치(X, Y, Z 그리고 tilt)로 장비를 구축하였다. 영상의 획득을 위해, 90개의 종자 샘플들을 투명한 맞춤형 플라스틱 배종판에 놓았다. 확대율을 이용해서, 각각의 종자의 영상을 얻기 위해 한번에 3개의 샘플들을 촬영하였다. 따라서 하나의 배종판에 총 30번의 촬영이 필요하였다. X-ray의 노출 시간은 0.05초이며, 사진은 기본 2304 X 1300 픽셀(넓이 X 높이)의 크기의 .bmp 형식으로 미리 저장되었다. 표 4는 X-ray 영상 획득 매개변수를 나타낸다. 모든 샘플들의 영상 획득을 마친 후에 종자를 번호로 구분하여 96-well plate에 놓고, 발아 테스트 때까지 냉장보관 되었다. 짧은 시간의 방사선 노출로 영상을 발생시키기 위해 연질 X선이 적용되었다(Craviotto et al., 2004). 영상 획득 동안에 확대가 사용되었기 때문에, 샘플은 X-ray 배출을 약해서 종자에 미치는 영향은 거의 없다고 판단된다.

표 4. Image acquisition parameters for X-ray projection imaging.

Parameters	Values
System	Xeye-5100F
Source voltage	50 kV
Source current	100 μ A
Exposure time	0.05 s
Magnification	18x
Filter	Glass effect

③ 영상 처리

본 연구에서 영상 cropping, 크기 조정, masking, 특징 추출, 통계학적 계산 그리고 분류와 같은 영상 처리 방법들은 MATLAB 소프트웨어를 사용하였다. 3.20 GHz Intel Core i5-4570 프로세서 (CPU), 12GB 랜덤 액세스 메모리 (RAM, type: DDR3), 1GB NVIDIA GeForce GTX 650 그래픽 처리 장치 (GPU), and 64-bit Windows 10 Enterprise 운영 체제 (OS)를 갖춘 컴퓨터 시스템은 기존의 분류에 대한 결과를 평가하고 영상을 분석하기 위해 사용되었다. 전이학습 아키텍처 방식으로 가동되는 컴퓨터 시스템 사양은 CPU- Intel Core i9-7900X 프로세서 (10 core 20 threads), RAM- 8×16GB DDR4 (total 128GB), GPU- 4× 8GB NVIDIA RTX 2070 (total 32GB), and OS- Ubuntu 18.04 LTS 이었다.

④ 영상 cropping

2D X-ray 영상은 한번에 3개의 종자 샘플이 촬영되었다. 개별 종자의 영상을 얻기 위해서 영상 cropping이 사용되었다. 각각의 샘플 영상은 224 X 224 픽셀 크기의 .png 형식으로 저장되었다. 결과 영상들은 일반적인 특징 추출 및 전이학습을 위해 사용되었다.

⑤ 영상 masking과 품질 향상

Cropping 작업으로 개별적인 종자 영상을 만들었다. 이후 영상 마스킹을 통해 배경을 지움으로써 관심 있는 영역만 활용할 수 있도록 하였다. 균등화 히스토그램 임계값 방법을 영상 마스킹에 사용되었다. 방법론은 사진을 전경(종자)와 배경(기실) 클래스로 나눴다(그림 6). 전경의 픽셀값은 1-흰색, 배경의 픽셀값은 0-검정색으로 설정하였다. 최적의 임계값은 Otsu's 방법을 사용해서 결정됐다. 마스킹된 영상들의 품질 향상을 위해, 최대 정규화를 사용한 강도 조정과 표준 편차 비례 축소, 소음 감소를 위한 중간값 필터링 같은 몇몇의 작업들이 실행되었다. 총 3세트의 영상들이 품질 강화를 기반으로 만들어졌다. 세트들은 강도와 대조 향상을 위해 최대 정규화 (set_A) 및 표준 편차 비례 축소 (set_B)를 적용하고 노이즈 감소를 위해 중간값 필터(set_C)를 적용함으로써 구성되었다. 이러한 과정은 각각의 결과 영상에 적용되었다.

⑥ 특징 추출, 선택 및 분류

영상 특징 추출은 물체의 특징 인식에 중요한 역할을 한다. 특징 추출은 물체를 통계상으로 분류하는데 사용될 수 있는 영상에서 패턴의 구조 정보를 의미한다. 본 연구에서, 추출된 특징들은 기본적인 강도 (6), 로컬 이진 패턴 (LBP) (234), Gabor intensity (67), 기본 대조 (5), Haralick texture (28), 그리고 국소 푸리에 함수 (FFT) texture 특징 (8). 순차 전진 선택

(SFS) 탐색 전략을 사용해서, 최상의 특징들은 Fisher score($J(W)$) function method에 의해 최적화된다. 패턴 분류 알고리즘을 개발하기 위해 지도 학습 방식이 사용되었고, 발아 테스트에 따라 두 종류의 그룹이 나타났다. 관찰된 분류기들은 선형 판별 분석 (LDA), 2차 판별 분석 (QDA) 그리고 (4) K-최근접 이웃 알고리즘 (KNN) 이었고, 10겹 교차-검증 기술이 분류기 검증에 쓰였다.

⑦ 전이학습(딥러닝)

전이 학습의 목적은 사전 학습된 신경망으로부터 추출된 파라미터들을 전이함으로써 시간을 절약하고, 학습된 데이터의 부족을 극복하기 위한 것이다. 실제 응용 분야에서, 전이학습은 만족스러운 결과를 보여주었다(Sun et al., 2014; Shin et al., 2016; Xie et al., 2016).

ConvNet 아키텍처들은 영상 특징 추출, 분류 및 회귀에 특화된 잘 알려진 딥러닝 구조 중 하나이다(Zhu et al., 2019; Grinblat et al., 2016). ConvNet는 특히 컴퓨터 비전과 같은 다양한 분야에서 좋은 성과를 보여주었다. 전형적으로, ConvNet는 세 가지 유형의 층으로 구성된다. 영상 특징 추출을 위한 convolution 층, 추출된 특징 압축을 위한 pooling 층, 분류를 위해 모든 노드가 연결된 층이다.

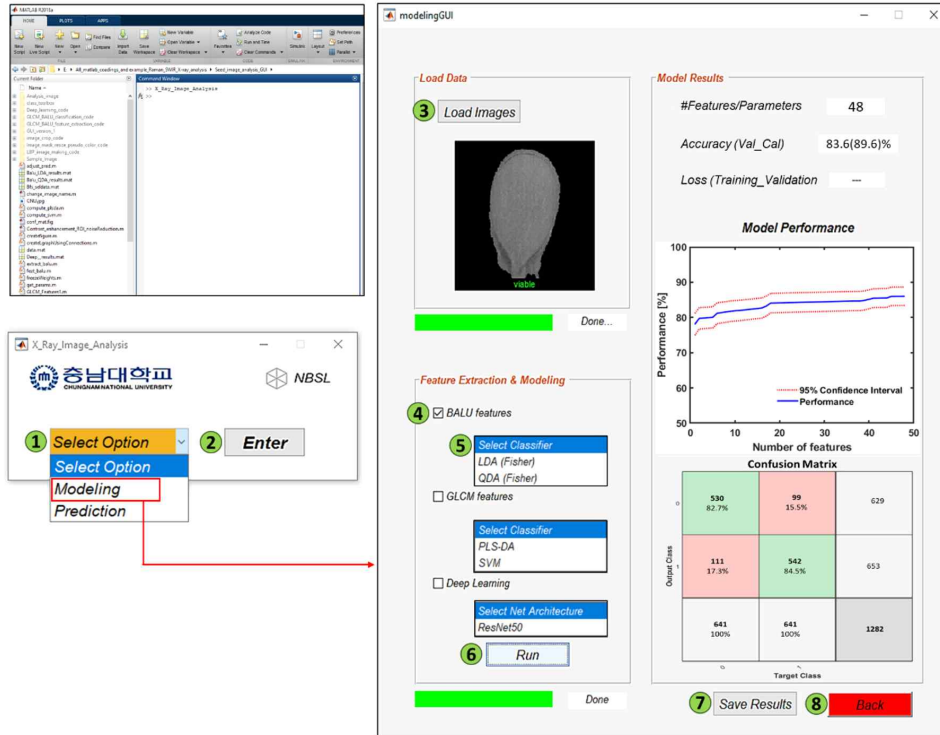
본 연구에서, X-ray 종자 영상의 2진 분류에 두 유형의 수정된 ConvNet 아키텍처들이 사용되어, 최고의 성능을 보여주었다. 먼저, 단순한 ConvNet 아키텍처가 사용되었고, 이후에 ResNet50이 선정되었다. ConvNet 아키텍처에서 먼저 입력 영상과 정사각형 크기의 맵의 필터 뱅크 사이의 합성곱 연산에 의해 특징 맵이 만들어진다. 각각의 필터는 입력 영상에서 작은 수용영역과 관련된 제한된 크기를 가졌다. 정류 선형 유닛(ReLU) 함수는 두 번째 변환을 위해 모든 특성 맵에 적용된다. 세 번째 변환은 pooling 단계로 불리며, 각각의 맵은 일련의 겹치지 않은 정사각형으로 나누어진다. 각각의 인접 네트워크로부터, 이 변환은 최댓값만 갖는다. 소프트맥스 함수는 분류기로서 이 네트워크의 마지막 층이다. 이 층은 마지막 합성곱 층의 모든 출력 특성 맵에 연결되었었고 각각의 클래스의 추정된 확률을 반환한다.

영상 데이터 셋을 만들기 위해, 총 1282개의 영상(641개의 정상적인 발아 종자와 641개의 발아 불가능하거나 비정상 발아 종자 영상)이 사용되었다. 각 그룹으로부터, 비슷한 샘플 수는 분류 결과에서 특정 그룹의 편향이 제거된 데이터 셋을 만드는 것에 사용되었다. 딥러닝 신경망은 모델을 일반화하기 위한 능력과 성능을 향상시키기 위해 많은 양의 데이터 셋을 필요로 한다. 그러므로 각각의 사진에 6가지의 변형(회전, 반사, 변환(x,y), 스케일링(x,y))을 주어 총 7692개의 최종 데이터 셋을 만들었다. 전체 데이터 셋에서 70%와 30%의 무작위로 선택된 샘플을 각각 학습과 검증으로 나누었다.

⑧ 분석 소프트웨어

MATLAB을 기반으로 한 맞춤형 분석 소프트웨어는 종자의 X-ray 이미지를 분석하고, 분류 모델을 개발하고, 종자 발아를 예측하기 위한 새로운 데이터 세트에 모델을 적용하기 위해 개발되었다. LBP, Gabor, Haralic 텍스처, local FFT 그리고 회색도 동시발생 행렬(GLCM) 특징들과 같은 이미지 특징들의 다른 부류는 종자와 몇몇의 분류기의 유형에 기반을 두고 추출되었고, LDA, QDA, PLS-DA, SVM과 같은 몇몇의 분류기와 ResNet50 아키텍처가 테스트 될 수 있다.

(a) Classification model development



(b) Seed class prediction

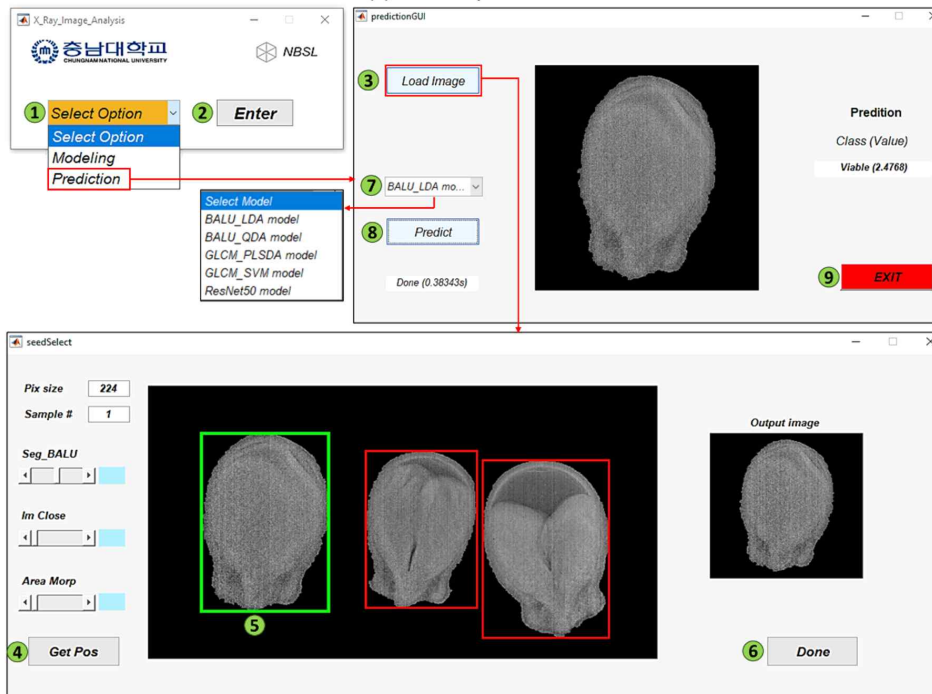


그림 7. A custom-built software for classification (a) and prediction (b) of seed based on their morphology using X-ray imaging where green circles with number show the sequence of the operations.

나. FT-NIR, SWIR과 NIR 초분광법

○ 종자의 인공 노화와 자연 노화의 차이

Delouhce (1965)는 클로버와 페스큐 종자의 저장 가능성을 예측하기 위해 인공 노화 시험을 개발하였다. 인공 노화 시험은 발에서 묘목의 성능을 평가하고, 비슷한 출현 양상을 가진 생리학적인 종자의 품질을 결정한다. 이 과정은 스트레스 상황을 모의실험하는 방법으로써 높은 호흡률을 발생시키고, 퇴행성의 변화를 일으키는 종자 대사를 촉진한다. 노화의 주요 목적은 높은 공기 습도와 높은 온도에 그들을 노출하여 빠른 종자의 악화를 촉진하는 것이다. 다양한 품종을 위한 인공적으로 노화된 종자들은 비파괴검사를 통해 비교적 높은 정확도로 분류되었다.

그러나 인공적으로 노화된 종자들은 자연적으로 노화된 종자들을 대표하기 어렵다. 인공적으로 노화된 종자는 일반적인 저장조건의 종자와 비교하여 상당한 편차가 발생한다는 것이 밝혀졌다. 4종의 대두 품종을 이용한 실험에서, 자연적으로 노화된 종자들에 비해 인공적으로 노화된 종자는 α -tocopherol(퇴화를 일으키는 종자의 내부 조직에 산소의 유입을 막는 노화 방지물질)의 양이 다량으로 존재하였다. Petruzzelli and Carella(1983)는 인공 노화 및 자연 노화된 밀 종자의 연구를 수행했고 종자의 인공적인 노화가 자연적인 노화보다 종자를 퇴화시키는 변화가 증폭된다는 것을 입증하였다. 또 다른 연구는 4가지 커피 종자의 품종의 인공 및 자연적인 노화 사이의 연관성을 평가한 것이었는데, 자연적인 노화에 비해 인공적인 노화에서 더 큰 퇴화가 발생한다는 것을 확인하였다. 그러므로 인공적으로 노화된 종자는 비파괴측정 기술을 활용했을 때 더 높은 예측 정확도를 얻을 수 있다. 그러나 인공적으로 노화처리된 종자와는 달리 자연적으로 퇴화된 종자는 노출된 환경에서 실제 종자 상태를 나타내므로 본 연구는 종자 발아 가능성을 평가하기 위해 인공퇴화된 종자가 아닌 자연적으로 퇴화된 종자를 사용하였다.

인공퇴화와 자연퇴화 종자의 차이를 구명하기 위해 실험을 실시하였다. 실험에서 사용한 종자는 총 400개이며, 품종은 삼배체, 블랙루비, 최강꿀, 슈가원 4종이며 각 품종당 종자는 100개로 진행되었다. 가속 노화 방식은 6일간 25°C와 80%의 상대 습도의 조건인 close 타입의 배양 시스템에 종자를 배양하여 진행하였다. 각 종자의 100개의 샘플은 종마다 박스 1개를 이용하였으며, 철사로 이루어진 메쉬 트레이와 각 플라스틱 박스에 40 mL의 증류수를 첨가하였다. 배양 후, 종자는 기존의 무게로 돌아올 때까지 거름종이에 25°C에서 건조하였다. 자연적으로 노화된 종자와 인공적으로 노화된 종자는 FT-NIR(삼배체, 블랙루비)와 NIR-HSI(최강꿀, 슈가원) 이미징 분광법을 사용해서 스펙트럼을 획득하고, 이후 발아 시험을 실시하였다. 인공적으로 노화된 종자들은 자연적으로 노화된 종자들이 발아실험에서 보인 어린 뿌리의 발육이 나타나지 않았다. 그림 8은 인공 노화와 자연 노화 종자 사이의 화학적인 스펙트럼 차이를 보여준다. 그림 8(a)는 같은 품종으로부터 인공적으로 노화된 종자와 자연적으로 노화된 종자의 FT-NIR 분광 데이터 차이를 확인하였다. 그림 8의 (b) - (d)는 인공적으로 노화된 종자와 자연적으로 노화된 종자의 다양한 화학 성분의 차이를 확인하기 위해 wavenumber를 확대하여 확인하였다. 모든 품종들은 비슷한 화학적인 구성 변화를 보여주었다. 여러 화학 성분 변화 중, 단백질은 두 기기에 대한 분석에서 관찰된 가장 일관된 변화로 확인되었다. FT-NIR 과 NIR-HSI 분광 기술로부터 검출된 인공적으로 노화된 종자 품질과 자연적으로 노화된 종자 품질 사이의 다양한 화학적인 구성 변화는 표 5와 같다.

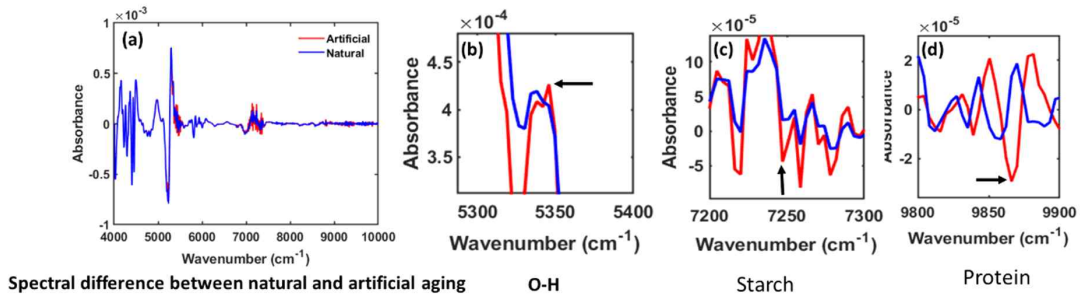


그림 8. Spectral difference of artificial and naturally aged seeds.

표 5. Difference of Chemical composition between artificial and natural aging seeds

Instrument	Variety	Chemical difference		
		O-H	Starch	Protein
FT-NIR	Sambaechea	v	v	v
	Black-rubi		v	v
NIR-HSI	Choiganggul	v		v
	Sugarone		v	v

○ 다수의 발아 가능한 종자를 탐지하기 위한 분류 임계값 변경

본 연구의 궁극적인 목표는 분광 및 이미징 기술을 사용한 종자발아 예측모델 개발과 실시간 발아종자 검출을 위한 시스템 개발 및 모델의 성능을 검증하는 것이다. PLS-DA 모델을 이용한 예측값은 0(발아 불가능한 종자)과 1(발아 가능한 종자)로 나누어진다. 그러므로 두 그룹을 검출하기 위한 임계값은 0.5로 자동으로 계산되고, 두 그룹에서 발아 가능한 종자가 발아 불가능한 것으로 분류되거나 그 반대의 경우가 나타나는 잘못 분류된 경우가 존재한다. 발아 가능한 종자들을 더 높은 정확도로 검출하기 위해 기준선의 임계값을 적절히 변경하는 방법을 고려할 수 있다. 그림 9는 두 그룹이 겹침에 따라 0.5에 있는 임계값에 의해 오차가 발생하는 경우를 보여준다. 임계값을 0.7로 변경 시, 발아 불가능한 종자가 포함하지 않는 발아율이 100%인 종자 그룹을 구성할 수 있다. 이러한 방식으로 발아종자의 발아률을 높인다면 유통기한이 지난 이후에 모든 종자 batch를 버릴 필요가 없게 되고 경제적인 이익이 발생할 수 있다.

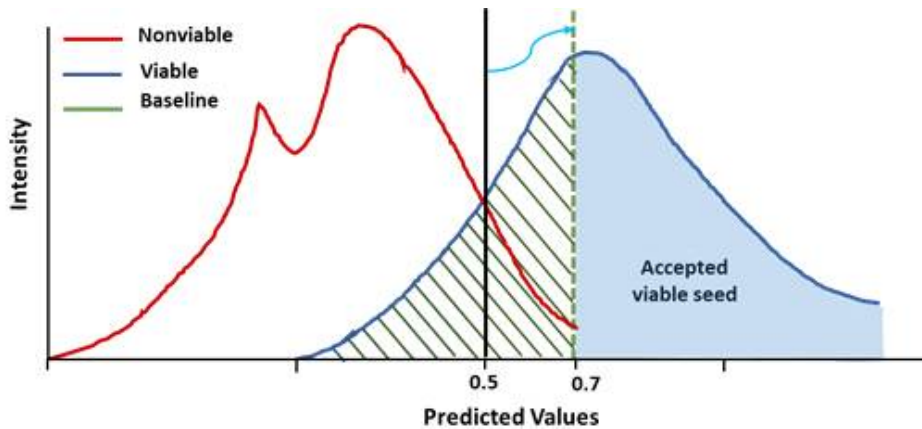


그림 9. Viable seed detection with higher germination rate through classification threshold value shifting

1) FT-NIR 분광 분석

○ FT-NIR 측정 기기

그림 10(a)는 FT-NIR 분광을 이용한 배아의 스펙트럼 데이터 획득 방법이다. 3가지 다른 품종의 수박 종자에 대해, 비슷한 waveband에서 스펙트럼의 peak가 확인되었다. 4000 - 10,000 cm^{-1} NIR 반사 스펙트럼의 waveband 영역은 배아 정보에 대한 스펙트럼의 흡수 peak를 보여준다. 종자 피질과 전체 종자 스펙트럼의 정보는 세가지 종자의 품종들에서 매우 비슷하지만, 배아 흡수 스펙트럼은 서로 다르게 나타난다.

그림 10의 (b)-(d)는 세 가지 품종의 종자 샘플에서 8000에서 9000 cm^{-1} waveband에서 배아는 특징적인 스펙트럼 peak를 가지고 있음을 보여준다. 차이를 명확하게 시각화하기 위해 Savitzsky-Golay의 1차 미분방법을 적용하였다. 그림 10 (b)-(d)에서 전체 범위에 걸친 NIR 스펙트럼은 두꺼운 종피에도 불구하고 배아로부터 생리화학적 정보를 수집할 수 있다는 것을 보여준다.

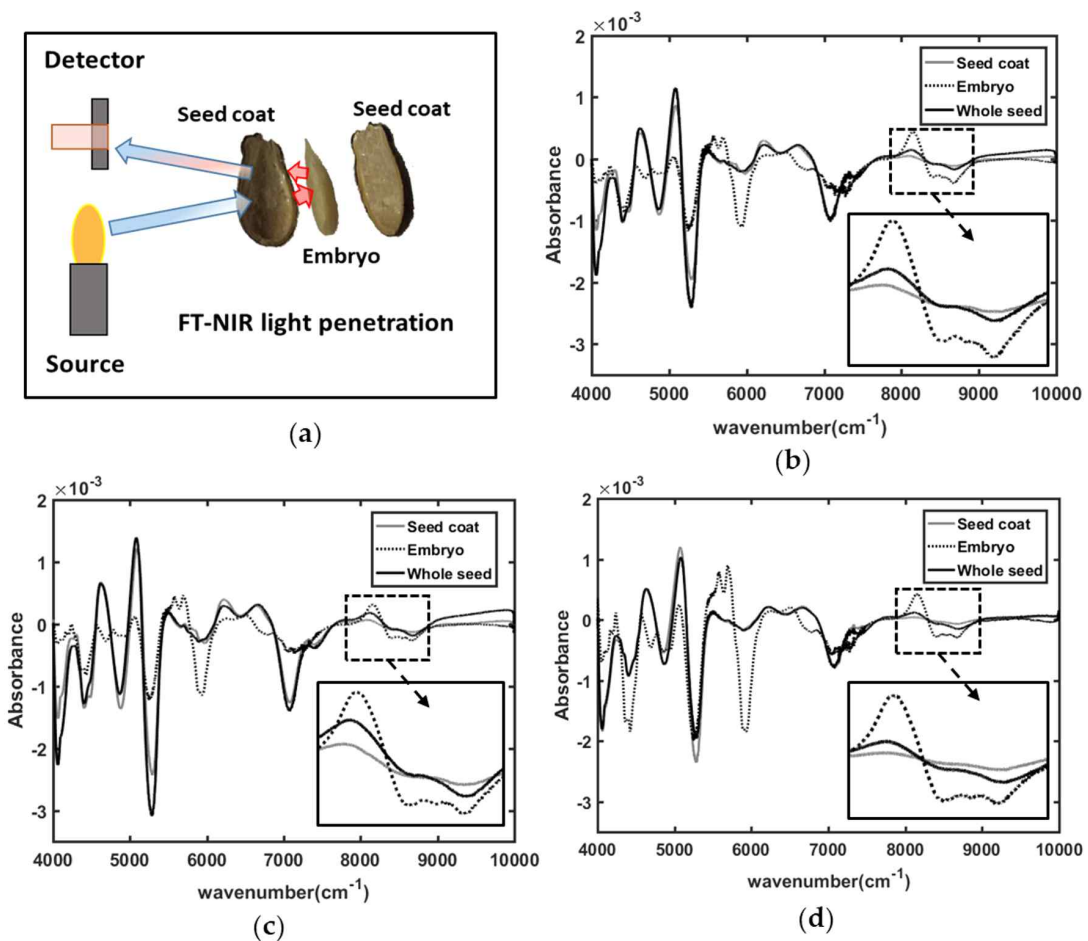


그림 10. (a) FT-NIR light penetration check for FT-NIR spectroscopic technique; (b) V1; (c) V2 and (d) V3 variety

2) SWIR 초분광 영상 기술

① 스펙트럼 획득

초분광 영상장치는 물체의 전체 표면을 라인스캔함으로써, 2차원의 정보(X 및 λ로 알려짐)가 3D 하이퍼큐브로 생성되는데, 세 번째 차원은 스펙트럼 정보(Y)를 나타낸다. NIR-HSI 기기는 Mercury Cadmium Telluride (MCT-3348) 검출기(320×256), 이미징 분광기(Headwall Photonics, Fitchburg, MA, USA), 초점 거리 16 mm f/1.4의 렌즈, 할로젠 광원 6개(100 W)로 구성되어 있다. HSI 시스템의 기본 구성은 그림 11과 같다.

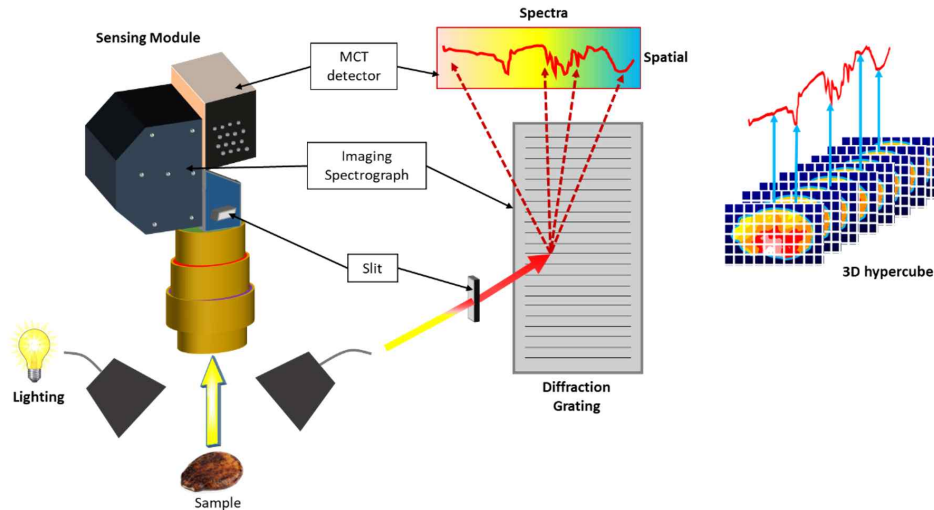


그림 11. Hyperspectral imaging system and scanning of seed samples.

샘플들은 HSI 카메라로 라인스캔되고, 획득한 이미지는 하이퍼큐버로 저장된다. 반사율의 보정을 위해 흰색 레퍼런스와 검은색 레퍼런스 이미지를 얻었다. 반사율이 99.9% 그리고 0%인 흰색 및 검은색의 이미지를 얻기 위해서, 흰색 세라믹 시트와 렌즈의 커버를 닫아 이미지를 획득하였다. 상대반사율은 다음의 방정식을 사용해서 계산되었다.

$$X_{cal} = \frac{X_{raw} - X_{dark}}{X_{ref} - X_{dark}}$$

X_{raw} 는 원본 HSI 이미지이고, X_{dark} 와 X_{ref} 는 각각 검은색과 흰색 레퍼런스 이미지이고, X_{cal} 은 보정된 이미지이다.

ROI(Region of Interested) 선택을 통해서 이미지의 배경 제거를 한 이후 샘플의 스펙트럼 데이터를 추출하였다.

② 데이터 처리

발아율과 종자의 성장력을 확인한 후, 해당 종자 별 스펙트럼을 그룹으로 나누었다. 분광기를 통해 측정된 스펙트럼은 기준선 이동, 기울기 변동, 빛 산란 등이 발생할 수 있다. 정확한 스펙트럼을 얻기 위해서, 앞서 설명한 문제들은 3가지 정규화 방법(최소, 최대 그리고 범위), Standard Normal Variate (SNV) transformation, 그리고 Multiple scatter correlation (MSC), Savitzky-Golay 1차 & 2차 미분, 그리고 smoothing 방법을 통해서 제거하였다. 이 후에 부분 최소 제곱 회귀(PLSR)을 결합한 예측모델을 개발하였다.

3) Chemical Imaging (CI)

HSI의 이점은 샘플의 화학적 분포의 패턴을 공간적으로 확인하는 것이다. 샘플의 CI는 이미지 처리 방법과 회귀 분석 결과의 조합으로 생성된다. 발아 및 발아 불가능한 종자의 시각화를 위한 이미지를 생성하기 위해서, PLS-DA 모델은 다음과 같은 단계로 개발하였다.

(1) 기존의 초분광적인 이미지의 3D 구조를 2D의 구조로 변환한다. (2) PLS-DA 모델에 의해 생성된 회귀 계수가 가중된 베타 계수 값은 2D 이미지의 각각의 픽셀에 의해 곱한다. (3) 베타 계수 값의 적용 후에, 2D 이미지들은 종자 샘플의 농도 맵핑된 이미지를 형성한다. 그림 13에 있는 flowchart는 이미지 획득, 보정, 스펙트럼 추출 그리고 데이터 분석을 포함하여, 이 연구에서 HSI 데이터 처리에 사용되는 전반적인 단계를 보여준다.

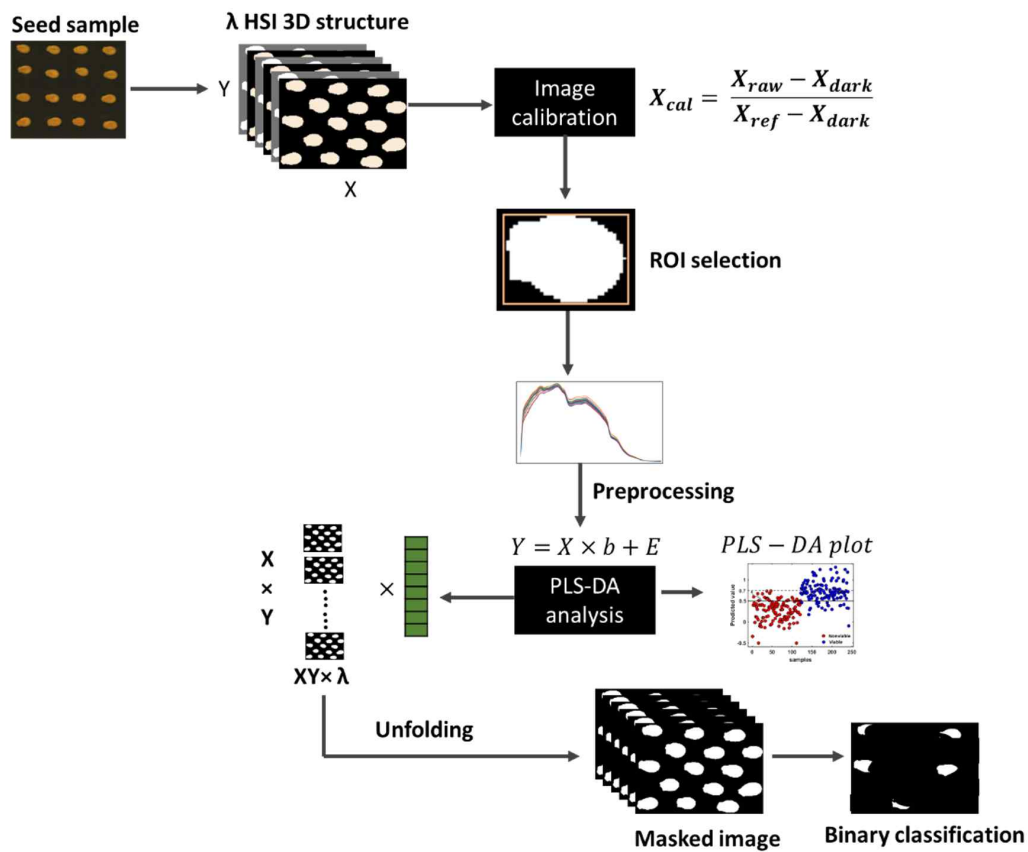


그림 13. Flowchart of HSI data analysis and image analysis.

4) HSI 이미징을 위한 심층 신경망 분석

Convolution Neural Network (CNN)은 특징 추출을 위해 많은 층을 가진다. 이 층들은 데이터에 대해 convolution, pooling 또는 Rectified linear unit (ReLU) 작업을 수행한다. Convolution은 이미지로부터 두드러진 특징이 활성화된 합성곱 필터로 입력 이미지를 처리한다. Pooling은 샘플링의 비선형성의 결과를 단순화하고, 네트워크가 학습해야 하는 매개변수의 수를 줄인다. ReLU는 음수값을 0으로 변경하고 양수 값을 유지하며 모델의 비선형성을 유지한다. 각 작업들은 수십 또는 수백 개의 층에 걸쳐 반복되며, 이루어진 층은 특징들을 검출하는 학습을 목표 정확도에 도달할 때까지 계속한다. 특징 검출 이후에, CNN의 구조에서 분류 부분이 실행이 된다. 끝에서 두 번째 층은 K차원의 벡터를 출력하는 전체 노드가

연결된 층(FC)인데, 여기서 K는 네트워크가 예측할 수 있는 그룹의 수이다. 이 벡터는 입력 이미지의 각 그룹에 대한 확률을 나타내게 된다. CNN 구조의 마지막 층은 분류 출력을 제공하기 위해 softmax 함수를 사용한다. 딥러닝이 분석을 위해 큰 데이터 셋이 필요하다. 그림 14는 딥러닝 모델인 ResNet-101 분석을 위한 데이터 셋에 대한 모식도이다. NIR-HSI 이미징 기술을 사용해서 종자의 데이터 세트를 수집한 후, 발아 가능 및 불가능한 종자로 그룹을 분류하였다.

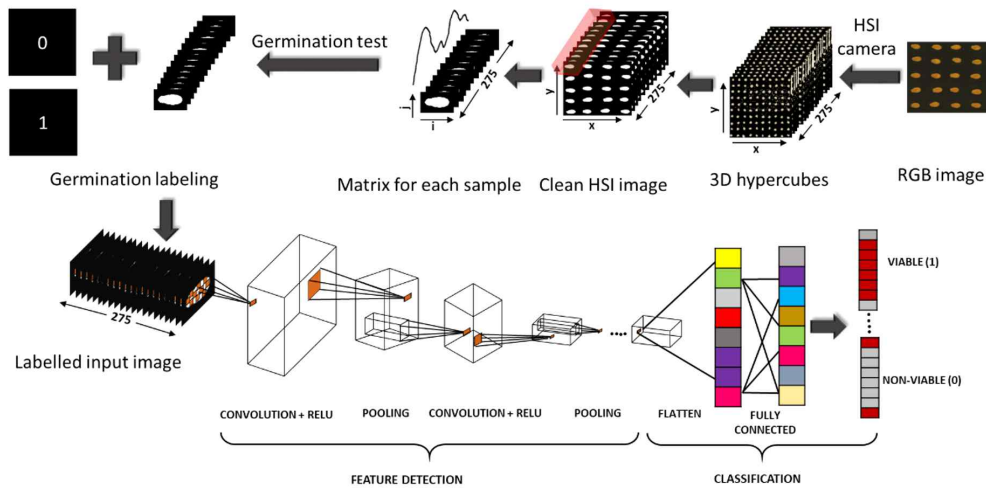


그림 14. Flowchart of ResNet-101 data analysis for HSI image

5) Deep residual network 적용

다차원 convolution 네트워크의 실행을 위해, NIR-HSI 데이터를 획득한 후, 각 종자 샘플의 이미지를 61×61×275로 재구성하였다. CNN의 최적의 구조를 찾기 위해, 인자들은 검증 세트의 정확도에 기반하여 조정하였다. 모든 convolution layer는 kernel 크기를 3×3를 이용했으며, pooling을 진행하였다. 실행한 구조는 [0, 1] 범위의 값으로 출력 데이터를 분류 점수로 변환하기 위해 출력에 softmax 함수가 뒤따르는 ReLU 활성화 함수를 사용하였다. 결과의 분포에 대한 손실을 계산하기 위해 cross-entropy 함수를 손실 함수로 선택하였다. 학습 절차는 cross-entropy 함수의 최적화를 통해 수행되었다. 딥러닝 구조 작업을 위한 컴퓨터는 CPU- Intel Core i9-7900X processor (10 core 20 threads), RAM- 8×16GB DDR4 (total 128GB), GPU- 4× 8GB NVIDIA RTX 2070 (total 32GB), OS- Ubuntu 18.04 LTS를 사용하였다.

6) 초분광 근적외선 온라인 종자선별 시스템

근적외선 초분광 이미징 (NIR-HSI) 카메라 (Resonon PIKA-640, NIR, MT, USA)와 900-1700 nm의 파장 범위의 이미징 분광기(NIR-HSI, Headwall photonics, MA, USA)를 사용하여 초분광 근적외선 영상을 획득하였다. 광원은 텅스텐 할로젠 램프(LS-F100HS, 100 W) 두 개와 화이버 옵틱을 사용하여 구성하였다. 시료를 이송하는 컨베이어 장치는 길이 2 m, 폭 179 mm로 구성되었으며 DC 모터 컨트롤러를 이용하여 벨트 속도를 제어하였다(그림 15).

모델 개발을 위해서, 종자 스펙트럼은 종자의 양쪽 면에서 데이터를 수집하였고, 초분광 반사 이미지들의 상대 반사율은 다음 식을 사용해서 계산되었다.

$$X_{cal} = \frac{X_{raw} - X_{dark}}{X_{ref} - X_{dark}}$$

Xraw는 원본 HSI 이미지이고, Xdark는 카메라 렌즈를 덮어서 획득한 dark 레퍼런스이고, Xref는 99%가 넘는 반사율을 가진 Teflon 판을 사용해서 얻은 white 레퍼런스 이미지이고, Xcal은 노이즈를 제거한 보정된 이미지이다. 카메라 노출 시간은 스펙트럼 획득 동안 17 ms로 설정되었다.

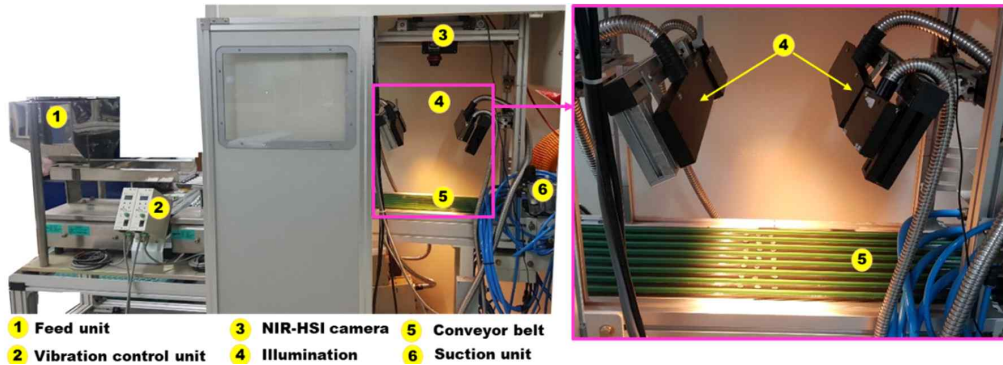


그림 15. Online NIR hyperspectral imaging system for visualization of seeds in relation with viability.

7) GUI 개발

GUI의 개발 목적은 온라인 데이터 처리, 이미지 캡처, 카메라 초점 조정을 통제하고, 전체 라인 공정을 편리하게 제어하는 것이다. GUI를 통해 Online으로 시스템을 제작하기 전, 베타 계수를 미리 구해 놓는 것이 중요하다. 개발된 GUI는 그림 16과 같다.

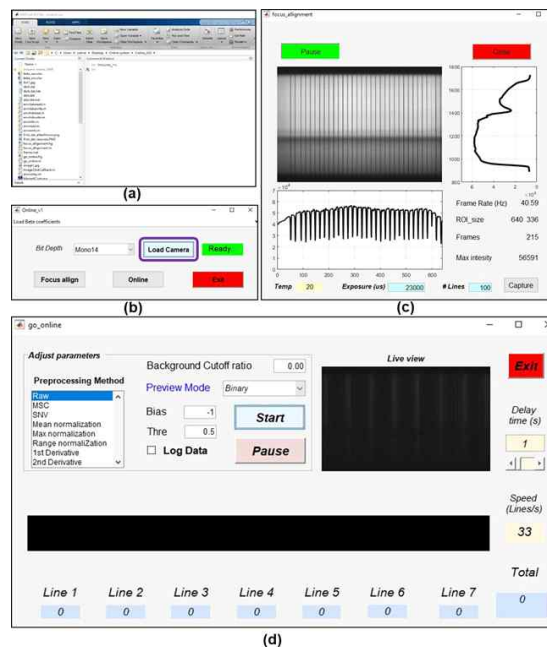


그림 16. Developed GUI. (a) Matlab window (b) initializing window (c) camera focusing & setting, and (d) online interface

○ 이미지 획득과 보정

모든 샘플들은 컨베이어 벨트위에 정렬된 후 HSI 이미지와 스펙트럼 획득을 위해 컨베이어 장치로 이송된다. 초분광 영상 측정의 보정을 위해, 흰색 Teflon 보드의 스펙트럼을 획득하였고 Savitzky-Golay 1st 미분 전처리 방법을 사용하였다. 그림 17(a)는 Spectrometer로 측정된 스펙트럼이며, 그림 17(b)는 초분광 영상 장치의 검출기에서 측정된 스펙트럼이다. 초분광장치의 픽셀과 스펙트럼 파장을 매칭을 그림 18과 같이 수행하였다.

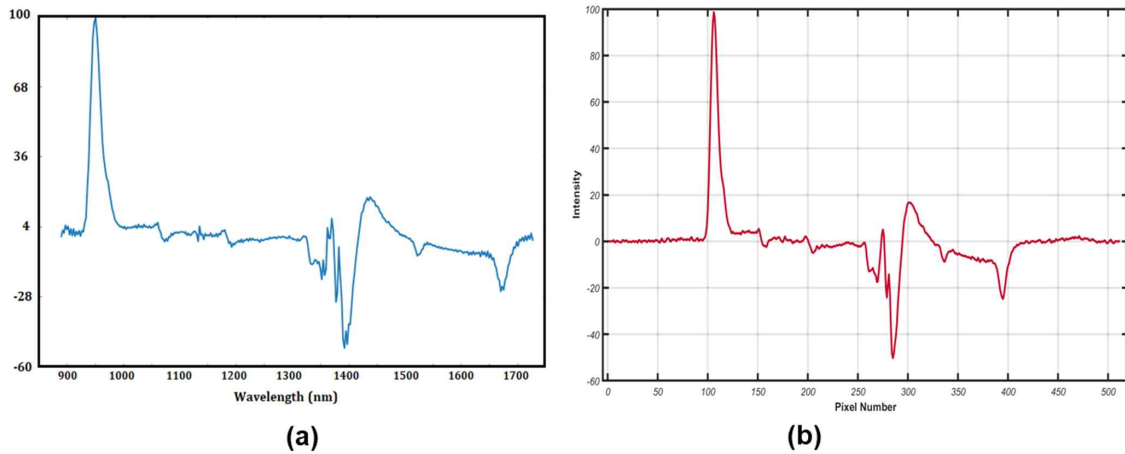


그림 17. (a) spectron result (b) Plot of intensity against pixel number.

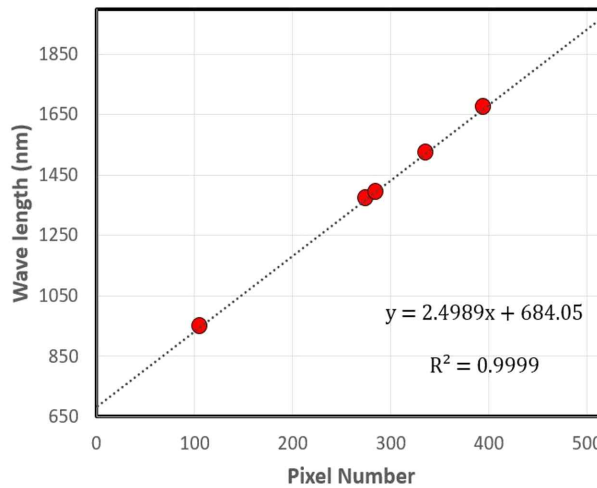


그림 18. Plot of Wavelength against pixel number

○ 공간보정

선별장치의 공간 보정의 목적은 온라인 선별 프로세스 동안 컨베이어 벨트에서 배출기 트리거의 위치를 결정하는 것이다. 공간 보정 결과는 다음과 같다.

- 7개의 컨베이어 valley 공간이 모두 보이도록, 카메라는 컨베이어로부터 55 cm 높이에 두었다.
- 컨베이어 벨트의 폭: 179 mm
- 컨베이어 벨트의 각각의 ridges 폭: 8.4 mm

- Valley 공간의 폭: 15.1 mm
- 검출기로부터의 총 공간 픽셀 : 640 pixels
- 공간 해상도: $\frac{179}{640} = 0.279687$ mm
- 각각의 Ridge와 valley 공간에 해당하는 픽셀의 계산

- Valley 공간의 픽셀 수 = $\frac{15.1}{\text{spatial resolution}}$

- Ridge의 픽셀 수 = $\frac{8.4}{\text{spatial resolution}}$

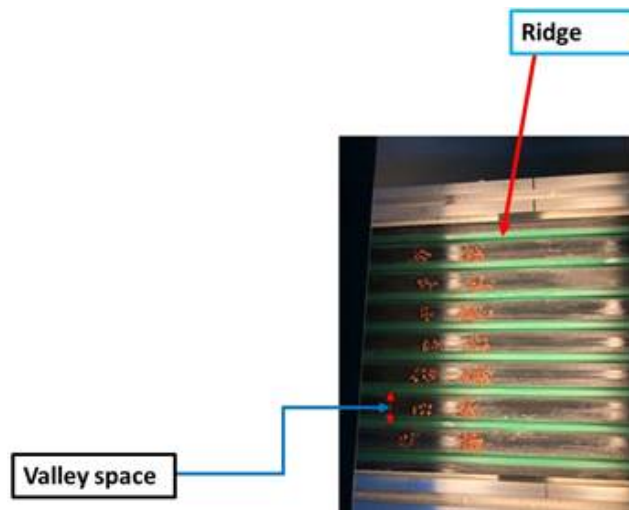


그림 19. Online system conveyor belt.

다. 발아 가능 종자 선별 시스템

1) 컨베이어 벨트

컨베이어 벨트는 드라이브 모터에 부착된 간단한 동작 컨트롤러 PLC에 의해 제어된다. 프로그램은 분당 회전수(RPM)로 필요한 모터 속도를 입력하도록 설계되었고, 범위는 0부터 10000이다. 컨베이어를 모터로 제어하기 위해서, 드라이브 모터의 각속도와 컨베이어 벨트의 선속도 사이의 관계를 확인하였다. 모터의 각속도에 따라 컨베이어 벨트가 1 m 거리를 움직이는 시간을 측정하였다. 각속도 값은 15, 25, 40, 120, 180 rpm으로 총 5개의 값을 사용하였다. 해당 컨베이어 선형 속도는 거리-시간 관계식으로부터 구하였다. 이후, 각속도에 대한 선형 속도의 그래프를 그려서, 둘 사이의 관계식을 구하였다.

$$V = 0.00154\omega - 0.00345$$

V = 선형 컨베이어 속도 (m/s), ω = 드라이브 모터의 각속도 (RPM)

2) 이송 유닛

선별 장치의 입력부분은 두 개의 스테이지로 구성된 진동 베드와 종자를 받는 공급 호퍼로 구성되어 있다. 첫 번째 스테이지는 표면이 평평하고, 전체 면을 진동함으로써 종자를 무작위로 섞으며 이동시킨다. 두 번째 스테이지는 컨베이어 벨트의 7개의 valley 공간에 맞게 7

줄의 흠이 있다. 스테이지의 진동 목적은 샘플들 간에 충분한 공간이 있도록 분리를 해주는 것과 진동 크기에 따라 종자를 컨베이어 벨트로 배출하는 속도를 결정하는 것이다. 스테이지의 진동 크기는 입력 전압과 진동수에 의존하는 진폭, 샘플의 공명 주파수에 따라 결정된다. 시스템은 다양한 전압(V)과 주파수(f)를 공급할 수 있는 디지털 주파수 제어장치가 있다. 컨베이어 벨트 작동 속도에 따라 최적의 진동 주파수와 전압 값을 선택하였다. 수박 종자에 대한 보정된 주파수는 56.5 Hz로 확인되었다.

3) 배출 시스템 보정

프로토타입 온라인 시스템을 위해 사용된 배출 시스템은 흡입 압력 배출기이다. 이것은 솔레노이드로 제어되는 압축 공기를 사용해서 제거가 필요한 샘플들을 흡입으로 배출한다. 배출 시스템 보정의 목적은 벨트와 배출기 노즐 사이의 최적 간격을 확보하고, 제거가 필요한 수박 종자를 들어 올릴 수 있는 작동 압력을 최적화하는 것이다. 배출기 노즐들은 카메라 시야의 중심선에서 약 330 mm 떨어진 곳에 연결되어있다. 이상적인 작동 진공 압력은 0.6 MPa 이었다. 컨베이어의 valley 공간으로부터의 배출기 노즐의 간격은 대략 7.8 mm이었다.

4) 데이터 처리와 다변량 분석

FT-NIR 분광기에서 직접 획득한 원본 스펙트럼은 다변량 분석을 위해 직접 사용되기 전, 빛 산란, 기기의 변화, 기울기 변화에 따른 기준선 이동으로 생성되는 노이즈를 제거를 위해 전처리를 적용하였다. 또한 노이즈와 분광 정보가 적은 파장 범위를 제거하였다. 이후, 부분 최소제곱 판별 분석(PLS-DA)를 적용하여 발아 예측 모델을 개발하였다. 부분 최소제곱 판별 분석(PLS-DA)의 다변량 분석 모델은 자연적으로 노화된 다양한 품종 수박 종자를 선별하기 위해 개발되었다. 전처리 방법 중 정규화(최대, 평균 그리고 범위), 평활화(Savitzsky-Golay 1st 및 2nd 미분), 다중 산란 보정(MSC) 그리고 표준 정규 변량(SNV)의 3가지 유형을 적용하였다. 본 연구에서, PLS-DA 모델의 구성을 위해 발아능력이 있거나 발아능력이 없는 종자의 스펙트럼 데이터는 행렬 X에 배열되고, Y 행렬은 아래 주어진 대로, 그룹을 표현하는 값을 설정하였다.

$$Y = \begin{cases} 0 = \text{sample belongs to non - viable group} \\ 1 = \text{sample belongs to viable group} \end{cases}$$

$$X = TP^T + E_x$$

$$Y = UQ^T + E_y$$

여기 P와 Q는 loading 행렬이고, T와 U는 score 행렬이다. E_x 와 E_y 는 각각 X와 Y의 잔차 행렬이다.

라. 발아테스트

모든 종자에 대해 이미지 획득이 끝난 이후, 국제 종자 시험 협회(ISTA) 표준 발아 테스트(ISTA, 1993)를 통해 종자 샘플의 발아능력을 확인하였다. 그림 21은 발아 과정을 보여준다. 종자를 발아지에 넣고 접은 다음, 접힌 종이는 14일간 25°C와 상대 습도 90%의

발아실에 두었다. 발아 시험을 통해 3가지 유형의 종자가 확인되었다. 1) 정상적으로 발아 가능한 종자: 어린 뿌리 형태는 곧고 크기는 5 mm 보다 크다. 2) 비정상적으로 발아된 종자: 어린 뿌리는 꼬이거나 5mm 보다 작다. 그리고 3) 발아불가능한 종자: 발아의 흔적이 없다(Fig 22). 본 연구에서 발아 테스트 결과들은 정상적으로 발아 가능한 종자 그리고 발아할 수 없거나 비정상적으로 발아 가능한 종자로 두 그룹으로 종자를 분류하였다.



그림 21. Germination test of the seed. (a) Germination chamber (exterior); (b) Germination chamber (interior); (c) Germination box

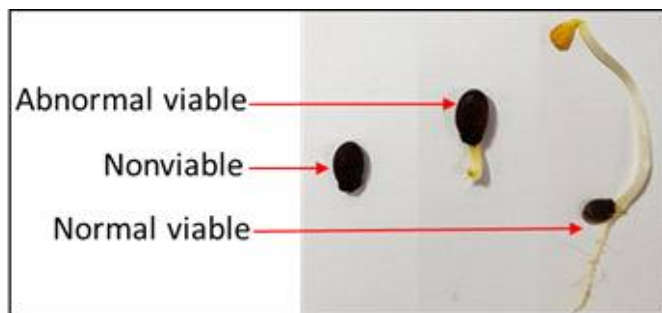


그림 22. Types of seed found in germination test.

3. 결과

가. X-ray CT 분석

1) 수박과 참외 종자

종자의 CT 이미지는 종자 피질 상태, 배아 형태 그리고 종자 내부의 공간을 기준으로 평가되었다. 67개의 수박종자들은 정상적으로 발아된 것으로 나타났고, 33개의 종자들은 발아 불가능하거나 비정상적으로 발아된 것으로 나타났다. 정상적으로 발아된 종자의 평균 종자 피질 두께는 수평면, 정중면, 정면에서 각각 2.97 mm², 4.03 mm², 6.05 mm² 이었다. 발아 불가능한/비정상적으로 발아된 종자들의 피질 두께는 비슷하였다(세 면에서 2.78 mm², 3.80 mm², 5.96 mm²). 종자 피질 두께에 대한 ANOVA 테스트에서 유의미한 차이가 검출되지 않았다(표 6).

종자 크기의 영향을 줄이기 위해, 각각의 매개변수와 전체 종자 영역의 비율, 종자 피질과 전체 영역의 비율, 종자의 배아 영역과 종자의 전체 영역의 비율 그리고 기실과 종자 전체 영역의 비율을 계산하여 분석에 사용하였다. Fig 23 (a), (b) 그리고 (c)은 정상적으로 발아한 종자, 발아할 수 없거나 비정상적으로 발아한 종자들의 분석결과를 나타낸 것이다. 정상적으로 발아한 종자의 배아비율이 다른 그룹과 비교해서 높은 특징이 있었다(Fig 23 (d),(e),(f)). 3 개의 다른 면에서, 발아 불가능하거나 비정상적으로 발아 한 종자들의 내부의 공간 비율이 큰 것으로 나타났다(그림 23 (g), (h), and (i)).

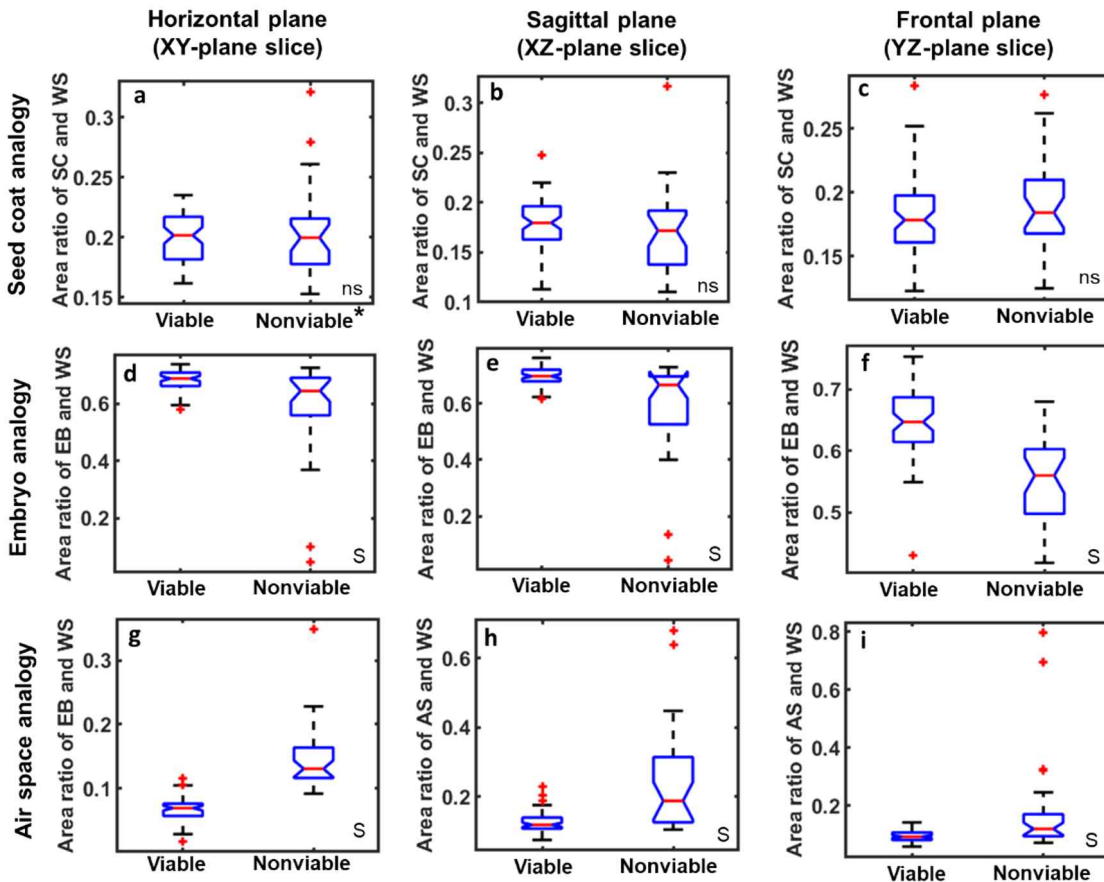


그림 23. Results of the assessment of the observed parameters of watermelon seeds in the normal viable and non-viable seed. (a), (b), and (c) seed coat assessments in three planes; (d), (e), and (f) embryo size assessments in three planes; and (g), (h), and (i) internal air space area assessments in three planes. *Nonviable seed included pure non-viable and abnormal viable seed. (ns): non-significant, (S): significant. SC: seed coat, WS: whole seed, EB: embryo, AS: air space.

표 6에 제시된 ANOVA 결과는 세 평면 모두에서 정상적으로 발아한 종자와 발아 불가능한 종자 및 비정상 발아 종자의 배아 및 내부 공간 영역에서 유의미한 차이가 있음을 보여준다. 수박 종자 형태에 대한 분석은 종자 피질 두께가 정상적으로 발아 가능한 종자와 발아 불가능한 종자 및 비정상 발아 종자들에 대해서 차이가 없었지만, 내부 기공의 비율은 발아 불가능한 종자 및 비정상적으로 발아한 종자들이 정상 발아종자에 비해 더 큰 값을 가진 것을 보여주었다.

표 6. The one-way ANOVA test result of the ratio values of each parameters and the whole seed area for the watermelon seeds in different CT image planes.

Plane	Parameter	Sum of squares	F value	Prob>F *
Horizontal plane (XY-plane slice)	SCTA	0.001	0.010	0.917 **
	ES	0.074	51.94	1.195e-10
	ASA	0.133	128.63	1.529e-19
Sagittal plane (XZ-plane slice)	SCTA	0.004	1.310	0.255 **
	ES	0.086	42.660	2.912e-09
	ASA	0.026	20.500	1.677e-05
Frontal plane (YZ-plane slice)	SCTA	0.006	0.350	0.556 **
	ES	0.229	58.430	1.444e-11
	ASA	0.095	112.530	5.817e-18

SCTA: Seed coat thickness area, ES: Embryo size, and ASA: Air space area. * At the 0.05 level ($P \leq 0.05$), the population means are not significantly different. ** non-significant.

수박 종자에 사용된 변수를 참외 종자 분석을 위해 사용하였다. 참외 종자 100개에 대한 발아 테스트 결과 31개의 종자는 발아 불가능한 종자 및 비정상적인 종자이며, 69개의 종자는 정상적으로 발아한 종자였다. 정상적으로 발아한 종자와 발아 불가능한 종자 및 비정상 발아 종자의 평균 종자 피질 두께 비율은 크게 다르지 않았다(Fig 6a, b and c). 표 7은 ANOVA 테스트 결과인데, 모든 평면에서 정상적으로 발아한 종자와 발아 불가능한 종자 및 비정상 발아 종자의 피질 두께 간에 유의미한 차이가 없다는 것을 보여준다. 다른 두 매개변수(배아와 내부 공기 공간 크기)에 대해서는 다른 결과가 확인되었다. 정상적으로 발아한 참외 종자들은 발아 불가능한 종자 및 비정상 발아 종자들에 비해 더 큰 배아 비율을 보였다. Fig 24의 d, e 그리고 f는 세 평면에서 정상적으로 발아한 종자들의 평균 배아 비율이 더 높다는 것을 보여준다. 또한 발아 불가능한 종자 및 비정상 발아 종자들은 모든 단면에서 더 큰 내부 공기 공간을 보였다(Fig 24g, h, and i). ANOVA 결과, 정상적으로 발아한 종자와 발아 불가능한 종자 및 비정상 발아 종자들 사이에 배아와 내부 공간 영역에서 유의한 차이를 보였다.

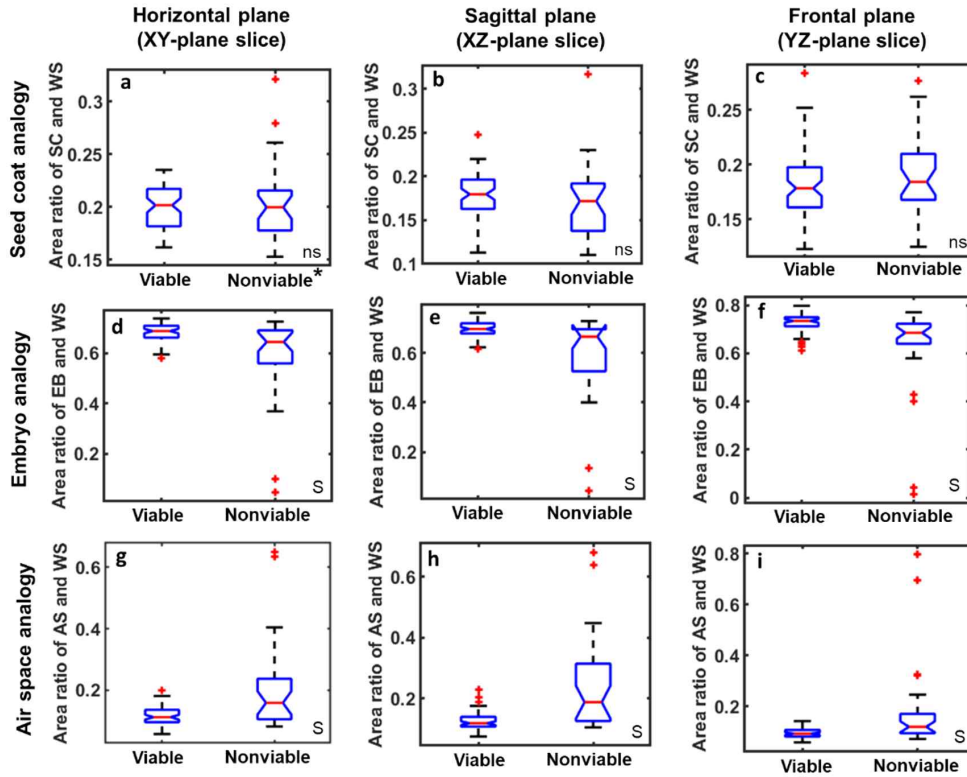


그림 24. Results of the assessment of the observed parameters of watermelon seeds in the normal viable and non-viable seed. (a), (b), and (c) seed coat assessments in three planes; (d), (e), and (f) embryo size assessments in three planes; and (g), (h), and (i) internal air space area assessments in three planes. *Nonviable seed included pure non-viable and abnormal viable seed. (ns): non-significant, (S): significant. SC: seed coat, WS: whole seed, EB: embryo, AS: air space.

표 7. The one-way ANOVA test result of the ratio values of each parameters and the whole seed area for the muskmelon seeds in different CT image planes.

Plane	Parameter	Sum of squares	F value	Prob>F *
Horizontal plane (XY-plane slice)	SCTA	0.005	0.790	0.376 **
	ES	0.185	20.690	1.576e-05
	ASA	0.165	23.230	5.388e-06
Sagittal plane (XZ-plane slice)	SCTA	0.001	1.38	0.243 **
	ES	0.234	25.76	1.889e-06
	ASA	0.269	36.22	3.213e-08
Frontal plane (YZ-plane slice)	SCTA	0.002	2.450	0.121 **
	ES	0.189	16.800	8.668e-05
	ASA	0.148	17.020	7.873e-05

SCTA: Seed coat thickness area, ES: Embryo size, and ASA: Air space area. * At the 0.05 level ($P \leq 0.05$), the population means are not significantly different. ** non-significant.

수박과 참외 종자의 CT 영상을 분석한 결과, 대부분의 경우 정상적으로 발아한 종자의 내부는 잘 형성된 배아로 채워졌고, 빈 공간 비율은 낮은 것으로 관찰되었다. 이러한 결론은 *Tabebuia heptaphylla* 종자에서도 유사하게 관찰되었다(Amaral et al., 2011). 그러나 배아 구조들이 변형되고 종자 내부에서 공기 공간 영역이 두드러진 경우 X선이 통과하는 것을 막는데 저항이 충분하지 않기 때문에 CT 영상에 어두운 영역을 생성하였다. 발아 불가능한 종자 및 비정상 발아 종자들에서 실질적으로 어두운 영역이 인지되었는데, 이는 배아와 공기구멍의 양이 정상적으로 발아한 종자들의 양과 다름을 의미한다. 수박과 참외의 발아 불가능한 종자 및 비정상 발아 종자 대부분이 작은 배아를 가졌고(그림 25d와 h), 일부 종자에서는 작은 균열이 관찰되었다(그림 25c와 h). 수박 종자에서는 내부가 빈 종자가 발견되지 않았으나, 참외 종자 샘플에서 배아가 없는 종자가 발견이 되었다(그림 25g).

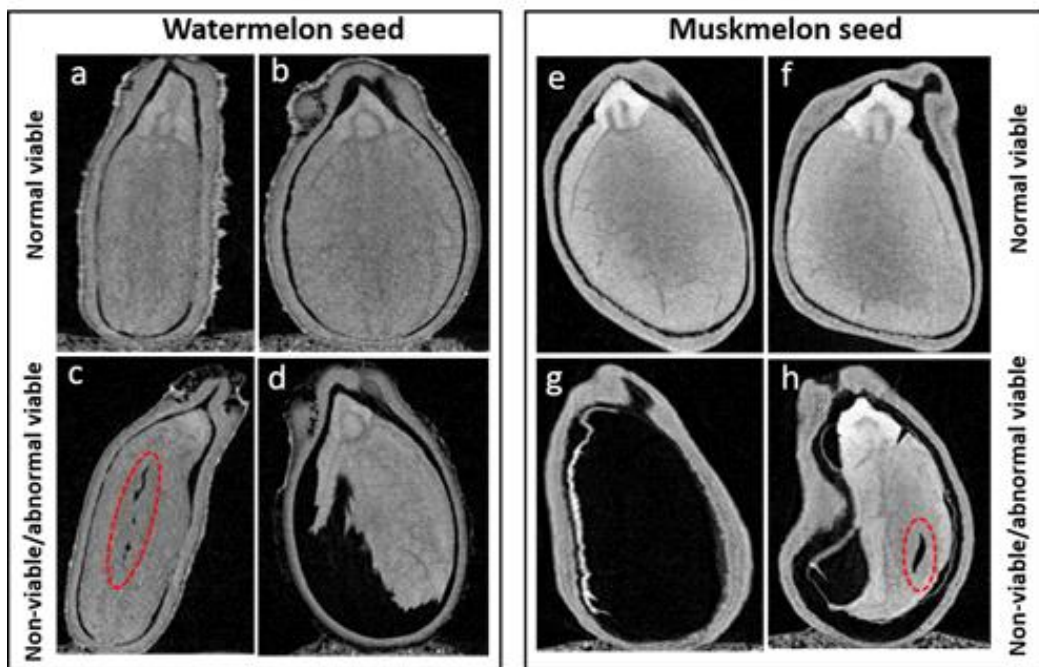


그림 25. Example of the morphological differences in the normal viable and non-viable/abnormal viable watermelon and muskmelon seeds. (a), (b) (normal viable watermelon seed) and (c), (f) (normal viable muskmelon seed) perfect embryo structure. (c), (h) fracture in the embryo (marked with the red circle). (d) abnormal embryo. (g) no embryo (empty seed).

형태학적으로 건강한 종자들은 정상적이고 건강한 묘목으로 성장할 확률이 높다. 현장 풍화(노화 후와 수확 전 기간 동안 높은 상대 습도 및 고온), 올바르게 않은 취급 방법으로 인한 수확 후 손상, 기계적인 손상 및 균류 감염과 같은 다양한 이유로 인해 종자의 형태학적 구조가 변경될 수 있다. 또한 종자의 저장 기간 동안, 자동 산화 과정은 종자 세포막의 유동성을 감소시켜 종자의 대사에 좋지 않은 영향을 미친다. 결과적으로 종자의 내부 단백질의 강성이 증가하여 단백질 세포의 취성도 증폭된다(Jyoti & Malik, 2013). 또한, 저장 시 종자의 수분 함량은 종자의 기능저하에 영향을 미칠 수 있다(Barton, 1961). 종자의 높은 수분량(14.5% 이상)은 호흡 속도를 가속화하고, 곤충 활동 증가, 균의 성장 그리고 열발생 문제와

같은 몇 가지 문제를 발생시킬 수 있으며, 때로는 저장 기간 동안 발아가 발생할 수 있다 (Milner et al., 1947; Harrington, 1972). 반대로, 종자 수분 함량이 4~6% 미만이면 배아의 수축이 발생하여 내부 기실이 확대된다(Jyoti & Malik, 2013). 이러한 문제들은 비정상적인 구조의 형성과 큰 내부 기실 생성을 포함해 배아의 균열로 이어진다. 때때로 종자 내부에 배아가 없어진다. 그림 26은 수박과 참외 종자의 발아시험 결과를 보여주며, 정상적으로 발아한 종자들은 기실이 작고 이상적인 크기와 모양의 배아를 가진다. 반대로 발아 불가능한 종자 및 비정상 발아 종자들은 부적합한 크기의 배아(수박)와 비어있고 불규칙한 크기와 모양(참외)의 배아를 가진다. 좋지 않은 배아의 구조 때문에, 내부 기실 크기는 정상적으로 발아가 가능한 종자보다 상대적으로 크다.

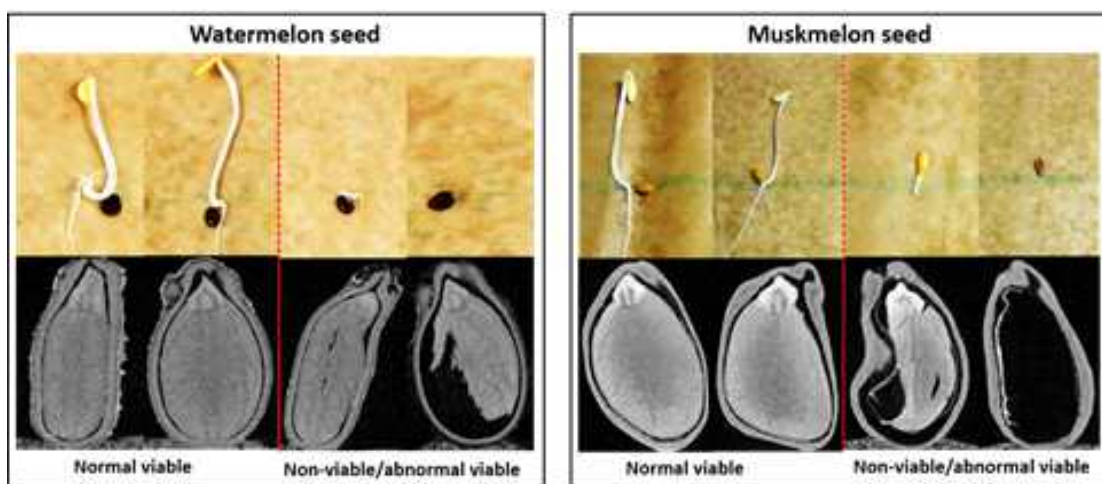


그림 26. Effect of the morphological quality of seed components on germination ability.

2) 참외 종자 분류

학습된 가설에서 너무 많은 특징을 사용하는 것은 훈련 세트에는 잘 맞을지는 있지만 검증 세트에서는 맞지 않는 경향이 있다. 이 문제를 해결하기 위해, 추출된 특징 수를 목적함수와 분류기의 결과에 따라 5520에서 18~24개로 줄였다. 최종적인 특징들은 분류기 성능 면에서 최고의 결과를 제공한 Fisher 분류 목적함수 방법을 사용해서 최적화하였다. LDA 분류기를 통해 총 18개의 선택된 특징들이 사용되었다(Fig 27a). QDA 분류기는 최고의 결과를 얻기 위해 24개의 특징을 사용하였다. 선택된 LDA 및 QDA 특징들은 표 8에 나와 있다.

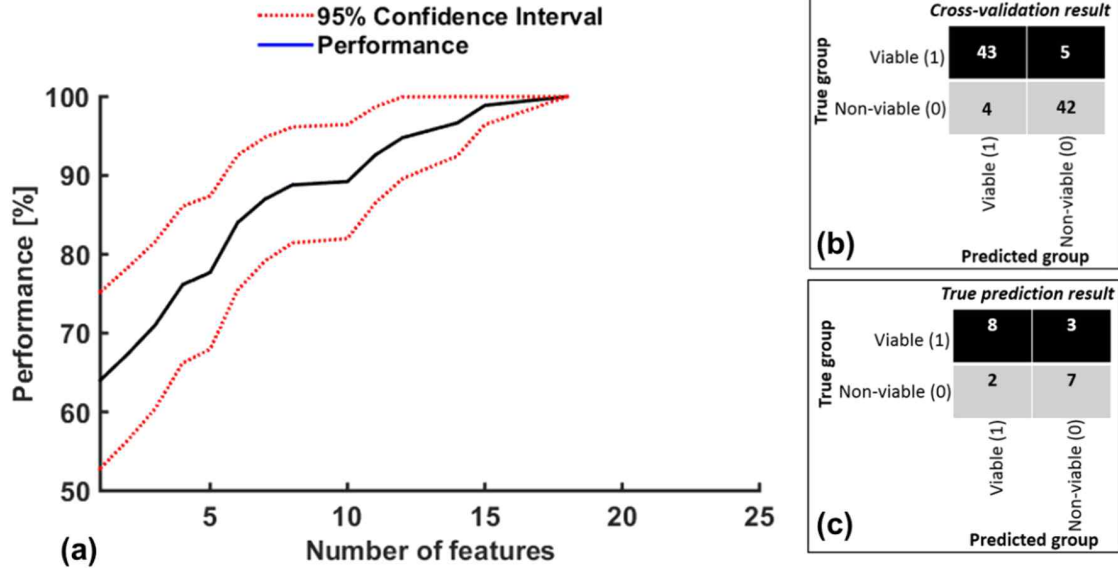


그림 27. (a) Linear discriminant analysis (LDA) classifier performance using cross-validation with 10-fold in relation to 18 selected features. Solid blue line represents the classification mean performance, dotted black line (---) represents 95% confidence intervals for the cross-validation classification pool. (b) Cross-validation confusion matrix and (c) True prediction confusion matrix.

표 8. Classifier selected features for the linear discriminant analysis (LDA) and quadratic discriminant analysis (QDA) classifier using sequential forward selection (SFS) in combination with the Fisher discriminant objective function (J(W)).

No.	Selected feature	No.	Selected feature
1	Fourier Ang (1,2)[rad][XY1-sd-B]	13	i-LBP(2,32)[8,u2][XY3-Max-B]
2	i-LBP(4,21)[8,u2][XY3-sd-B]	14	i-LBP(1,32)[8,u2][XZ -Max-A]
3	i-LBP(4,52)[8,u2][XZ -sd-C]	15	i-LBP(1,32)[8,u2][XZ -sd-B]
4	i-LBP(3,53)[8,u2][XY3-Max-A]	16	i-LBP(1,29)[8,u2][XY2-Max-C]
5	i-LBP(3,13)[8,u2][XY3-Max-B]	17	i-LBP(4,38)[8,u2][XY2-sd-C]
6	i-Gabor(4,7)[XY1-sd-A]	18	i-LBP(4,5)[8,u2][XY1-Max-A]
7	i-LBP(4,8)[8,u2][XZ -Max-B]	19	i-LBP(4,45)[8,u2][XY3-Max-C]
8	i-LBP(1,49)[8,u2][XY2-Max-B]	20	i-LBP(4,39)[8,u2][XY2-sd-C]
9	i-LBP(4,31)[8,u2][XY1-sd-A]	21	i-LBP(4,22)[8,u2][XZ -sd-C]
10	i-LBP(4,36)[8,u2][XY1-sd-A]	22	Fourier Ang (2,2)[rad][XZ -Max-B]
11	i-LBP(4,22)[8,u2][XZ -Max-C]	23	i-LBP(2,19)[8,u2][XY3-sd-B]
12	i-LBP(4,27)[8,u2][XY2-sd-C]	24	i-LBP(1,13)[8,u2][XY3-Max-B]

57 - LBP(d,h): local binary patterns. Where d is the number of compared pixels with h - neighboring pixels. I-Gabor (a,b): Gabor filters, where a is the frequency number, and b is the number of orientations. Fourier Ang (FFT) (u0,T0)-(Abs,Rad):Fourier-Based textural features, where u0 is the frequency number, and T0 is the period. Between brackets [] are the different CT images used to extract features.

QDA의 알고리즘은 LDA에 비해 더 복잡하기 때문에 QDA 분류기는 데이터를 분석하는데 더 많은 시간이 소요된다. 그러나 LDA는 비지도 학습 방법보다 정확도가 높은 주성분 분석(PCA)과 같이 두 가지 데이터 클래스를 분류하는데 적합한 지도 학습 방법을 사용한다(Bro & Smilde, 2014). 종자의 능력을 기반으로 두 개의 지도 그룹이 생성되었고, 두 가지 유형의 종자에서 추출된 특징이 LDA에 대한 훈련 세트에 사용되었다. 본 연구에서 LDA는 좋은 결과를 얻기 위해 더 적은 수의 특징들을 사용할 수 있다. 따라서 LDA 분류기는 두 접근법 중 더 나은 것으로 평가된다. 모든 분류기의 전반적인 성능은 표 9와 같다.

표 9. Classifier performance using the 24 selected features with a 10-fold cross-validation

Region of interest (ROI)	Classifier	2-classes performance (%)		
		Mean	UCI a	LCI b
Whole seed	LDA	91.5	94.4	88.5
	QDA	89.2	93.8	84.6
	KNN (K=5)	69.4	81.6	57.2

a upper confidence interval, b Lower confidence interval

종자의 형태학적 구조는 발아 과정에서 중요한 영향을 미친다. 그림 28(a)는 자엽이 건강하고 정상적인 형태를 가진 구조를 보여준다. 대조적으로, 그림 28(b)은 발아 불가능한 것으로 여겨지는 종자의 형태학적 구조와 관련된 불완전한 형태를 보여준다.

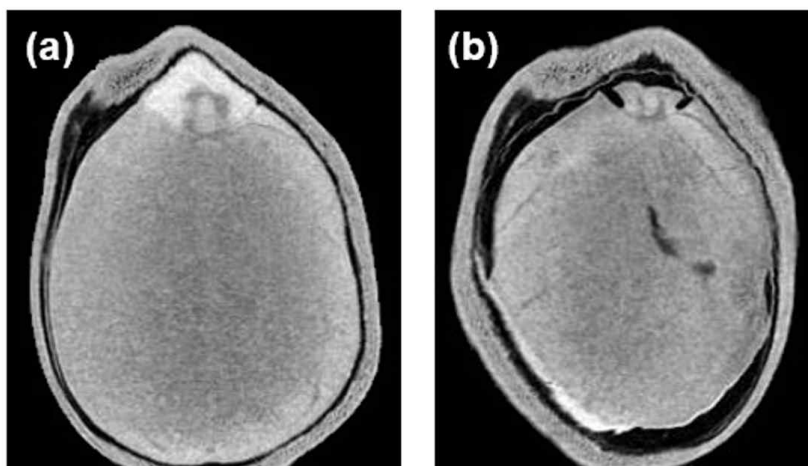


그림 28. Morphological structure of a viable seed (a) and a non-viable seed (b).

종자의 형태학적 구조는 기계적인 손상, 균류 및 산화와 같은 여러가지 이유로 인해 바뀔 수 있다. 산화가 발생할 때, 종자의 세포막의 유동성은 감소한다. 그 결과, 내부의 단백질은 탄력성을 잃어 취성이 증가된다. 이것은 불규칙한 자엽의 형태로 이어진다. 종자의 수분 함량이 4~6% 미만이면, 수축으로 인해 배젖(자엽)의 면적이 감소하고 내부 기실 면적이 증가한다(Jyoti & Malik, 2013). 이것은 배젖의 불규칙한 형태를 초래하며 때때로 종자는 배젖(빈 종자)이 사라진다. 그림 29는 특히 형태학적 구조의 손상과 관련하여 종자의 발아 불가능성의 원인을 보여준다.

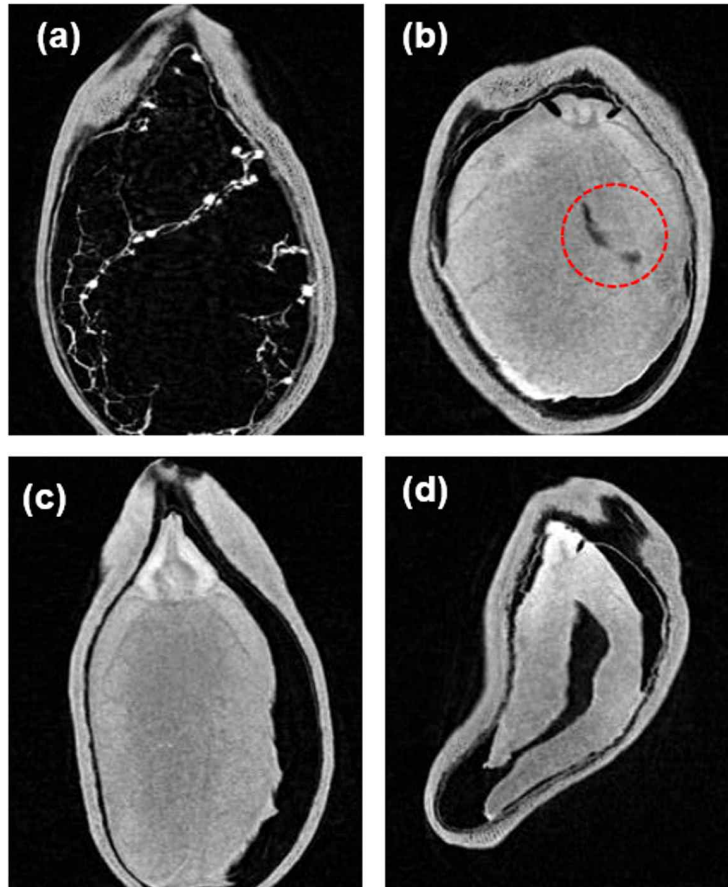


그림 29. Different morphological structural damage for non-viability of seed. (a) no cotyledons (empty seed), (b) crack in the cotyledons (marked with the red circle), (c) large amount of internal cavity (air space), (d) irregular shape of the cotyledons.

픽셀값과 그 주위값들과의 상호작용은 조직의 특징에 대한 정보를 나타낸다. 이러한 특징은 내부 조건에 따라 CT 영상에서 종자의 국소 구조와 조직적 차이를 쉽게 분석할 수 있다. 특징 선택 방법에서는 87.5%의 특징이 발아 가능한 종자와 발아 불가능한 종자 사이의 강도 차이를 주로 강조하는 국부이진패턴(i-LBP)과 관련성이 있는 것을 나타냈다. i-LBP 기술은 흑백 이미지를 LBP 이미지로 변환하고 조직을 분석하는데, 그림 30에 제시된 i-LBP 이미지의 히스토그램에서 발아 불가능한 종자와 비교하여 발아 가능한 종자의 강도에 유의미한 차이가 있음이 나타났다. 이미지 특징을 추출하는데 사용되는 필터링된 이미지를 생성하기 위해 Gabor 필터가 적용되었다. Gabor 기능은 이미지의 조직 표현 및 식별에 잠재적으로 활용될 수 있다.

위에서 언급한 세 가지 유형의 특징을 사용하면, 정상적이고 건강한 종자가 형태학적으로 비정상적인 종자로부터 분리될 수 있다. 그러나 실제 예측 혼동 행렬에서의 결과는 실제 예측한 것보다 더 낮았다. CT 이미지들은 종자의 형태학적 조건을 평가하는데 잠재적으로 유용하다. 그러므로 만약 종자의 배젓이 이상적인 크기와 모양을 가지고 있지만 발아가 화학적 원인 때문이라면 모델의 예측 결과는 제한적일 수밖에 없다. 비발아의 원인이 다양하므로 특정 비파괴 기술로 매우 높은 정확도를 발아여부를 판별하는 것은 쉽지 않은 문제이다.

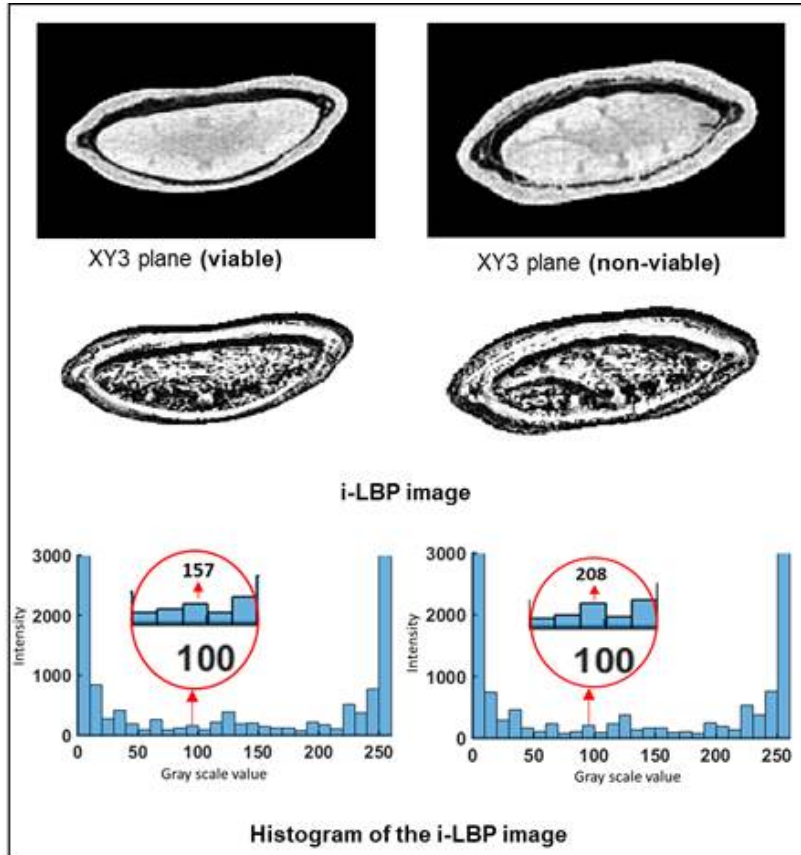


그림 30. The textural difference of a viable and non-viable seed (highlighted with the red circle) in the i-LBP image. In the grayscale value of 100, the intensity was found 157 and 208 for normal viable seed and abnormal & nonviable seed respectively for the used example samples. This intensity difference was effective to distinguish the 2 classes of these seeds.

3) 고추종자 분류

선택된 CT 이미지들의 GLCM으로부터 추출된 모든 특징들은 두 그룹으로 분류기를 학습시키기 위해 사용되었다(class-1: 정상적으로 발아한 것; class-2: 발아 불가능한 & 비정상 발아종자). PLS-DA, SVM 및 KNN 분류기는 최고의 분류 결과를 도출하기 위해 적용되었다. 교차 검증을 적용했을 때 15개의 잠재변수를 사용하는 SVM 또는 KNN 분류기보다 PLS-DA가 88.7%의 정확도로 가장 우수하였다. 모든 분류기 성능은 표 10에 제시되어 있다.

표 10. Classifier performance using GLCM features with 5-fold cross-validation.

Region of interest (ROI)	Classifier	2-classes performance results (%)
Whole seed	PLS-DA [a]	88.7
	SVM [b]	81.4
	KNN (K=5)	64.8

[a]PLS-DA = Partial least squares-discriminant analysis, [b]SVM = Support vector machine, [c]KNN= K-nearest neighbors.

그림 31(a)는 발아한 종자와 비정상 발아 종자(비발아 종자 포함)의 분류 결과를 보여준다. 발아한 종자와 비정상 발아 종자 사이의 다른 특징들을 그림 31b의 베타 계수에서 확인할 수 있다. 결과를 해석하고 중요한 특징 정보를 찾기 위해서, PLS-DA의 베타 계수는 유용하다. 이 경우에, 베타 계수는 이미지 질감, 강도 그리고 대비에 기반을 둔 발아 가능한 종자와 비정상 발아 종자사이의 특징 값 차이를 나타낸다. 베타 계수로부터 검출된 가장 중요한 특징들의 정보는 표 11에 나타내었다.

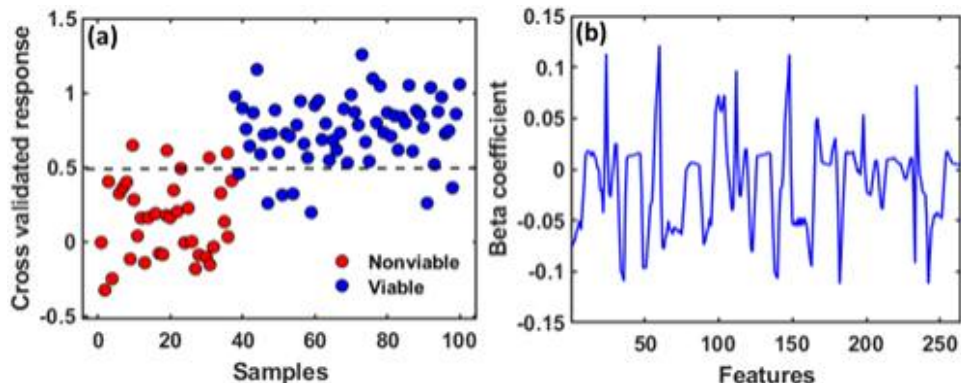


그림 31. (a) Classification result of the 5-fold cross-validation at 0.5 threshold value. ‘Nonviable’ class contained both nonviable and abnormal viable seed. (b) Beta coefficient derived from the PLS-DA model shows the important features to discriminate viable and non&abnormal viable seed.

표 11. Important feature names, numbers, and corresponding angle (θ) obtained from beta coefficient for the classification of viable and nonviable & abnormal viable seed.

CT image planes	Feature names	Feature number	Displacement vector (d) = 1 Corresponding angle (θ)
Transaxial	Dissimilarity	24	135°
	Homogeneity	36	135°
	Sum variance	50	45°
	Difference variance	60	135°
Sagittal	Cluster prominence	104	135°
	Homogeneity	123	90°
	Sum variance	140	135°
	Difference variance	148	135°
Coronal	Contrast	182	45°
	Dissimilarity	198	45°
	Difference variance	233, 234	0°, 45°
	IMC a[1]	242	45°

a Information measure of correlation

GLCM에서 선택된 특징들은 영상의 비대칭도 및 균일성을 측정하는 방법이다. 정상적으로 발아 가능한 종자와 비정상 발아 종자의 형태학적 구조는 추출된 특징 값에 영향을 미친다.

종자 내부에서 가장 낮은 강도 부분(어두운 색)으로써 묘사된 기실은 발아 불가능한 종자와 비정상 발아 종자에서 크기, 모양, 위치가 불규칙하였다. 대조적으로, 정상적으로 발아한 종자 내부의 고강도 부분(회색)은 발아에 중요한 배젖의 모양이 충실하고 대칭적이었다. 발비정상 발아 종자와 정상적으로 발아 가능한 종자를 구별하기 위한 형태적인 특징들이 GLCM 알고리즘으로 계산되었다.

배젖은 종자 발아과정 동안 물리적인 장벽 역할을 함으로써 배아 성장을 조절하고, 배아를 보호하며 영양분을 공급하여 배아 성장을 지원하는데 중요한 역할을 한다(Yan et al., 2014). 그러므로 배젖의 상태는 종자 품질을 평가하는데 중요하다. Fig 32로부터 발아 불가능하고 비정상적인 종자와 정상적인 종자의 CT 이미지를 관찰한 결과 발아 불가능하고 비정상적인 종자가 더 높은 비율의 기실을 포함하고 있다는 것을 확인할 수 있고, 그 위치가 불규칙적인 형태를 보인다(Fig 32a, b). 배젖의 좋지 못한 구조 때문에, 종자의 배아는 발아과정에서 필요한 영양분을 받을 수 없고, 종자의 발아 실패로 이어졌다. 대조적으로, 정상적으로 발아 가능한 종자는 배젖의 적절한 크기와 모양으로 촘촘한 내부 구조를 가졌다. 공기구멍 비율은 낮았고, 위치가 종자 껍질 벽 근처에 집중되어 있어 자연스러운 구조를 형성하였다(그림 32c, d). 배아가 성장하는 동안 배젖으로부터 충분한 음식이 공급되었고, 종자들에서 정상적인 뿌리와 새싹 길이를 확인할 수 있었다.

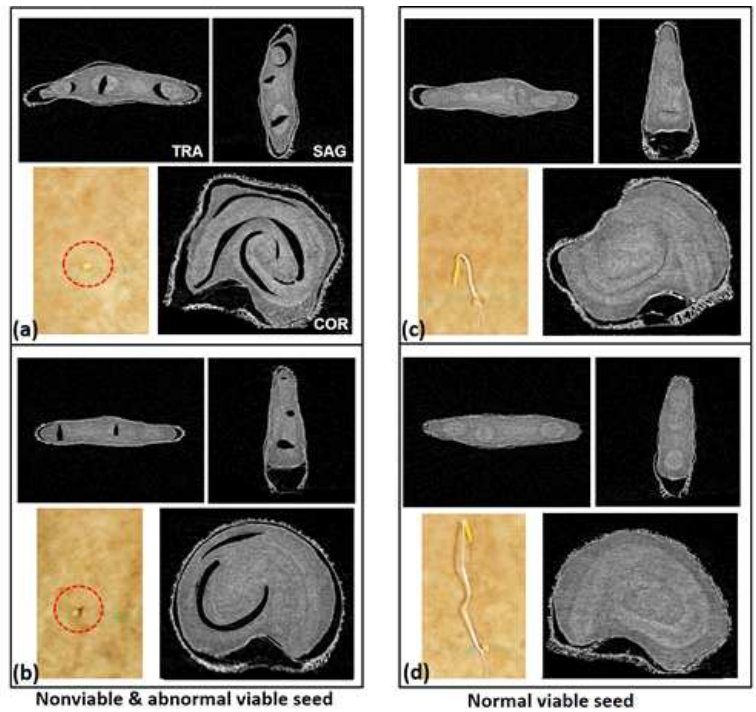


그림 32. Internal structure difference in nonviable & abnormal viable seed and normal viable seed. TRA= Transaxial plane image, SAG= Sagittal plane image, and COR= Coronal plane image. (a) and (b) nonviable & abnormal viable seed endosperms contain irregular air cavity where (c) and (d) normal viable seed endosperms are in a compact shape. Nonviable & abnormal viable seed produced unsuccessful germination (marked with a red circle) and normal viable seed produced healthy seedlings.

정상적이고 건강한 묘목을 생산하기 위해서, 종자 내부의 구성요소들은 좋은 상태여야 한다. 기계 손상, 균류 그리고 산화와 같은 몇몇의 이유들은 종자의 내부 형태구조를 바꾸는 원인이 된다. 연구에 사용된 샘플들은 5년 동안 저장고에 저장되었고, 이 기간 동안 산화 과정이 계속되며 종자 신진대사에 영향을 미쳤다. 시간이 지나며 종자 세포막의 유동성이 줄었고, 그 결과 배젖의 단백질 탄력성이 더 약화되고, 세포 간질의 취성이 증가하였다(Jyoti & Malik, 2013). 이 과정은 배젖에 비정상적인 구조와 기실 크기 증가를 유도해 배젖의 분해를 유발할 수 있다. 때때로 배젖이 없는 종자가 검출되기도 한다. 참외 종자의 경우는 배젖 영역 내에 빈 공간이 없기 때문에 영상의 강도 차이만으로 발아 종자를 잘 분류할 수 있다. 대조적으로, 발아 불가능한 & 비정상적인 고추 종자는 배젖 내에 빈 공간을 포함한다. 그러므로 종자 발아선별에서 내부 형태의 강도와 균일성을 모두 고려하여야 한다.

나. X-ray 2D 영상 분석

1) 기존 방식의 특징 추출 및 분류

이미지 품질 향상을 위해 원본 이미지로부터, 총 3종류의 강화된 이미지가 만들어졌다. 각각의 이미지로부터, 348개의 특징들이 추출되었다. 그러므로 각 샘플에서 얻어진 특징은 모두 1044개이다. 샘플 수에 비해 특징변수들이 많으면 오버피팅 문제가 발생할 수 있다. 이 문제를 다루기 위해, 순차 전진 선택 (SFS) 방법을 통해 중요한 변수 위주로 모델 개발에 사용되는 변수의 수를 감소하기 위한 작업을 수행하였다. 최종적으로 LDA와 QDA 분류기를 사용했을 때, 10겹 교차 검증 시 정확도가 각각 83.6%와 80.8%이었다. 테스트된 분류기의 전반적인 성능은 표 12와 같다. LDA와 QDA 분류기에 사용된 특징 수는 각각 48개와 51개이다. 그림 33은 특징 수와 LDA 분류기의 성능의 상관관계를 보여준다. 표 13은 LDA 분류기에 사용된 특징들의 정보를 나타내었다.

표 12. Classifier performance using the maximum 48 selected features with a 10-fold cross-validation.

Region of interest (ROI)	Classifier	2-classes performance (%)		
		Mean	UCI a	LCI b
Whole seed	LDA	83.65	86.13	81.17
	QDA	80.79	84.36	77.23
	KNN (K=5)	63.7	72.56	54.85

a Upper confidence interval; b Lower confidence interval

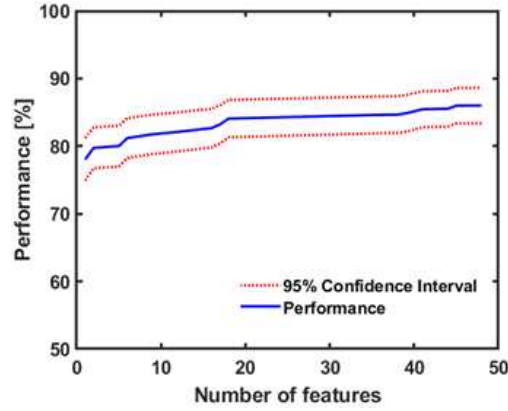


그림 33. Linear discriminant analysis (LDA) classifier calibration performance using cross-validation with 10-fold in relation to 48 selected features. Solid blue line represents the classification mean performance, dotted red line represent 95% confidence intervals for the cross-validation classification pool.

표 13. Classifier selected features for the linear discriminant analysis (LDA) classifier using sequential forward selection (SFS) in combination with the Fisher discriminant objective function.

Number	Features name	Number	Features names
1	i-Gabor(1,1)[Max-A]	25	i-LBP(2,2)[8,u2][sd-C]
2	i-LBP(3,34)[8,u2][sd-C]	26	i-LBP(2,26)[8,u2][sd-A]
3	i-LBP(2,53)[8,u2][sd-B]	27	i-LBP(2,29)[8,u2][Max-B]
4	Fourier Ang (2,1)[rad][Max-C]	28	i-LBP(1,36)[8,u2][sd-C]
5	i-LBP(3,44)[8,u2][sd-A]	29	i-LBP(4,42)[8,u2][sd-A]
6	Fourier Abs (1,1)[Max-C]	30	i-LBP(3,51)[8,u2][sd-C]
7	i-Gabor-J[sd-A]	31	i-LBP(2,6)[8,u2][sd-A]
8	i-LBP(3,27)[8,u2][sd-A]	32	i-Intensity Skewness[Max-C]
9	i-LBP(3,58)[8,u2][Max-A]	33	i-LBP(3,2)[8,u2][sd-C]
10	i-LBP(1,10)[8,u2][Max-C]	34	i-LBP(3,41)[8,u2][Max-C]
11	i-LBP(4,57)[8,u2][sd-C]	35	i-LBP(1,57)[8,u2][Max-A]
12	i-LBP(3,56)[8,u2][Max-C]	36	i-LBP(1,5)[8,u2][Max-A]
13	i-LBP(1,52)[8,u2][sd-C]	37	i-LBP(1,30)[8,u2][sd-B]
14	i-LBP(1,38)[8,u2][sd-A]	38	i-LBP(1,51)[8,u2][Max-A]
15	i-LBP(1,46)[8,u2][sd-C]	39	i-LBP(2,57)[8,u2][Max-B]
16	i-LBP(3,12)[8,u2][sd-C]	40	Fourier Ang (2,2)[rad][Max-C]
17	i-LBP(3,2)[8,u2][Max-A]	41	i-LBP(3,15)[8,u2][Max-A]
18	i-LBP(2,30)[8,u2][sd-A]	42	i-LBP(1,37)[8,u2][sd-A]
19	i-LBP(2,46)[8,u2][sd-A]	43	i-LBP(1,50)[8,u2][sd-B]
20	i-LBP(4,13)[8,u2][sd-B]	44	i-LBP(4,21)[8,u2][sd-C]
21	i-LBP(2,20)[8,u2][sd-B]	45	i-LBP(2,35)[8,u2][sd-A]
22	i-LBP(2,20)[8,u2][sd-A]	46	i-LBP(1,8)[8,u2][Max-C]
23	i-LBP(2,48)[8,u2][sd-C]	47	i-LBP(3,34)[8,u2][sd-B]
24	i-LBP(1,29)[8,u2][sd-B]	48	i-LBP(3,7)[8,u2][sd-B]

i-LBP(d,h): local binary patterns. Where d is the number of compared pixels with h - neighboring pixels. i-Gabor (a,b): Gabor filters, where a is the frequency number, and b is the number of orientations. Fourier Ang (FFT) (u0,T0)-(Abs,Rad): Fourier-Based textural features, where u0 is the frequency number, and T0 is the period. Between brackets [] are the different quality enhanced images used for extracting features.

개발된 모델에서 다양한 유형의 특징들이 기여하는 정도는 (1) LBP 특징: 87.5%; (2) Gabor 특징: 4.2%; (3) 푸리에 Ang (FFT) 특징: 6.2%; 그리고 (4) 영상 강도 특징: 2.1%이다. 최대 정규화(set_A), 강도와 대조 강화를 위한 표준 편차 스케일링(set_B), 소음 감소를 위한 중간값 필터(set_C)에서의 모델 기여도는 39.6%의 특징들이 set_A, 20.8%의 특징들이 set_B, 39.6%의 특징들이 set_C로부터 기여된 것으로 나타났다.

2) 딥러닝 전이 학습

본 연구에서는 두 유형의 사전 학습된 네트워크가 사용되었다. (1) 간단한 합성 곱 신경망 아키텍처와 (2) ResNet50 네트워크를 사용하여 총 1282개 (641개의 발아 가능한 종자, 641개의 발아 불가능하거나 비정상 발아 종자)의 이미지에 대해 6개 유형의 증강을 한 후 학습하고 검증하였다. 교차검증과 테스트는 전체 데이터 세트의 각각 15%(총 30%)를 이용하여 실시되었다. 검증과 테스트 정확도 면에서, Res Net50이 간단한 ConvNets 보다 높은 정확도를 보였다. 사전 학습된 아키텍처의 성능은 표 14에 정리하였다.

표 14. Classification performance of simple ConvNets and ResNet50 architectures for seed quality inspection based on morphology. The validation accuracy was obtained by using 10-fold cross-validation.

Network 아키텍처	Classification accuracy	
	Validation accuracy	Test accuracy
Simple ConvNets	88.7%	84.5%
ResNet50	91.5%	86.3%

그림 34는 테스트 그룹으로부터 예측 결과를 보여주고, 결과를 시각화하기 위해 16개의 샘플들을 무작위로 선택하여 분류를 하였는데 3개의 종자들이 잘못 분류 되었다. 잘못 분류된 종자의 형태는 기형적인 형태의 종자였다. 휴면 종자, 딱딱한 종자 그리고 화학적으로 변성된 종자들은 발아가 되지 않았지만 형태적 변형은 미미하였고 오분류의 원인이 된다. X-ray 영상은 종자 비발아의 원인이 되는 비물리적인 손상 보다는, 형태적 비발아 조건을 분석하기에 더 적합하다 할 수 있다. 내부가 깨지거나 갈라진 종자들, 배젖의 불규칙적인 형태, 내부가 비었거나 부분적으로 채워진 종자들을 포함해서 외부적 또는 내부적으로 종자가 물리적으로 손상된 종자 선별에 2D X-ray 영상의 활용도가 높다고 사료된다.

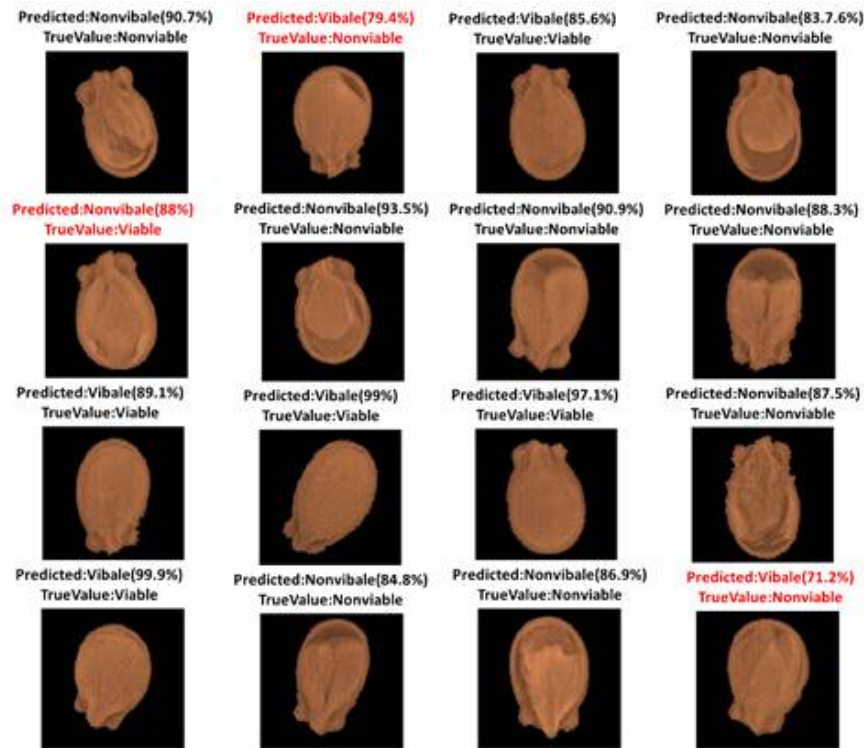


그림 34. Randomly selected prediction class of the samples using ResNet50. Texts are in red color represent misclassified seed.

참외 종자와 관련해서, 기존 방식의 특징 추출과 분류는 CT 이미지가 사용 된 참외 종자의 18개의 특징들 (LDA 분류기)을 사용해서 높은 정확도 (91.5%)를 보였다. 동일한 방법으로 수박 종자에 대해 2D X-ray 투사 영상을 사용했을 정확도는 83.6%로 다소 낮게 나타났다. CT 영상분석은 2D 투사영상 보다 높은 해상도를 가지므로 더 선명한 이미지를 만들고, 3개의 방향에서 종합적으로 분석이 가능하여 중요한 특징들을 더 잘 발굴할 수 있어 더 좋은 성능을 보이는 것으로 판단된다.

본 연구에서, 기존의 분류기인 LDA는 딥러닝 네트워크의 분류보다 낮은 정확도를 보였다. 전이 학습 과정에서, ResNet50은 구조가 간단한 ConvNets의 정확도(84.5%) 보다 더 높은 정확도(86.3%)를 보였다. ResNet50은 15개의 레이어를 사용하는 비교적 간단한 ConvNet 보다 복잡한 177개의 레이어 구조를 가지므로 더 높은 정확도의 성능을 보여주었다. ConvNets는 더 적은 수의 레이어를 사용하므로, ResNet50보다 더 짧은 학습 시간을 요구하는 장점이 있다. Hasan et al., (2016)는 ConvNets의 성능이 클래스의 수에 의해 영향 받는다고 보고하였다. 적은 수의 클래스는 ConvNets의 성능을 향상시킬 수 있다. 이 연구에서 오로지 두 클래스(발아 가능하거나 발아 불가능)만 식별될 수 있도록 고려되었는데, 이러한 분류조건이 ConvNets에 적합했고 좋은 성능을 보였다.

온도, 수분, 저장 시간, 종자 전염 균류 등의 요소들이 수확 전후 기간 동안 종자 품질에 영향을 미친다(Zhu et al., 2013; Shelar et al., 2008; Begum et al., 2013). 취급 불량으로 종자 껍질이 파괴되어 세균 감염이 일어날 수 있고, 높은 온도에 의한 자엽 수분 함량 감소, 형태 변형 및 종자 내부 기실 증가가 발생할 수 있다. 지질의 자연적인 산화와 내부 단백질의 탄성 손실 및 세포막 유동성 감소는 종자의 저장기간 동안 발생하는 퇴화과정이며 이러한 현

상으로 종자의 내부 형태에 변화가 발생한다.

종자의 내부 변화 정도는 종자 품종에 따라 다르게 나타난다. 본 연구에서 사용된 3개의 수박종자 품종 중 2개의 품종(이형림과 삼배체)은 정상적으로 발아 가능한 종자와 비정상 발아 종자의 형태적 패턴에서 많은 변형이 발생하였다(그림 35a, b, c, d). 대조적으로, 최강꿀 품종은 정상적으로 발아한 종자와 비정상 발아 종자 간의 내부 구조 차이는 거의 없었다(그림 35e, f). 부적절한 환경 조건과 장기 보관 때문에 종자 내부에서 화학적인 변화가 발생하지만 내부 형태적 구조에 미치는 영향이 작아 내부 구조의 패턴으로 발아여부를 예측하기 어려운 경우에 해당되는 경우로 사료된다.

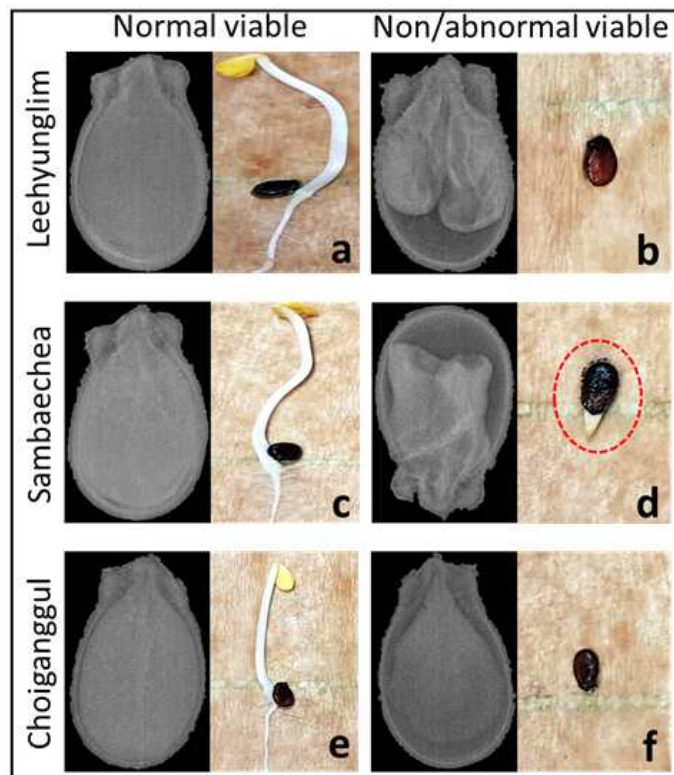


그림 35. Morphological difference in normal viable and nonviable and abnormal viable seed in 3 watermelon seed varieties. Seeds contained good shaped internal structure were produced healthy seedlings from all varieties showed in (a), (c), and (e). Poor internal structure seeds were failed to germinate (b), (f) or produce abnormal seedlings (d) (no proper root and shoot, mark with the red dotted circle).

X-ray 영상은 형태적 손상을 평가할 수 있는 잠재력을 가지고 있으나 화학적 분해, 유전적인 영향, 비활성 상태, 종자 강성화 등의 측정에는 제한적으로 활용된다. 따라서 종자 내부 결함은 보이지 않은 상태에서 비발아 종자를 검출하기는 어렵다. X-ray 투사 2D 영상은 CT 영상과 비교해서 이미지를 획득하는 속도가 매우 빠르다. 또한 X-ray 영상의 노출 시간은 CT 영상의 노출 시간보다 더 짧아 종자 샘플이 X선 방출에 덜 노출된다는 장점이 있다. 현재 연구에서 개발된 X-ray 영상을 이용하여 발아여부를 예측하는 알고리즘은 오프라인 시스템에 활용될 수 있는 수준이지만, 향후 온라인 X-ray 기계를 이용하는 온라인 비침습적 종자 발아여부 분류에 충분히 활용 가능하리라 사료된다.

다. FT-NIR 및 NIR 초분광 영상 분석

1) FT-NIR 분광분석

① 수박 종자

FT-NIR 분광 분석을 이용하여 수박 종자 발아 테스트에 총 1000개의 종자가 사용되었다. 편향된 결과를 방지하기 위해 자연적으로 퇴화되어 발아가 불가능한 종자(270개)와 발아 가능한 종자의 수를 동일하게 맞추었다(총 540개). Savitzsky- Golay 2차 미분함수를 이용한 전처리 과정을 거쳐서 PLS-DA 모델을 개발하였다. PLS-DA 모델의 파장별 가중치를 나타낸 베타 계수에서 발아여부의 판별은 수박종자 내의 단백질, 전분과 지질 성분의 차이 때문임을 확인할 수 있었다.

표 15. Classification accuracy of PLS-DA model for watermelon seed sample with FT-NIR spectroscopy applying Savitzsky-Golay 2nd derivative as preprocessing.

Sample	Calibration (n=340)		Calibration accuracy		Validation (n=200)		Validation accuracy		Total (n= 540)		Overall accuracy
	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Correct	Incorrect	Total accuracy (%)		
Watermelon seed	300	40	88.26	170	30	85	470	70	87.03%		

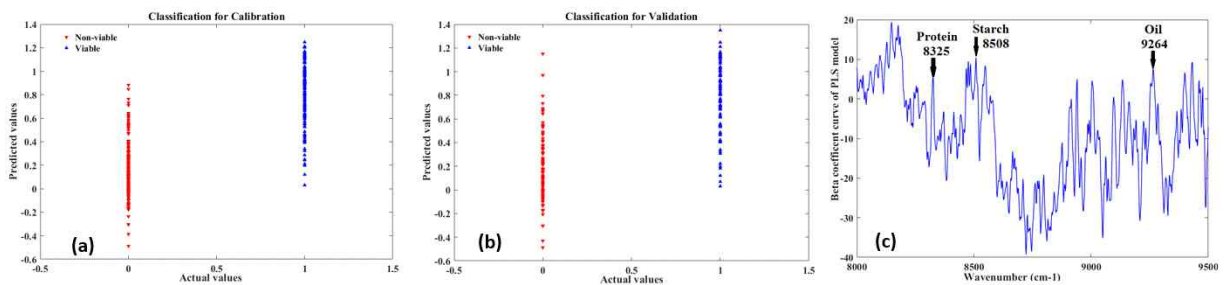


그림 36. PLS-DA classification plot for naturally aged watermelon seed. (a) Calibration plot, (b) validation plot and (c) Beta co-efficient curve from the PLS-DA model.

② 무 종자

발아 테스트와 함께 FT-NIR 분광 분석을 무 종자 1000개에 대해 수행하였다. 수박 종자와 동일한 분석 과정을 거쳤으며 결과는 표 16과 그림 37에 나타내었다.

표 16. Classification accuracy of PLS-DA model for radish seed sample with FT-NIR spectroscopy applying SNV as preprocessing.

Sample	Calibration (n=132)		Calibration accuracy		Validation (n=88)		Validation accuracy		Total (n= 220)		Overall accuracy
	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Correct	Incorrect	Total accuracy (%)		
Radish seed	106	26	80.31	67	21	76.15	173	47	78.64%		

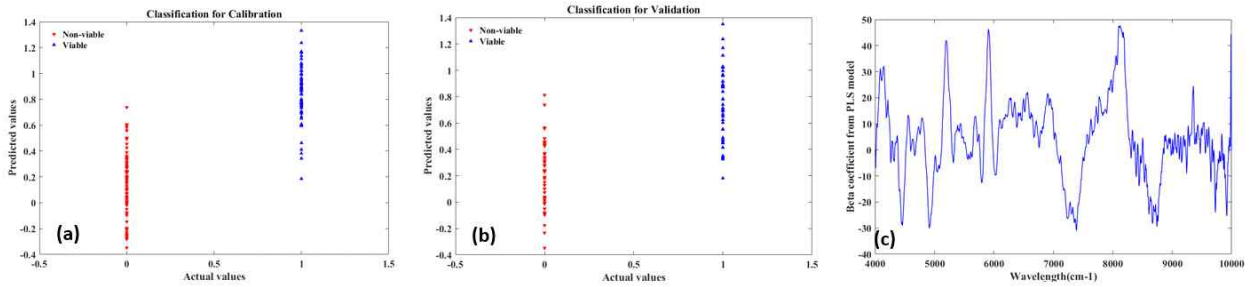


그림 37. PLS-DA classification plot for naturally aged radish seed. (a) Calibration plot, (b) validation plot and (c) Beta co-efficient curve from the PLS-DA model.

③ 고추 종자

발아 테스트와 함께 FT-NIR 분광 분석을 고추 종자 1000개에 대해 수행하였다. 다른 종자와 동일한 분석 과정을 거쳤으며 결과는 표 17과 그림 38에 나타내었다.

표 17. Classification accuracy of PLS-DA model for pepper seed sample with FT-NIR spectroscopy applying Savitzsky-Golay 1st derivative as preprocessing.

Sample	Calibration (n=60)		Calibration accuracy	Validation (n=40)		Validation accuracy	Total (n= 100)		Overall accuracy
	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Correct	Incorrect	Total accuracy (%)
Pepper seed	58	2	96.67	34	6	85	92	8	92%

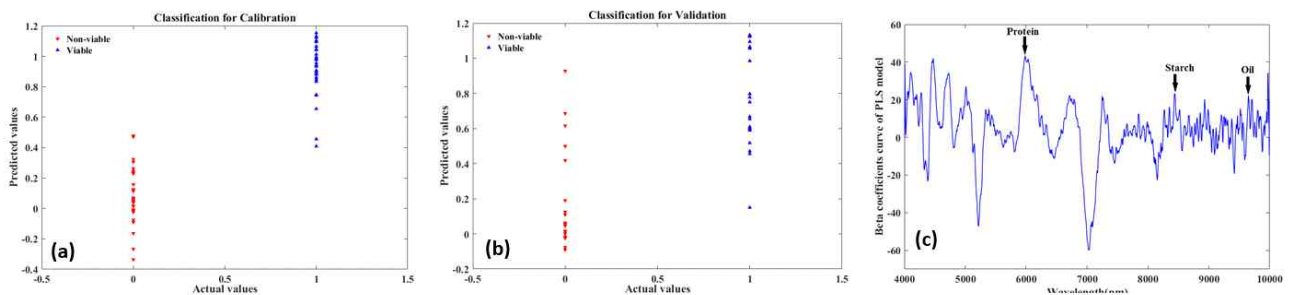


그림 38. PLS-DA classification plot for naturally aged pepper seed. (a) Calibration plot, (b) validation plot and (c) Beta co-efficient curve from the PLS-DA model.

2) SWIR 초분광 영상 분석

① 수박종자

○ 청복꿀

발아 테스트와 함께 SWIR 초분광 영상 장치(1000-2500 nm)를 이용하여 수박 종자(청복꿀 품종) 76개의 종자로 발아예측 모델 개발을 수행하였다. 발아 가능 종자와 발아 불가능 종자의 수를 동일하게 하여 결과가 편향되는 것을 방지하였다. 전처리 방법 중 Savitzsky-Golay 2차 미분함수를 적용한 결과가 가장 우수하였으며 구체적인 내용은 표 18과 그림 39와 같다.

표 19. Classification accuracy of the PLS-DA model for watermelon (청북꿀) seed with SWIR-HSI applying Savitzky-Golay 2nd derivative as preprocessing.

Sample	Calibration (n=54)		Calibration accuracy		Validation (n=22)		Validation accuracy		Total (n= 76)		Overall accuracy
	Correct	Incorrect	Correct	Incorrect	Correct	Incorrect	Correct	Incorrect	Correct	Incorrect	Total accuracy (%)
청북꿀	48	6	88.9		18	4	81.8		66	10	86.8

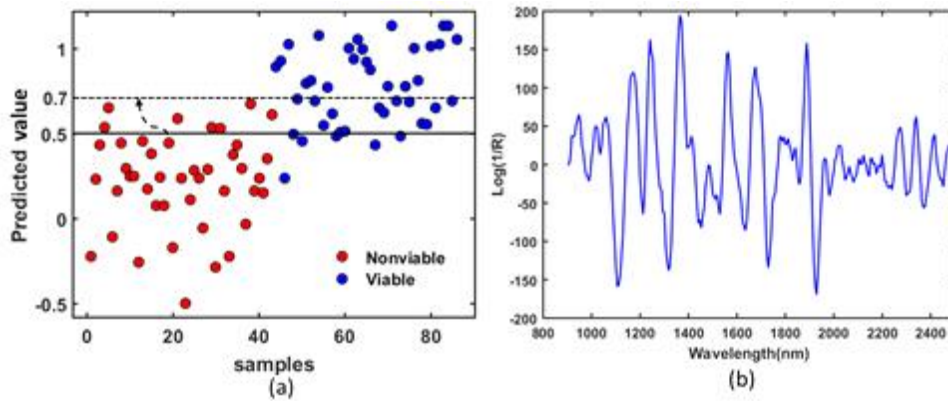


Fig 39. PLS-DA classification plot for naturally aged watermelon seed. (a) overall model accuracy, (b) Beta coefficient curve from the PLS-DA model.

자연적으로 노화된 수박 종자 발아 예측을 위한 PLS-DA 모델 결과와 베타계수는 그림 39와 같다. 이 연구의 궁극적인 목표는 발아 예측모델을 개발하는 것에 거치는 것이 아니라 자연적으로 노화된 종자의 발아여부를 실제로 검증하는 것이다. 따라서 새롭게 구한 60개의 종자들을 사용하여 발아여부 분류모델을 검증하고자 하였다. 발아 가능한 종자의 분류 정확도를 높여 순도 향상을 하고자 종자 분류 문턱값을 0.5에서 0.7로 변경하였다(그림 39a). 문턱값을 변경했을 시 발아가능으로 분류된 그룹의 종자 발아율은 80%에서 86.6%로 향상되었다.

표 19. Confusion matrix of test data set measured from the PLS-DA model (청북꿀 variety).

		Germination test		
		nonviable	viable	Total
Model detection	nonviable	24	6	30
	viable	4	26	30

결론적으로, 분류 모델을 적용하면 최초 발아율이 42.5% 종자 배치가 86.6%의 발아율을 갖는 배치가 될 수 있다. 표 20은 문턱값을 변경했을 때의 향상된 분류 정확도를 보여준다.

표 20. Classification parameters obtained from test data set after applying the model.

Test set	%Germ	Samples used	Baseline	Acc _(V)	Acc _(N)	Overall accuracy(%)
청복꿀	42.5	60	0.5	80	83.3	81.6
			0.7	86.6	80	83.3

*%Germ =Actual germination rate
 *Acc_(V)=Viable seed detection accuracy
 *Acc_(N)=Nonviable seeds detection accuracy

○ 금노란꿀

발아 테스트와 함께 SWIR 초분광 영상 장치(1000-2500 nm)를 이용하여 수박 종자(금노란꿀 품종) 158개의 종자로 발아예측 모델 개발을 수행하였다. 발아 가능 종자와 발아 불가능 종자의 수를 동일하게 하여 결과가 편향되는 것을 방지하였다. 전처리 방법 중 Savitzsky-Golay 2차 미분함수를 적용한 결과가 가장 우수하였으며 구체적인 내용은 표 21과 그림 40과 같다.

표 21. Classification accuracy of the PLS-DA model for watermelon (금노란꿀) seed sample with SWIR-HSI applying Savitzsky-Golay 2ndderivative as preprocessing.

Sample	Calibration (n=122)		Calibration accuracy		Validation (n=36)		Validation accuracy		Total (n= 158)		Overall accuracy
	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Incorrect accuracy	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Incorrect accuracy	Correct	Incorrect	Total accuracy (%)
금노란꿀	105	17	86		30	6	83		135	23	85

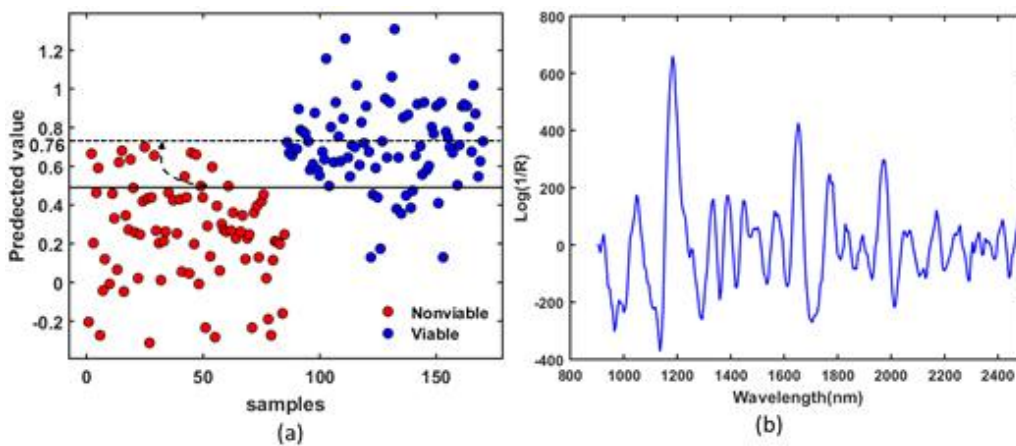


Fig 40. PLS-DA classification plot for naturally aged watermelon seed. (a) overall model accuracy, (b) Beta co-efficient curve from the PLS-DA model.

자연적으로 노화된 수박 종자 발아 예측을 위한 PLS-DA 모델 결과와 베타계수는 그림 40과 같다. 이 연구의 궁극적인 목표는 발아 예측모델을 개발하는 것에 거치는 것이 아니라 자연적으로 노화된 종자의 발아여부를 실제로 검증하는 것이다. 따라서 새롭게 구한 130개의 종자들을 사용하여 발아여부 분류모델을 검증하고자 하였다. 발아 가능한 종자의 분류 정확도

를 높여 순도 향상을 하고자 종자 분류 문턱값을 0.5에서 0.76으로 변경하였다(그림 40a). 문턱값을 변경했을 시 발아가능으로 분류된 그룹의 종자 발아율은 84.6%에서 89.2%로 향상되었다.

표 22. Confusion matrix of test data set measured from the PLS-DA model (금노란꿀).

		Germination test		Total
		nonviable	viable	
Model Detection	nonviable	54	11	65
	viable	7	58	65

결론적으로, 분류 모델을 적용하면 최초 발아율이 41.9% 종자 배치가 89.2%의 발아율을 갖는 배치가 될 수 있다. 표 23은 문턱값을 변경했을 때의 향상된 분류 정확도를 보여준다.

표 23. Classification parameters obtained from test data set after applying the model.

Test set	%Germ	Samples used	Baseline	Acc _(V)	Acc _(N)	Overall accuracy(%)
금노란꿀	41.9	130	0.5	84.6	87.6	86.1
			0.7	89.2	83.1	86.2

*%Germ = Actual germination rate

*Acc_(V) = Viable seed detection accuracy

*Acc_(N) = Nonviable seeds detection accuracy

○ 쿨오아시스

발아 테스트와 함께 SWIR 초분광 영상 장치(1000-2500 nm)를 이용하여 수박 종자(쿨오아시스 품종) 124개의 종자로 발아예측 모델 개발을 수행하였다. 발아 가능 종자와 발아 불가능 종자의 수를 동일하게 하여 결과가 편향되는 것을 방지하였다. 전처리 방법 중 Savitzsky-Golay 2차 미분함수를 적용한 결과가 가장 우수하였으며 구체적인 내용은 표 24와 그림 41과 같다.

표 24. Classification accuracy of the PLS-DA model for watermelon(쿨오아시스) seed sample with SWIR-HSI applying Savitzsky-Golay 2nd derivative as preprocessing.

Sample	Calibration (n=88)		Calibration accuracy		Validation (n=36)		Validation accuracy		Total (n= 124)		Overall accuracy
	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Incorrect accuracy	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Incorrect accuracy	Correct	Incorrect	
쿨오아시스	72	16	82		29	7	80.6		101	23	81.5

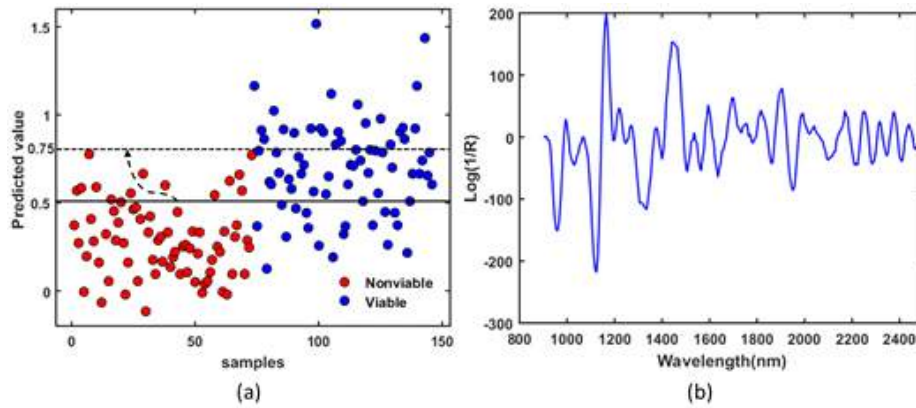


Fig 41. PLS-DA classification plot for naturally aged watermelon seed. (a) overall model accuracy, (b) Beta co-efficient curve from the PLS-DA model.

자연적으로 노화된 수박 종자 발아 예측을 위한 PLS-DA 모델 결과와 베타계수는 그림 41과 같다. 이 연구의 궁극적인 목표는 발아 예측모델을 개발하는 것에 거치는 것이 아니라 자연적으로 노화된 종자의 발아여부를 실제로 검증하는 것이다. 따라서 새롭게 구한 102개의 종자들을 사용하여 발아여부 분류모델을 검증하고자 하였다. 발아 가능한 종자의 분류 정확도를 높여 순도 향상을 하고자 종자 분류 문턱값을 0.5에서 0.75로 변경하였다(그림 41a). 문턱값을 변경했을 시 발아가능으로 분류된 그룹의 종자 발아율은 70.5%에서 82.4%로 향상되었다.

표 25. Confusion matrix of test data set measured from the PLS-DA model (쿨오아시스 품종).

		Germination test		
		nonviable	viable	Total
Model Detection	nonviable	33	15	51
	viable	9	42	51

결론적으로, 분류 모델을 적용하면 최초 발아율이 64% 종자 배치가 82.4%의 발아율을 갖는 배치가 될 수 있다. 표 26은 문턱값을 변경했을 때의 향상된 분류 정확도를 보여준다.

표 26. Classification parameters obtained from test data set after applying the model.

Test set	%Germ	Samples used	Baseline	Acc _(V)	Acc _(N)	Overall accuracy(%)
쿨오아시스	64	102	0.5	70.5	70.6	70.5
			0.7	82.4	64.7	73.5

*%Germ =Actual germination rate
 *Acc_(V)=Viable seed detection accuracy
 *Acc_(N)=Nonviable seeds detection accuracy

○ 블랙루비

발아 테스트와 함께 SWIR 초분광 영상 장치(1000-2500 nm)를 이용하여 수박 종자(블랙루비 품종) 40개의 종자로 발아예측 모델 개발을 수행하였다. 발아 가능 종자와 발아 불가능 종자의 수를 동일하게 하여 결과가 편향되는 것을 방지하였다. 전처리 방법 중 Savitzsky-Golay 2차 미분함수를 적용한 결과가 가장 우수하였으며 구체적인 내용은 표 27과 그림 42와 같다.

표 27. Classification accuracy of the PLS-DA model for watermelon (블랙루비) seed sample with SWIR-HSI applying Savitzsky-Golay 2nd derivative as preprocessing.

Sample	Calibration (n=26)		Calibration accuracy	Validation (n=14)		Validation accuracy	Total (n= 40)		Overall accuracy
	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Correct	Incorrect	Total accuracy (%)
블랙루비	23	3	88.5	12	2	85.7	35	5	87.5

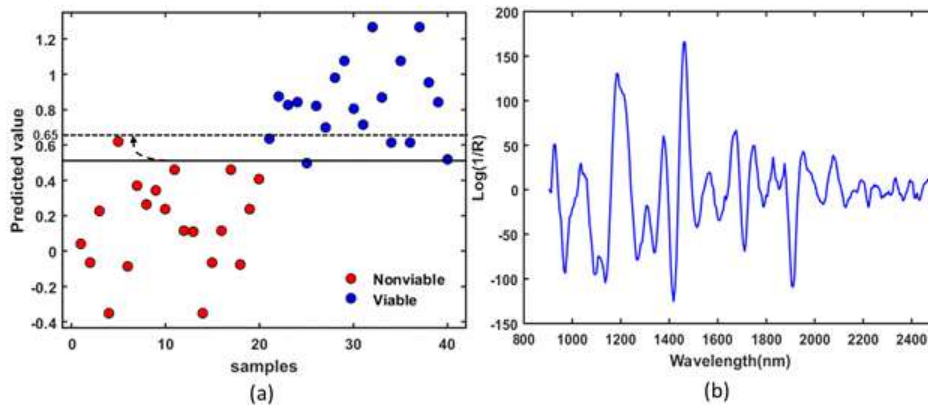


Fig 42. PLS-DA classification plot for naturally aged watermelon seed. (a) overall model accuracy, (b) Beta co-efficient curve from the PLS-DA model.

자연적으로 노화된 수박 종자 발아 예측을 위한 PLS-DA 모델 결과와 베타계수는 그림 42와 같다. 이 연구의 궁극적인 목표는 발아 예측모델을 개발하는 것에 거치는 것이 아니라 자연적으로 노화된 종자의 발아여부를 실제로 검증하는 것이다. 따라서 새롭게 구한 26개의 종자들을 사용하여 발아여부 분류모델을 검증하고자 하였다. 발아 가능한 종자의 분류 정확도를 높여 순도 향상을 하고자 종자 분류 문턱값을 0.5에서 0.65로 변경하였다(그림 42a). 문턱값을 변경했을 시 발아가능으로 분류된 그룹의 종자 발아율은 92.3%에서 100%로 향상되었다.

표 28. Confusion matrix of test data set measured from the PLS-DA model (블랙루비 품종).

		Germination Test		
		nonviable	viable	Total
Model Detection	nonviable	10	3	13
	viable	0	13	13

결론적으로, 분류 모델을 적용하면 최초 발아율이 80.4% 종자 배치가 100%의 발아율을 갖는 배치가 될 수 있다. 표 29는 문턱값을 변경했을 때의 향상된 분류 정확도를 보여준다.

표 29. Classification parameters obtained from test data set after applying the model.

Test set	%Germ	Samples used	Baseline	Acc _(V)	Acc _(N)	Overall accuracy(%)
블랙루비	80.4	26	0.5	92.3	84.6	88.5
			0.7	100	77	88.5

*%Germ =Actual germination rate

*Acc_(V)=Viable seed detection accuracy

*Acc_(N)=Nonviable seeds detection accuracy

○ 삼배체

발아 테스트와 함께 SWIR 초분광 영상 장치(1000-2500 nm)를 이용하여 수박 종자(삼배체 품종) 612개의 종자로 발아예측 모델 개발을 수행하였다. 발아 가능 종자와 발아 불가능 종자의 수를 동일하게 하여 결과가 편향되는 것을 방지하였다. 전처리 방법 중 Savitzsky-Golay 2차 미분함수를 적용한 결과가 가장 우수하였으며 구체적인 내용은 표 30과 그림 43과 같다.

표 30. Classification accuracy of the PLS-DA model for watermelon (삼배체) seed sample with SWIR-HSI applying Savitzsky-Golay 2nd derivative as preprocessing.

Sample	Calibration (n=408)		Calibration accuracy		Validation (n=204)		Validation accuracy		Total (n= 612)		Overall accuracy
	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Incorrect accuracy	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Incorrect accuracy	Correct	Incorrect	
삼배체	355	53	87		171	33	83.8		526	86	85.9

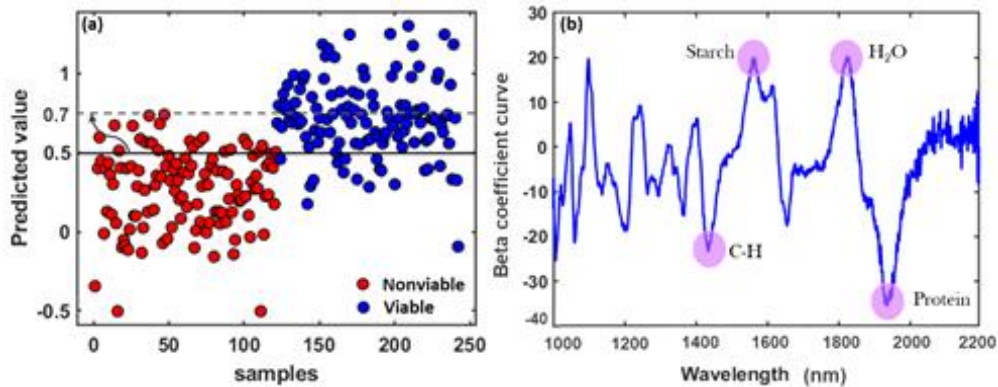


Fig 43. PLS-DA classification plot for naturally aged watermelon seed. (a) overall model accuracy, (b) Beta co-efficient curve from the PLS-DA model.

자연적으로 노화된 수박 종자 발아 예측을 위한 PLS-DA 모델 결과와 베타계수는 그림 43과 같다. 이 연구의 궁극적인 목표는 발아 예측모델을 개발하는 것에 거치는 것이 아니라 자연적으로 노화된 종자의 발아여부를 실제로 검증하는 것이다. 따라서 새롭게 구한 100개의 종자들을 사용하여 발아여부 분류모델을 검증하고자 하였다. 발아 가능한 종자의 분류 정확도를 높여 순도 향상을 하고자 종자 분류 문턱값을 0.5에서 0.7로 변경하였다(그림 43a). 문턱값을 변경했을 시 발아가능으로 분류된 그룹의 종자 발아율은 82.1%에서 85.7%로 향상되었다.

표 32. Confusion matrix of test data set measured from the PLS-DA model (삼배체 variety).

		Germination test		
		nonviable	viable	Total
Model Detection	nonviable	66	6	72
	viable	4	24	28

결론적으로, 분류 모델을 적용하면 최초 발아율이 32% 종자 배치가 85.7%의 발아율을 갖는 배치가 될 수 있다. 표 33은 문턱값을 변경했을 때의 향상된 분류 정확도를 보여준다.

표 33. Classification parameters obtained from test data set after applying the model.

Test set	%Germ	Samples used	Baseline	Acc _(V)	Acc _(N)	Overall accuracy(%)
삼배체	32	100	0.5	82.1	94.4	86
			0.7	85.7	88	90

*%Germ =Actual germination rate
 *Acc_(V) =Viable seed detection accuracy
 *Acc_(N) =Nonviable seeds detection accuracy

○ 최강꿀

발아 테스트와 함께 SWIR 초분광 영상 장치(1000-2500 nm)를 이용하여 수박 종자(최강꿀 품종) 126개의 종자로 발아예측 모델 개발을 수행하였다. 발아 가능 종자와 발아 불가능 종자의 수를 동일하게 하여 결과가 편향되는 것을 방지하였다. 전처리 방법 중 Savitzsky-Golay 2차 미분함수를 적용한 결과가 가장 우수하였으며 구체적인 내용은 표 33과 같다.

표 33. Classification accuracy of the PLS-DA model for watermelon (최강꿀) seed sample with SWIR-HSI applying Savitzsky-Golay 2nd derivative as preprocessing.

Sample	Calibration (n=84)		Calibration accuracy		Validation (n=42)		Validation accuracy		Total (n= 126)		Overall accuracy
	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Correct	Incorrect	Total accuracy (%)		
최강꿀	72	12	85.7	34	8	80.9	106	20	84.1		

자연적으로 노화된 수박 종자 발아 예측을 위한 PLS-DA 모델 결과는 표 33과 같다. 이 연구의 궁극적인 목표는 발아 예측모델을 개발하는 것에 거치는 것이 아니라 자연적으로 노화된 종자의 발아여부를 실제로 검증하는 것이다. 따라서 새롭게 구한 100개의 종자들을 사용하여 발아여부 분류모델을 검증하고자 하였다. 발아 가능한 종자의 분류 정확도를 높여 순도 향상을 하고자 종자 분류 문턱값을 0.5에서 0.7로 변경하였다. 문턱값을 변경했을 시 발아가능으로 분류된 그룹의 종자 발아율은 90.3%에서 93.5%로 향상되었다.

표 34. Confusion matrix of test data set measured from the PLS-DA model (최강꿀 품종).

		Germination Test		
		nonviable	viable	Total
Model Detection	nonviable	6	1	7
	viable	6	87	93

결론적으로, 분류 모델을 적용하면 최초 발아율이 89% 종자 배치가 93.5%의 발아율을 갖는 배치가 될 수 있다. 표 35는 문턱값을 변경했을 때의 향상된 분류 정확도를 보여준다.

표 35. Classification parameters obtained from test data set after applying the model.

Test set	%Germ	Samples used	Baseline	Acc _(V)	Acc _(N)	Overall accuracy(%)
최강꿀	89	100	0.5	90.3	100	90
			0.6	93.5	85.7	91

*%Germ =Actual germination rate
 *Acc_(V) =Viable seed detection accuracy
 *Acc_(N) =Nonviable seeds detection accuracy

○ 이형립

발아 테스트와 함께 SWIR 초분광 영상 장치(1000-2500 nm)를 이용하여 수박 종자(이형립 품종) 242개의 종자로 발아예측 모델 개발을 수행하였다. 발아 가능 종자와 발아 불가능 종자의 수를 동일하게 하여 결과가 편향되는 것을 방지하였다. 전처리 방법 중 Savitzsky-Golay 2차 미분함수를 적용한 결과가 가장 우수하였으며 구체적인 내용은 표 36과 같다.

표 36. Classification accuracy of the PLS-DA model for watermelon (이형립) seed sample with SWIR-HSI applying Savitzsky-Golay 2ndderivative as preprocessing.

Sample	Calibration (n=160)		Calibration accuracy		Validation (n=82)		Validation accuracy		Total (n= 242)		Overall accuracy
	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Incorrect accuracy	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Incorrect accuracy	Correct	Incorrect	Total accuracy (%)
이형립	144	16	90		70	8	85		214	24	88.4

자연적으로 노화된 수박 종자 발아 예측을 위한 PLS-DA 모델 결과는 표 36과 같다. 이 연구의 궁극적인 목표는 발아 예측모델을 개발하는 것에 거치는 것이 아니라 자연적으로 노화된 종자의 발아여부를 실제로 검증하는 것이다. 따라서 새롭게 구한 100개의 종자들을 사용하여 발아여부 분류모델을 검증하고자 하였다. 발아 가능한 종자의 분류 정확도를 높여 순도 향상을 하고자 종자 분류 문턱값을 변경하였으나 결과는 나아지지 않았다.

표 37. Confusion matrix of test data set measured from the PLS-DA model (이형림 품종).

		Germination Test		
		nonviable	viable	Total
Model Detection	nonviable	64	19	83
	viable	5	12	17

결론적으로, 분류 모델을 적용하면 최초 발아율이 14% 종자 배치가 66.8%의 발아율을 갖는 배치가 될 수 있다. 표 38은 종합적인 분류 정확도를 보여준다.

표 38. Classification parameters obtained from test data set after applying the model.

Test set	%Germ	Samples used	Baseline	Acc _(V)	Acc _(N)	Overall accuracy(%)
이형림	14	100	0.5	66.8	79.2	73
			0.7	58.8	77.1	84

*%Germ = Actual germination rate
 *Acc_(V) = Viable seed detection accuracy
 *Acc_(N) = Nonviable seeds detection accuracy

표 39. More samples were performed with the SWIR-HSI technique and were illustrated below.

Sample name	Calibration			Validation			Blind test			Viable seed detection accuracy (%)
	Cor.	Incor.	Acc. (%)	Cor.	Incor.	Acc. (%)	Sample number	Cor.	Incor.	
건생제로	63/74	11/74	85.1	22/27	5/27	81.5	100	62	38	93
케이피 4	52/68	16/68	76.5	17/23	6/23	73.9	211	151	60	93
지더블유 5	78/85	7/85	91.7	27/31	4/31	87.1	102	67	35	97.5
지더블유 (017014)	30/45	15/45	66.7	15/23	8/23	65.2	100	81	19	75.6
슈가원	56/65	9/65	86.2	19/23	4/23	82.6	102	71	31	90.7
꽃맞미니	48/55	7/55	87.3	17/21	4/21	80.9	101	76	24	96

② 다른 모델들의 종합적 분석

CNN 모델의 성능은 PLS-DA (62.5%) 보다 우수했으며, 검증 세트의 정확도는 75%를 증가하였다. NIR-HSI 영상에 대한 CNN의 모델링은 더 많은 시간이 소요된다. 표 40은 PLS-DA 모델과 딥러닝 모델의 성능을 비교한 것이다.

표 40. Comparison analysis for the PLS-DA and CNN model.

Model	Used sample	Test set accuracy	Input waveband
PLS-DA general	980	62.5%	275
Deep residual network	980	75%	60

3) NIR 초분광 영상 분석

① 수박종자

○ 청복꿀

발아 테스트와 함께 NIR 초분광 영상 장치(1000-1700 nm)를 이용하여 수박 종자(청복꿀 품종) 132개의 종자로 발아예측 모델 개발을 수행하였다. 발아 가능 종자와 발아 불가능 종자의 수를 동일하게 하여 결과가 편향되는 것을 방지하였다. 전처리 방법 중 Savitzsky-Golay 2차 미분함수를 적용한 결과가 가장 우수하였으며 구체적인 내용은 표 41과 그림 44와 같다.

표 41. Classification accuracy of the PLS-DA model for watermelon (청복꿀) seed sample with NIR-HSI applying Savitzsky-Golay 2nd derivative as preprocessing.

Sample	Calibration (n=88)		Calibration accuracy		Validation (n=44)		Validation accuracy		Total (n= 132)	Overall accuracy
	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Correct	Incorrect	Total accuracy (%)	
청복꿀	80	8	90.9	39	5	88.6	119	13	90.15	

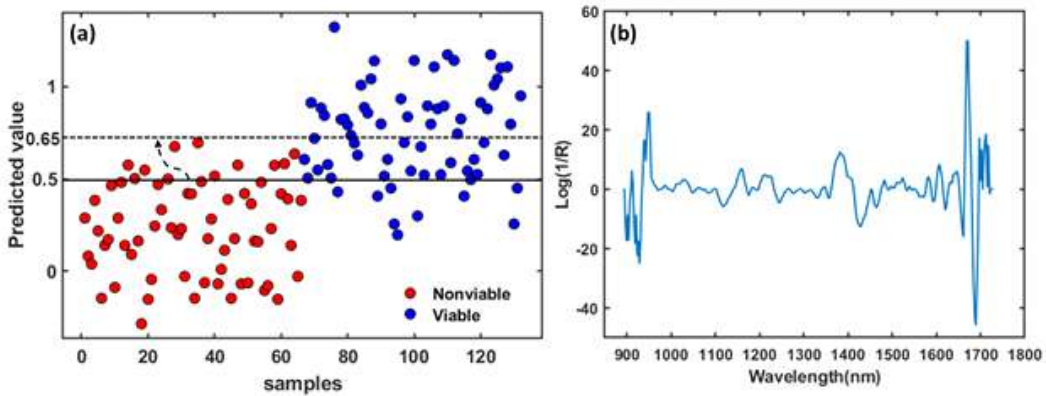


Fig 44. PLS-DA classification plot for naturally aged watermelon seed. (a) overall model accuracy, (b) Beta co-efficient curve from the PLS-DA model.

자연적으로 노화된 수박 종자 발아 예측을 위한 PLS-DA 모델 결과와 베타계수는 그림 44와 같다. 이 연구의 궁극적인 목표는 발아 예측모델을 개발하는 것에 거치는 것이 아니라 자연적으로 노화된 종자의 발아여부를 실제로 검증하는 것이다. 따라서 새롭게 구한 112개의 종자들을 사용하여 발아여부 분류모델을 검증하고자 하였다. 발아 가능한 종자의 분류 정확도를 높여 순도 향상을 하고자 종자 분류 문턱값을 0.5에서 0.65로 변경하였다(그림 44a). 문턱값을 변경했을 시 발아가능으로 분류된 그룹의 종자 발아율은 76.8%에서 83.9%로 향상되었다.

표 42. Confusion matrix of test data set measured from the PLS-DA odel (청복꿀 variety).

		Germination Test		
		nonviable	viable	Total
Model Detection	nonviable	40	16	56
	viable	9	47	56

결론적으로, 분류 모델을 적용하면 최초 발아율이 42.5% 종자 배치가 83.9%의 발아율을 갖는 배치가 될 수 있다. 표 43은 문턱값을 변경했을 때의 향상된 분류 정확도를 보여준다.

표 43. Classification parameters obtained from test data set after applying the model.

Test set	%Germ	Samples used	Baseline	Acc _(V)	Acc _(N)	Overall accuracy(%)
청복꿀	42.5	112	0.5	76.8	75	75.7
			0.7	83.9	71.4	77.6

*%Germ =Actual germination rate
 *Acc_(V)=Viable seed detection accuracy
 *Acc_(N)=Nonviable seeds detection accuracy

○ 금노란꿀

발아 테스트와 함께 NIR 초분광 영상 장치(1000-1700 nm)를 이용하여 수박 종자(금노란꿀 품종) 132개의 종자로 발아예측 모델 개발을 수행하였다. 발아 가능 종자와 발아 불가능 종자의 수를 동일하게 하여 결과가 편향되는 것을 방지하였다. 전처리 방법 중 Savitzsky-Golay 2차 미분함수를 적용한 결과가 가장 우수하였으며 구체적인 내용은 표 44와 그림 45와 같다.

표 44. Classification accuracy of the PLS-DA model for watermelon (금노란꿀) seed sample with NIR-HSI applying Savitzsky-Golay 2nd derivative as preprocessing.

Sample	Calibration (n=172)		Calibration accuracy		Validation (n=90)		Validation accuracy		Total (n= 262)	Overall accuracy
	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Correct	Incorrect	Total accuracy (%)	
금노란꿀	153	19	88.9	79	11	87.7	232	30	88.5	

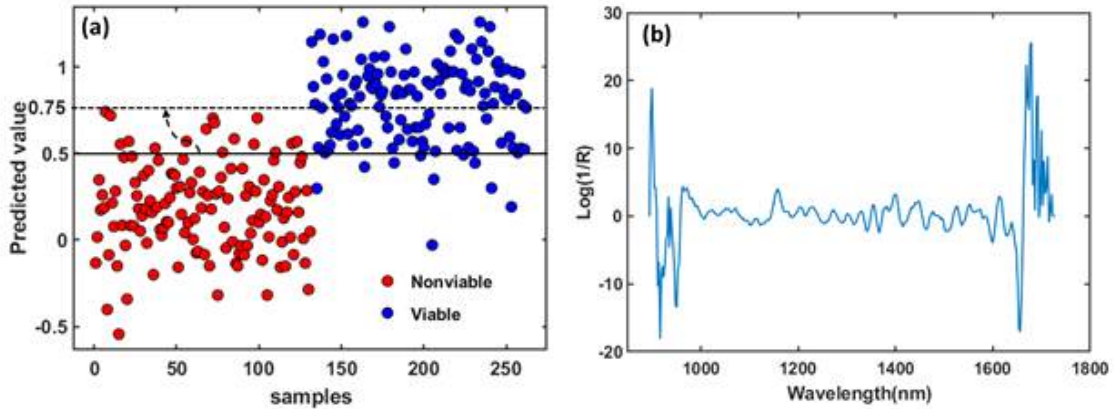


그림 45. PLS-DA classification plot for naturally aged watermelon seed. (a) overall model accuracy, (b) Beta co-efficient curve from the PLS-DA model.

자연적으로 노화된 수박 종자 발아 예측을 위한 PLS-DA 모델 결과와 베타계수는 그림 45와 같다. 이 연구의 궁극적인 목표는 발아 예측모델을 개발하는 것에 거치는 것이 아니라 자연적으로 노화된 종자의 발아여부를 실제로 검증하는 것이다. 따라서 새롭게 구한 228개의 종자들을 사용하여 발아여부 분류모델을 검증하고자 하였다. 발아 가능한 종자의 분류 정확도를 높여 순도 향상을 하고자 종자 분류 문턱값을 0.5에서 0.75로 변경하였다(그림 45a). 문턱값을 변경했을 시 발아가능으로 분류된 그룹의 종자 발아율은 71.1%에서 81.6%로 향상되었다.

표 45. Confusion matrix of test data set measured from the PLS-DA model (금노란꿀 variety).

		Germination test		
		nonviable	viable	Total
Model detection	nonviable	75	39	114
	viable	21	93	114

결론적으로, 분류 모델을 적용하면 최초 발아율이 41.9% 종자 배치가 81.6%의 발아율을 갖는 배치가 될 수 있다. 표 46은 문턱값을 변경했을 때의 향상된 분류 정확도를 보여준다.

표 46. Classification parameters obtained from test data set after applying the model.

Test set	%Germ	Samples used	Baseline	Acc _(v)	Acc _(n)	Overall accuracy(%)
금노란꿀	41.9	228	0.5	71.1	70.2	70.6
			0.7	81.6	65.8	73.6

*%Germ = Actual germination rate

*Acc_(v) = Viable seed detection accuracy

*Acc_(n) = Nonviable seeds detection accuracy

○ 콜오아시스

발아 테스트와 함께 NIR 초분광 영상 장치(1000-1700 nm)를 이용하여 수박 종자(콜오아시스 품종) 242개의 종자로 발아예측 모델 개발을 수행하였다. 발아 가능 종자와 발아 불가능 종자의 수를 동일하게 하여 결과가 편향되는 것을 방지하였다. 전처리 방법 중 Savitzsky-Golay 2차 미분함수를 적용한 결과가 가장 우수하였으며 구체적인 내용은 표 47과 그림 46과 같다.

표 47. Classification accuracy of the PLS-DA model for watermelon (콜오아시스) seed sample with NIR-HSI applying Savitzsky-Golay 2nd derivative as preprocessing.

Sample	Calibration (n=152)		Calibration accuracy		Validation (n=72)		Validation accuracy		Total (n= 242)		Overall accuracy
	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Correct	Incorrect	Total accuracy (%)		
콜오아시스	135	17	88.8	61	11	84.7	196	46	80.9		

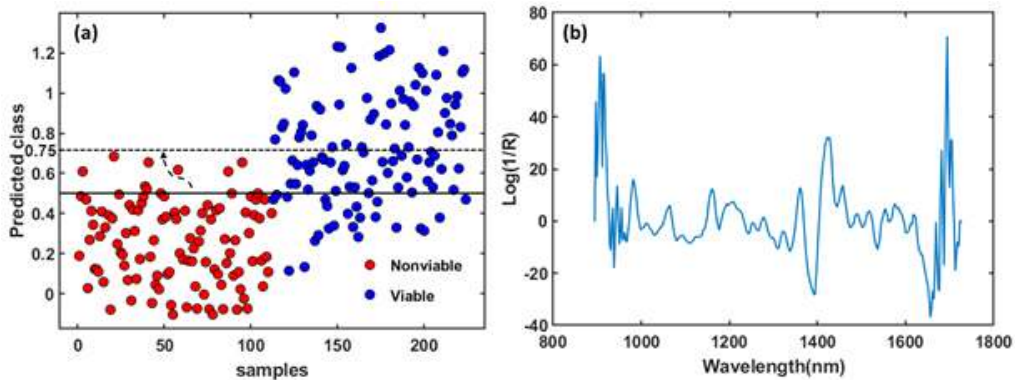


그림 46. PLS-DA classification plot for naturally aged watermelon seed. (a)overall model accuracy, (b) Beta co-efficient curve from the PLS-DA model.

자연적으로 노화된 수박 종자 발아 예측을 위한 PLS-DA 모델 결과와 베타계수는 그림 46과 같다. 이 연구의 궁극적인 목표는 발아 예측모델을 개발하는 것에 거치는 것이 아니라 자연적으로 노화된 종자의 발아여부를 실제로 검증하는 것이다. 따라서 새롭게 구한 192개의 종자들을 사용하여 발아여부 분류모델을 검증하고자 하였다. 발아 가능한 종자의 분류 정확도를 높여 순도 향상을 하고자 종자 분류 문턱값을 0.5에서 0.75로 변경하였다(그림 46a). 문턱값을 변경했을 시 발아가능으로 분류된 그룹의 종자 발아율은 75%에서 89.6%로 향상되었다.

표 48. Confusion matrix of test data set measured from the PLS-DA model (콜오아시스 품종).

		Germination test		
		nonviable	viable	Total
Model detection	nonviable	64	32	96
	viable	10	86	96

결론적으로, 분류 모델을 적용하면 최초 발아율이 64% 종자 배치가 89.6%의 발아율을 갖는 배치가 될 수 있다. 표 49는 문턱값을 변경했을 때의 향상된 분류 정확도를 보여준다.

표 49. Classification parameters obtained from test data set after applying the model.

Test set	%Germ	Samples used	Baseline	Acc _(V)	Acc _(N)	Overall accuracy(%)
클오아시스	64	192	0.5	75	72.9	73.9
			0.7	89.6	66.6	78.1

*%Germ =Actual germination rate
 *Acc_(V)=Viable seed detection accuracy
 *Acc_(N)=Nonviable seeds detection accuracy

○ 블랙루비

발아 테스트와 함께 NIR 초분광 영상 장치(1000-1700 nm)를 이용하여 수박 종자(블랙루비 품종) 70개의 종자로 발아예측 모델 개발을 수행하였다. 발아 가능 종자와 발아 불가능 종자의 수를 동일하게 하여 결과가 편향되는 것을 방지하였다. 전처리 방법 중 Savitzsky-Golay 2차 미분함수를 적용한 결과가 가장 우수하였으며 구체적인 내용은 표 50과 그림 47과 같다.

표 50. Classification accuracy of the PLS-DA model for watermelon (블랙루비 품종) seed sample with NIR-HSI applying Savitzsky-Golay 2nd derivative as preprocessing.

Sample	Calibration (n=48)		Calibration accuracy		Validation (n=22)		Validation accuracy		Total (n= 70)		Overall accuracy
	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Incorrect accuracy	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Incorrect accuracy	Correct	Incorrect	Total accuracy (%)
블랙루비	44	4	91.6		18	4	81.8		62	8	88.5

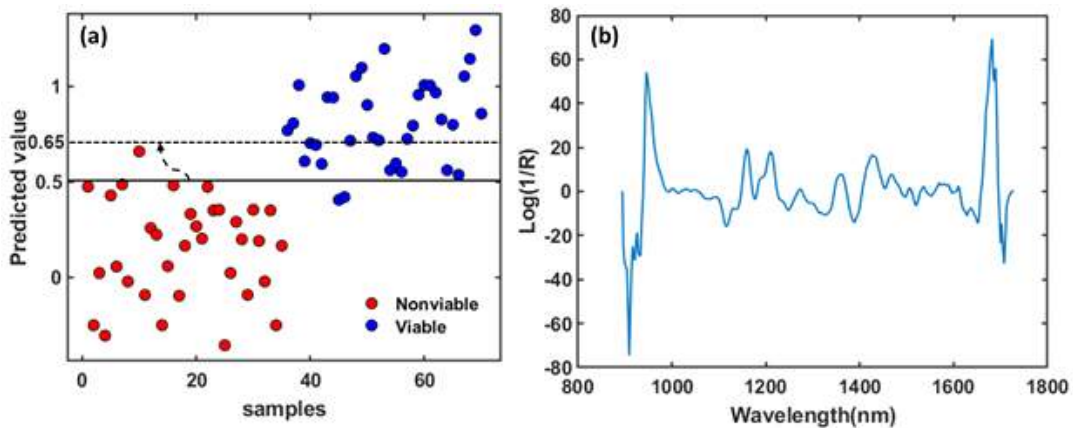


Fig 47. PLS-DA classification plot for naturally aged watermelon seed. (a) overall model accuracy, (b) Beta co-efficient curve from the PLS-DA model.

자연적으로 노화된 수박 종자 발아 예측을 위한 PLS-DA 모델 결과와 베타계수는 그림 47과 같다. 이 연구의 궁극적인 목표는 발아 예측모델을 개발하는 것에 거치는 것이 아니라 자연적으로 노화된 종자의 발아여부를 실제로 검증하는 것이다. 따라서 새롭게 구한 54개의 종자들을 사용하여 발아여부 분류모델을 검증하고자 하였다. 발아 가능한 종자의 분류 정확도를 높여 순도 향상을 하고자 종자 분류 문턱값을 0.5에서 0.65로 변경하였다(그림 47a). 문턱값을 변경했을 시 발아가능으로 분류된 그룹의 종자 발아율은 85.2%에서 88.8%로 향상되었다.

표 51. Confusion matrix of test data set measured from the PLS-DA model (블랙루비 품종).

		Germination test		
		nonviable	viable	Total
Model detection	nonviable	22	5	27
	viable	2	25	27

결론적으로, 분류 모델을 적용하면 최초 발아율이 80.4% 종자 배치가 92.6%의 발아율을 갖는 배치가 될 수 있다. 표 52는 문턱값을 변경했을 때의 향상된 분류 정확도를 보여준다.

표 52. Classification parameters obtained from test data set after applying the model

Test set	%Germ	Samples used	Baseline	Acc _(V)	Acc _(N)	Overall accuracy(%)
블랙루비	80.4	54	0.5	85.2	88.8	87
			0.7	92.6	81.5	87

*%Germ =Actual germination rate
 *Acc_(V)=Viable seed detection accuracy
 *Acc_(N) =Nonviable seeds detection accuracy

○ 삼배체

발아 테스트와 함께 NIR 초분광 영상 장치(1000-1700 nm)를 이용하여 수박 종자(삼배체 품종) 612개의 종자로 발아예측 모델 개발을 수행하였다. 발아 가능 종자와 발아 불가능 종자의 수를 동일하게 하여 결과가 편향되는 것을 방지하였다. 전처리 방법 중 평균값 정규화를 적용한 결과가 가장 우수하였으며 구체적인 내용은 표 53과 그림 48과 같다.

표 53. Classification accuracy of the PLS-DA model for watermelon (삼배체) seed sample with NIR-HSI applying mean norm as preprocessing.

Sample	Calibration (n=408)		Calibration accuracy		Validation (n=204)		Validation accuracy		Total (n= 612)		Overall accuracy
	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Correct	Incorrect	Total accuracy (%)		
삼배체	335	73	82.1	159	45	77.9	494	118	80.7		

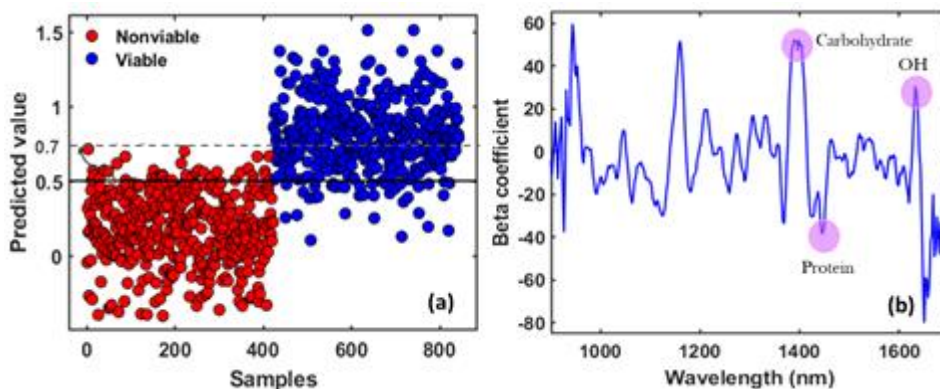


Fig 48. PLS-DA classification plot for naturally aged watermelon seed. (a) overall model accuracy, (b) Beta co-efficient curve from the PLS-DA model.

자연적으로 노화된 수박 종자 발아 예측을 위한 PLS-DA 모델 결과와 베타계수는 그림 48과 같다. 이 연구의 궁극적인 목표는 발아 예측모델을 개발하는 것에 거치는 것이 아니라 자연적으로 노화된 종자의 발아여부를 실제로 검증하는 것이다. 따라서 새롭게 구한 100개의 종자들을 사용하여 발아여부 분류모델을 검증하고자 하였다. 발아 가능한 종자의 분류 정확도를 높여 순도 향상을 하고자 종자 분류 문턱값을 0.5에서 0.7로 변경하였다(그림 48a). 문턱값을 변경했을 시 발아가능으로 분류된 그룹의 종자 발아율은 80.2%에서 86.6%로 향상되었다.

표 54. Confusion matrix of test data set measured from the PLS-DA model (삼배체 품종).

Test set	%Germ	Samples used	Baseline	Acc _(V)	Acc _(N)	Overall accuracy(%)
삼배체	32	100	0.5	80.2	57.9	76
			0.7	86.6	49	67.8

*%Germ =Actual germination rate
 *Acc_(V) =Viable seed detection accuracy
 *Acc_(N) =Nonviable seeds detection accuracy

결론적으로, 분류 모델을 적용하면 최초 발아율이 32% 종자 배치가 86.6%의 발아율을 갖는 배치가 될 수 있다. 표 55는 문턱값을 변경했을 때의 향상된 분류 정확도를 보여준다.

표 55. Classification parameters obtained from test data set after applying the model.

Test set	%Germ	Samples used	Baseline	Acc _(V)	Acc _(N)	Overall accuracy(%)
삼배체	32	100	0.5	80.2	57.9	76
			0.7	86.6	49	67.8

*%Germ =Actual germination rate
 *Acc_(V) =Viable seed detection accuracy
 *Acc_(N) =Nonviable seeds detection accuracy

○ 최강꿀

발아 테스트와 함께 NIR 초분광 영상 장치(1000-1700 nm)를 이용하여 수박 종자(최강꿀 품종) 126개의 종자로 발아예측 모델 개발을 수행하였다. 발아 가능 종자와 발아 불가능 종자의 수를 동일하게 하여 결과가 편향되는 것을 방지하였다. 전처리 방법 중 SNV를 적용한 결과가 가장 우수하였으며 구체적인 내용은 표 56과 같다.

표 56. Classification accuracy of the PLS-DA model for watermelon(최강꿀) seed sample with NIR-HSI applying SNV as preprocessing.

Sample	Calibration (n=84)		Calibration accuracy		Validation (n=42)		Validation accuracy		Total (n=126)		Overall accuracy
	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Correct	Incorrect	Total accuracy (%)		
최강꿀	69	15	82.1	32	10	76.2	101	25	80.1		

자연적으로 노화된 수박 종자 발아 예측을 위한 PLS-DA 모델 결과는 표 56과 같다. 이 연구의 궁극적인 목표는 발아 예측모델을 개발하는 것에 거치는 것이 아니라 자연적으로 노화된 종자의 발아여부를 실제로 검증하는 것이다. 따라서 새롭게 구한 100개의 종자들을 사용하여 발아여부 분류모델을 검증하고자 하였다. 발아 가능한 종자의 분류 정확도를 높여 순도 향상을 하고자 종자 분류 문턱값을 0.5에서 0.6으로 변경하였다. 문턱값을 변경했을 시 발아가능으로 분류된 그룹의 종자 발아율은 82.3%에서 91.7%로 향상되었다.

표 57. Confusion matrix of test data set measured from the PLS-DA model (최강꿀 품종).

		Germination test		
		nonviable	viable	Total
Model detection	nonviable	18	9	27
	viable	6	67	73

결론적으로, 분류 모델을 적용하면 최초 발아율이 89% 종자 배치가 91.7%의 발아율을 갖는 배치가 될 수 있다. 표 58은 문턱값을 변경했을 때의 향상된 분류 정확도를 보여준다.

표 58. Classification parameters obtained from test data set after applying the model.

Test set	%Germ	Samples used	Baseline	Acc _(V)	Acc _(N)	Overall accuracy(%)
최강꿀	89	100	0.5	82.3	74.7	78.5
			0.6	91.7	66.7	86.3

*%Germ =Actual germination rate
 *Acc_(V)=Viable seed detection accuracy
 *Acc_(N) =Nonviable seeds detection accuracy

○ 이형립

발아 테스트와 함께 NIR 초분광 영상 장치(1000-1700 nm)를 이용하여 수박 종자(이형립 품종) 242개의 종자로 발아예측 모델 개발을 수행하였다. 발아 가능 종자와 발아 불가능 종자의 수를 동일하게 하여 결과가 편향되는 것을 방지하였다. 전처리 방법 중 Range 정규화를 적용한 결과가 가장 우수하였으며 구체적인 내용은 표 59와 같다.

표 59. Classification accuracy of the PLS-DA model for watermelon (이형립) seed sample with NIR-HSI applying range norm as preprocessing.

Sample	Calibration (n=160)		Calibration accuracy		Validation (n=82)		Validation accuracy		Total (n= 242)		Overall accuracy
	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Correct	Incorrect	Correct accuracy	Correct	Incorrect	Total accuracy (%)		
이형립	134	26	83.7	65	17	79.2	199	43	82.2		

자연적으로 노화된 수박 종자 발아 예측을 위한 PLS-DA 모델 결과는 표 56과 같다. 이 연구의 궁극적인 목표는 발아 예측모델을 개발하는 것에 거치는 것이 아니라 자연적으로 노화된 종자의 발아여부를 실제로 검증하는 것이다. 따라서 새롭게 구한 100개의 종자들을 사용하여 발아여부 분류모델을 검증하고자 하였다. 발아 가능한 종자의 분류 정확도를 높여 순도 향상을 하고자 종자 분류 문턱값을 0.5에서 0.7로 변경하였다. 문턱값을 변경했을 시 발아가능으로 분류된 그룹의 종자 발아율은 73.6%에서 85.7%로 향상되었다.

표 60. Confusion matrix of test data set measured from the PLS-DA model (이형립 품종).

		Germination test		
		nonviable	viable	Total
Model detection	nonviable	61	18	79
	viable	3	18	21

결론적으로, 분류 모델을 적용하면 최초 발아율이 14% 종자 배치가 85.7%의 발아율을 갖는 배치가 될 수 있다. 표 61은 문턱값을 변경했을 때의 향상된 분류 정확도를 보여준다.

표 61. Classification parameters obtained from test data set after applying the model.

Test set	%Germ	Samples used	Baseline	Acc _(v)	Acc _(n)	Overall accuracy(%)
이형립	14	100	0.5	73.6	70.2	71.9
			0.7	85.7	69.9	77.8

*%Germ =Actual germination rate

*Acc_(v) =Viable seed detection accuracy

*Acc_(n) = Nonviable seeds detection accuracy

표 62. More samples were performed with the proposed NIR-HSI technique and were illustrated below.

Sample name	Calibration			Validation			Blind test			Viable seed detection accuracy (%)
	Cor.	Incor.	Acc. (%)	Cor.	Incor.	Acc. (%)	Sample number	Cor.	Incor.	
건생제로	81/92	11/92	88	36/45	9/45	80	200	121	79	92
케이피4	222/269	47/269	82.5	81/102	21/102	79.4	422	276	146	93
지더블유 5	136/169	33/169	80.5	67/85	18/85	78.8	250	182	68	97.5
지더블유 (017014)	81/97	19/97	83.5	41/50	9/50	82	198	129	69	98
슈가원	99/112	13/112	88.4	52/65	13/65	80	204	144	60	90.7
꿀맛미니	99/110	11/110	90	51/61	10/61	83.6	202	156	46	

② 크로마토그래피 분석

NIR-HSI 기술을 통해 측정된 스펙트럼의 관련 화학성분의 검증을 위해 크로마토그래피 분석을 수행하였다. 수박종자 세 가지 품종을 두 그룹(발아 및 비발아)으로 나누고 총 20개의 샘플을 측정하였다. 그림 49에 나타난 크로마토그램은 수박종자 이형립 품종에 대한 발아 가능 및 발아 불가능한 종자 사이의 화학적인 차이를 보여준다. 탄수화물의 피크 영역에서 발아 가능한 종자의 값이 비발아 종자보다 높게 나타남을 확인할 수 있다. 발아 가능한 종자가 발아 불가능한 종자보다 더 많은 양의 탄수화물(당질)을 함유하고 있음을 나타낸다. 모든 수박 품종에 대해 일관된 결과를 나타내었다. 단백질 검출을 위해 220 nm 파장의 피크값도 비교하였다.

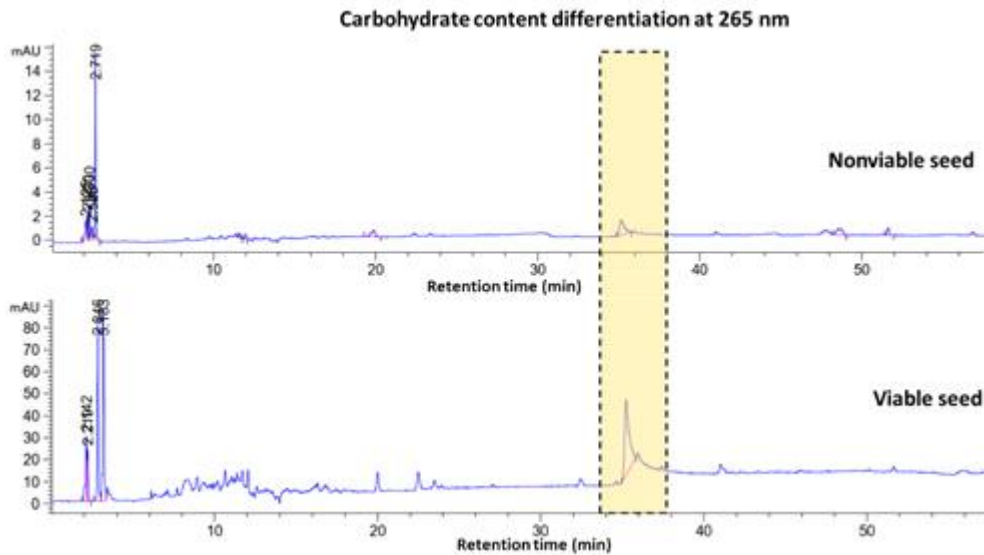


Fig 49. Chemical composition (carbohydrates) changes in naturally aged seeds. Yellow marked area shows the difference in seeds in relation to the viability (이형립 품종).

표 63은 이형립 단일품종의 발아와 관련하여 자연적으로 노화된 종자 2그룹 사이의 화학적 차이점을 보여준다. 발아와 비발아 종자의 탄수화물과 단백질 차이가 명백히 있음을 확인할 수 있다. 일반적으로 발아 종자의 탄수화물과 단백질의 양이 더 많음을 보여준다. 세 가지 품종이 각각 두 그룹에 대해 일관된 결과를 보였다.

표 63. Reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC) test result for the chemical composition difference.

Variety	Number of samples	Chemical component	Peak signal (nm)	viability	Retention time	Area %
이형립	10	Carbohydrates	265	viable	35.163	36.2859
				nonviable	35.163	22.6614
	10	Protein	220	viable	35.246	33.3544
				nonviable	35.255	27.223

③ 수분함량 측정 분석

수분 함량 측정 결과는 크로마토그래피 분석에 보여진 것과 비슷한 결과를 보였다. 발아 종자에 비해 비발아 종자의 수분함량은 현저히 낮았다. 총 40립의 종자 (총 3가지 품종의 각 20립씩의 발아 및 비발아 종자)는 일원 분산 분석(ANOVA) 테스트 결과 발아 및 비발아 종자간의 수분함량 차이는 유의미한 차이($P = 0.001$)가 나타났다(표 64).

표 64. Statistical parameter difference for moisture retention between healthy seeds of the two groups (이형립 variety).

Variety	Number of samples	Sum of squares	Mean square	F value	Prob > F
이형립	40	4.1945	2.097	14.09	0.001*

* significantly different

[제5협동 : 종자의 위해미생물 제어를 위한 항균기체 (이산화염소, 유기산, 정유) 기반 종자살균 기술 개발/항균대사체와 부제의 조합분석을 위한 종자살균 기술 개발]

[1차년도]

1. 다중스트레스 조합처리 연구

가. 대상종자 (7종)와 위해미생물들 확보

(1) 종자의 위해미생물 제어를 위한 기초 연구 및 실험조건 확립

(가) 실험조건 확립

- 국립종자원에서 사용 중인 국제종자협회 (ISTA) 발아모델을 교육받음
- 대상 종자의 발아를 위한 발아용기 (Coolrara, 제 7호) 및 발아용지 (Whatman, 3014 Pleated Strips)를 확보함
- 변온장치, 조명장치 등 대상 종자의 발아를 위한 발아 환경을 구축함
- 색차계를 이용한 이산화염소 용액의 농도 측정 방법을 구축함

(나) 대상종자 (7종) 확보

- (주)코레곤으로부터 무, 멜론, 오이, 호박, 대목 용박, 상추, 고추, 양배추, 수박, 당근, 양파를 포함 총 11종의 대상 종자 1차 (7월 15일), 2차 (9월 22일)로 확보함

(다) 위해미생물 확보

- 국립농업유전자원센터 (KACC)로부터 아래의 19 균주의 식물 위해 미생물을 확보함.
- *Acidovorax citrulli* KACC 17000, 17001, 17005, 17909, 179105,
- *Alternaria brassicicola* KACC 40034, 40036, 40857, 42464, 42465,
- *Colletotrichum orbiculare* KACC 40808, 40809, 42457, 40903,
- *Didymella bryoniae* KACC 40669, 40900, 40937, 40938, 40939)

나. 선정된 위해미생물들의 생육패턴 확인

(1) 연구 방법

(가) 식물병원성 세균 (*A. citrulli*)의 생육 패턴 확인

① 식물병원균의 준비

- 4°C 에 보관된 *A. citrulli* 5 균주의 slant stock에서 blue needle을 이용하여 single colony를 취한 후 30 ml 의 NB가 담긴 50 ml conical tube에 접종한다.
- 30°C 에서 48 시간 정치배양한다.

② 식물병원균의 접종

- 30°C 에서 48 시간 동안 배양된 *A. citrulli* 배양액 (ca. 8 log CFU/ml) 1 ml을 micropipette을 이용하여 취한 후 9 ml의 D.W가 담긴 test tube에 분주하여 십진희석한다.
- 10 배 희석된 *A. citrulli* solution 0.1 ml을 취하여 9.9 ml의 D.W가 담긴 test tube에 분주하여 희석한다.
- 위 희석과정을 한번 더 반복하여 원액에서 총 105 배 희석 (ca. 3 log CFU/ml)을 실시한다.
- *A. citrulli* solution의 105 배 희석액 1 ml을 micropipette을 이용하여 취한 후 9 ml 의 NB가 담긴 50 ml conical tube에 접종 (ca. 2 log CFU/ml) 한다. (균주 당 7 개의 10 ml NB에 접종 (0, 12, 24, 48, 72 h), 5 samples/Rep. × 3 Rep. = 균주당 총 21 개의 10 ml NB에 접종)

③ 식물병원균의 배양

- 10 ml의 *A. citrulli* 배양액 (ca. 2 log CFU/ml)이 담긴 50 ml conical tube를 30°C에서 최대 72 시간 동안 배양한다.

④ 식물병원균의 개체수 및 성장속도 확인

- *A. citrulli*의 접종 시점으로부터 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72 시간마다 PDA plate에 direct plating을 실시하여 개체 수를 확인한다.

(나) 식물병원성 진균 (*A. brassicicola*, *D. bryoniae*, *C. orbiculare*)의 생육 패턴 확인

① 식물병원균의 준비

- 4°C에 보관된 *A. brassicicola*, *D. bryoniae* 및 *C. orbiculare* 14 균주의 plate stock에서 멸균된 배지용 펀치 (ca. 5 mm diameter)를 이용하여 생장이 왕성한 colony의 균사 및 포자와 그 아래 고체배지까지 같이 흡집을 내어 주변 배지로부터 완전히 분리시킨다.
- 흡집이 난 colony 및 배지 조각을 white loop (ca. 1 µl)를 이용하여 배지 밑면에서부터 그대로 덜어낸 후 새로운 PDA plate 중앙부에 접종한다.
- 배지 및 colony의 접종 후 25°C에서 7 일간 배양한다.

② 식물병원균의 접종

- 25°C에서 7일간 배양된 진균의 colony를 포함하는 고체배지를 준비한다.
- Colony의 크기에 따라 약 7-10 ml의 멸균 증류수를 10 ml pipette을 이용하여 분주한다.
- Spreader를 이용하여 배지 위 colony의 hyphae (균사), mycelium (균사체) 및 spore를 배지의 한쪽으로 긁어 모아준다.
- 멸균된 거즈 (10 cm × 10 cm) 3장을 멸균된 유리 깔때기 안쪽 빗면에 위치시킨다.
- 50 ml conical tube의 cap을 열고 멸균 거즈 및 깔때기를 conical tube 위에 위치시킨다.
- 고체 배지 위 hyphae, mycelium 및 spore suspension을 10 ml pipette을 이용하여 취한 후 conical tube 위 깔때기에 분주한다. (이 때 mycelium 및 hyphae 를 포함한 불순물은 거즈 위에 남고 spore suspension이 여과된다).
- 50 ml conical tube에 여과된 spore suspension 0.1 ml을 micropipette (2-200 µl)을 이용하여 취한 후 1.5 ml microcentrifuge tube (EP tube)에 분주한다.
- Spore suspension이 담긴 EP tube에 0.9 ml의 멸균 증류수를 micropipette을 이용하여 분주하여 10배 희석한다. (Spore suspension 희석 시, 3-4회 pipetting을 실시하여 suspension이 균일하게 희석될 수 있도록 한다).
- Spore suspension의 십진희석 과정을 한번 더 반복하여 원액을 총 100 배 희석시킨다.
- Hemocytometer의 홈 위에 cover glass를 위치시킨다.
- 100 배 희석된 spore suspension 10 µl를 micropipette (2-200 µl)을 이용하여 취한 뒤 cover glass가 덮힌 hemocytometer의 홈에 주입한다.
- Suspension이 주입된 hemocytometer를 광학현미경의 재물대에 위치시킨 후 spore를 계수한다.
- Spore를 계수할 때는 counter를 이용하여 hemocytometer의 눈금 중 그림 1의 실선으로 표시된 4개의 정사각형 안의 spore 수를 각각 계수하여 평균한다. (이 때, hemocytometer 위 실선으로 표시된 정사각형 안 spore의 수가 너무 많아 계수가 어려울 경우, spore solution의 십진희석 과정을 한번 더 반복한다).

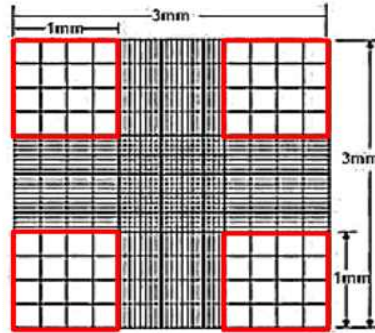


그림 1. Hemocytometer 위 눈금

- 실선으로 표시된 정사각형 안 spore 수의 평균을 구하여 spore suspension 원액의 농도를 계산한다. (실선으로 표시된 정사각형의 깊이= 0.1 mm; 실선으로 표시된 정사각형의 부피= 1.0 mm² × 0.1 mm² = 10⁻⁴ cm³ = 10⁻⁴ ml; Spores / ml = (계수된 spore 수의 평균 × 희석배수 × 10⁴) / ml)
- D.W.를 이용하여 spore suspension의 농도가 10⁶ spores/ml이 되도록 희석한다.
- 희석된 spore suspension 0.1 ml (ca. 10⁵ spores)을 micropipette을 이용하여 취한 후 PDA plate 중앙에 접종한다. (14 PDA plate/Rep. × 3 Rep. = 42 PDA plates; 총 14개의 균주를 균주 당 3개씩, 총 42개의 PDA plates에 접종).

③ 식물병원균의 배양

- 0.1 ml의 conidia suspension (ca. 10⁴ conidia)이 접종된 PDA plate를 뚜껑이 천정을 향한 상태 그대로 25°C에서 최대 7일간 배양한다.

④ 식물병원균의 개체수 및 성장속도 확인

- 진균의 접종 시점으로부터 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7일마다 colony에서 직각을 이루는 두 지름의 길이를 측정하여 평균값을 구한 후 colony의 면적을 확인한다.

(2) 연구 결과

(가) 식물병원성 세균 (*A. citrulli*)의 생육 패턴

① *A. citrulli*의 생육개체수

- *A. citrulli*의 개체수는 접종 후 48시간일 때 가장 높았다.

표 1. *A. citrulli* 5 균주를 NB에 접종한 후 30°C에서 총 72시간 동안 배양하며 0, 12, 24, 48, 72 시간마다 측정된 개체수

A. citrulli strain	Rep.	Populations (log CFU/ml)				
		Time (h)				
		0	12	24	48	72
17000	AVG.	2.2	4.2	7.3	9.0	8.4
	S.D.	0.2	0.0	0.1	0.0	0.1
17001	AVG.	2.8	4.9	7.9	8.9	8.3
	S.D.	0.0	0.0	0.0	0.1	0.1
17005	AVG.	2.6	4.8	7.6	8.9	8.4
	S.D.	0.0	0.1	0.0	0.1	0.0
17909	AVG.	2.7	4.7	7.6	8.9	8.6
	S.D.	0.0	0.1	0.1	0.0	0.1
17910	AVG.	2.8	4.8	7.5	9.0	8.5
	S.D.	0.0	0.1	0.1	0.1	0.1

② *A. citrulli*의 생육곡선

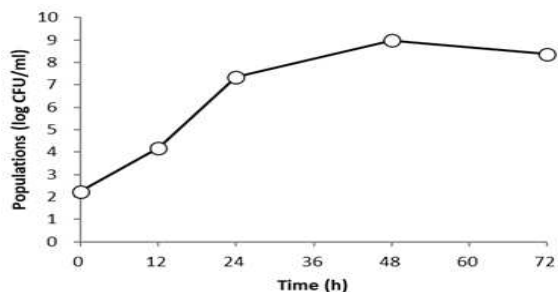


그림 2. 30°C, NB 에서 72 시간 동안 배양된 *A. citrulli* KACC 17000 의 성장 곡선

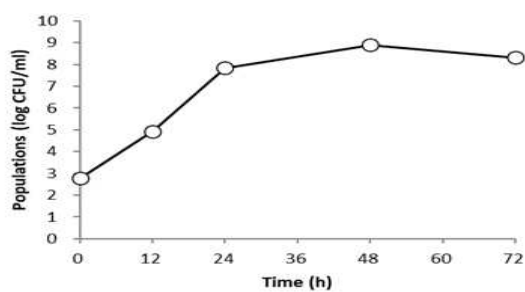


그림 3. 30°C, NB 에서 72 시간 동안 배양된 *A. citrulli* KACC 17001 의 성장 곡선

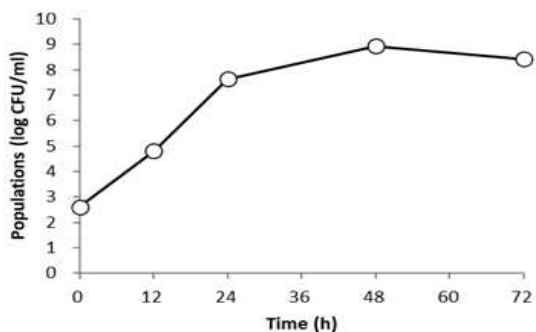


그림 4. 30°C, NB 에서 72 시간 동안 배양된 *A. citrulli* KACC 17005 의 성장 곡선

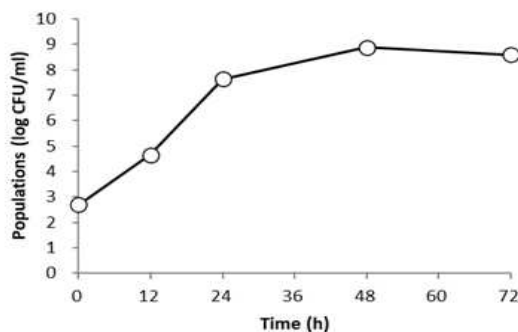


그림 5. 30°C, NB 에서 72 시간 동안 배양된 *A. citrulli* KACC 17909 의 성장 곡선

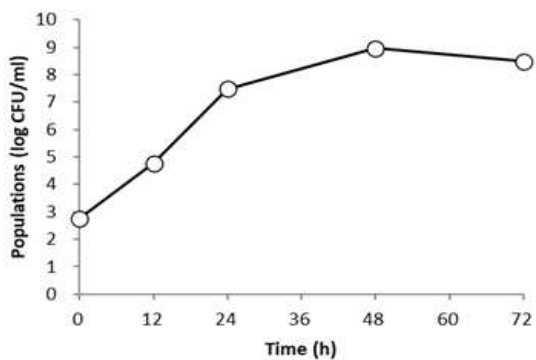


그림 6. 30°C, NB 에서 72 시간 동안 배양된 *A. citrulli* KACC 17910 의 성장 곡선

(나) 식물병원성 진균 (*A. brassicicola*, *D. bryoniae*, *C. orbiculare*)의 생육 패턴

① *A. brassicicola*, *D. bryoniae*, *C. orbiculare*의 colony 형상

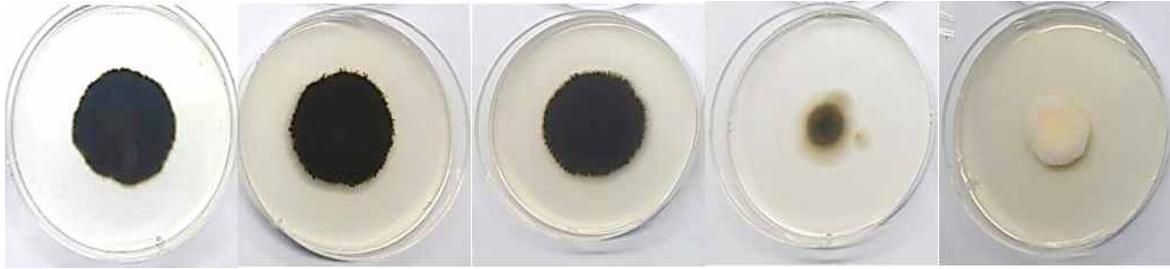


그림 7. 25°C, PDA 에서 7 일간 배양한 *A. brassicicola* 의 colony 형상 (좌측부터 40034, 40036, 42464, 42465, 40857).



그림 8. 25°C, PDA 에서 7 일간 배양한 *D. bryoniae* 의 colony 형상 (좌측부터 40900, 40937, 40939, 40938, 40669)



그림 9. 25°C, PDA 에서 7 일간 배양한 *C. orbiculare* 의 colony 형상 (좌측부터 40903, 40809, 40808, 42457)

② *A. brassicicola*, *D. bryoniae*, *C. orbiculare*의 colony 지름

표 2. 식물 병원균 (fungus) 14 균주를 각 1.0×10⁴ conidia/plate 로 PDA 에 접종 후 25°C 에서 배양하며 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 일마다 측정된 colony 의 diameter

균주명	Rep.	Diameter (mm)						
		Time (day)						
		1	2	3	4	5	6	7
<i>D. bryoniae</i> 40938	AVG.	11.5	32.8	51.0	67.3	81.3	85.0 ^b	85.0 ^b
	S.D.	1.5	1.0	2.0	2.3	1.2	0.0	0.0
<i>D. bryoniae</i> 40939	AVG.	16.3	30.5	48.8	66.5	82.8	85.0 ^b	85.0 ^b
	S.D.	1.5	0.5	2.0	1.3	1.9	0.0	0.0
<i>D. bryoniae</i> 40900	AVG.	16.3	34.5	55.7	78.2	80.0	85.0 ^b	85.0 ^b
	S.D.	0.6	0.5	0.3	1.6	0.0	0.0	0.0
<i>D. bryoniae</i> 40937	AVG.	20.0	39.2	51.8	68.0	78.7	85.0 ^b	85.0 ^b
	S.D.	0.0	1.4	1.0	0.9	2.3	0.0	0.0
<i>C. orbiculare</i> 42457	AVG.	17.5	31.8	43.8	55.5	66.8	80.0	85.0 ^b
	S.D.	0.5	0.3	0.8	1.5	3.9	0.0	0.0
<i>D. bryoniae</i> 40669	AVG.	16.8	25.5	37.0	51.8	63.5	69.2	73.0
	S.D.	0.3	0.9	1.0	1.0	1.3	1.4	1.3
<i>A. brassicicola</i> 40036	AVG.	15.0	20.3	26.0	31.3	37.3	41.7	45.5
	S.D.	0.0	0.3	0.5	0.8	0.6	2.0	1.3
<i>A. brassicicola</i> 42464	AVG.	15.5	23.7	27.3	32.5	37.0	43.5	48.3
	S.D.	0.9	0.6	0.3	0.5	0.5	2.3	1.0
<i>A. brassicicola</i> 40034	AVG.	13.3	16.8	25.7	29.7	33.8	37.8	41.5
	S.D.	1.2	1.0	1.3	1.2	0.6	1.3	2.3
<i>C. orbiculare</i> 40903	AVG.	14.3	14.5	22.0	26.8	32.7	39.2	41.7
	S.D.	0.3	2.2	1.0	1.0	0.8	0.6	0.3
<i>C. orbiculare</i> 40808	AVG.	17.0	17.7	25.2	26.5	30.7	34.2	36.8
	S.D.	0.5	0.6	1.3	0.9	0.8	0.8	1.0
<i>C. orbiculare</i> 40809	AVG.	15.7	17.3	21.0	24.3	28.7	31.5	37.7
	S.D.	0.6	0.6	2.0	2.0	2.9	3.1	3.1
<i>A. brassicicola</i> 42465	AVG.	14.0	16.3	18.3	21.3	24.0	25.5	27.8
	S.D.	0.0	0.3	0.6	0.8	0.0	0.9	0.3
<i>A. brassicicola</i> 40857	AVG.	13.3	15.2	16.7	19.3	21.7	24.5	25.5
	S.D.	0.6	0.8	0.3	0.6	0.3	1.0	0.5

^a Colony 의 중심을 기준으로 직각을 이루는 두 지름의 평균값

^b Colony diameter 의 최대값

③ *A. brassicicola*, *D. bryoniae*, *C. orbiculare*의 성장률

표 3. *A. brassicicola*, *D. bryoniae*, *C. orbiculare* 의 성장률

균주명	Growth Rate (mm/day)
<i>D. bryoniae</i> 40938	17.5
<i>D. bryoniae</i> 40939	16.5
<i>D. bryoniae</i> 40940	15.9
<i>D. bryoniae</i> 40937	14.7
<i>C. orbiculare</i> 42457	12.3
<i>D. bryoniae</i> 40669	11.7
<i>A. brassicicola</i> 40036	5.6
<i>A. brassicicola</i> 42464	5.4
<i>A. brassicicola</i> 40034	5.1
<i>C. orbiculare</i> 40903	4.6
<i>C. orbiculare</i> 40808	3.4
<i>C. orbiculare</i> 40809	3.3
<i>A. brassicicola</i> 42465	2.5
<i>A. brassicicola</i> 40857	2.1

^a진균 접종후 1일에서 5일동안 colony diameter의 일일 평균 증가량

다. 대상종자의 병원균 접종 방식과 종자의 발아모델 구축

(1) 연구 방법

(가) 식물병원성 세균 (*A. citrulli*)의 접종 및 개체수 확인

① 식물병원균의 준비

- 4°C에 보관된 *A. citrulli* 5 균주의 slant stock에서 blue needle을 이용하여 single colony를 취한 후 30 ml의 NB가 담긴 50 ml conical tube에 접종한다.
- 30°C에서 48 시간 정지 배양한다.

② 식물병원균의 Cocktail 제조

- NB에서 48 시간 동안 배양된 5 균주의 *A. citrulli* solution 10 ml이 담긴 50 ml conical tube를 각각 centrifuge에 위치시키고 2002 rcf에서 15 분간 원심분리한다.
- 원심분리가 끝난 5 균주의 *A. citrulli* solution 상층액을 10 ml pipette을 이용하여 각각 제거한다.
- 상층액이 제거된 *A. citrulli* pellet이 담긴 50 ml conical tube에 10 ml의 PBS를 10 ml pipette을 이용하여 분주한 후 vortexing을 실시한다.
- 각각의 *A. citrulli* 5 균주의 solution 10 ml이 담긴 50 ml conical tube에서 micropipette을 이용하여 1 ml의 solution을 취한 후 새로운 50 ml conical tube에 분주하여 섞어준다. (균주당 1 ml씩 총 5 ml의 *A. citrulli* cocktail을 제조)
- 제조된 *A. citrulli* cocktail (9 log CFU/ml)을 9 ml PBS를 이용하여 2 번 십진희석시킨다.
- 희석된 *A. citrulli* cocktail (7 log CFU/ml) 3 ml을 micropipette을 이용하여 취한 후 27 ml PBS가 담긴 50 ml conical tube에 분주하여 30 ml의 *A. citrulli* cocktail (ca. 6 log CFU/ml)을 제조한다.

③ 식물병원균의 접종 (Dipping)

- 각 종자 시료를 멸균된 스푼을 이용하여 10 g씩 정량한 후 50 ml conical tube에 각각 담는다.
- 30 ml의 *A. citrulli* cocktail을 10 g의 종자시료가 담긴 50 ml conical tube에 붓는다.
- *A. citrulli* cocktail과 10 g의 종자시료가 담긴 50 ml conical tube의 뚜껑을 닫고 5 분간 잘 흔들어 준다.

④ 건조 (drying)

- 멸균된 sterile sieve 를 1,000 또는 2,000 ml plastic tall beaker 위 부분에 위치시킨다.
- 5 분간 처리된 10 g의 종자시료와 30 ml의 *A. citrulli* cocktail을 멸균된 sterile sieve에 부어 종자시료를 걸러낸다.
- Sterile sieve 위 걸러진 종자시료를 멸균된 spoon을 이용하여 잘 펼쳐준 후 2 시간동안 laminar flow bio safety hood에서 건조시킨다.

⑤ 세척 (washing)

- Sterile sieve에서 건조된 10 g의 종자시료를 멸균 spoon을 이용하여 30 ml의 D.W가 담긴 50 ml conical tube에 옮겨 담고 1 분간 잘 흔들어 준다.
- 멸균된 sterile sieve를 1,000 또는 2,000 ml plastic tall beaker 위 부분에 위치시키고 10 g의 종자시료 및 30 ml의 증류수를 부어 종자시료를 걸러낸다.
- 위의 washing과정을 한번 더 반복한다.

④ pummeling

- Bacteria Whirl-pak bag을 전자저울에 올린 후 영점을 맞춘다.
- 종자시료 5 g을 멸균된 spoon을 이용하여 전자저울 위 whirl-pak bag에 넣어준다.
- 50 ml pipette을 이용하여 50 ml의 PBS를 종자시료가 담긴 whirl-pak bag에 분주한다.
- Whirl-pak bag의 입구를 봉한 후 stomacher (Interscience BagMixer 400W)에서 1 분간 pummeling한다.

④ 개체수 확인

- Pummeling이 끝난 whirl-pak bag에서 solution을 취하여 NA plate에 direct plating 한다.
- 30°C 에서 48 시간 동안 배양시킨 후 counting을 실시한다.

(나) 식물병원성 진균 (*A. brassicicola*, *D. bryoniae*, *C. orbiculare*)의 접종 및 개체수 확인

① 식물병원균의 준비

- 4°C 에 보관된 *A. brassicicola*, *D. bryoniae* 6 균주의 plate stock에서 멸균된 배지용 펀치 (ca. 5 mm diameter)를 이용하여 생장이 왕성한 colony의 균사 및 포자와 그 아래 고체 배지까지 같이 흡집을 내어 주변 배지로부터 완전히 분리 시킨다.
- 흡집이 난 colony 및 배지 조각을 white loop (ca. 1 μ l)를 이용하여 배지 밑면에서부터 그대로 덜어낸 후 새로운 PDA plate 중앙부에 접종한다.
- 배지 및 colony의 접종 후 25°C 에서 7 일간 배양한다.

② 식물병원균의 Cocktail 제조

- 25°C 에서 7 일간 배양된 진균의 colony를 포함하는 고체배지를 준비한다.
- Colony의 크기에 따라 약 7-10 ml의 멸균 증류수를 10 ml pipette을 이용하여 분주한다.
- Spreader를 이용하여 배지 위 colony의 hyphae (균사), mycelium (균사체) 및 spore를 배지의 한쪽으로 긁어 모아준다.
- 멸균된 거즈 (10 cm \times 10 cm) 3 장을 멸균된 유리 깔때기 안쪽 빗면에 위치시킨다.
- 50 ml conical tube의 cap을 열고 멸균 거즈 및 깔때기를 conical tube 위에 위치시킨다.
- 고체 배지 위 hyphae, mycelium 및 spore suspension을 10 ml pipette을 이용하여 취한 후 conical tube 위 깔때기에 분주한다. (이 때 mycelium 및 hyphae 를 포함한 불순물은 거즈 위에 남고 spore suspension이 여과된다.; 균주에 따라 3-5 ml의 spore suspension이 거즈 아래로 걸러진다).
- 50 ml conical tube에 여과된 spore suspension 0.1 ml을 micropipette (2-200 μ l)을 이용하여 취한 후 1.5 ml microcentrifuge tube (EP tube)에 분주한다.
- Spore suspension이 담긴 EP tube에 0.9 ml의 멸균 증류수를 micropipette을 이용하여 분주하여 10 배 희석한다. (Spore suspension 희석 시, 3-4 회 pipetting을 실시하여 suspension이 균일하게 희석될 수 있도록 한다).
- Spore suspension의 십진희석 과정을 한번 더 반복하여 원액을 총 100 배 희석시킨다.
- Hemocytometer의 홈 위에 cover glass를 위치시킨다.
- 100 배 희석된 spore suspension 10 μ l를 micropipette (2-200 μ l)을 이용하여 취한 뒤 cover glass가 덮힌 hemocytometer의 홈에 주입한다.
- Suspension이 주입된 hemocytometer를 광학현미경의 재물대에 위치시킨 후 spore를 계수한다.
- Spore를 계수할 때는 counter를 이용하여 hemocytometer의 chamber 중 그림 1의 실선으

로 표시된 4개의 counting chamber 내 spore 수를 각각 계수하여 평균값을 구한다. (이 때, counting chamber내 spore의 수가 너무 많아 계수가 어려울 경우, spore solution의 십진희석 과정을 한번 더 반복한다).

- Counting chamber 내 spore 수의 평균을 구하여 spore suspension 원액의 농도를 계산한다. (실선으로 표시된 정사각형의 깊이= 0.1 mm; 실선으로 표시된 정사각형의 부피= 1.0 mm² × 0.1 mm = 10⁻⁴ cm³ = 10⁻⁴ ml; Spores / ml = (계수된 spore 수의 평균 × 희석 배수 × 10⁴) / ml)
- 각 균주의 spore suspension을 PBS로 희석하여 60 ml 의 spore suspension (ca. 1.0× 10⁵ conidia/ml)을 제조한다. (6 종자시료에 접종시 균주 당 60 ml의 suspension이 필요)
- 각 균주의 spore suspension (ca. 1.0×10⁵ conidia/ml) 60 ml을 50 ml pipette을 이용하여 취한 후 멸균된 200 ml bottle 에 분주한다. (3 균주 * 60 ml = 180 ml spore cocktail)
- 180 ml cocktail이 들어있는 200 ml bottle을 stirring하면서 50ml pipette으로 30 ml씩 취해 50 ml conical에 6번 분주한다.

③ 식물병원균의 접종 (Dipping)

- 각 종자시료를 멸균된 스푼을 이용하여 10 g씩 정량한 후 50 ml conical tube에 각각 담는다.
- 30 ml의 A. citrulli cocktail을 10 g의 종자시료가 담긴 50 ml conical tube에 붓는다.
- A. citrulli cocktail과 10 g의 종자시료가 담긴 50 ml conical tube의 뚜껑을 닫고 5 분간 잘 흔들어 준다.

④ 건조 (drying)

- 멸균된 sterile sieve 를 1,000 또는 2,000 ml plastic tall beaker 위 부분에 위치시킨다.
- 5 분간 처리된 10 g의 종자시료와 30 ml의 A. citrulli cocktail을 멸균된 sterile sieve에 부어 종자시료를 걸러낸다.
- Sterile sieve 위 걸러진 종자시료를 멸균된 spoon을 이용하여 잘 펼쳐준 후 2 시간동안 laminar flow bio safety hood에서 건조시킨다.

⑤ 세척 (washing)

- Sterile sieve에서 건조된 10 g 의 종자시료를 멸균 spoon을 이용하여 30 ml의 D.W가 담긴 50 ml conical tube에 옮겨 담고 1 분간 잘 흔들어 준다.
- 멸균된 sterile sieve를 1,000 또는 2,000 ml plastic tall beaker 위 부분에 위치시키고 10 g 의 종자시료 및 30 ml의 증류수를 부어 종자시료를 걸러낸다.
- 위의 washing 과정을 한번 더 반복한다.

④ pummeling

- Bacteria Whirl-pak bag을 전자저울에 올린 후 영점을 맞춘다.
- 종자시료 5 g을 멸균된 spoon을 이용하여 전자저울 위 whirl-pak bag에 넣어준다.
- 50 ml pipette을 이용하여 50 ml의 PBS를 종자시료가 담긴 whirl-pak bag에 분주한다.
- Whirl-pak bag의 입구를 봉한 후 stomacher (Interscience BagMixer 400W)에서 1 분간 pummeling한다.

④ 개체수 확인

- Pummeling이 끝난 whirl-pak bag에서 solution을 취하여 PDA plate에 direct plating 한다.
- 25℃ 에서 72 시간 동안 배양시킨 후 counting을 실시한다.

(2) 연구 결과

(가) 식물병원성 세균 (*A. citrulli*)의 접종 개체수

- *A. citrulli*가 가장 높은 개체수로 접종된 종자는 상추 (4.4 log CFU/g)이고, 가장 낮은 개체수로 접종된 종자는 수박 (3.4 log CFU/g)이었다.

표 4. 6 종류의 종자 시료 (10 g)를 *A. citrulli* cocktail suspension (ca. 6 log CFU/g)에 dipping 후 종자시료 표면에 존재하는 *A. citrulli* 개체 수 확인

종자시료	Rep	Populations (log CFU/g)
상추	AVG.	4.4
	S.D.	0.1
고추	AVG.	4.2
	S.D.	0.1
멜론	AVG.	4.1
	S.D.	0.1
오이	AVG.	4.0
	S.D.	0.1
무	AVG.	3.9
	S.D.	0.1
수박	AVG.	3.4
	S.D.	0.1

(나) 식물병원성 진균 (*A. brassicicola*, *D. bryoniae*, *C. orbiculare*)의 접종 개체수

- *A. brassicicola*가 가장 높은 개체수로 접종된 종자는 상추 (3.0 log CFU/g)이고, 가장 낮은 개체수로 접종된 종자는 무 (2.4 log CFU/g)이었다.
- *D. bryoniae*가 가장 높은 개체수로 접종된 종자는 오이, 멜론 (2.9 log CFU/g)이었으며, 가장 낮은 개체수로 접종된 종자는 고추 (1.7 log CFU/g)이었다.

표 5. 6 종류의 종자 시료 (10 또는 5 g)를 *A. brassicicola* 또는 *D. bryoniae* cocktail suspension (ca. 5 log CFU/g)에 dipping 후 종자시료 표면에 존재하는 진균 개체 수

종자시료	Rep.	Populations (log CFU/g)	
		<i>A. brassicicola</i>	<i>D. bryoniae</i>
상추	AVG.	3.0	2.4
	S.D.	0.1	0.0
고추	AVG.	2.8	1.7
	S.D.	0.0	0.3
멜론	AVG.	2.8	2.9
	S.D.	0.1	0.1
오이	AVG.	2.8	2.9
	S.D.	0.2	0.3
무	AVG.	2.4	2.4
	S.D.	0.2	0.1
수박	AVG.	2.5	1.8
	S.D.	0.0	0.2

(다) 식물병원균의 type (세균 또는 진균)에 따른 접종량 비교

① 식물병원성 세균 (*A. citrulli* 5 균주)의 접종량

- 접종 농도: 6 log CFU/ml
- 접종량: 3.4-4.4 log CFU/g

② 식물병원성 진균 (*A. brassicicola* 3 균주, *D. bryoniae* 3 균주)

- 접종 농도: 5 log CFU/ml
- *A. brassicicola* 접종량: 2.4-3.0 log CFU/g
- *D. bryoniae* 접종량: 1.7-2.9 logCFU/g

라. 종자별 건열 및 습열처리에 대한 저항성 확인

(1) 연구 방법

(가) 종자의 건열 및 습열처리 방법 결정 및 발아율 측정을 통한 저항성 확인

① 상대습도 용액의 준비

- 2 L bottle에 stir bar를 넣고 멸균증류수 1.6 L를 넣는다.
- Stirring을 하면서 potassium carbonate (43%), potassium chloride (85%)를 적당량 넣어 준다.
- Potassium carbonate solution이 더 이상 투명해지지 않고 과포화 상태가 될 때까지 용질을 추가해준다.

② 과포화수용액의 상대습도 측정

- AquaLab models Series 3 (Decagon Devices Inc)을 이용하여 과포화 상태 solution의 수분활성도 (aw)를 측정한다.
- 기기의 전원을 20분간 켜두어 기계를 warm-up 시켜준다.
- AquaLab에서 제공하는 standard vial (aw 0.0984, 0.760, 0.500, 0.250) 중 aw 0.0984 vial 내용물의 전부를 disposable sample cup (Decagon Devices Inc)에 붓는다.
- Sample이 담긴 컵을 sample drawer에 놓고 컵 안의 sample이 넘치지 않도록 조심해서 drawer을 닫아준다.
- Drawer 외부에 있는 방향키를 read 방향으로 돌려주어 aw 0.0984의 영점을 맞춘다.
- 영점을 맞춘 후, 측정하고자 하는 상대습도와 비슷한 standard vial을 새로운 sample cup에 붓고 위와 동일한 방법으로 영점을 추가로 맞춰준다. (예, 43% 상대습도측정 시 aw 0.500으로 영점 조정.)
- 영점 조정 후 5 ml pipette으로 과포화수용액 4 ml을 취해 새 sample cup에 분주한다.
- Sample cup을 sample drawer에 놓은 뒤 drawer를 닫는다.
- Drawer 외부에 있는 방향키를 read 방향으로 돌려준다.
- 스크린의 좌측 상단에 초록빛이 들어올 때 스크린의 수분활성도를 읽어준다.

③ 종자의 건열 및 습열 처리

- 재배틀 안에 sieve (75 mm diameter, 600 μ m pore size; Chung Gye Sang Gong Sa) 를 넣고 121°C에서 15분 동안 멸균한다.
- 상대습도 용액이 들어있는 2 L bottle을 121°C에서 15분 동안 멸균한다.
- 멸균된 sieve가 들어있는 멸균된 재배틀 안에 100 ml pipette으로 멸균된 상대습도 용액을 25 ml 분주한다.

- 용기의 뚜껑을 닫아 밀봉한다.
- 실험에 사용하기 전 용기 내부 상대습도를 맞춰 주기 위해 50°C, 24시간 인큐베이터에 정 처한다.
- 건 종자시료 5 g을 멸균된 spoon으로 weighing paper에 정량하여 43% 상대습도 용액이 들어있는 재배틀에 21±2°C에서 1시간 놓아두어 종자를 warm-up 시켜준다.
- 50°C에서 상대습도가 맞춰진 용기를 꺼내 용기 내부의 sieve 위에 정량한 종자를 붓는다.
- 용기 뚜껑을 닫아 밀봉한 후 50°C에서 24 시간 동안 열처리한다.
- 24 시간 열처리 후, 용기를 꺼내 멸균된 forcep을 이용하여 sieve 위 종자 시료 중 정상 종자시료 선별하여 50 알씩 PP용지에 치상시켜 발아율을 측정한다.
- 종자 별 발아율 조사 시기에 발아율 측정한다.

(2) 연구 결과

(가) 종자의 건열 및 습열처리 방법 결정 및 발아율 측정을 통한 저항성 확인

① 건열 및 습열 처리된 종자의 1차 발아율

표 6. 작물별 종자시료 5~10 g를 상대습도 23, 43, 100%, 50°C에서 24 시간 동안 처리 후 치상하여 1 차 발아율을 측정한 결과

작물명 b	Rep.	1 차 발아율 (%)			
		Controla	23% RH-heat	43% RH-heat	100% RH - heat
오이	AVG.±S.D	19.3	1.3	20.0	0
		6.1	1.2	6.9	0
멜론	AVG.±S.D	50.0	4.0	54.7	11.3
		3.5	3.5	4.2	3.1
무	AVG.±S.D	86.0	78.7	86.7	29.3
		2.0	1.2	3.1	8.1
상추	AVG.±S.D	96.0		88.0	
		4.0		3.5	
양배추	AVG.±S.D	75.3	69.3	82.7	0
		9.5	8.3	7.6	0
고추	AVG.±S.D	30.7	7.3	48.0	0
		1.2	7.6	2.0	0
호박	AVG.±S.D	66.0	62.0	70.7	62.7
		6.9	6.9	14.0	11.4
수박	AVG.±S.D	65.3		64.7	
		3.1		4.2	

a4°C 에 보관된 건종자 시료를 아무런 처리를 가하지 않고 치상
b2nd lot 의 종자시료를 사용하였으며 아무런 처리를 가하지 않고 치상하였을 때 작물 중 오이와 멜론은 1 차발아율이 1st lot 보다 낮음

② 건열 및 습열 처리된 종자의 2차 발아율

표 7. 작물별 종자시료 5~10 g를 상대습도 23, 43, 100%, 50°C에서 24 시간 동안 처리 후 치상하여 2 차 발아율을 측정된 결과

작물명 b	Rep.	2 차 발아율 (%)			
		Controla	23% RH-heat	43% RH-heat	100% RH-heat
상추	AVG.±S.D	96.0±4.0 A		88.0±3.5 B	
무	AVG.±S.D	86.0±2.0 A	78.7±1.2 A	86.7±3.1 A	29.3±8.1 B
양배추	AVG.±S.D	75.3±9.5 A	69.3±8.3 A	82.7±7.6 A	0±0 B
호박	AVG.±S.D	66.0±6.9 A	62.0±6.9 A	70.7±14.0 A	62.7±11.4 A
수박	AVG.±S.D	65.3±3.1 A		64.7±4.2 A	
멜론	AVG.±S.D	50.0±3.5 A	4.0±3.5 C	54.7±4.2 A	11.3±3.1 B
고추	AVG.±S.D	30.7±1.2 B	7.3±7.6 C	48.0±2.0 A	0±0 C
오이	AVG.±S.D	19.3±6.1 A	1.3±1.2 B	20.0±6.9 A	0±0 B

a4°C에 보관된 건종자 시료를 아무런 처리를 가하지 않고 치상
b2nd lot의 종자시료를 사용하였으며 아무런 처리를 가하지 않고 치상하였을 때 작물 중 오이와 멜론은 1차 발아율이 1st lot보다 낮음
Comparison of the effect of RH: value in the same row that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different (P ≤ 0.05).

2. 길항미생물 대사체를 이용한 종자살균 연구

가. 기 분리된 물질 또는 조추출물의 종자 병원균에 대한 항균활성 검정

(1) 연구 방법

(가) 국내에서 종자에 병을 일으키는 KACC 등재 균주 선발

- 종자에 병을 일으킨다고 보고된 KACC 균주를 조사하여 선발한다.

(나) 감염 종자에서 병원균 분리

- 종자별 발아율 테스트에서 이미 병원균에 감염된 종자를 선발한다.
- 감염 종자를 PDA 배지 위에 올려놓고 곰팡이가 배지위에 자랄 때까지 배양한다.
- 곰팡이의 균사를 계대해서 7일간 28°C에서 배양하고, 포자 및 균사를 수확하여 감염되지 않은 종자에 감염을 유도하여 종자병을 일으키는지 확인한다.

(다) 선발된 곰팡이 in vitro 조건에서 종자감염 유도

- PDA 배지에서 곰팡이를 7일간 배양한다.
- 곰팡이의 포자 또는 균사를 수확하여 1x10⁵ conidia/ml로 희석한다.
- 종자를 위의 희석액에 담가 종자 감염을 유도한다.
- ISTA의 종자 발아모델 가이드에 따라 감염 종자를 발아시키고 발아율 및 이병률을 확인한다.

(라) 기 분리된 물질 및 조추출물의 종자병원균에 대한 항균활성 검정

- PDA 배지상에서 paper disc assay와 대치배양법을 통해서 종자병원균에 대해서 항균활성을 갖는지 확인한다.

(2) 연구 결과

(가) 국내에서 종자에 병을 일으키는 KACC 등재 균주 선발

- 종자에 감염을 일으킨다고 알려진 *Didymella bryoniae* KACC 균주(KACC 40937, 40938, 40939)을 선발하여 실험하였다.

표 8. 종자에 감염을 일으키는 KACC 등재 균주

균주명	학명	구분	대상종자
KACC 40939	<i>Didymella bryoniae</i>	fungi	멜론
KACC 40938	<i>Didymella bryoniae</i>	fungi	호박
KACC 40937	<i>Didymella bryoniae</i>	fungi	수박

(나) 감염 종자에서 병원균 분리

- 종자별 발아율 테스트에서 이미 병원균에 감염된 종자를 선발한다(그림 10).



그림 10. 감염된 양배추 종자(왼쪽)와 고추 종자(오른쪽).

(다) 기 분리된 물질 및 조추출물의 종자병원균에 대한 항균활성 검정

- 2016년 10월 17일 현재, 종자병원균을 선발하였고, 해당 병원균에 대해서 항균활성이 있는지 검정을 수행하고 있으며 1차년도 연구기간내에 이에 대한 결과를 확인할 수 있을 것으로 예상된다.

나. 선발된 병원균 세포막/벽 분해 물질의 항진균스펙트럼 검정

(1) 연구 결과

- 현재까지 총 6061개의 천연물 라이브러리 중, 병원균 세포막/벽 분해 활성을 갖는 807개의 후보물질을 선발하였다.
- 식물 추출물 75개, 곰팡이 추출물 391개, 방선균 추출물 341개 선발하였다(표 9).
- 807개의 활성 물질 중, 178개의 물질에서 종자 병원균 *Fusarium oxysporum*에 대한 항진균 활성을 확인하였다.

표 9. 병원균 세포막/벽 분해 활성 스크리닝

Library	Total	Cell membrane disruptor
Plant	1866	75/1866 (4.0%)
Fungi	2231	391/2231 (17.5%)
Actinomycetes	1914	341/1914 (17.8%)
Total	6061	807/6061 (1.2%)

다. 비살균성 병원성 세균 밀도 제어 물질 항세균 활성 검정 스크리닝

(1) 연구 방법

(가) 비살균성 병원성 세균 밀도 제어 물질 1차 스크리닝 방법

- 세균 밀도에 따라 보라색 색소를 생성하는 *Chromobacterium violaceum* CV026 균주를 이용한다.
- CV026 균주 특성상 밀도 감지 물질 (quorum sensing molecule)이 특정 농도 이상 존재할 때 보라색을 나타내고, 감지 물질이 억제될 때 색의 생성이 억제된다.
- CV026 균주를 LB 배지에서 28°C, 1일간 배양한다.
- OD600nm를 0.1로 맞춰서 희석하고, 96 well plate에 희석액 97 μ l, QS molecule (3-oxo-C6 HSL, 10 μ M) 1 μ l, 천연물 라이브러리 2 μ l를 넣어 1일간 28°C에서 배양한다.
- 배양 후, 100 μ l의 dimethyl sulfoxide를 넣어 색소 생성 여부를 확인한다.
- 보라색 색소 생성을 억제하는 라이브러리를 선발한다.

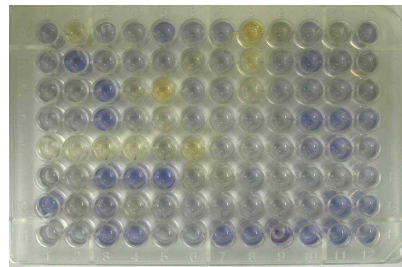


그림 11. CV026 균주를 이용한 세균 밀도 제어 물질 1차 스크리닝 시스템

(나) 비살균성 병원성세균 밀도 제어 물질 2차 스크리닝 방법

- 1차 스크리닝에서 선발된 물질의 비살균성 항세균효과를 확인하기 위해 2차 스크리닝을 수행한다.
- 1차에서 선발된 천연물 라이브러리를 paper disc에 40 μ l씩 로딩한다.
- 지름이 6cm인 petri dish에 CV026 희석액을 도말하고 선발 물질이 로딩된 paper disc를 올린다.
- Paper disc에 QS molecule를 1 μ l 로딩하고 28°C에서 1일간 배양한다.
- Paper disc 주변으로 색소의 생성이 억제되는 것을 확인한다.

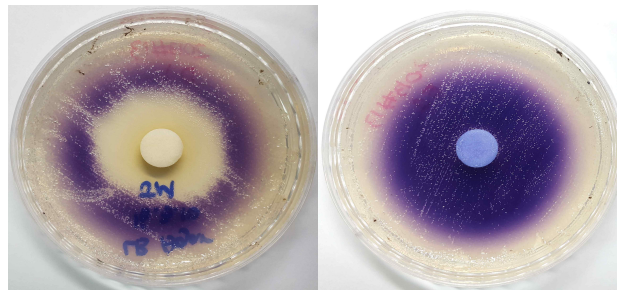


그림 12. 활성 천연물 라이브러리를 처리했을 때(왼쪽)와 처리하지 않았을 때(오른쪽)

(2) 연구 결과

- 현재까지 총 1248개의 방선균 추출물 라이브러리 중에서 1차, 2차 스크리닝 결과 36개의 후보 물질을 선발하였다.

라. 두 모델시스템을 통해 선발된 균주의 대사체 중심으로 유효성분 스크리닝

(1) 연구 방법

(가) 용매 추출법

- 방선균의 단일 균총을 배지에 접종하고, 3일간 28°C 에서 전배양한다.
- 전배양액의 1%를 대량배양액(2-10L)에 접종하고 3-5일간 28°C 에서 배양한다.
- Ethyl acetate, butanol, methanol 등의 용매를 이용하여 동량으로 추출한다.
- 다양한 크로마토그래피를 통해 추출물 정제 단계를 거쳐 균주 대사체 중 유효성분을 분리해낸다.

(2) 연구 결과

(가) 병원균 세포막/벽 분해 물질(KP6107) 정제과정(그림 13)

- 다양한 크로마토그래피를 통해 KP6107 추출물 정제 단계를 거쳐 유효성분 분리과정 진행 중이다.

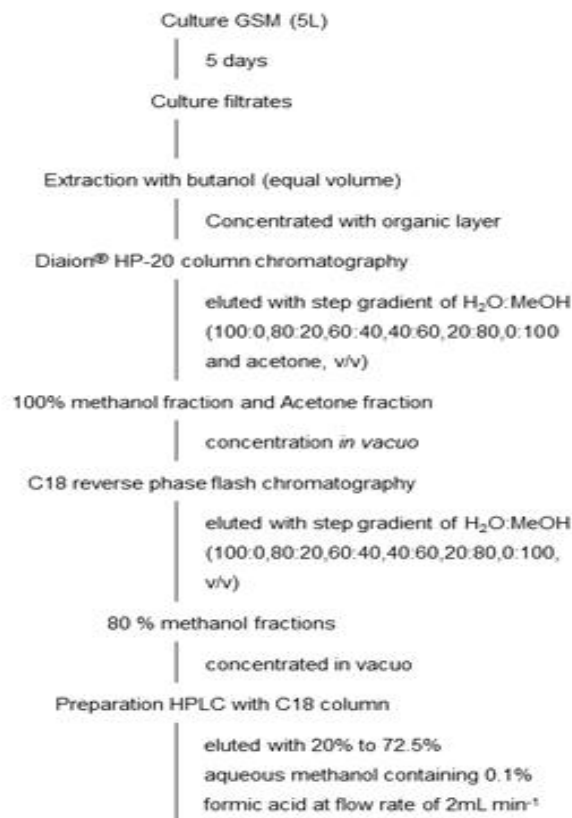


그림 13. KP6107 배양액에서 유효성분 분리과정

(나) 병원성 세균밀도 조절 물질 (KPP01532) 정제과정 (그림 14)

- 다양한 크로마토그래피를 통해 KPP01532 추출물 정제 단계를 거쳐 유효성분 분리과정 진행 중이다.

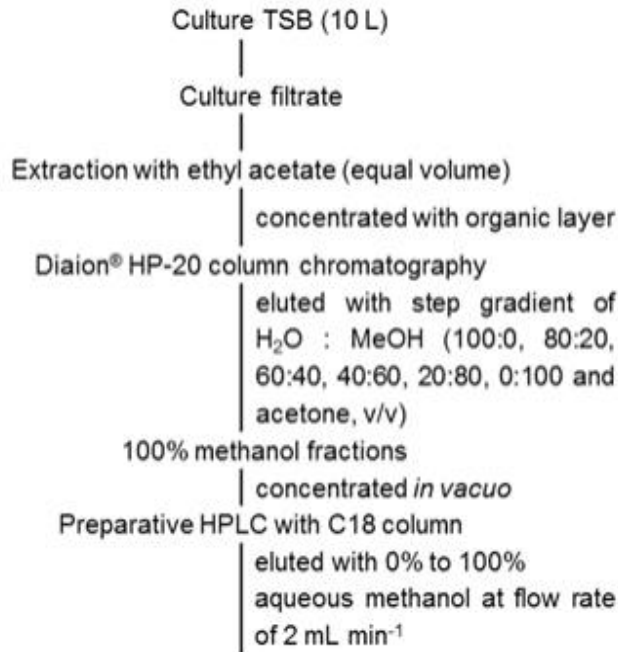


그림 14. KPP01532 배양액에서 유효성분 분리과정

[2차년도]

1. 다중스트레스 조합처리 연구 (종자의 위해미생물 제어를 위한 이산화염소 용액 기반 다중스트레스 처리기술의 개발)

가. 종자별 이산화염소 (ClO₂) 용액과 열처리에 대한 저항성 확인

(1) 연구 방법

(가) 이산화염소 용액 단일처리에 대한 종자별 발아율 확인

① 이산화염소 용액 제조

- 300 ml distilled water (DW)가 담긴 500 ml glass bottle에 멸균된 깔때기를 이용하여 7 g의 sodium chlorite를 넣는다. (이 때 300 ml 중 약 50 ml을 덜어 놓은 후 깔때기에 묻어있는 sodium chlorite를 완전히 녹인다.)
- 5 분간 stirring을 실시한다.
- 7 ml의 1N-HCl을 10 ml pipette을 이용하여 sodium chlorite solution이 담긴 glass bottle에 넣는다.
- 150 rpm으로 1 시간 동안 shaking을 실시한다.
- 9.9 ml 또는 9 ml의 DW가 담긴 test tube를 이용하여 1,000 배 희석 후 colorimeter를 이용하여 농도를 측정한다.
- DW를 이용하여 추가적인 희석과정을 실시하여 50, 100, 200 ppm의 농도를 맞추어준다.

② 이산화염소 용액 처리

- 8 종의 종자시료 (오이, 멜론, 무, 상추, 양배추, 고추, 수박, 호박) 5 g을 제조된 15 ml의 이산화염소 용액에 침지시켜 5 분간 처리한다.
- 5 분 침지가 끝난 뒤, ClO₂ 용액을 제거하고 15 ml의 멸균 증류수에 침지시켜 washing을 실시한다. 한 번 더 반복하여 총 2 번의 washing을 실시한다.
- washing 후, 멸균 증류수를 sieve에 바쳐 흘려보낸다.

③ 종자별 발아율 확인

- 멸균된 forcep을 이용하여 pleated paper 용지의 한 간격당 1 알씩 총 50 알을 치상시킨 후 국제종자검정협회 (ISTA) 기준에 따라 1, 2 차 발아율 검정을 실시한다.

(나) 다중스트레스 (ClO₂, 건조, 건열) 처리에 대한 종자별 발아율 확인

① 이산화염소 용액 제조

- 50 ppm의 이산화염소 용액을 제조하기 위해 300 ml distilled water (DW)가 담긴 500 ml glass bottle에 멸균된 깔때기를 이용하여 7 g의 sodium chlorite를 넣는다. (이 때 300 ml 중 약 50 ml을 덜어 놓은 후 깔때기에 묻어있는 sodium chlorite를 완전히 녹인다.)
- 5 분간 stirring을 실시한다.
- 7 ml의 1N-HCl을 10 ml pipette을 이용하여 sodium chlorite solution이 담긴 glass bottle에 넣는다.
- 150 rpm으로 1 시간 동안 shaking을 실시한다.
- 9.9 ml 또는 9 ml의 DW가 담긴 test tube를 이용하여 1,000 배 희석 후 colorimeter를 이용하여 농도를 측정한다. 단일처리 시 제조한 방법과 동일한 방법으로 이산화염소 용액을 제조한 다음, DW로 희석과정을 거쳐 50 ppm의 이산화염소 용액을 제조한다.

② 이산화염소 용액 처리

- 이산화염소 용액 50 ppm에 저항성을 가진 6 종의 종자 (멜론, 무, 상추, 양배추, 고추, 수박) 5g을 5 분간 침지 시켜 처리한다.

③ 건조 처리

- 건조 처리를 위해 실험 시작 24 시간 전 재배틀 안에 sieve (75 mm diameter, 600 μm pore size; Chung Gye Sang Gong Sa)를 넣어 121°C에서 15 분간 멸균한다.
- sieve가 들어있는 멸균된 재배틀의 뚜껑을 열어 25 ml pipette을 이용하여 25 ml의 멸균된 43% 상대습도 용액 (Potassium carbonate 과포화 수용액)을 sieve표면에 닿지 않게 주의하여 분주한다.
- 재배틀 뚜껑을 닫은 밀봉 한 뒤 45°C 인큐베이터에 24 시간 저장한다.
- 24 시간 저장 후 이산화염소 용액을 처리한 종자가 들어있는 conical tube에서 멸균된 spoon을 이용하여 재배틀 안에 있는 sieve로 종자를 옮겨준다. (이 때 종자를 sieve에 펼쳐주어 건조가 고루 될 수 있도록 한다.)
- 종자가 들어 있는 재배틀의 뚜껑을 닫아 밀봉 한 후 45°C 인큐베이터에 24 시간 건조 한다.
- 건조 24 시간 후 45°C에서 건조된 종자가 들어 있는 재배틀을 꺼내어 50, 60, 70, 80°C 인큐베이터에 옮겨 24 시간 동안 건열처리 한다.

④ 건열 처리

- 건조 24 시간 후 45°C에서 건조된 종자가 들어 있는 재배틀을 꺼내어 50, 60, 70, 80°C 인큐베이터에 옮겨 24 시간 동안 건열처리 한다.
- 24 시간 저장 후 건열처리 된 종자가 들어있는 재배틀을 꺼낸다.
- Sieve 위에 놓인 종자를 멸균 forcep으로 집어 발아용지 (pp 용지)의 한골에 한 개 씩 총 50 알 치상한다.

⑤ 종자별 발아율 확인

- ISTA 규정에 따라 1차, 2차 발아율 검정시기에 맞춰 발아율을 검정한다.

(2) 연구 결과

(가) 이산화염소 용액 단일처리에 대한 종자별 발아율 확인 결과

① 오이

- 아무런 처리를 가하지 않은 오이 종자 (Control)의 1차 발아율 검정 결과, 92.3±0.6%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 96.0±3.0%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 이산화염소 용액으로 단일처리한 오이 종자의 1차 발아율 검정 결과 96.7±5.8%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 96.7±5.8%의 발아율을 보였다.
- 100ppm의 이산화염소 용액으로 단일처리한 오이 종자의 1차 발아율 검정 결과 74.3±3.2%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 97.0±1.0%의 발아율을 보였다.
- 200ppm의 이산화염소 용액으로 단일처리한 오이 종자의 1차 발아율 검정 결과 74.3±14.8%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 89.3±4.0%의 발아율을 보였다.

표 10. 오이 종자시료의 ClO₂(aq)처리 농도 (ca. 50, 100, 200 µg/ml)에 따른 1, 2 차 발아율

Germination rate ± SD (%) ^b							
Control		ClO ₂ (50ppm) Treatment		ClO ₂ (100ppm) Treatment		ClO ₂ (200ppm) Treatment	
1 차	2 차	1 차	2 차	1 차	2 차	1 차	2 차
92.3±0.6 A	96.0±3.0 a	96.7±5.8 A	96.7±5.8 a	74.3±3.2 B	97.0±1.0 a	74.3±14.8 B	89.3±4.0 b

a 작물별 종자시료에 아무런 처리를 가하지 않고 치상하여 측정된 발아율.

bValues in the same row that are not followed by the same lowercase or uppercase letter are significantly different (P ≤ 0.05)

② 멜론

- 아무런 처리를 가하지 않은 멜론 종자 (Control)의 1차 발아율 검정 결과, 82.7±11.0%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 93.8±7.1%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 이산화염소 용액으로 단일처리한 멜론 종자의 1차 발아율 검정 결과 84.0±2.0%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 100.0±0.0%의 발아율을 보였다.
- 100ppm의 이산화염소 용액으로 단일처리한 멜론 종자의 1차 발아율 검정 결과 56.7±9.3%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 97.3±0.6%의 발아율을 보였다.
- 200ppm의 이산화염소 용액으로 단일처리한 멜론 종자의 1차 발아율 검정 결과 42.3±9.9%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 83.3±1.5%의 발아율을 보였다.

표 11. 멜론 종자시료의 ClO₂(aq) 처리 농도 (ca. 50, 100, 200 µg/ml)에 따른 1, 2 차 발아율

Germination rate ± SD (%) ^b							
Control		ClO ₂ (50ppm) Treatment		ClO ₂ (100ppm) Treatment		ClO ₂ (200ppm) Treatment	
1 차	2 차	1 차	2 차	1 차	2 차	1 차	2 차
85.3±11.5 A	93.8±7.1 a	84.0±2.0 A	100.0±0.0 a	56.7±9.3 B	97.3±0.6 a	42.3±9.9 B	83.3±1.5 b

a 작물별 종자시료에 아무런 처리를 가하지 않고 치상하여 측정된 발아율.

bValues in the same row that are not followed by the same lowercase or uppercase letter are significantly different (P ≤ 0.05)

③ 무

- 아무런 처리를 가하지 않은 무 종자 (Control)의 1 차 발아율 검정 결과, 81.3±4.6%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 79.7±5.1%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 이산화염소 용액으로 단일처리한 무 종자의 1차 발아율 검정 결과 73.3±3.1%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 74.0±4.0%의 발아율을 보였다.
- 100ppm의 이산화염소 용액으로 단일처리한 무 종자의 1차 발아율 검정 결과 63.7±8.3%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 69.3±6.7%의 발아율을 보였다.
- 200ppm의 이산화염소 용액으로 단일처리한 무 종자의 1차 발아율 검정 결과 54.3±11.0%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 53.7±12.9%의 발아율을 보였다.

표 12. 무 종자시료의 ClO₂(aq) 처리 농도 (ca. 50, 100, 200 µg/ml)에 따른 1, 2 차 발아율

Germination rate ± SD (%) ^b							
Control I a		ClO ₂ (50ppm) Treatment		ClO ₂ (100ppm) Treatment		ClO ₂ (200ppm) Treatment	
1 차	2 차	1 차	2 차	1 차	2 차	1 차	2 차
81.3±4.6 A	79.7±5.1 a	73.3±3.1 AB	74.0±4.0 a	63.7±8.3 BC	69.3±6.7 a	54.3±11.0 C	53.7±12.9 b

a 작물별 종자시료에 아무런 처리를 가하지 않고 치상하여 측정된 발아율.

bValues in the same row that are not followed by the same lowercase or uppercase letter are significantly different (P ≤ 0.05)

④ 상추

- 아무런 처리를 가하지 않은 상추 종자 (Control)의 1차 발아율 검정 결과, 96.0±4.0%의 발아율을 보였으며, 2 차 발아율 검정 결과 98.0±2.0%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 이산화염소 용액으로 단일처리한 상추 종자의 1차 발아율 검정 결과, 88.0±5.3%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 90.0±6.9%의 발아율을 보였다.
- 100ppm의 이산화염소 용액으로 단일처리한 상추 종자의 1차 발아율 검정 결과, 76.7±8.1%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 90.7±6.1%의 발아율을 보였다.
- 200ppm의 이산화염소 용액으로 단일처리한 상추 종자의 1차 발아율 검정 결과, 26.0±16.4%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 28.7±19.4%의 발아율을 보였다.

표 13. 상추 종자시료의 ClO₂(aq) 처리 농도 (ca. 50, 100, 200 µg/ml)에 따른 1, 2 차 발아율

Germination rate ± SD (%) ^b							
Control I a		ClO ₂ (50ppm) Treatment		ClO ₂ (100ppm) Treatment		ClO ₂ (200ppm) Treatment	
1 차	2 차	1 차	2 차	1 차	2 차	1 차	2 차
96.0±4.0 A	98.0±2.0 a	88.0±5.3 AB	90.0±6.9 a	76.7±8.1 B	90.7±6.1 a	26.0±16.4 C	28.7±19.4 b

a 작물별 종자시료에 아무런 처리를 가하지 않고 치상하여 측정된 발아율.

bValues in the same row that are not followed by the same lowercase or uppercase letter are significantly different (P ≤ 0.05)

⑤ 양배추

- 아무런 처리를 가하지 않은 양배추 종자 (Control)의 1차 발아율 검정 결과, 75.3±9.5%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 76.7±9.0%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 이산화염소 용액으로 단일처리한 양배추 종자의 1차 발아율 검정 결과, 70.7±9.2%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 77.3±4.6%의 발아율을 보였다.
- 100ppm의 이산화염소 용액으로 단일처리한 양배추 종자의 1차 발아율 검정 결과, 64.0±7.2%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 68.7±9.9%의 발아율을 보였다.
- 200ppm의 이산화염소 용액으로 단일처리한 양배추 종자의 1차 발아율 검정 결과, 70.7±3.1%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 76.7±3.1%의 발아율을 보였다.

표 14. 양배추 종자시료의 ClO₂(aq)처리 농도 (ca. 50, 100, 200 µg/ml)에 따른 1, 2 차 발아율

Germination rate ± SD (%) ^b							
Control I a		ClO ₂ (50ppm) Treatment		ClO ₂ (100ppm) Treatment		ClO ₂ (200ppm) Treatment	
1 차	2 차	1 차	2 차	1 차	2 차	1 차	2 차
75.3±9.5 A	76.7±9.0 a	70.7±9.2 AB	77.3±4.6 a	64.0±7.2 AB	68.7±9.9 a	70.7±3.1 AB	76.7±3.1 a

a 작물별 종자시료에 아무런 처리를 가하지 않고 치상하여 측정된 발아율.

bValues in the same row that are not followed by the same lowercase or uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$)

⑥ 고추

- 아무런 처리를 가하지 않은 고추 종자 (Control)의 1차 발아율 검정 결과, 35.7±5.9%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 69.7±8.0%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 이산화염소 용액으로 단일처리한 고추 종자의 1차 발아율 검정 결과, 49.3±11.4%의 발아율을 보였으며, 2 차 발아율 검정 결과 64.0±8.7%의 발아율을 보였다.
- 100ppm의 이산화염소 용액으로 단일처리한 고추 종자의 1차 발아율 검정 결과, 41.0±10.8%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 52.7±16.3%의 발아율을 보였다.
- 200ppm의 이산화염소 용액으로 단일처리한 고추 종자의 1차 발아율 검정 결과, 16.0±27.7%의 발아율을 보였으며, 2 차 발아율 검정 결과 63.0±7.0%의 발아율을 보였다.

표 15. 고추 종자시료의 ClO₂(aq) 처리 농도 (ca. 50, 100, 200 µg/ml)에 따른 1, 2 차 발아율

Germination rate ± SD (%) ^b							
Control I a		ClO ₂ (50ppm) Treatment		ClO ₂ (100ppm) Treatment		ClO ₂ (200ppm) Treatment	
1 차	2 차	1 차	2 차	1 차	2 차	1 차	2 차
35.7±5.9 AB	69.7±8.0 a	49.3±11.4 A	64.0±8.7 a	41.0±10.8 AB	52.7±16.3 a	16.0±27.7 B	63.0±7.0 a

a 작물별 종자시료에 아무런 처리를 가하지 않고 치상하여 측정된 발아율.

bValues in the same row that are not followed by the same lowercase or uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$)

⑦ 수박

- 아무런 처리를 가하지 않은 수박 종자 (Control)의 1차 발아율 검정 결과, 65.3±3.1%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 96.0±0.0%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 이산화염소 용액으로 단일처리한 수박 종자의 1차 발아율 검정 결과, 57.3±5.0%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 94.7±4.2%의 발아율을 보였다.
- 100ppm의 이산화염소 용액으로 단일처리한 수박 종자의 1차 발아율 검정 결과, 34.0±6.0%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 97.3±3.1%의 발아율을 보였다.
- 200ppm의 이산화염소 용액으로 단일처리한 수박 종자의 1차 발아율 검정 결과, 16.0±0.0%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 95.3±2.3%의 발아율을 보였다.

표 16. 수박 종자시료의 ClO₂(aq)처리 농도 (ca. 50, 100, 200 μg/ml)에 따른 1, 2차 발아율

Germination rate ± SD (%) ^b							
Control I a		ClO ₂ (50ppm) Treatment		ClO ₂ (100ppm) Treatment		ClO ₂ (200ppm) Treatment	
1 차	2 차	1 차	2 차	1 차	2 차	1 차	2 차
65.3±3.1 A	96.0±0.0 a	57.3±5.0 A	94.7±4.2 a	34.0±6.0 B	97.3±3.1 a	16.0±0.0 C	95.3±2.3 a

a 작물별 종자시료에 아무런 처리를 가하지 않고 치상하여 측정된 발아율.

bValues in the same row that are not followed by the same lowercase or uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$)

⑧ 호박

- 아무런 처리를 가하지 않은 호박 종자 (Control)의 1차 발아율 검정 결과, 66.0±6.9%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 90.0±2.0%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 이산화염소 용액으로 단일처리한 호박 종자의 1차 발아율 검정 결과, 27.3±7.6%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 82.7±1.2%의 발아율을 보였다.
- 100ppm의 이산화염소 용액으로 단일처리한 호박 종자의 1차 발아율 검정 결과, 13.3±4.6%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 74.0±6.0%의 발아율을 보였다.
- 200ppm의 이산화염소 용액으로 단일처리한 호박 종자의 1차 발아율 검정 결과, 26.0±3.5%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 87.3±4.2%의 발아율을 보였다.

표 17. 호박 종자시료의 ClO₂(aq)처리 농도 (ca. 50, 100, 200 μg/ml)에 따른 1, 2차 발아율

Germination rate ± SD (%) ^b							
Control I a		ClO ₂ (50ppm) Treatment		ClO ₂ (100ppm) Treatment		ClO ₂ (200ppm) Treatment	
1 차	2 차	1 차	2 차	1 차	2 차	1 차	2 차
66.0±6.9 A	90.0±2.0 a	27.3±7.6 B	82.7±1.2 b	13.3±4.6 C	74.0±6.0 c	26.0±3.5 B	87.3±4.2 ab

a 작물별 종자시료에 아무런 처리를 가하지 않고 치상하여 측정된 발아율.

bValues in the same row that are not followed by the same lowercase or uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$)

(나) 다중스트레스 (ClO₂, 건조, 건열) 처리에 대한 종자별 발아율 확인

① 멜론

- 아무런 처리를 가하지 않은 멜론 종자 (Control)의 1차 발아율 검정 결과, 82.7±11.0%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 93.8±7.1%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 ClO₂ 용액을 5분간 처리한 후 43% 상대습도, 45°C에서 24시간 건조한 다음 동일 상대습도, 50°C에서 열처리한 멜론 종자의 1차 발아율 검정 결과 100.0±0.0%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 또한 100.0±0.0%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 ClO₂ 용액을 5분간 처리한 후 43% 상대습도, 45°C에서 24시간 건조한 다음 동일 상대습도, 60°C에서 열처리한 멜론 종자의 1차 발아율 검정 결과 94.0±0.0%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 100.0±0.0%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 ClO₂ 용액을 5분간 처리한 후 43% 상대습도, 45°C에서 24시간 건조한 다음 동일 상대습도, 70°C에서 열처리한 멜론 종자의 1차 발아율 검정 결과 88.7±0.0%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 100.0±0.0%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 ClO₂ 용액을 5분간 처리한 후 43% 상대습도, 45°C에서 24시간 건조한 다음 동일 상대습도, 80°C에서 열처리한 멜론 종자의 1차 발아율 검정 결과 0.0±0.0%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 또한 15.3±26.6%의 발아율을 보였다.

표 18. ClO₂ (50ppm)에 5 분간 처리하고 상대습도 43%, 45°C 에서 24 시간 건조한 후 동일 상대습도, 50°C, 60°C, 70°C, 80°C 에서 24 시간 동안 열처리에 따른 멜론 종자시료의 1, 2차 발아율 측정 결과

Germination rate ± SD (%) ^a									
Control		다중스트레스처리 (heating at 43% RH, 50°C)		다중스트레스처리 (heating at 43% RH, 60°C)		다중스트레스처리 (heating at 43% RH, 70°C)		다중스트레스처리 (heating at 43% RH, 80°C)	
1차	2차	1차	2차	1차	2차	1차	2차	1차	2차
82.7±11.0	93.8±7.1	100.0±0.0	100.0±0.0	94.0±0.0	100.0±0.0	88.7±9.2	100.0±0.0	0.0±0.0	15.3±26.6
B	A	A	A	A	A	AB	A	C	B

^aValues in the same row that are not followed by the same lowercase or uppercase letter are significantly different (P ≤ 0.05)

② 무

- 아무런 처리를 가하지 않은 무 종자(Control)의 1차 발아율 검정 결과, 81.3±4.6%의 발아율을 보였으며, 2 차 발아율 검정 결과 79.7±5.1%의 발아율을 보였다(표 26, 27, 28, 29).
- 50ppm의 ClO₂ 용액을 5분간 처리한 후 43% 상대습도, 45°C에서 24시간 건조한 다음 동일 상대습도, 50°C에서 열처리한 무 종자의 1차 발아율 검정 결과 78.0±3.5%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 80.7±1.2%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 ClO₂ 용액을 5분간 처리한 후 43% 상대습도, 45°C에서 24시간 건조한 다음 동일 상대습도, 60°C에서 열처리한 무 종자의 1차 발아율 검정 결과 68.0±4.0%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 83.3±1.2%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 ClO₂ 용액을 5분간 처리한 후 43% 상대습도, 45°C에서 24시간 건조한 다음 동일 상대습도, 70°C에서 열처리한 무 종자의 1차 발아율 검정 결과 63.3±5.8%의 발아율을

보였으며, 2차 발아율 검정 결과 74.7±1.2%의 발아율을 보였다.

- 50ppm의 ClO₂ 용액을 5분간 처리한 후 43% 상대습도, 45°C에서 24시간 건조한 다음 동일 상대습도, 80°C에서 열처리한 무 종자의 1차 발아율 검정 결과 18.0±31.2%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 23.3±40.4%의 발아율을 보였다.

표 19. ClO₂ (50ppm)에 5 분간 처리하고 상대습도 43%, 45°C 에서 24 시간 건조한 후 동일 상대습도, 50°C, 60°C, 70°C, 80°C 에서 24 시간 동안 열처리에 따른 무 종자의 1, 2차 발아율 측정 결과

Germination rate ± SD (%) ^a									
Control		다중스트레스처리 (heating at 43% RH, 50°C)		다중스트레스처리 (heating at 43% RH, 60°C)		다중스트레스처리 (heating at 43% RH, 70°C)		다중스트레스처리 (heating at 43% RH, 80°C)	
1차	2차	1차	2차	1차	2차	1차	2차	1차	2차
81.3±4.6 A	79.7±5.1 a	78.0±3.5 A	80.7±1.2 a	68.0±4.0 B	83.3±1.2 a	63.3±5.8 B	74.7±1.2 a	18.0±31.2 C	23.3±40.4 b

^aValues in the same row that are not followed by the same lowercase or uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$)

③ 상추

- 아무런 처리를 가하지 않은 상추 종자 (Control)의 1차 발아율 검정 결과, 96.0±4.0%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 98.0±2.0%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 ClO₂ 용액을 5분간 처리한 후 43% 상대습도, 45°C에서 24시간 건조한 다음 동일 상대습도, 50°C에서 열처리한 상추 종자의 1차 발아율 검정 결과 32.0±5.3%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 48.0±2.0%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 ClO₂ 용액을 5분간 처리한 후 43% 상대습도, 45°C에서 24시간 건조한 다음 동일 상대습도, 60°C에서 열처리한 상추 종자의 1차 발아율 검정 결과 18.7±6.4%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 17.3±9.2%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 ClO₂ 용액을 5분간 처리한 후 43% 상대습도, 45°C에서 24시간 건조한 다음 동일 상대습도, 70°C에서 열처리한 상추 종자의 1차 발아율 검정 결과 5.3±9.2%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 13.3±23.1%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 ClO₂ 용액을 5분간 처리한 후 43% 상대습도, 45°C에서 24시간 건조한 다음 동일 상대습도, 80°C에서 열처리한 상추 종자의 1차 발아율 검정 결과 0.0±0.0%의 발아율을 보였으며, 2 차 발아율 검정 결과 또한 0.0±0.0%의 발아율을 보였다.

표 20. ClO₂ (50ppm)에 5 분간 처리하고 상대습도 43%, 45°C 에서 24 시간 건조한 후 동일 상대습도, 50°C, 60°C, 70°C, 80°C 에서 24 시간 동안 열처리에 따른 상추 종자의 1, 2 차 발아율 측정 결과

Germination rate ± SD (%) ^a									
Control		다중스트레스처리 (heating at 43% RH, 50°C)		다중스트레스처리 (heating at 43% RH, 60°C)		다중스트레스처리 (heating at 43% RH, 70°C)		다중스트레스처리 (heating at 43% RH, 80°C)	
1차	2차	1차	2차	1차	2차	1차	2차	1차	2차
96.0±4.0 A	98.0±2.0 a	32.0±5.3 B	48.0±2.0 b	18.7±6.4 C	17.3±9.2 c	5.3±9.2 D	13.3±23.1 c	0.0±0.0 D	0.0±0.0 c

^aValues in the same row that are not followed by the same lowercase or uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$)

④ 양배추

- 아무런 처리를 가하지 않은 양배추 종자 (Control)의 1차 발아율 측정 결과, 75.3±9.5%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 측정 결과 76.7±9.0%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 ClO₂ 용액을 5분간 처리한 후 43% 상대습도, 45°C에서 24시간 건조한 다음 동일 상대습도, 50°C에서 열처리한 양배추 종자의 1차 발아율 측정 결과 59.3±9.9%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 측정 결과 65.3±9.0%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 ClO₂ 용액을 5분간 처리한 후 43% 상대습도, 45°C에서 24시간 건조한 다음 동일 상대습도, 60°C에서 열처리한 양배추 종자의 1차 발아율 측정 결과 48.0±6.9%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 측정 결과 73.3±8.1%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 ClO₂ 용액을 5분간 처리한 후 43% 상대습도, 45°C에서 24시간 건조한 다음 동일 상대습도, 70°C에서 열처리한 양배추 종자의 1차 발아율 측정 결과 6.0±10.4%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 측정 결과 24.7±34.2%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 ClO₂ 용액을 5분간 처리 한 후 43% 상대습도, 45°C에서 24시간 건조한 다음 동일 상대습도, 80°C에서 열처리한 양배추 종자의 1차 발아율 측정 결과 13.3±23.1%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 측정 결과 25.3±43.9%의 발아율을 보였다.

표 21. ClO₂ (50ppm)에 5 분간 처리하고 상대습도 43%, 45°C 에서 24 시간 건조한 후 동일 상대습도, 50°C, 60°C, 70°C, 80°C 에서 24 시간 동안 열처리에 따른 양배추 종자시료의 1, 2 차 발아율 측정 결과

Germination rate ± SD (%) ^a									
Control		다중스트레스처리 (heating at 43% RH, 50°C)		다중스트레스처리 (heating at 43% RH, 60°C)		다중스트레스처리 (heating at 43% RH, 70°C)		다중스트레스처리 (heating at 43% RH, 80°C)	
1차	2차	1차	2차	1차	2차	1차	2차	1차	2차
75.3±9.5 A	76.7±9.0 a	59.3±9.9 AB	65.3±9.0 ab	48.0±6.9 B	73.3±8.1 a	6.0±10.4 C	24.7±34.2 b	13.3±23.1 C	25.3±43.9 b

^aValues in the same row that are not followed by the same lowercase or uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$)

⑤ 고추

- 아무런 처리를 가하지 않은 고추 종자 (Control)의 1차 발아율 검정 결과, 35.7±5.9%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 69.7±8.0%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 ClO₂ 용액을 5분간 처리한 후 43% 상대습도, 45°C에서 24시간 건조한 다음 동일 상대습도, 50°C에서 열처리한 고추 종자의 1차 발아율 검정 결과 38.0±2.0%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 51.0±8.5%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 ClO₂ 용액을 5분간 처리한 후 43% 상대습도, 45°C에서 24시간 건조한 다음 동일 상대습도, 60°C에서 열처리한 고추 종자의 1차 발아율 검정 결과 45.3±3.1%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 54.7±5.0%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 ClO₂ 용액을 5분간 처리한 후 43% 상대습도, 45°C에서 24시간 건조한 다음 동일 상대습도, 70°C에서 열처리한 고추 종자의 1차 발아율 검정 결과 0.0±0.0%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 19.3±33.5%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 ClO₂ 용액을 5분간 처리한 후 43% 상대습도, 45°C에서 24시간 건조한 다음 동일 상대습도, 80°C에서 열처리한 고추 종자의 1차 발아율 검정 결과 0.0±0.0%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 0.0±0.0%의 발아율을 보였다.

표 22. ClO₂ (50ppm)에 5 분간 처리하고 상대습도 43%, 45°C 에서 24 시간 건조한 후 동일 상대습도, 50°C, 60°C, 70°C, 80°C 에서 24 시간 동안 열처리에 따른 고추 종자시료의 1, 2 차 발아율 측정 결과

Germination rate ± SD (%) ^a									
Control		다중스트레스처리 (heating at 43% RH, 50°C)		다중스트레스처리 (heating at 43% RH, 60°C)		다중스트레스처리 (heating at 43% RH, 70°C)		다중스트레스처리 (heating at 43% RH, 80°C)	
1차	2차	1차	2차	1차	2차	1차	2차	1차	2차
35.7±5.9	69.7±8.0	38.0±2.0	51.0±8.5	45.3±3.1	54.7±5.0	0.0±0.0	19.3±33.5	0.0±0.0	0.0±0.0
C	a	B	a	A	a	D	b	D	b

^aValues in the same row that are not followed by the same lowercase or uppercase letter are significantly different (P ≤ 0.05)

⑥ 수박

- 아무런 처리를 가하지 않은 수박 종자 (Control)의 1차 발아율 검정 결과, 65.3±3.1%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 96.0±0.0%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 ClO₂ 용액을 5분간 처리한 후 43% 상대습도, 45°C에서 24시간 건조한 다음 동일 상대습도, 50°C에서 열처리한 고추 종자의 1차 발아율 검정 결과 34.0±15.1%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 88.0±5.3%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 ClO₂ 용액을 5분간 처리 한 후 43% 상대습도, 45°C에서 24시간 건조한 다음 동일 상대습도, 60°C에서 열처리한 고추 종자의 1차 발아율 검정 결과 8.0±3.5%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 92.0±3.5%의 발아율을 보였다.
- 50ppm의 ClO₂ 용액을 5분간 처리한 후 43% 상대습도, 45°C에서 24시간 건조한 다음 동일 상대습도, 70°C에서 열처리한 고추 종자의 1차 발아율 검정 결과 24.0±24.0%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 96.0±3.5%의 발아율을 보였다.

- 50ppm의 ClO₂ 용액을 5 분간 처리한 후 43% 상대습도, 45°C에서 24시간 건조한 다음 동일 상대습도, 80°C에서 열처리한 고추 종자의 1차 발아율 검정 결과 0.0±0.0%의 발아율을 보였으며, 2차 발아율 검정 결과 22.7±39.3%의 발아율을 보였다.

표 23. ClO₂ (50ppm)에 5 분간 처리하고 상대습도 43%, 45°C 에서 24 시간 건조한 후 동일 상대습도, 50°C, 60°C, 70°C, 80°C 에서 24 시간 동안 열처리에 따른 수박 종자시료의 1, 2 차 발아율 측정 결과

Germination rate ± SD (%) ^a									
Control		다중스트레스처리 (heating at 43% RH, 50°C)		다중스트레스처리 (heating at 43% RH, 60°C)		다중스트레스처리 (heating at 43% RH, 70°C)		다중스트레스처리 (heating at 43% RH, 80°C)	
1차	2차	1차	2차	1차	2차	1차	2차	1차	2차
65.3±3.1 A	96.0±0.0 a	34.0±15.1 B	88.0±5.3 a	8.0±3.5 CD	92.0±3.5 a	24.0±24.0 BC	96.0±3.5 a	0.0±0.0 D	22.7±39.3 b

^aValues in the same row that are not followed by the same lowercase or uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$)

나. 이산화염소 용액과 건열처리의 위해미생물에 대한 살균시너지 확인

(1) 연구 방법

(가) 식물병원성 세균 (*A. citrulli*)에 대한 다중스트레스의 살균시너지 확인

① 식물병원성 세균의 cocktail suspension 제조

- NB에서 48시간 동안 배양된 5 균주의 *A. citrulli* solution 10 ml이 담긴 50 ml conical tube를 각각 centrifuge에 위치시키고 2002 rcf에서 15 분간 원심분리한다.
- 원심분리가 끝난 5 균주의 *A. citrulli* solution 상층액을 10 ml의 pipette을 이용하여 제거한다.
- 상층액이 제거된 *A. citrulli* pellet이 담긴 50 ml conical tube에 PBS buffer를 10 ml pipette을 이용하여 분주한 후 vortexing을 실시한다.
- 각각의 *A. citrulli* 5 균주의 solution이 담긴 50 ml conical tube에서 1 ml의 solution을 취한 후 새로운 50 ml conical tube에 분주하여 섞어준다. (균주당 1 ml씩 총 5 ml의 *A. citrulli* cocktail을 제조)
- 제조된 *A. citrulli* cocktail (9 log CFU/ml)을 9 ml의 PBS를 이용하여 1번 십진희석한다(8 log CFU/ml).

② 식물병원성 세균의 접종

- 5 종의 대상종자 (멜론, 무, 양배추, 고추, 수박) 5 g을 각각 15 ml의 *A. citrulli* cocktail에 5분간 침지한다.
- 멸균된 sieve를 재배틀에 위치시킨다.
- 5분간 처리된 5g의 종자시료와 15 ml의 *A. citrulli* cocktail을 멸균된 sieve에 부어 종자시료를 걸러낸다.
- 멸균 spoon을 이용하여 sieve에 종자를 잘 펼쳐준 후 2시간 동안 laminar flow bio safety hood에서 건조시킨다.

③ 다중스트레스 처리 (ClO₂ [50 ppm, 5 min], 건조 [43% 상대습도, 45°C, 24 h], 건열[43% 상대습도, 60°C, 24h])

- 접종된 종자시료에 이산화염소 용액 50ppm을 5분간 처리한 후 43% 상대습도가 맞춰진 재배틀 내 sieve에 종자를 옮겨준다. (이때 종자를 sieve에 펼쳐주어 건조가 고루 될 수 있도록 한다.)
- 종자가 들어있는 밀봉된 재배틀을 45°C 인큐베이터에서 24시간 저장한다.
- 건조 24시간 후, 45°C에서 건조된 종자가 들어 있는 재배틀을 꺼내어 60°C 인큐베이터에 옮겨 24시간 동안 건열처리 한다.

④ A. citrulli의 개체수 확인

- 열처리 24 시간 후 인큐베이터에서 종자시료를 꺼낸다.
- Whirl-pak bag을 전자저울에 올린 후 영점을 맞춘다.
- 종자시료 3g을 멸균된 spoon을 이용하여 전자저울 위 whirl-pak bag에 넣어준다.
- 50 ml pipette을 이용하여 30 ml의 nutrient broth (NB)를 종자시료가 담긴 whirl-pak bag에 분주한다.
- Whirl-pak bag의 입구를 봉한 후 stomacher (Interscience BagMixer 400W)에서 1분간 pummeling한다.
- Pummeling이 끝난 whirl-pak bag에서 solution을 취하여 nutrient agar (NA)에 direct plating한다.
- 30°C에서 48시간 동안 배양시킨 후 counting을 실시한다.

(나) 식물병원성 진균 (A. brassicicola, D. bryoniae)에 대한 다중스트레스의 살균시너지 확인

① 식물병원성 진균의 cocktail suspension 제조

- 25°C에서 7일간 배양된 진균의 colony를 포함하는 고체배지를 준비한다.
- Colony의 크기에 따라 약 7-10 ml의 멸균 증류수를 10 ml pipette을 이용하여 분주한다.
- Spreader를 이용하여 배지 위 colony의 hyphae (균사), mycelium (균사체) 및 spore를 배지의 한쪽으로 긁어 모아준다.
- 멸균된 거즈 (10 cm × 10 cm) 3 장을 멸균된 유리 깔때기 안쪽 빗면에 위치시킨다.
- 50 ml conical tube의 cap을 열고 멸균 거즈 및 깔때기를 conical tube 위에 위치시킨다.
- 고체 배지 위 hyphae, mycelium 및 spore suspension을 10 ml pipette을 이용하여 취한 후 conical tube 위 깔때기에 분주한다.
 - 이 때 mycelium 및 hyphae를 포함한 불순물은 거즈 위에 남고 spore suspension이 여과된다.
 - 균주에 따라 3-5 ml의 spore suspension이 거즈 아래로 걸러진다.
- 50 ml conical tube에 여과된 spore suspension 0.1 ml을 micropipette을 이용하여 취한 후 1.5 ml microcentrifuge tube (EP tube)에 분주한다.
- Spore suspension이 담긴 EP tube에 0.9 ml의 멸균 증류수를 micropipette을 이용하여 분주하여 10 배 희석한다.
- Spore suspension 희석 시, 3-4 회 pipetting을 실시하여 suspension이 균일하게 희석될 수 있도록 한다.
- Spore suspension의 십진희석 과정을 한번 더 반복하여 원액을 총 100 배 희석시킨다.

- Hemocytometer의 홈 위에 cover glass를 위치시킨다.
 - 100 배 희석된 spore suspension 10 μ l를 micropipette (2-200 μ l)을 이용하여 취한 뒤 cover glass가 덮힌 hemocytometer의 홈에 주입한다.
 - Suspension이 주입된 hemocytometer를 광학현미경의 재물대에 위치시킨 후 spore를 계수한다.
 - Counting chamber 내 spore 수의 평균을 구하여 spore suspension 원액의 농도를 계산한다.
 - Spores / ml = (계수된 spore수의 평균 \times 희석배수 \times 104)/ml
 - 각 균주의 spore suspension을 PBS로 희석하여 7 log conidia/ml의 suspension을 만든 뒤 균주 당 10 ml 씩 멸균된 bottle에 분주하여 섞어준 후 십진 희석하여 6 log conidia/ml의 cocktail을 제조한다.
- ② 식물병원성 진균의 접종
- 5종의 대상종자 (멜론, 무, 양배추, 고추, 수박) 5 g을 각각 15 ml의 A. brassicicola 또는 D. bryoniae cocktail에 5 분간 침지한다.
 - 멸균된 sieve를 재배틀에 위치시킨다.
 - 5분간 처리된 5 g의 종자시료와 15 ml의 A. brassicicola 또는 D. bryoniae cocktail을 멸균된 sieve에 부어 종자시료를 걸러낸다.
 - 멸균 spoon을 이용하여 sieve에 종자를 잘 펼쳐준 후 2 시간 동안 laminar flow bio safety hood에서 건조시킨다.
- ③ 다중스트레스 처리 (ClO₂ [50 ppm, 5 min], 건조 [43% 상대습도, 45°C, 24 h], 건열[43% 상대습도, 60°C, 24h])
- 접종된 종자시료에 이산화염소 용액 50 ppm을 5분간 처리한 후 43% 상대습도가 맞춰진 재배틀 내 sieve에 종자를 옮겨준다. (이때 종자를 sieve에 펼쳐주어 건조가 고루 될 수 있도록 한다.)
 - 종자가 들어있는 밀봉된 재배틀을 45°C 인큐베이터에서 24 시간 저장한다.
 - 건조 24시간 후, 45°C에서 건조된 종자가 들어 있는 재배틀을 꺼내어 60°C 인큐베이터에 옮겨 24시간 동안 건열처리 한다.
- ④ 식물병원성 진균의 개체수 확인
- 열처리 24시간 후 인큐베이터에서 종자시료를 꺼낸다.
 - Whirl-pak bag을 전자저울에 올린 후 영점을 맞춘다.
 - 종자시료 3 g을 멸균된 spoon을 이용하여 전자저울 위 whirl-pak bag에 넣어준다.
 - 50 ml pipette을 이용하여 30 ml의 potato dextrose broth (PDB)를 종자시료가 담긴 whirl-pak bag에 분주한다.
 - Whirl-pak bag의 입구를 봉한 후 stomacher (Interscience BagMixer 400W)에서 1 분간 pummeling한다.
 - Pummeling이 끝난 whirl-pak bag에서 solution을 취하여 Potato dextrose agar에 direct plating한다.
 - 25°C에서 72 시간 동안 배양시킨 후 counting을 실시한다.

(2) 연구 결과

(가) 식물병원성 세균 (*A. citrulli*)에 대한 다중스트레스의 살균시너지 확인 결과

① 멜론

- *A. citrulli*가 6.4 log CFU/g으로 접종된 멜론 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 직후 종자 표면에 잔존하는 *A. citrulli*의 개체수는 각각 5.6 와 3.7 log CFU/g로 감소하였다.
- 이산화염소용액과 건조처리의 살균시너지를 확인하기 위하여 *A. citrulli*가 6.4 log CFU/g으로 접종된 멜론 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 후 45°C와 43% 상대습도에서 24시간 동안 건조처리 하였을 때 DW 처리군에서는 개체수가 2.6 log CFU/g, 이산화염소용액 처리군에서는 개체수가 1.0 log CFU/g로 감소하였다.
- 다중스트레스의 살균시너지를 확인하기 위하여 *A. citrulli*가 6.4 log CFU/g으로 접종된 멜론 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 후 45°C와 43% 상대습도에서 24시간 동안 건조처리하고 60°C와 43% 상대습도에서 24 간 동안 건열처리한 결과, DW 처리군은 개체수가 detection limit 이하로 감소하였지만 완전 멸균되지 않았고, 이산화염소 용액 처리군은 건열 처리 후 완전히 멸균되었다.

표 24. *A. citrulli*가 접종된 멜론 종자를 DW 혹은 ClO₂ (50 ppm)을 5 분간 처리하고 43% 상대습도, 45°C에서 24 시간 건조처리 한 뒤 60°C에서 24 시간 열처리 한 후 멜론 종자에 존재하는 *A. citrulli*의 개체수 확인

Sample	DW or ClO ₂	Population (log CFU/g seed)			
		Initial population	After DW or ClO ₂ (5 min)	After drying at 45°C (24 h)	After heating at 60°C (24 h)
멜론	DW	6.4±0.2	5.6±0.1	2.6±0.2	<1.0±0.0 (1/3)
	ClO ₂	6.4±0.2	3.7±0.1	1.0±0.0	<1.0±0.0 (0/3)

② 무

- *A. citrulli*가 6.2 log CFU/g으로 접종된 무 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 직후 종자 표면에 잔존하는 *A. citrulli*의 개체수는 각각 5.4 와 4.3 log CFU/g로 감소하였다.
- 이산화염소 용액과 건조처리의 살균시너지를 확인하기 위하여 *A. citrulli*가 6.2 log CFU/g으로 접종된 무 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 후 45°C와 43% 상대습도에서 24시간 동안 건조처리하였을 때 DW 처리군에서는 개체수가 5.4 log CFU/g, 이산화염소용액 처리군에서는 개체수가 1.9 log CFU/g로 감소하였다.
- 다중스트레스의 살균시너지를 확인하기 위하여 *A. citrulli*가 6.2 log CFU/g으로 접종된 무 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 후 45°C와 43% 상대습도에서 24 시간 동안 건조처리하고 60°C와 43% 상대습도에서 24 시간 동안 건열처리한 결과, DW 처리군은 개체수가 2.9 log CFU/g로 존재하는 반면, 이산화염소 용액 처리군은 개체수가 24 시간 건열 처리 후 detection limit 이하로 감소하였다.

표 25. *A. citrulli* 가 접종된 무 종자를 DW 혹은 ClO₂ (50 ppm)을 5 분간 처리하고 43% 상대습도, 45°C 에서 24 시간 건조처리한 뒤 60°C 에서 24 시간 열처리한 후 무 종자에 존재하는 *A. citrulli* 의 개체수 확인

Sample	DW or ClO ₂	Population (log CFU/g seed)			
		Initial population	After DW or ClO ₂ (5 min)	After drying at 45°C (24 h)	After heating at 60°C (24 h)
무	DW	6.2±0.1	5.4±0.1	5.4±0.3	2.9±0.4
	ClO ₂	6.2±0.1	4.3±0.1	1.9±0.6	<1.0±0.0 (2/3)

③ 고추

- *A. citrulli*가 6.4 log CFU/g으로 접종된 고추 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 직후 종자 표면에 잔존하는 *A. citrulli*의 개체수는 각각 5.6 와 2.8 log CFU/g로 감소하였다.
- 이산화염소용액과 건조처리의 살균시너지를 확인하기 위하여 *A. citrulli*가 6.4 log CFU/g으로 접종된 고추 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 후 45°C와 43% 상대습도에서 24 시간 동안 건조처리 하였을 때 DW 처리군에서는 개체수가 2.5 log CFU/g, 이산화염소용액 처리군에서는 개체수가 1.0 log CFU/g로 감소하였다.
- 다중스트레스의 살균시너지를 확인하기 위하여 *A. citrulli*가 6.4 log CFU/g으로 접종된 고추 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 후 45°C와 43% 상대습도에서 24시간 동안 건조처리하고 60°C와 43% 상대습도에서 24시간 동안 건열처리한 결과 DW 처리군은 개체수가 1.0 log CFU/g인 반면, 이산화염소 용액 처리군은 건열 처리 후 완전히 멸균되었다.

표 26. *A. citrulli* 가 접종된 고추 종자를 DW 혹은 ClO₂ (50 ppm)을 5 분간 처리하고 43% 상대습도, 45°C 에서 24 시간 건조처리 한 뒤 60°C 에서 24 시간 열처리 한 후 고추 종자에 존재하는 *A. citrulli* 의 개체수 확인

Sample	DW or ClO ₂	Population (log CFU/g seed)			
		Initial population	After DW or ClO ₂ (5 min)	After drying at 45°C (24 h)	After heating at 60°C (24 h)
고추	DW	6.4±0.0	5.6±0.1	2.5±0.3	1.0±0.0
	ClO ₂	6.4±0.0	2.8±0.3	1.0±0.0	<1.0±0.0 (0/3)

④ 양배추

- *A. citrulli*가 6.5 log CFU/g으로 접종된 양배추 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 직후 종자 표면에 잔존하는 *A. citrulli*의 개체수는 각각 5.4 와 3.1 log CFU/g로 감소하였다.
- 이산화염소용액과 건조처리의 살균시너지를 확인하기 위하여 *A. citrulli*가 6.5 log CFU/g으로 접종된 양배추 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 후 45°C와 43%

상대습도에서 24시간 동안 건조처리 하였을 때 DW 처리군과 이산화염소 용액 처리군 모두 개체수가 감소하여 완전히 멸균되었다.

- 다중스트레스 처리의 살균시너지를 확인하기 위하여 *A. citrulli*가 6.4 log CFU/g으로 접종된 양배추 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 후 45°C와 43% 상대습도에서 24시간 동안 건조처리하고 60°C와 43% 상대습도에서 24시간 동안 건열처리한 결과, DW 처리군과 이산화염소 용액 처리군 모두 건조 처리 이후로 완전히 멸균된 상태를 유지했다.

표 27. *A. citrulli*가 접종된 양배추 종자를 DW 혹은 ClO₂ (50 ppm)을 5 분간 처리하고 43% 상대습도, 45°C에서 24 시간 건조처리 한 뒤 양배추 종자에 존재하는 *A. citrulli*의 개체수 확인

Sample	DW or ClO ₂	Population (log CFU/g seed)			
		Initial population	After DW or ClO ₂ (5 min)	After drying at 45°C (24 h)	After heating at 60°C (24 h)
양배추	DW	6.5±0.0	5.4±0.2	<1.0±0.0 (0/3)	<1.0±0.0 (0/3)
	ClO ₂	6.5±0.0	3.1±0.5	<1.0±0.0 (0/3)	<1.0±0.0 (0/3)

⑤ 수박

- *A. citrulli*가 6.4 log CFU/g으로 접종된 수박 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 직후 종자 표면에 잔존하는 *A. citrulli*의 개체수는 각각 4.9 와 3.3 log CFU/g로 감소하였다.
- 이산화염소용액과 건조처리의 살균시너지를 확인하기 위하여 *A. citrulli*가 6.4 log CFU/g으로 접종된 수박 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 후 45°C와 43% 상대습도에서 24 시간 동안 건조처리 하였을 때 DW 처리군은 detection limit 이하로 개체수가 감소한 반면, 이산화염소 용액 처리군은 완전히 멸균되었다.
- 다중스트레스 처리의 살균시너지를 확인하기 위하여 *A. citrulli*가 6.4 log CFU/g으로 접종된 수박 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 후 45°C와 43% 상대습도에서 24 시간 동안 건조처리하고 60°C와 43% 상대습도에서 24 시간 동안 건열처리한 결과, DW 처리군과 이산화염소 용액 처리군 모두 완전히 멸균되었다.

표 28. *A. citrulli*가 접종된 수박 종자를 DW 혹은 ClO₂ (50 ppm)을 5 분간 처리하고 43% 상대습도, 45°C에서 24 시간 건조처리 한 뒤 60°C에서 24 시간 열처리 한 후 수박 종자에 존재하는 *A. citrulli*의 개체수 확인

Sample	DW or ClO ₂	Population (log CFU/g seed)			
		Initial population	After DW or ClO ₂ (5 min)	After drying at 45°C (24 h)	After heating at 60°C (24 h)
수박	Water	6.4±0.0	4.9±0.5	<1.0±0.0 (3/3)	<1.0±0.0 (0/3)
	ClO ₂	6.4±0.0	3.3±0.1	<1.0±0.0 (0/3)	<1.0±0.0 (0/3)

(나) 식물병원성 진균 (*A. brassicicola*)에 대한 다중스트레스의 살균시너지 확인 결과

① 멜론

- *A. brassicicola*가 4.5 log CFU/g으로 접종된 멜론 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 직후 종자 표면에 잔존하는 *A. brassicicola*의 개체수는 각각 3.5 와 3.4 log CFU/g로 감소하였다.
- 이산화염소용액과 건조처리의 살균시너지를 확인하기 위하여 *A. brassicicola*가 6.4 log CFU/g으로 접종된 멜론 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 후 45°C와 43% 상대습도에서 24시간 동안 건조처리 하였을 때 DW 처리군에서는 개체수가 2.9 log CFU/g, 이산화염소용액 처리군에서는 개체수가 2.7 log CFU/g로 감소하였다.
- 다중스트레스의 살균시너지를 확인하기 위하여 *A. brassicicola*가 6.4 log CFU/g으로 접종된 멜론 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 후 45°C와 43% 상대습도에서 24시간 동안 건조처리하고 60°C와 43% 상대습도에서 24시간 동안 건열처리한 결과, DW 처리군과 이산화염소 용액 처리군 모두 개체수가 감소하여 완전히 멸균되었다.

표 29. *A. brassicicola*가 접종된 멜론 종자를 DW 혹은 ClO₂ (50 ppm)을 5 분간 처리하고 43% 상대습도, 45°C 에서 24 시간 건조처리 한 뒤 60°C 에서 24 시간 열처리 한 후 멜론 종자에 존재하는 *A. brassicicola*의 개체수 확인

Sample	DW or ClO ₂	Population (log CFU/g seed)			
		Initial population	After DW or ClO ₂ (5 min)	After drying at 45°C (24 h)	After heating at 60°C (24 h)
멜론	DW	4.5 ± 0.1	3.5 ± 0.1	2.9±0.6	<1.0±0.0 (0/3)
	ClO ₂	4.5 ± 0.1	3.4 ± 0.3	2.7±0.5	<1.0±0.0 (0/3)

② 무

- *A. brassicicola*가 4.1 log CFU/g으로 접종된 무 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 직후 종자 표면에 잔존하는 *A. brassicicola*의 개체수는 각각 3.1 와 2.9 log CFU/g로 감소하였다.
- 이산화염소용액과 건조처리의 살균시너지를 확인하기 위하여 *A. brassicicola*가 4.1 log CFU/g으로 접종된 무 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 후 45°C와 43% 상대습도에서 24 시간 동안 건조처리 하였을 때 DW 처리군에서는 개체수가 2.7 log CFU/g, 이산화염소용액 처리군에서는 개체수가 2.5 log CFU/g로 감소하였다.
- 다중스트레스의 살균시너지를 확인하기 위하여 *A. brassicicola*가 4.1 log CFU/g으로 접종된 무 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 후 45°C와 43% 상대습도에서 24시간 동안 건조처리하고 60°C와 43% 상대습도에서 24시간 동안 건열처리한 결과, DW 처리군은 개체수가 1.7 log CFU/g로 존재하는 반면, 이산화염소 용액 처리군은 개체수가 24시간 건열 처리 후 detection limit 이하로 감소하였다.

표 30. *A. brassicicola*가 접종된 무 종자를 DW 혹은 ClO₂ (50 ppm)을 5 분간 처리하고 43% 상대습도, 45°C에서 24 시간 건조처리 한 뒤 60°C에서 24 시간 열처리 한 후 무 종자에 존재하는 *A. brassicicola*의 개체수 확인

Sample	DW or ClO ₂	Population (log CFU/g seed)			
		Initial population	After DW or ClO ₂ (5 min)	After drying at 45°C (24 h)	After heating at 60°C (24 h)
무	DW	4.1± 0.5	3.1 ± 0.4	2.7 ± 0.1	1.7±0.5
	ClO ₂	4.1± 0.5	2.9 ± 0.2	2.5 ± 0.4	<1.0±0.0 (3/3)

③ 고추

- *A. brassicicola*가 4.4 log CFU/g으로 접종된 고추 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 직후 종자 표면에 잔존하는 *A. brassicicola*의 개체수는 각각 3.5와 3.3 log CFU/g로 감소하였다.
- 이산화염소 용액과 건조처리의 살균시너지를 확인하기 위하여 *A. brassicicola*가 4.4 log CFU/g으로 접종된 고추 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 후 45°C와 43% 상대습도에서 24시간 동안 건조처리 하였을 때 DW 처리군에서는 개체수가 2.6 log CFU/g, 이산화염소용액 처리군에서는 개체수가 2.4 log CFU/g로 감소하였다.
- 다중스트레스의 살균시너지를 확인하기 위하여 *A. brassicicola*가 4.4 log CFU/g으로 접종된 고추 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 후 45°C와 43% 상대습도에서 24시간 동안 건조처리하고 60°C와 43% 상대습도에서 24 시간 동안 건조열처리한 결과, DW 처리군과 이산화염소 용액 처리군에서 *A. brassicicola*의 개체수가 detection limit 이하로 감소하였다.

표 31. *A. brassicicola*가 접종된 고추 종자를 DW 혹은 ClO₂ (50 ppm)을 5 분간 처리하고 43% 상대습도, 45°C에서 24 시간 건조처리 한 뒤 60°C에서 24 시간 열처리 한 후 고추 종자에 존재하는 *A. brassicicola*의 개체수 확인

Sample	DW or ClO ₂	Population (log CFU/g seed)			
		Initial population	After DW or ClO ₂ (5 min)	After drying at 45°C (24 h)	After heating at 60°C (24 h)
고추	DW	4.4 ± 0.3	3.5 ± 0.2	2.6±0.3	<1.0±0.0 (3/3)
	ClO ₂	4.4 ± 0.3	3.3 ± 0.4	2.4±0.1	<1.0±0.0 (2/3)

④ 양배추

- A. brassicicola가 4.4 log CFU/g으로 접종된 양배추 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 직후 종자 표면에 잔존하는 A. brassicicola의 개체수는 각각 2.8와 2.3 log CFU/g로 감소하였다.
- 이산화염소용액과 건조처리의 살균시너지를 확인하기 위하여 A. brassicicola가 4.4 log CFU/g으로 접종된 양배추 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 후 45°C와 43% 상대습도에서 24시간 동안 건조처리하였을 때 DW 처리군에서는 개체수가 detection limit 이하로 감소하였으나 완전히 멸균되지 않은 반면, 이산화염소 용액 처리군은 A. brassicicola가 완전히 멸균되었다.
- 다중스트레스 처리의 살균시너지를 확인하기 위하여 A. brassicicola가 4.4 log CFU/g으로 접종된 양배추 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 후 45°C와 43% 상대습도에서 24시간 동안 건조처리하고 60°C와 43% 상대습도에서 24시간 동안 건열처리한 결과, DW 처리군과 이산화염소 용액 처리군 모두 A. brassicicola가 완전히 멸균되었다.

표 32. A. brassicicola가 접종된 양배추 종자를 DW 혹은 ClO₂ (50 ppm)을 5 분간 처리하고 43% 상대습도, 45°C에서 24 시간 건조처리 한 뒤 양배추 종자에 존재하는 A. brassicicola의 개체수 확인

Sample	DW or ClO ₂	Population (log CFU/g seed)			
		Initial population	After DW or ClO ₂ (5 min)	After drying at 45°C (24 h)	After heating at 60°C (24 h)
양배추	DW	4.4±0.3	2.8±0.0	<1.2±0.3 (2/3)	<1.0±0.0 (0/3)
	ClO ₂	4.4±0.3	2.3±0.1	<1.0±0.0 (0/3)	<1.0±0.0 (0/3)

⑤ 수박

- A. brassicicola가 4.4 log CFU/g으로 접종된 수박 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 직후 종자 표면에 잔존하는 A. brassicicola의 개체수는 각각 3.2와 2.6 log CFU/g로 감소하였다.
- 이산화염소용액과 건조처리의 살균시너지를 확인하기 위하여 A. brassicicola가 4.4 log CFU/g으로 접종된 수박 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 후 45°C와 43% 상대습도에서 24시간 동안 건조처리 하였을 때 DW 처리군은 2.8 log CFU/g, 이산화염소 용액 처리군은 2.9 log CFU/g의 개체수를 보였다.
- 다중스트레스 처리의 살균시너지를 확인하기 위하여 A. brassicicola가 6.4 log CFU/g으로 접종된 수박 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 후 45°C와 43% 상대습도에서 24시간 동안 건조처리하고 60°C와 43% 상대습도에서 24시간 동안 건열처리한 결과, DW 처리군과 이산화염소 용액 처리군 모두 개체수가 detection limit 이하로 감소하였다.

표 33. *A. brassicicola*가 접종된 수박 종자를 DW 혹은 ClO₂ (50 ppm)을 5 분간 처리하고 43% 상대습도, 45°C 에서 24 시간 건조처리 한 뒤 60°C 에서 24 시간 열처리 한 후 수박 종자에 존재하는 *A. brassicicola*의 개체수 확인

Sample	DW or ClO ₂	Population (log CFU/g seed)			
		Initial population	After DW or ClO ₂ (5 min)	After drying at 45°C (24 h)	After heating at 60°C (24 h)
수박	Water	4.4±0.3	3.2±0.2	2.8±0.4	<1.0±0.0 (2/3)
	ClO ₂	4.4±0.3	2.6±0.4	2.9±0.3	<1.0±0.0 (1/3)

(다) 식물병원성 진균 (*D. bryoniae*)에 대한 다중스트레스의 살균시너지 확인 결과

① 멜론

- *D. bryoniae*가 4.0 log CFU/g으로 접종된 멜론 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 직후 종자 표면에 잔존하는 *D. bryoniae*의 개체수는 각각 3.5와 3.3 log CFU/g로 감소하였다.
- 다중스트레스의 살균시너지를 확인하기 위하여 *D. bryoniae*가 4.0 log CFU/g으로 접종된 멜론 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 후 45°C와 43% 상대습도에서 24시간 동안 건조처리 하였을 때 DW 처리군과 이산화염소 용액 처리군에서 *D. bryoniae*가 완전히 멸균되었으며, 이어 60°C와 43% 상대습도에서 24 시간 동안 건열처리한 결과, 건조 처리 이후 DW 처리군과 이산화염소 용액 처리군 모두 멸균상태를 유지하였다.

표 34. *D. bryoniae*가 접종된 멜론 종자를 DW 혹은 ClO₂ (50 ppm)을 5 분간 처리하고 43% 상대습도, 45°C 에서 24 시간 건조처리 한 뒤 60°C 에서 24 시간 열처리 한 후 멜론 종자에 존재하는 *D. bryoniae*의 개체수 확인

Sample	DW or ClO ₂	Population (log CFU/g seed)			
		Initial population	After DW or ClO ₂ (5 min)	After drying at 45°C (24 h)	After heating at 60°C (24 h)
멜론	DW	4.0±0.3	3.5±0.1	<1.0±0.0 (0/3)	<1.0±0.0 (0/3)
	ClO ₂	4.0±0.3	3.3±0.2	<1.0±0.0 (0/3)	<1.0±0.0 (0/3)

② 무

- *D. bryoniae*가 3.9 log CFU/g으로 접종된 무 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 직후 종자 표면에 잔존하는 *D. bryoniae*의 개체수는 각각 3.0와 2.9 log CFU/g로 감소하였다.
- 다중스트레스의 살균시너지를 확인하기 위하여 *D. bryoniae*가 3.9 log CFU/g으로 접종된 무 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 후 45°C와 43% 상대습도에서 24 시간 동안 건조처리 하였을 때 DW 처리군과 이산화염소 용액 처리군에서 *D. bryoniae*가 완전히 멸균되었으며, 이어 60°C와 43% 상대습도에서 24시간 동안 건열처리한 결과, 건조 처리 이후 DW 처리군과 이산화염소 용액 처리군 모두 멸균상태를 유지하였다.

표 35. *D. bryoniae*가 접종된 무 종자를 DW 혹은 ClO₂ (50 ppm)을 5 분간 처리하고 43% 상대습도, 45°C에서 24 시간 건조처리 한 뒤 60°C에서 24 시간 열처리 한 후 무 종자에 존재하는 *D. bryoniae*의 개체수 확인

Sample	DW or ClO ₂	Population (log CFU/g seed)			
		Initial population	After DW or ClO ₂ (5 min)	After drying at 45°C (24 h)	After heating at 60°C (24 h)
무	DW	3.9 ± 0.1	3.0±0.1	<1.0±0.0 (0/3)	<1.0±0.0 (0/3)
	ClO ₂	3.9 ±0.1	2.9±0.1	<1.0±0.0 (0/3)	<1.0±0.0 (0/3)

③ 고추

- *D. bryoniae*가 3.6 log CFU/g으로 접종된 고추 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 직후 종자 표면에 잔존하는 *D. bryoniae*의 개체수는 각각 1.8 와 2.1 log CFU/g로 감소하였다.
- 다중스트레스의 살균시너지를 확인하기 위하여 *D. bryoniae*가 3.5 log CFU/g으로 접종된 고추 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 후 45°C와 43% 상대습도에서 24시간 동안 건조처리 하였을 때 DW 처리군과 이산화염소 용액 처리군에서 *D. bryoniae*가 완전히 멸균되었으며, 이어 60°C와 43% 상대습도에서 24시간 동안 건조처리 한 결과, 건조 처리 이후 DW 처리군과 이산화염소 용액 처리군 모두 멸균상태를 유지하였다.

표 36. *D. bryoniae*가 접종된 고추 종자를 DW 혹은 ClO₂ (50 ppm)을 5 분간 처리하고 43% 상대습도, 45°C에서 24 시간 건조처리 한 뒤 60°C에서 24 시간 열처리 한 후 고추 종자에 존재하는 *D. bryoniae*의 개체수 확인

Sample	DW or ClO ₂	Population (log CFU/g seed)			
		Initial population	After DW or ClO ₂ (5 min)	After drying at 45°C (24 h)	After heating at 60°C (24 h)
고추	DW	3.6±0.0	1.8±0.5	<1.0±0.0 (0/3)	<1.0±0.0 (0/3)
	ClO ₂	3.6±0.0	2.1±0.2	<1.0±0.0 (0/3)	<1.0±0.0 (0/3)

④ 양배추

- *D. bryoniae*가 4.7 log CFU/g으로 접종된 양배추 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 직후 종자 표면에 잔존하는 *D. bryoniae*의 개체수는 각각 2.9 와 2.8 log CFU/g로 감소하였다.

- 다중스트레스의 살균시너지를 확인하기 위하여 *D. bryoniae*가 4.7 log CFU/g으로 접종된 양배추 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 후 45°C와 43% 상대습도에서 24시간 동안 건조처리 하였을 때 DW 처리군과 이산화염소 용액 처리군에서 *D. bryoniae*가 완전히 멸균되었으며, 이어 60°C와 43% 상대습도에서 24시간 동안 건열처리 한 결과, 건조 처리 이후 DW 처리군과 이산화염소 용액 처리군 모두 멸균상태를 유지하였다.

표 37. *D. bryoniae*가 접종된 양배추 종자를 DW 혹은 ClO₂ (50 ppm)을 5 분간 처리하고 43% 상대습도, 45°C에서 24 시간 건조처리 한 뒤 양배추 종자에 존재하는 *D. bryoniae*의 개체수 확인

Sample	DW or ClO ₂	Population (log CFU/g seed)			
		Initial population	After DW or ClO ₂ (5 min)	After drying at 45°C (24 h)	After heating at 60°C (24 h)
양배추	DW	4.7±0.1	2.9±0.2	<1.0±0.0 (0/3)	<1.0±0.0 (0/3)
	ClO ₂	4.7±0.1	2.8±0.1	<1.0±0.0 (0/3)	<1.0±0.0 (0/3)

⑤ 수박

- *D. bryoniae*가 3.8 log CFU/g으로 접종된 수박 종자에 DW와 50 ppm의 이산화염소 용액을 처리한 직후 종자 표면에 잔존하는 *D. bryoniae*의 개체수는 두 처리군 모두 2.4 log CFU/g로 감소하였다.
- 다중스트레스의 살균시너지를 확인하기 위하여 *D. bryoniae*가 3.8 log CFU/g으로 접종된 수박 종자에 DW와 50ppm의 이산화염소 용액을 처리한 후 45°C와 43% 상대습도에서 24시간 동안 건조처리 하였을 때 DW 처리군은 *D. bryoniae*가 완전히 멸균되었으며 이산화염소 용액 처리군은 3번의 반복 실험 중 2번 완전히 멸균되었다. 이어 60°C와 43% 상대습도에서 24시간 동안 건열처리한 결과, 건조 처리 이후 DW 처리군과 이산화염소 용액 처리군 모두 멸균되었다.

표 38. *D. bryoniae*가 접종된 수박 종자를 DW 혹은 ClO₂ (50 ppm)을 5 분간 처리하고 43% 상대습도, 45°C에서 24 시간 건조처리 한 뒤 60°C에서 24 시간 열처리 한 후 수박 종자에 존재하는 *D. bryoniae*의 개체수 확인

Sample	DW or ClO ₂	Population (log CFU/g seed)			
		Initial population	After DW or ClO ₂ (5 min)	After drying at 45°C (24 h)	After heating at 60°C (24 h)
수박	Water	3.8±0.0	2.4±0.1	<1.0±0.0 (0/3)	<1.0±0.0 (0/3)
	ClO ₂	3.8±0.0	2.4±0.4	<1.0±0.0 (1/3)	<1.0±0.0 (0/3)

2. 길항미생물 대사체를 이용한 종자살균 연구(길항미생물의 대사체 추출기술 개발 및 종자처리 영향 분석)

가. 종자별 코팅 부제 선정을 위한 *in vitro* 검정 - 부제의 종자에 대한 영향 평가

(1) 연구 방법

(가) 코팅 부제 선정을 위해 부제 종류와 농도별 멜론 종자에 코팅 처리 후 발아율 검정

① 부제 선정을 위한 종자 코팅

- 기존의 관련 연구들에서 사용되었던 코팅 부제를 조사한다.
- Methyl cellulose (MC)와 polyvinyl alcohol(PVA)을 각각 1%와 10%, 0.5%와 1% 수용액으로 만들어 고압 멸균(121°C, 20분)한다.
- 멸균한 코팅 부제에 멜론종자를 1시간 동안 침지하고 overnight으로 air dry한다.

② 코팅 종자의 발아율 확인

- ISTA의 종자발아모델 가이드에 따라 코팅한 종자를 발아시키고 5일째에 발아율 검정을 실시한다.

(2) 연구 결과

(가) 부제 종류 및 농도별 발아율 결과

표 39. 부제의 종류 및 농도에 따른 발아율

작물	부제	부제 농도	발아율 ± S.D (%)
멜론	Polyvinyl alcohol (PVA)	1%	96.5 ± 0.7
		10%	95.0 ± 0.0
	Methyl cellulose (MC)	0.5%	94.5 ± 1.4
		1%	91.5 ± 2.1
	control	-	95.5 ± 0.7

나. 선발된 항진균 활성 균주들이 종자의 발아율, 감염률에 미치는 영향 확인

(1) 연구 방법

(가) 항진균 활성을 갖는 균주들에 의한 멜론 종자의 발아율과 감염률 확인

① 부제 선정을 위한 종자 코팅

- 스크리닝을 통해 확보된 항진균 활성 균주들 중 박과 작물 병원균 *Didymella bryoniae*에 항균활성이 있는 균주들을 선발
- 대치배양을 통해 선발한 균주들을 TSB 배지에서 이틀간 28°C 에서 배양하여 배양액을 원심분리 (8000g, 10분) 하고 남은 세포체를 0.1M MgSO₄ 수용액에 풀어주고 10⁷ cfu/mL 이 되도록 희석한다.
- 희석한 균주 현탁액에 코팅 부제인 PVA를 최종 농도가 1%가 되도록 첨가하고 종자를 한 시간 동안 침지한 후 overnight으로 air dry한다.
- PDA 배지에서 곰팡이를 7일간 28°C 에서 배양하고 곰팡이의 포자를 멸균수로 수확하여 1X10⁵ conidia/mL로 희석한 포자 현탁액을 pleated paper에 분주하여 이틀간 28°C 에서 배양하여 종자병이 유도될 환경을 만든다.
- 균주를 코팅한 종자를 종자병 유도 pleated paper에 치상하고 배양하여 발아시키고 ISTA

의 종자 발아 모델 가이드에 따라 5일째에 발아율 및 이병률을 확인한다.

(2) 연구 결과

(가) 항진균 활성을 갖는 균주들에 의한 멜론 종자의 발아율과 감염률 확인

- ① 스크리닝을 통해 확보된 항진균 활성 균주들 중 박과 작물 병원균 *Didymella bryoniae*에 항균활성이 있는 균주들을 선발
 - 기존에 확보한 천연물 라이브러리에서 항균효과가 있다고 알려진 약 87개의 후보들 중 대치배양을 통해 *Didymella bryoniae* KACC 40937에 항균효과가 있는 16종을 선별하였다.

표 40. *Didymella bryoniae*에 항균활성이 있는 균주

병원균	Bacteria library number
<i>Didymella bryoniae</i> KACC 40937	KPP01425, KPP01506, KPP01568, KPP01634, KPP01649, KPP01676, KPP01747, KPP01899, KPP02103, KPP02113, KPP02129, KPP02209, KPP02432, KPP02624, KPP02639, KPP02640
total	16

② 코팅한 균주별 멜론 종자의 발아율 및 이병률 확인

- ISTA의 종자발아모델 가이드에 따라 코팅한 종자를 발아시키고 5일째에 발아율 및 이병률을 확인한다.
- KPP01568 와 KPP01899가 각각 2.55%와 1.66%로 가장 낮은 이병률을 보였고 KPP015668 와 KPP02639 가 96%의 높은 발아율을 보였다(그림 15).

다. 선발된 균주를 배양하여 추출물 확보

(1) 연구 방법

(가) 항균 활성이 있는 균주의 대사체 내 유효성분 분석

- ① 유효성분 대량생산 조건 확립
 - 박과 작물 종자 병원균 *Didymella bryoniae*에 항균활성을 보인 균주들 (KPP01568, KPP01899, KPP02639)을 TSB 배지에서 이틀간 28°C에서 배양한 후 배양조건 (pH, 온도, 기간 등). 배양액 조성별 (FM, SCM, GSM, GSS 등) 대사체내 유효성분 분석 및 유효성분 대량 생산 조건 확립한다.
- ② 유효성분 항균활성 확인
 - 배양액을 원심분리하여 상등액을 butanol, ethyl acetate 등에 추출하고 cell을 methanol에 추출하여 확보한 후 각 추출물들이 박과 작물 병원균 *Didymella bryoniae*에 항균활성이 있는지 확인한다.
- ③ 유효성분 정제
 - 항균활성이 있는 추출물을 다양한 크로마토그래피 (Diaion, C18, silica, C18 sep-pak, TLC, size exclusion, HPLC 등)를 통해 유효성분을 정제한다.

(2) 연구 결과

(가) 항균 활성이 있는 균주의 대사체 내 유효성분 분석

- 다양한 크로마토그래피 (Diaion, C18, silica, C18 sep-pak, TLC, size exclusion, HPLC 등)

을 통한 유효성분 정제하였다.

라. 지속적인 토양 방선균, 근권 세균 배양액 추출물 라이브러리 확보

(1) 연구 방법

(가) 천연물 라이브러리 확보

① 균주의 확보

- 각지와 그 지역 식물 근권에서 10cm 깊이의 토양을 채집하여 1g을 멸균수 10mL에 희석한 후(10-2, 10-3) 배지(Humic acid vitamin agar, 0.3% TSA)에 spreading하여 28°C에서 3일간 배양한다.
- 배양한 배지에서 자란 콜로니를 하나씩 배지(BN agar, 0.3% TSA)로 분리하여 28°C에서 3일간 배양한 후 그 콜로니를 20% glycerol에 stock으로 만들어 보관한다.

(2) 연구 결과

- 국내 다양한 지역에서 채집한 토양에서 951 점의 방선균주를 확보하고 해당 균주들의 배양액을 추출하여 라이브러리 확보(표 41)
- 국내 다양한 지역의 침엽수, 활엽수, 소나무 근권 미생물을 998 점을 확보하고 해당 균주들의 배양액을 추출하여 라이브러리 확보(표 41)

표 41. 근권 토양에서 분리된 방선균 및 근권 세균

지역	분리된 방선균수	구분	분리된 근권 세균
마니산	81	침엽수	52
		활엽수	15
광덕산	177	침엽수	55
		활엽수	48
		소나무	35
설악산	53	침엽수	58
		활엽수	94
북한산	78	침엽수	53
		활엽수	59
오대산	81	활엽수	21
태화산	108		
치악산	85	침엽수	34
		활엽수	59
		소나무	23
덕유산	85	침엽수	55
		활엽수	76
변산반도	27	활엽수	16
월출산	60	침엽수	38
		활엽수	55
지리산	47	침엽수	29
		활엽수	34
가지산	69	침엽수	44
		활엽수	45

표 42. 코팅한 균주별 멜론 종자의 이병률과 발아율

처리 균주	병 정도				severity	이병률d	발아율
	0	1a	2b	3c			
control	5	12	14	19	7067	100%	62%
KPP01425	8	23	18	1	348	4.92%	96%
KPP01506	9	25	13	3	221	3.13%	94%
KPP01568	7	28	12	2	180	2.55%	96%
KPP01634	11	16	18	5	465	6.585%	90%
KPP01649	8	14	19	9	1104	15.62%	82%
KPP01676	9	13	13	13	2379	33.66%	74%
KPP01747	4	20	14	5	341	4.83%	90%
KPP01899	13	28	5	4	117	1.66%	92%
KPP02103	9	16	21	4	521	7.37%	92%
KPP02113	13	16	13	3	212	3.00%	94%
KPP02129	13	16	17	3	332	4.70%	94%
KPP02209	10	15	19	6	592	8.38%	88%
KPP02624	12	17	17	4	370	5.24%	92%
KPP02639	15	14	21	1	456	6.45%	96%
KPP02640	5	19	22	4	567	8.02%	92%

$s=a+b^2+c^3$, $d=s/(\text{control의 } s) \times 100(\%)$

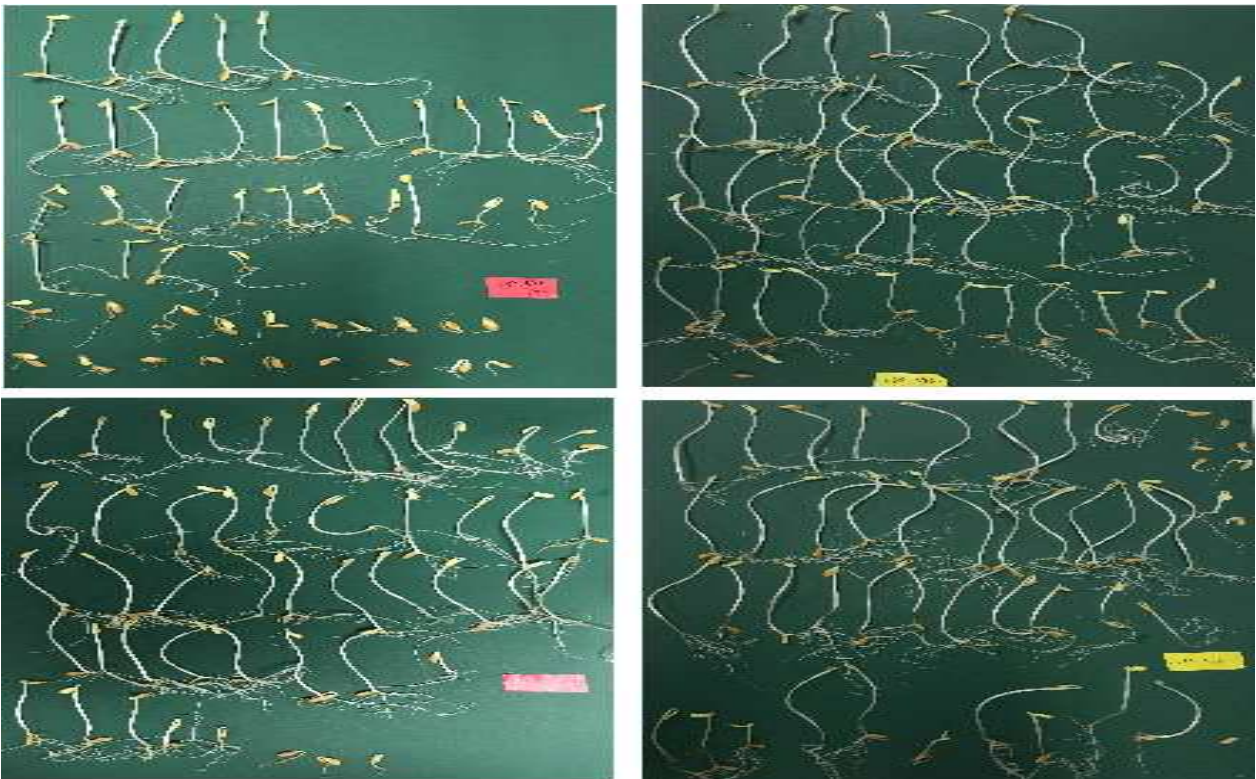


그림 15. Control(좌상), KPP01568(우상) KPP01899(좌하), KPP02639(우하)의 발아율, 감염률 테스트

[3차년도]

1. 다중스트레스 조합처리 연구 (종자의 위해미생물 제어를 위한 이산화염소 기체 기반 다중스트레스 처리기술의 개발)

가. 종자별 이산화염소 (ClO₂) 기체 및 유기산 (아세트산) 기체에 대한 저항성 확인

(1) 연구 방법

(가) 이산화염소 기체에 대한 종자별 저항성 확인

① 이산화염소 기체 발생환경 구축

- 1.8 L airtight container 안의 상대습도를 조절하기 위해 potassium chloride (aw 0.850) 용액을 각각 180 ml씩 분주한 후 50°C 로 설정된 incubator에 24 시간 동안 둔다.

② 이산화염소 용액의 제조

- 2 ml의 1 N 염산 (HCl)이 담긴 15 ml conical tube를 준비한다.
- 0.25 g의 아염소산나트륨 (NaClO₂)을 2 ml의 염산 (HCl)이 담긴 15 ml conical tube에 넣은 후 최대 세기로 1 분간 vortexing하여 반응시킨다.
- 이 때, 만들어진 이산화염소 용액 내 아염소산나트륨(NaClO₂)의 농도는 100,000 µg/ml가 된다.

③ 이산화염소 기체의 처리

- 24시간 동안 50°C에서 85% 상대습도로 맞춰진 airtight container의 뚜껑을 열고 핀셋을 이용하여 culture dish (100.00 diameter by 50.00 mm height; SPL)를 넣는다.
- Culture dish 내부에 반응시킨 이산화염소 용액을 일정량 분주한다.
- 400, 1,000 ppm 농도의 이산화염소 기체를 발생시키기 위한 용액의 분주량은 400 ppm의 경우 56 µl, 1,000 ppm의 경우 155 µl 이다.
- 이산화염소 용액이 분주된 culture dish 내부에 sieve (75 mm diameter, 600 µm pore size; Chung Gye Sang Gong Sa)를 넣고 sieve 위에 5 g 씩 정량한 종자를 올려놓은 다음 뚜껑을 닫는다.

④ 이산화염소 기체 처리 후 발아율 조사

- 이산화염소 기체를 60 min 또는 120 min 처리한 후 incubator에서 airtight container를 꺼내 처리된 종자를 핀셋으로 집어 치상한 후 발아율을 조사한다. 위의 과정을 적어도 세 번 이상 반복한다.

⑤ 이산화염소 기체를 처리하지 않은 종자의 발아율 조사 (대조군)

- 이산화염소 용액을 분주하지 않은 상대습도 85% 및 50°C container에서 60 min 또는 120 min 처리한 후 incubator에서 airtight container를 꺼내 처리된 종자를 핀셋으로 집어 치상한 후 발아율을 조사한다. 위의 과정을 적어도 세 번 이상 반복한다.

(나) 유기산 (아세트산) 기체에 대한 무 종자의 저항성 확인

① 유기산 (아세트산) 기체의 발생환경 구축

- 1.8 L airtight container 안의 상대습도를 조절하기 위해 43% 상대습도 용액 (Potassium carbonate 과포화 수용액)을 180 mL 씩 분주한 후 55°C로 설정된 incubator에 24시간 동안 둔다.

② 유기산 (아세트산) 기체의 처리

- 24 시간 동안 55°C에서 43% 상대습도로 맞춰진 airtight container의 뚜껑을 열고 핀셋을 이용하여 culture dish (100.00 diameter by 40.00 mm height; SPL)를 넣는다.

- Culture dish 내부에 아세트산 용액을 일정량 분주 후, Culture dish lid (100.00 diameter, 40.00 mm ventilation hole size, 0.053 mesh hole size ; SPL)를 얹어준다.
- 분주량은 각각 100 mg/L 의 경우 157 μ l 이고, 300 mg/L 의 경우 471 μ l 이다.
- 멸균된 spoon을 이용하여 Culture dish lid 위에 균이 접종된 종자를 펼친다.
- 뚜껑을 닫고 55°C에 맞춰진 isothermoven에 넣어 0, 2, 6 h 간 처리한다.
- 처리시간이 끝나면, 핀셋을 이용하여 접종된 종자가 올려진 lid를 clean bench에 꺼내둔다.

③ 유기산 (아세트산) 기체 처리 후 발아율 조사

- 아세트산 기체를 0, 2, 6 h 처리한 후 incubator에서 airtight container를 꺼내 처리된 종자를 핀셋으로 집어 치상한 후 발아율을 조사한다. 위의 과정을 적어도 세 번 이상 반복한다.

④ 유기산 (아세트산) 기체를 처리하지 않은 종자의 발아율 조사 (대조군)

- 아세트산 기체를 처리하지 않은 상대습도 43% 및 55°C container에서 0, 2, 6 h 처리한 후 incubator에서 airtight container를 꺼내 처리된 종자를 핀셋으로 집어 치상한 후 발아율을 조사한다. 위의 과정을 적어도 세 번 이상 반복한다.

(2) 연구 결과

(가) 이산화염소 기체에 대한 종자별 저항성 확인

① 이산화염소 기체를 처리한 8 가지 종자의 발아율 결과

- 상추 종자를 제외한 7 가지 종자 모두 85% 상대습도, 50°C 온도 조건에서 이산화염소 기체 (ca. 1,000 ppm)를 120 분간 처리하였을 때, 1, 2 차 발아율이 감소하지 않았다.
- 상추 종자의 경우, 85% 상대습도, 50°C 온도 조건에서 이산화염소 기체 (ca. 1,000 ppm)를 120 분간 처리하였을 때, 2차 발아율이 이산화염소 기체를 처리하지 않은 값 (0 ppm)에 비해 유의적으로 감소하는 경향을 보였다.
- 상추 종자를 제외한 7 가지 종자의 경우, 이산화염소 기체가 최종 발아율에 영향을 주지 않으므로 해당 조건을 적용하여 균 저감화 실험을 진행한 후 이산화염소 기체의 살균효과를 확인해볼 수 있다.
- 상추 종자의 경우, 이산화염소 기체를 처리하지 않은 조건에 비해 2 차 발아율이 감소하기 때문에 해당 조건을 적용하기 어렵다.

표 43. 이산화염소 기체 처리후 1차 발아율 결과

작물명	Germination rate \pm S.D (%)		
	Initial	Concentration of ClO ₂ (ppm)	
		0	1000
고추	84.0 \pm 5.3 a	78.7 \pm 6.4 a	81.3 \pm 11.0 a
무	90.0 \pm 2.0 a	88.7 \pm 1.2 a	86.0 \pm 2.0 a
멜론	91.3 \pm 4.6 a	91.3 \pm 3.1 a	90.7 \pm 2.3 a
상추	59.3 \pm 3.1 a	62.0 \pm 2.0 a	57.3 \pm 6.1 a
수박	90.7 \pm 1.2 a	91.3 \pm 3.1 a	88.0 \pm 2.0 a
양배추	84.0 \pm 5.3 a	83.3 \pm 1.2 a	88.0 \pm 3.5 a
오이	88.0 \pm 2.0 a	88.0 \pm 3.5 a	86.7 \pm 4.2 a
호박	55.3 \pm 11.0 a	47.3 \pm 10.1 a	52.7 \pm 9.9 a

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

표 44. 이산화염소 기체 처리후 2차 발아율 결과

작물명	Germination rate \pm S.D (%)		
	Initial	Concentration of ClO ₂ (ppm)	
		0	1000
고추	97.3 \pm 3.1 a	93.3 \pm 8.3 a	98.7 \pm 2.3 a
무	94.0 \pm 3.0 a	90.7 \pm 1.2 a	90.7 \pm 2.3 a
멜론	96.7 \pm 1.2 a	98.7 \pm 1.2 a	98.0 \pm 2.0 a
상추	70.0 \pm 4.0 a	74.0 \pm 4.0 a	
수박	98.0 \pm 2.0 a	97.3 \pm 1.2 a	96.0 \pm 2.0 a
양배추	86.0 \pm 4.0 a	84.7 \pm 2.3 a	84.7 \pm 3.1 a
오이	96.0 \pm 2.0 a	94.7 \pm 2.3 a	92.7 \pm 1.2 a
호박	88.7 \pm 4.2 a	85.3 \pm 5.0 a	82.7 \pm 5.0 a

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

(나) 유기산 (아세트산) 기체에 대한 무 종자의 저항성 확인

① 유기산 (아세트산) 기체를 처리한 무 종자의 1, 2 차 발아율 결과

표 45. 유기산(아세트산) 기체 처리후 발아율 결과

Germination sequence (days)	Concentration of gaseous acetic acid (mg/L of air)	Germination rate \pm S.D (%)		
		Treatment time (h)		
		0	2	6
1st (After 5 days)	0	A 95.3 \pm 3.1 a	A 93.3 \pm 4.2 a	A 95.3 \pm 1.2 a
	100	A 95.3 \pm 3.1 a	A 94.0 \pm 5.3 a	A 96.0 \pm 2.0 a
	300	A 95.3 \pm 3.1 a	A 94.7 \pm 3.1 a	A 96.0 \pm 0.0 a
2nd (After 10 days)	0	A 98.7 \pm 1.2 a	A 98.0 \pm 3.5 a	A 98.0 \pm 2.0 a
	100	A 98.7 \pm 1.2 a	A 97.3 \pm 2.3 a	A 98.0 \pm 2.0 a
	300	A 98.7 \pm 1.2 a	A 97.3 \pm 3.1 a	A 99.3 \pm 1.2 a

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

나. 이산화염소 기체를 기반으로 건열 처리, 유기산 기체 등의 살균시너지 확인

(1) 연구 방법

(가) 이산화염소 기체 기반 살균시너지 확인

① A. citrulli의 준비

- 4°C에 보관된 A. citrulli 5 균주의 slant stock에서 blue needle을 이용하여 single colony를 취한 후 30 ml의 NB가 담긴 50 ml conical tube에 접종한다.
- 30°C에서 48시간 정지 배양한다.
- 3 차례 계대배양 (transfer) 후 이를 실험에 사용한다.

② Bacterial cocktail 제조

- NB에서 48시간 동안 배양된 5 균주의 A. citrulli solution 10 ml이 담긴 50 ml conical tube를 각각 centrifuge에 위치시키고 2002 rcf에서 15분간 원심분리한다.
- 원심분리가 끝난 5가지 strain의 A. citrulli solution 상층액을 10 ml pipette을 이용하여 각각 제거한다.
- 상층액이 제거된 A. citrulli pellet이 담긴 50 ml conical tube에 10 ml의 PBS를 10 ml pipette을 이용하여 분주한 후 vortexing을 실시한다.
- 각각의 A. citrulli 5 균주의 solution 10 ml이 담긴 50 ml conical tube에서 micropipette을 이용하여 1 ml의 solution을 취한 후 새로운 50 ml conical tube에 분주하여 섞어준다.
- 제조된 A. citrulli cocktail (9 log CFU/ml)을 9 ml PBS를 이용하여 1번 십진희석시킨다 (8 log CFU/ml).

③ 종자시료에 A. citrulli cocktail 접종

- 감마선 처리된 멸균 종자 5 g이 담긴 50 ml conical tube에 15 ml의 A. citrulli cocktail (8 log CFU/ml)을 Auto pipet을 이용하여 분주한다.
- 15 ml의 A. citrulli cocktail과 5 g의 종자시료가 담긴 50 ml conical tube의 뚜껑을 닫고 5분간 침지한다.
- 멸균된 sterile sieve를 재배틀 윗 부분에 위치시킨다.
- 5분간 처리된 5 g의 종자시료와 15 ml의 A. citrulli를 멸균된 sterile sieve에 부어 종자시료를 걸러낸다.
- Sterile sieve 위 걸러진 종자시료를 멸균된 spoon을 이용하여 고르게 펼쳐준 후 2시간 동안 laminar flow bio safety hood에서 건조시킨다.

④ 이산화염소 기체 발생환경 구축

- 1.8 L airtight container 안의 상대습도를 조절하기 위해 potassium chloride (aw 0.850) 용액을 각각 180 ml씩 분주한 후 핀셋을 이용하여 culture dish (100.00 diameter by 50.00 mm height; SPL)를 넣는다.
- 50°C로 설정된 incubator에 24시간 동안 둔다.

⑤ 이산화염소 기체의 발생

- 2 ml의 1 N 염산 (HCl)이 담긴 15 ml conical tube를 준비한다.
- 0.25 g의 아염소산나트륨 (NaClO₂)을 2 ml의 염산 (HCl)이 담긴 15 ml conical tube에 넣은 후 최대 세기로 1 분간 vortexing하여 반응시킨다. (이 때, 만들어진 용액 내 아염소산나트륨 (NaClO₂)의 농도는 100,000 µg/ml가 된다.)
- 24시간 동안 50°C에서 85% 상대습도로 맞춰진 airtight container의 뚜껑을 열고, culture

dish 내부에 56 μ l (ca. 400 ppm) 또는 155 μ l (ca. 1,000 ppm)의 1 N HCl과 NaClO₂의 혼합액을 분주한다.

- 멸균된 spoon을 이용하여 sterile sieve (75 mm diameter, 600 μ m pore size; Chung Gye Sang Gong Sa)위에 접종된 종자를 펼친다.
- 멸균 핀셋을 이용하여 종자가 담긴 sieve를 1 N HCl과 NaClO₂의 혼합액이 분주된 culture dish에 넣은 다음 뚜껑을 닫는다.
- 85% 상대습도 그리고 50°C에서 60분 또는 120분간 처리한다.
- 60분 또는 120분 처리가 끝난 종자는 핀셋을 이용하여 sieve를 clean bench 에 꺼내둔다.

⑥ A. citrulli의 개체수 확인

- Whirl-pak bag을 전자저울에 올린 후 영점을 맞춘다.
- ClO₂ (g)가 처리된 종자시료 3 g을 멸균된 spoon을 이용하여 전자저울 위 whirl-pak bag에 넣어준다.
- 30 ml pipette을 이용하여 멸균(Autoclaved in 121°C for 15 min)된 30 ml의 NB를 종자시료가 담긴 whirl-pak bag에 분주한다.
- Whirl-pak bag의 입구를 봉한 후 stomacher (Interscience BagMixer 400W)에서 1 분간 pummeling 한 뒤 solution을 취한 후, 0.1% peptone water로 serial dilution을 실시하여 NA plate에 direct plating 한다.
- 30°C에서 48 시간 동안 배양시킨 후 counting을 실시한다.

(나) 유기산 (아세트산) 기체 기반 살균시너지 확인

① A. citrulli의 준비

- 4°C 에 보관된 A. citrulli 5 균주의 slant stock에서 blue needle을 이용하여 single colony를 취한 후 30 ml 의 NB가 담긴 50 ml conical tube에 접종한다.
- 30°C 에서 48시간 정치 배양한다.
- 3 차례 계대배양 (transfer) 후 이를 실험에 사용한다.

② Bacterial cocktail 제조

- NB에서 48 시간 동안 배양된 5 균주의 A. citrulli solution 10 ml이 담긴 50 ml conical tube를 각각 centrifuge에 위치시키고 2002 rcf에서 15 분간 원심분리한다.
- 원심분리가 끝난 5 균주의 A. citrulli solution 상층액을 10 ml pipette을 이용하여 각각 제거한다.
- 상층액이 제거된 A. citrulli pellet이 담긴 50 ml conical tube에 10 ml의 PBS를 10 ml pipette을 이용하여 분주한 후 vortexing을 실시한다.
- 각각의 A. citrulli 5 균주의 solution 10 ml이 담긴 50 ml conical tube에서 micropipette을 이용하여 1 ml의 solution을 취한 후 새로운 50 ml conical tube에 분주하여 섞어준다.
- 제조된 A. citrulli cocktail (9 log CFU/ml)을 9 ml PBS를 이용하여 1번 십진희석시킨다(8 log CFU/ml).

③ 종자시료에 A. citrulli cocktail 접종

- 감마선 처리된 멸균 종자 5 g이 담긴 50 ml conical tube에 15 ml의 A. citrulli cocktail cocktail (8 log CFU/ml)을 Auto pipette을 이용하여 분주한다.
- 15 ml의 A. citrulli cocktail과 5 g의 종자시료가 담긴 50 ml conical tube의 뚜껑을 닫고 5분간 침지한다.

- 멸균된 sterile sieve 를 재배틀 윗 부분에 위치시킨다.
- 5분 간 처리된 5 g의 종자시료와 15 ml의 A. citrulli을 멸균된 sterile sieve에 부어 종자시료를 걸러낸다.
- Sterile sieve 위 걸러진 종자시료를 멸균된 spoon을 이용하여 고르게 펼쳐준 후 2시간 동안 laminar flow bio safety hood에서 건조시킨다.

④ 유기산 (아세트산) 기체 발생환경 구축

- 1.8 L airtight container 안의 상대습도를 조절하기 위해 43% 상대습도 용액 (potassium carbonate 과포화 수용액)을 180 ml 분주한 후 핀셋을 이용하여 culture dish (100.00 diameter by 50.00 mm height; SPL)를 넣는다.
- 25, 50, 55°C 로 설정된 incubator에 24 시간 동안 둔다.

⑤ 유기산 (아세트산) 기체의 처리

- 24시간 동안 25, 50, 55°C에서 43% 상대습도로 맞춰진 airtight container의 뚜껑을 열고 핀셋을 이용하여 Culture dish (100.00 diameter by 40.00 mm height; SPL)를 넣는다.
- Culture dish 내부에 아세트산 용액을 일정량 분주후, Culture dish lid (100.00 diameter, 40.00 mm ventilation hole size, 0.053 mesh hole size ; SPL)를 얹어준다.
- 분주량은 각각 100 mg/L 의 경우 157 μ l 이고, 300 mg/L 의 경우 471 μ l 이다.
- 멸균된 spoon을 이용하여 Culture dish lid 위에 균이 접종된 종자를 펼친다.
- 뚜껑을 닫고 25, 50, 55°C에 맞춰진 isothermoven에 넣어 1, 2, 6 h 간 처리한다.
- 처리시간이 끝나면, 핀셋을 이용하여 접종된 종자가 올려진 lid를 clean bench에 꺼내둔다.

⑥ A. citrulli의 개체수 확인

- Whirl-pak bag을 전자저울에 올린 후 영점을 맞춘다.
- ClO₂ (g)가 처리된 종자시료 3 g을 멸균된 spoon을 이용하여 전자저울 위 whirl-pak bag에 넣어준다.
- 30 ml pipette을 이용하여 멸균(Autoclaved in 121°C for 15 min)된 30 ml의 NB를 종자시료가 담긴 whirl-pak bag에 분주한다.
- Whirl-pak bag의 입구를 봉한 후 stomacher (Interscience BagMixer 400W)에서 1 분간 pummeling한다.
- Pummeling이 끝난 whirl-pak bag에서 solution을 취한 후, 0.1% peptone water로 serial dilution을 실시하여 NA plate에 direct plating 한다.
- 30°C에서 48 시간 동안 배양시킨 후 counting을 실시한다.

(2) 연구 결과

(가) 이산화염소 기체 기반 살균시너지 확인

① 8 가지 종자에 접종한 A. citrulli에 대한 이산화염소 기체의 살균효과 확인

- 85% 상대습도, 50°C 온도 조건에서 이산화염소 기체 (ca. 1,000 ppm)를 120분간 처리시, 무, 양배추 종자에 접종한 A. citrulli가 멸균된 것을 확인하였다.

표 46. 멸균된 8 가지 종자 (고추, 멜론, 무, 상추, 수박, 양배추, 오이, 호박) 5 g 에 *A. citrulli* cocktail suspension (ca. 8 log CFU/ml)을 접종하고 상온에서 2 시간 건조(in clean bench)하여, 85% 상대습도 및 50°C 온도 조건에서 이산화염소 기체 (ca. 1,000 ppm)를 60, 120 분간 처리 후 nutrient agar 에 48 시간 배양한 *A. citrulli* 의 개체수

작물명	Germination rate \pm S.D (%)			
	Initial	Treatment time (min)	Concentration of ClO ₂ (ppm)	
			0	1000
고추	7.1 \pm 0.3	60	4.3 \pm 2.5	<1.0 (2/3)
		120	<1.0 (2/3)	<1.0 (1/3)
멜론	7.3 \pm 0.2	60	2.2 \pm 1.3	1.1 \pm 0.8
		120	1.1 \pm 0.7	<1.0 (2/3)
무	7.3 \pm 0.2	60	4.2 \pm 0.2	<1.0(3/3)
		120	2.1 \pm 0.2	
상추	7.2 \pm 0.1	60	3.6 \pm 2.3	2.4 \pm 1.4
		120	3.5 \pm 2.2	<1.0 (1/3)
수박	6.5 \pm 0.2	60	2.4 \pm 1.6	< 1.0 (3/3)
		120	<1.0 (2/3)	<1.0 (1/3)
양배추	7.0 \pm 0.3	60	4.0 \pm 2.3	2.3 \pm 1.4
		120	2.4 \pm 1.3	
오이	6.9 \pm 0.2	60	4.3 \pm 2.5	2.0 \pm 0.6
		120	< 1.0 (2/3)	<1.0 (1/3)
호박	7.3 \pm 0.2	60	3.2 \pm 1.9	2.0 \pm 1.2
		120	2.0 \pm 1.3	<1.0 (3/3)

(나) 유기산 (아세트산) 기체 기반 살균시너지 확인

① 무 종자에 접종한 *A. citrulli* 에 대한 유기산 (아세트산) 기체의 살균효과 확인

- 온도, 농도, 처리시간이 증가함에 따라 무 종자에 접종한 *A. citrulli*의 개체수가 감소하였다.
- 43% 상대습도, 55°C 온도 조건에서 아세트산 기체 (300 mg/L of air)를 2 시간 처리시, 무 종자에 접종한 *A. citrulli*가 멸균되었다.

표 47. 멸균된 무 종자 5 g 에 *A. citrulli* cocktail suspension (ca. 8 log CFU/ml)을 접종하고 상온에서 2 시간 건조 (in clean bench)하여, 43% 상대습도 및 25·50·55°C 온도 조건에서 아세트산 기체(ca. 100, 300 mg/L of air)을 1, 2, 6 시간 처리한 후, Nutrient agar 에 48 시간 배양한 *A.citrulli* 의 개체수

Temperature (°C)	Concentration of gaseous acetic acid (mg/L of air)	Populations (log CFU/g)			
		Treatment time (h)			
		0	1	2	6
25	0	7.0±0.2	6.9±0.2	6.6±0.3	6.1±0.2
	100	7.0±0.2	6.1±0.1	6.2±0.1	4.9±1.0
	300	7.0±0.2	5.8±0.5	5.9±0.6	2.0±1.8
50	0	7.0±0.2	5.7±0.8	5.2±0.6	3.3±0.6
	100	7.0±0.2	4.5±0.4	3.2±1.0	<1.0 (1/3)
	300	7.0±0.2	3.0±0.6	<1.0 (3/3)	<1.0 (1/3)
55	0	7.0±0.2	3.1±0.2	1.9±1.3	ND ^a
	100	7.0±0.2	2.6±1.3	<1.0 (3/3)	ND
	300	7.0±0.2	<1.0 (3/3)		ND

2. 길항 미생물 대사체를 이용한 종자살균 연구

(1) 연구 방법

(가) 종자 코팅을 위한 길항미생물 선발

① *D.bryoniae*에 대한 항진균 활성으로 선발된 균주를 대상으로 다른 병원균에 대하여 항균 활성 확인

- *D.bryoniae*에 대한 항진균 활성으로 선발된 방선균 균주 17종을 TSA+PDA 혼합배지 중앙에 일자로 그은 후 28°C 에서 3일간 배양한다.
- 방선균 양옆으로 종자 감염 곰팡이 5종 (*Didymellabryoniae* KACC40937, *Alternariabrassicicola* KACC40034, *Colletotrichumorbiculare* KACC42457, *Rhizoctoniasolani* KACC40139, *Pythium ultimum* KACC40705)과 세균 1종 (*Acidovoraxcitrulli* KACC17000)을 접종하여 병원균의 생장을 억제하는 길항미생물을 선발한다.

(나) 항균 활성 미생물의 유효성분 정제 분석

① 선발된 활성 미생물의 유효성분 정제

- 선발된 길항미생물 5종(KPP02103, KPP2113, KPP02129, KPP02639, KPP03317)을 tryptic soy broth 1L에 접종한 후 28°C, 200rpm에서 3일간 배양한다.
- 2종(KPP02639, KPP03317)은 원심분리 (8000rpm, 30min) 후 얻은 배양여액을 동량의 butanol로 용매추출한 후 감압농축기로 농축시킨다.
- 3종(KPP02103, KPP2113, KPP02129)은 Dianion HP20 크로마토그래피를 통해 정제하고 paper disk 검정법을 통해 활성분획을 확인한다.

(다) 길항미생물의 오이, 무 종자에 대한 in vivo 검정

① 선발된 길항미생물의 오이, 무 종자에 대한 in vivo 검정

- 멸균토양에 *Pythium ultimum* KACC 40705와 *Rhizoctonia solani* (AG-4) KACC40139 클

로니를 접종 후 7일간 25℃에서 배양하여 *Pythium ultimum*-, *Rhizoctonia solani*-infested soil을 만든다.

- 포트 당 *Pythium ultimum*-, *Rhizoctonia solani*-infested soil을 100ml씩 담고 각 길항미생물 배양액 조추출물로 코팅된 오이, 무종자를 파종한다.
- 각 처리당 10 립씩 3 반복으로 시행하며, 처리 5일 후 관찰한다.

(2) 연구 결과

(가) 종자 코팅을 위한 길항미생물 선발

① *D.bryoniae*에 대한 항진균 활성으로 선발된 균주를 대상으로 다른 병원균에 대하여 항균 활성 확인

- 1, 2차년도에 선발한 17종 방선균 중에서 병원균 6종에 대해 항균활성이 강하고 종자에 처리시 발아율에 영향이 적은 5종 균주 (KPP02103, KPP02113, KPP02129, KPP02639, KPP03317) 선발하였다.

표 48. 종자 감염 병원균 6종에 대한 대치배양으로 길항미생물 선발

Target pathogen	병원균
<i>Acidovoraxcitruilli</i> KACC17000	KPP01649, KPP01676, KPP02103, KPP02113, KPP02129
<i>Didymellabryoniae</i> KACC 40937	KPP01425, KPP01568, KPP01649, KPP01676, KPP01747, KPP01899, KPP02103, KPP02113, KPP02129, KPP02639, KPP03317
<i>Alternariabrassicicola</i> KACC 40034	KPP01649, KPP01676, KPP01747, KPP01899, KPP02103, KPP02113, KPP02129, KPP02639, KPP03317
<i>Colletotrichumorbiculare</i> KACC 42457	KPP01425, KPP01568, KPP01649, KPP01676, KPP01747, KPP01899, KPP02103, KPP02113, KPP02129, KPP02639, KPP03317
<i>Rhizoctoniasolani</i> KACC 40139	KPP01649, KPP01676, KPP02103, KPP02113, KPP02129, KPP02209, KPP02624, KPP02635, KPP02639, KPP02640, KPP03317
<i>Pythium ultimum</i> KACC 40705	KPP01649, KPP01676, KPP01899, KPP02103, KPP02113, KPP02129, KPP02635, KPP02640

(나) 항균 활성 미생물의 유효성분 정제 분석

① 선발된 활성 미생물의 유효성분 정제 (표 2)

- 2종 (KPP02639, KPP03317) 배양여액을 동량의 butanol로 용매 추출한 후 paper disk assay방법(병원균 Colletotrichum orbiculare)으로 활성 검정한 결과, Butanol 층에서 항균 활성이 관찰되었다.
- 3종 (KPP02103, KPP2113, KPP02129)은 동량의 butanol로 용매추출한 후 paper disk assay방법 (병원균 Colletotrichum orbiculare)으로 활성검정한 결과, 물층에서 항균활성이 관찰되었으며, Dianion HP20 크로마토그래피를 통해 정제 후, 활성검정한 결과 KPP02103(60, 80% Methanol), KPP02113 (60% Methanol), KPP02129(0, 20, 40% Methanol)에서 활성이 관찰되었다.
- 선발된 후보 균주 5종 배양액의 조추출물로 코팅된 무, 오이 종자로 화분실험 진행하였다.

표 49. 선발된 길항미생물의 유효성분 분획

항균활성 균	배양	활성분획 정제	활성물질
KPP02103		Culture filtrate → Diaion 60,80%	
KPP02113	TSB (1L)	Culture filtrate → Diaion 60%	분리진행중
KPP02129	28 °C 200rpm	Culture filtrate → Diaion 0,20,40%	
KPP02639	3일	Culture filtrate → BuOH extract	
KPP03317		Culture filtrate → BuOH extract	Rimocidin

(다) 길항미생물의 오이, 무 종자에 대한 in vivo 검정

① 선발된 길항미생물의 오이, 무 종자에 대한 in vivo 검정

- Pythium 접종토양에서 무처리 대비 Thiram과 KPP02113, KPP02639균주 배양액을 처리한 오이종자가 높은 발아율을 유지하였다.
- Rhizoctonia 접종토양에서는 KPP03317균주와 보존제SUN를 혼합처리한 무종자에서 가장 높은 발아율 보였다.

[4차년도]

1. 종자의 위해미생물 제어를 위한 항균기체 (이산화염소, 유기산, 정유) 기반 종자살균기술 개발 가. 위해미생물에 대한 살균력을 지닌 유기산기체 추가선별

(1) 연구 방법

(가) 유기산 (프로피온산, 포름산) 기체 다중 스트레스 처리에 대한 무종자의 저항성과 식물병 원균의 살균 확인

① 발아율 확인을 통한 무종자의 저항성 확인

- 국립종자원에서 사용중인 국제종자검정협회(ISTA) 방법으로 발아검정 수행.
- 24시간 동안 25 혹은 50°C 에서 43 혹은 85% 상대습도로 맞춰진 airtight container의 뚜껑을 열고 핀셋을 이용하여 Culture dish (100.00 diameter by 40.00 mm height; SPL)를 넣는다.
- mg/L of air의 농도로 기화하도록 Culture dish 내부에 포름산 (135 μ l), 프로피온산 (167 μ l) 용액을 분주한다.
- 5 g의 무 종자가 올라간 Culture dish lid를 culture dish에 올리고 뚜껑을 닫아 50°C incubator에 2시간까지 처리한다.
- 처리가 끝난 종자 중 50개를 pleated paper에 멸균 핀셋으로 22.5 ml의 멸균증류수와 함께 치상하고 변온 incubator에서 5일 후 1차, 10일 후 2차 발아율을 측정한다.

② 무종자가 저항성이 있음이 확인된 유기산의 항균력 확인

- 30°C incubator의 nutrient broth (NB)에서 48시간씩 3번 계대배양한 5 균주의 *A. citrulli* 을 각각 50 ml conical tube에 담고 centrifuge에서 2,002 rcf로 15 분간 원심분리한다.
- 원심분리가 끝난 5 균주의 *A. citrulli* solution 상층액을 10 ml의 pipette을 이용하여 제거한다.
- 상층액이 제거된 *A. citrulli* pellet이 담긴 50 ml conical tube에 PBS buffer를 10 ml pipette을 이용하여 제거한 상층액 만큼 분주한 후 vortexing을 실시한다.
- 위 과정을 한 번 더 반복하고 5 균주의 *A. citrulli* solution과 PBS buffer를 이용해 십진희석한 *A. citrulli* cocktail을 만든다. (ca. 8 log CFU/ml)
- 5 g의 멸균 무 종자에 15 ml의 *A. citrulli* cocktail을 5 분간 침지해 접종하고 멸균된 sieve에서 2 시간동안 건조한다.
- 건조가 끝난 종자는 culture dish lid에 옮겨 24시간 동안 25 혹은 50°C incubator에 43 혹은 85%로 맞춰놓은 airtight container에서 포름산 (135 μ l), 프로피온산 (167 μ l) 용액으로 1, 2시간 처리한다.
- 처리가 끝난 후 3 g의 처리된 종자와 30 ml의 NB를 whirl-pak bag에 넣고 stomacher (Interscience BagMixer 400W)에서 1 분간 pummeling한다.
- Pummeling이 끝난 whirl-pak bag에서 solution을 취하여 nutrient agar (NA)에 direct plating한다.
- 30°C 에서 48 시간 동안 배양시킨 후 counting을 실시한다.

(2) 연구 결과

(가) 위해미생물에 대한 살균력을 지닌 유기산기체 추가선별 및 항균효과 확인

① 프로피온산을 처리한 무종자의 1, 2차 발아율

- 아무런 처리를 가하지 않은 무 종자의 1차 발아율은 95.3±3.1%였으며, 2차 발아율은 98.7±1.2%였다.
- 모든 처리조건에서 발아율이 감소하지 않았다.
- 따라서, 무종자는 43과 85%의 상대습도와 25, 50°C의 온도조건에서 100 mg/L of air의 프로피온산 기체를 2시간 처리한 것에 대해 저항성을 가지고 있다.

표 50. 상대습도 43·85%와 온도 25·50°C 조건의 1.8 L airtight container에 프로피온산을 167 µl 분주하고 자연 기화시켜 발생한 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)에 최대 2시간 처리 후 변온 incubator에 치상한 무 종자의 1·2차 발아율

	상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	발아율±SD (%)		
				시간 (h)		
				0 (Initial)	1	2
1차	43	25	0	A 95.3±3.1 a	A 98.7±1.2 a	A 97.3±1.2 a
			100	A 95.3±3.1 a	A 96.0±2.0 a	A 94.7±2.3 a
		50	0	A 95.3±3.1 a	A 96.0±2.0 a	A 95.3±1.2 a
			100	A 95.3±3.1 a	A 94.7±1.2 a	A 94.0±2.0 a
	85	25	0	A 95.3±3.1 a	A 99.3±1.2 a	A 98.7±1.2 a
			100	A 95.3±3.1 a	A 93.3±4.6 a	A 91.3±8.1 a
		50	0	A 95.3±3.1 a	A 96.0±3.5 a	A 99.0±1.4 a
			100	A 95.3±3.1 a	A 95.3±3.1 a	A 92.7±4.2 a
2차	43	25	0	A 98.7±1.2 a	A 100.0±0.0 a	A 98.7±1.2 a
			100	A 98.7±1.2 a	A 98.7±1.2 a	A 98.0±2.0 a
		50	0	A 98.7±1.2 a	A 100.0±0.0 a	A 98.7±1.2 a
			100	A 98.7±1.2 a	A 96.0±2.0 a	A 96.0±2.0 a
	85	25	0	A 98.7±1.2 a	A 100.0±0.0 a	A 100.0±0.0 a
			100	A 98.7±1.2 a	A 96.7±2.3 a	A 96.7±2.3 a
		50	0	A 98.7±1.2 a	A 99.0±1.2 a	A 100.0±0.0 a
			100	A 98.7±1.2 a	A 96.7±3.1 a	A 94.7±2.3 a

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

② 포름산을 처리한 무종자의 1, 2차 발아율

- 아무런 처리를 가하지 않은 무 종자의 1차 발아율은 95.3±3.1%였으며, 2차 발아율은 98.7±1.2%였다.

- 모든 처리조건에서 발아율이 감소했다.
- 따라서, 무 종자는 43과 85%의 상대습도와 25, 50°C의 온도조건에서 100 mg/L of air의 포름산 기체를 2시간 처리한 것에 대해 저항성이 없으며 실험에 적용하기 적합하지 않다.

표 51. 상대습도 43·85%와 온도 25·50°C 조건의 1.8 L airtight container에 포름산을 135 µl 분주하고 자연 기화시켜 발생한 포름산 기체 (100 mg/L of air)에 최대 2시간 처리 후 변온 incubator에 치상한 무 종자의 1·2차 발아율

	상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	발아율±SD (%)		
				시간 (h)		
				0 (Initial)	1	2
1차	43	25	0	A 95.3±3.1 a	A 98.7±1.2 a	A 97.3±1.2 a
			100	A 95.3±3.1 a	B 79.3±4.6 ab	B 67.3±25.3 b
		50	0	A 95.3±3.1 a	A 96.0±2.0 a	A 95.3±1.2 a
			100	A 95.3±3.1 a	B 79.3±7.0 a	B 52.0±27.8 b
	85	25	0	A 95.3±3.1 a	A 99.3±1.2 a	A 98.7±1.2 a
			100	A 95.3±3.1 a	B 59.0±38.2 b	B 35.3±4.2 b
		50	0	A 95.3±3.1 a	A 96.0±3.5 a	A 99.0±1.4 a
			100	A 95.3±3.1 a	B 0.0±0.0 b	B 0.0±0.0 b
2차	43	25	0	A 98.7±1.2 a	A 100.0±0.0 a	A 98.7±1.2 a
			100	A 98.7±1.2 a	B 88.7±4.2 ab	B 78.7±17.2 b
		50	0	A 98.7±1.2 a	A 100.0±0.0 a	A 98.7±1.2 a
			100	A 98.7±1.2 a	B 92.0±2.0 a	B 69.3±18.6 b
	85	25	0	A 98.7±1.2 a	A 100.0±0.0 a	A 100.0±0.0 a
			100	A 98.7±1.2 a	B 67.0±29.7 b	B 75.3±3.1 b
		50	0	A 98.7±1.2 a	A 99.0±1.2 a	A 100.0±0.0 a
			100	A 98.7±1.2 a	B 0.0±0.0 b	B 0.0±0.0 b

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

③ 무 종자에 접종된 *A. citrulli*에 대한 프로피온산의 항균효과 확인

- 7.0 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 무 종자를 43, 85% 상대습도와 25°C 온도에서 프로피온산 기체로 2시간까지 처리하여도 각각 6.1과 5.2 log CFU/g로 미비한 개체수 감소를 보였다.
- 7.0 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 무 종자를 43% 상대습도와 50°C 온도에서 2시간까지 처리한 개체수는 5.2 log CFU/g이었고 동일한 조건에서 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)를 함께 처리시 2.3 log CFU/g 로 약 3 log CFU/g의 감소를 확인했다.
- 7.0 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 무 종자를 85% 상대습도와 50°C 온도에서 2시간까지 처리한 개체수는 3.2 log CFU/g이었고 동일한 조건에서 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)를 함께 처리시 멸균됨을 확인했다.

표 52. 멸균 무 종자 (5g)에 *A. citrulli* cocktail suspension (ca. 8 log CFU/g)을 5분간 접종 및 120 분간 건조하고 43·85% 상대습도와 25·50°C 온도 조건에서 167 µl의 프로피온산을 자연 기화시켜 발생한 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)를 최대 2시간 처리 후 Nutrient agar에 48시간 배양한 *A. citrulli*의 개체수

상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	개체수 (log CFU/g)		
			시간 (h)		
			0 (Initial)	1	2
43	25	0	7.0±0.0	6.9±0.2	6.6±0.3
		100	7.0±0.0	6.1±0.0	6.1±0.2
	50	0	7.0±0.0	5.7±0.8	5.2±0.6
		100	7.0±0.0	3.5±0.2	2.3±0.5
85	25	0	7.0±0.0	6.9±0.1	6.6±0.2
		100	7.0±0.0	6.2±0.0	5.2±0.2
	50	0	7.0±0.0	4.3±0.4	3.2±0.4
		100	7.0±0.0	2.1±0.2	<1.0 (0/3)

나. 선별된 유기산기체에 대한 종자의 저항성 및 항균효과 확인

(1) 연구 방법

(가) 유기산 기체 다중스트레스 처리에 대한 종자별 발아율 확인

① 발아율 확인을 통한 종자의 저항성 확인

- 고추, 멜론, 상추, 수박, 양배추, 오이, 호박 종자를 대상으로 실험을 진행한다.
- 24 시간 동안 25 혹은 50°C에서 43 혹은 85% 상대습도로 맞춰진 airtight container의 뚜껑을 열고 핀셋을 이용하여 Culture dish (100.00 diameter by 40.00 mm height; SPL)를 넣는다.
- mg/L of air의 농도로 기화하도록 Culture dish 내부에 아세트산 (157 µl), 프로피온산 (167 µl) 용액을 분주한다.
- 5 g의 각 종자가 올라간 Culture dish lid를 culture dish에 올리고 뚜껑을 닫아 50°C incubator에 2시간까지 처리한다.
- 처리가 끝난 종자 중 50개를 pleated paper에 멸균 핀셋으로 22.5 ml의 멸균증류수와 함께 치상하고 변온 incubator에서 5일 후 1차, 10일 후 2차 발아율을 측정한다.

(나) 종자에 접종된 식물병원균에 대한 유기산 기체와 다중스트레스 처리에 대한 살균력 확인

① *A. citrulli* cocktail 제조 및 무종자에 접종

- 30°C incubator의 nutrient broth (NB)에서 48 시간 썩 3번 계대배양한 5 균주의 *A. citrulli*를 각각 50 ml conical tube에 담고 centrifuge에서 2,002 rcf로 15 분간 원심분리한다.
- 원심분리가 끝난 5 균주의 *A. citrulli* solution 상층액을 10 ml의 pipette을 이용하여 제거한다.

- 상층액이 제거된 *A. citrulli* pellet이 담긴 50 ml conical tube에 PBS buffer를 10 ml pipette을 이용하여 제거한 상층액 만큼 분주한 후 vortexing을 실시한다.
- 위 과정을 한 번 더 반복하고 5 균주의 *A. citrulli* solution과 PBS buffer를 이용해 십진희석한 *A. citrulli* cocktail을 만든다. (ca. 8 log CFU/ml)
- 5 g의 멸균 고추, 멜론, 상추, 수박, 양배추, 오이, 호박 종자에 15 ml의 *A. citrulli* cocktail을 5 분간 침지해 접종하고 멸균된 sieve에서 2 시간동안 건조한다.

② *A. citrulli*가 접종된 종자의 처리

- 건조가 끝난 종자는 culture dish lid에 옮겨 24시간 동안 25 혹은 50°C incubator에 43 혹은 85%로 맞춰놓은 airtight container에서 아세트산 (157 μ l), 프로피온산 (167 μ l) 용액으로 1, 2시간 처리한다.
- 처리가 끝난 후 3 g의 처리된 종자와 30 ml의 NB를 whirl-pak bag에 넣고 stomacher (Interscience BagMixer 400W)에서 1 분간 pummeling한다.
- Pummeling이 끝난 whirl-pak bag에서 solution을 취하여 nutrient agar (NA)에 direct plating한다.
- 30°C 에서 48 시간 동안 배양시킨 후 counting을 실시한다.

(2) 연구 결과

(가) 유기산 기체 다중스트레스 처리에 대한 종자별 발아율 확인

① 아세트산을 처리한 고추 종자의 1, 2차 발아율

- 아무런 처리를 가하지 않은 고추 종자의 1차 발아율은 84.7 \pm 4.2%였으며, 2차 발아율은 97.3 \pm 1.2%였다.
- 25°C 의 온도에서는 모든 조건에서 발아율이 감소하지 않았다.
- 43%의 상대습도와 50°C 의 온도에서 유기산 기체를 2시간까지 처리했을 때의 1, 2차 발아율은 각각 91.0, 99.0%로 아무 처리 하지 않은 종자의 발아율과 비교해 감소하지 않았다.
- 85%의 상대습도와 50°C 의 온도에서 유기산 기체를 1시간 처리시 발아율이 감소했다.
- 따라서, 고추 종자는 25°C 의 43, 85% 두 상대습도와 50°C 와 43% 상대습도에서 100 mg/L of air의 아세트산 기체를 2시간 처리한 것에 대해 저항성을 가지고 있다.

표 53. 상대습도 43·85%와 온도 25·50℃ 조건의 1.8 L airtight container에 아세트산을 157 µl 분주하고 자연 기화시켜 발생한 아세트산 기체 (100 mg/L of air)에 최대 2시간 처리 후 변온 incubator에 치상한 고추 종자의 1·2차 발아율

	상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	발아율±SD (%)		
				시간 (h)		
				0 (Initial)	1	2
1차	43	25	0	A 84.7±4.2 a	A 95.0±1.4 a	A 90.0±5.7 a
			100	A 84.7±4.2 a	A 94.7±2.3 a	A 94.0±2.0 a
		50	0	A 84.7±4.2 a	A 96.0±0.0 a	A 95.0±1.4 a
			100	A 84.7±4.2 a	A 95.0±1.2 a	A 91.0±3.1 a
	85	25	0	A 84.7±4.2 a	A 99.0±1.4 a	A 98.0±2.8 a
			100	A 84.7±4.2 a	A 93.3±3.1 a	A 92.7±4.2 a
		50	0	A 84.7±4.2 a	A 97.0±4.2 a	A 96.0±5.7 a
			100	A 84.7±4.2 a	B 36.0±14.1 b	B 24.0±36.5 b
2차	43	25	0	A 97.3±1.2 a	A 100.0±0.0 a	A 97.0±1.4 a
			100	A 97.3±1.2 a	A 99.3±1.2 a	A 99.3±1.2 a
		50	0	A 97.3±1.2 a	A 96.0±1.4 a	A 95.0±2.8 a
			100	A 97.3±1.2 a	A 99.0±1.2 a	A 99.0±1.2 a
	85	25	0	A 97.3±1.2 a	A 100.0±0.0 a	A 100.0±0.0 a
			100	A 97.3±1.2 a	A 96.7±4.2 a	A 95.3±6.4 a
		50	0	A 97.3±1.2 a	A 99.0±1.4 a	A 99.0±1.4 a
			100	A 97.3±1.2 a	B 67.0±18.4 b	B 45.3±31.9 b

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

② 아세트산을 처리한 멜론 종자의 1, 2차 발아율

- 아무런 처리를 가하지 않은 멜론 종자의 1차 발아율은 93.3±1.2%였으며, 2차 발아율은 98.7±1.2%였다.
- 모든 처리조건에서 발아율이 감소하지 않았다.
- 따라서, 멜론 종자는 43과 85%의 상대습도와 25, 50℃의 온도조건에서 100 mg/L of air의 아세트산 기체를 2시간 처리한 것에 대해 저항성을 가지고 있다.

표 54. 상대습도 43·85%와 온도 25·50℃ 조건의 1.8 L airtight container에 아세트산을 157 µl 분주하고 자연 기화시켜 발생한 아세트산 기체 (100 mg/L of air)에 최대 2시간 처리 후 변온 incubator에 치상한 멜론 종자의 1·2차 발아율

	상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	발아율±SD (%)		
				시간 (h)		
				0 (Initial)	1	2
1차	43	25	0	A 93.3±1.2 a	A 92.7±3.1 a	A 93.3±3.1 a
			100	A 93.3±1.2 a	A 94.0±3.5 a	A 94.7±1.2 a
		50	0	A 93.3±1.2 a	A 93.3±4.6 a	A 94.7±2.3 a
			100	A 93.3±1.2 a	A 92.7±4.2 a	A 96.7±1.2 a
	85	25	0	A 93.3±1.2 a	A 90.0±2.0 a	A 93.3±4.2 a
			100	A 93.3±1.2 a	A 90.0±0.0 a	A 95.3±3.1 a
		50	0	A 93.3±1.2 a	A 92.0±1.2 a	A 94.0±4.0 a
			100	A 93.3±1.2 a	A 89.3±1.2 a	A 95.3±3.1 a
2차	43	25	0	A 98.7±1.2 a	A 98.0±2.0 a	A 98.0±2.0 a
			100	A 98.7±1.2 a	A 98.7±2.3 a	A 100.0±0.0 a
		50	0	A 98.7±1.2 a	A 99.3±1.2 a	A 98.7±1.2 a
			100	A 98.7±1.2 a	A 100.0±0.0 a	A 99.3±1.2 a
	85	25	0	A 98.7±1.2 a	A 97.3±4.6 a	A 99.3±1.2 a
			100	A 98.7±1.2 a	A 98.7±2.3 a	A 100.0±0.0 a
		50	0	A 98.7±1.2 a	A 98.7±1.2 a	A 99.0±1.4 a
			100	A 98.7±1.2 a	A 99.3±1.2 a	A 99.3±1.2 a

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

③ 아세트산을 처리한 상추 종자의 1, 2차 발아율

- 아무런 처리를 가하지 않은 상추 종자의 1차 발아율은 70.0±5.7%였으며, 2차 발아율은 74.0±2.8%였다.
- 43%의 상대습도와 25℃ 온도에서 유기산 기체를 2시간까지 처리했을 때의 1, 2차 발아율은 각각 66.7, 68.7%로 아무 처리 하지 않은 종자의 발아율과 비교해 감소하지 않았다.
- 43%의 상대습도와 50℃ 온도에서 유기산 기체를 2시간까지 처리했을 때의 1, 2차 발아율은 각각 62.0, 64.0%로 아무 처리 하지 않은 종자의 발아율과 비교해 감소하지 않았다.
- 85%의 상대습도와 25, 50℃ 온도에서 유기산 기체를 1시간 처리했을 때의 1, 2차 발아율은 아무런 처리하지 않은 종자의 발아율에 비해 감소했다.
- 따라서, 상추 종자는 100 mg/L of air의 아세트산 기체 처리에 대해 43%의 모든 조건에서 저항성을 갖고 있고, 85%의 모든 조건에서는 저항성을 가지고 있지 않다.

표 55. 상대습도 43·85%와 온도 25·50℃ 조건의 1.8 L airtight container에 아세트산을 157 µl 분주하고 자연 기화시켜 발생한 아세트산 기체 (100 mg/L of air)에 최대 2시간 처리 후 변온 incubator에 치상한 상추 종자의 1·2차 발아율

	상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	발아율±SD (%)		
				시간 (h)		
				0 (Initial)	1	2
1차	43	25	0	A 70.0±5.7 a	A 74.0±2.8 a	A 72.0±2.8 a
			100	A 70.0±5.7 a	A 68.0±5.3 a	A 66.7±3.1 a
		50	0	A 70.0±5.7 a	A 71.0±1.4 a	A 68.0±2.8 a
			100	A 70.0±5.7 a	A 64.0±5.3 a	A 62.0±5.3 a
	85	25	0	A 70.0±5.7 a	A 73.0±1.4 a	A 71.0±1.4 a
			100	A 70.0±5.7 a	B 62.0±12.2 ab	B 53.3±3.1 b
		50	0	A 70.0±5.7 a	A 71.0±1.4 a	A 69.0±1.4 a
			100	A 70.0±5.7 a	B 0.0±0.0 b	B 0.0±0.0 b
2차	43	25	0	A 74.0±2.8 a	A 78.0±2.8 a	A 77.0±1.4 a
			100	A 74.0±2.8 a	A 70.0±5.3 a	A 68.7±3.1 a
		50	0	A 74.0±2.8 a	A 75.0±1.4 a	A 73.0±4.2 a
			100	A 74.0±2.8 a	A 65.3±4.2 a	A 64.0±6.0 a
	85	25	0	A 74.0±2.8 a	A 83.0±7.1 a	A 82.0±5.7 a
			100	A 74.0±2.8 a	A 66.0±8.7 ab	B 59.3±5.0 b
		50	0	A 74.0±2.8 a	A 75.0±1.4 a	A 73.0±1.4 a
			100	A 74.0±2.8 a	B 0.0±0.0 b	B 0.0±0.0 b

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

④ 아세트산을 처리한 수박 종자의 1, 2차 발아율

- 아무런 처리를 가하지 않은 수박 종자의 1차 발아율은 87.3±6.1%였으며, 2차 발아율은 98.0±2.0%였다.
- 모든 처리조건에서 발아율이 감소하지 않았다.
- 따라서, 수박 종자는 43과 85%의 상대습도와 25, 50℃의 온도조건에서 100 mg/L of air의 아세트산 기체처리에 대해 2시간까지 저항성을 가지고 있다.

표 56. 상대습도 43·85%와 온도 25·50℃ 조건의 1.8 L airtight container에 아세트산을 157 µl 분주하고 자연 기화시켜 발생한 아세트산 기체 (100 mg/L of air)에 최대 2시간 처리 후 변온 incubator에 치상한 수박 종자의 1·2차 발아율

	상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	발아율±SD (%)		
				시간 (h)		
				0 (Initial)	1	2
1차	43	25	0	A 87.3±6.1 a	A 86.0±3.5 a	A 86.0±2.0 a
			100	A 87.3±6.1 a	A 89.3±1.2 a	A 86.7±1.2 a
		50	0	A 87.3±6.1 a	A 86.0±2.0 a	A 85.3±3.1 a
			100	A 87.3±6.1 a	A 86.0±3.5 a	A 86.0±0.0 a
	85	25	0	A 87.3±6.1 a	A 84.7±5.8 a	A 84.7±4.2 a
			100	A 87.3±6.1 a	A 88.7±2.3 a	A 87.3±1.2 a
		50	0	A 87.3±6.1 a	A 86.0±2.0 a	A 85.3±3.1 a
			100	A 87.3±6.1 a	A 90.7±1.2 a	A 86.0±2.0 a
2차	43	25	0	A 98.0±2.0 a	A 96.7±2.3 a	A 97.3±4.6 a
			100	A 98.0±2.0 a	A 98.7±1.2 a	A 99.3±1.2 a
		50	0	A 98.0±2.0 a	A 95.3±4.2 a	A 97.3±3.1 a
			100	A 98.0±2.0 a	A 96.7±4.2 a	A 98.0±2.8 a
	85	25	0	A 98.0±2.0 a	A 97.3±3.1 a	A 98.7±2.3 a
			100	A 98.0±2.0 a	A 99.3±1.2 a	A 98.7±1.2 a
		50	0	A 98.0±2.0 a	A 98.0±2.0 a	A 98.7±1.2 a
			100	A 98.0±2.0 a	A 98.0±3.5 a	A 98.0±3.5 a

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

⑤ 아세트산을 처리한 양배추 종자의 1, 2차 발아율

- 아무런 처리를 가하지 않은 양배추 종자의 1차 발아율은 82.7±2.3%였으며, 2차 발아율은 84.7±3.1%였다.
- 85%의 상대습도와 50℃의 온도에서 100 mg/L of air의 아세트산 기체를 2시간 처리시 1차 발아율이 감소해 발아세 감소를 확인했다.
- 따라서, 양배추 종자는 85%의 상대습도와 50℃의 온도에서 2시간 처리한 결과를 제외하고 43과 85%의 상대습도와 25, 50℃의 온도 조건에서 100 mg/L of air의 아세트산 기체를 2시간 처리한 것에 대해 저항성을 가지고 있다.

표 57. 상대습도 43·85%와 온도 25·50℃ 조건의 1.8 L airtight container에 아세트산을 157 µl 분주하고 자연 기화시켜 발생한 아세트산 기체 (100 mg/L of air)에 최대 2시간 처리 후 변온 incubator에 치상한 양배추 종자의 1·2차 발아율

	상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	발아율±SD (%)		
				시간 (h)		
				0 (Initial)	1	2
1차	43	25	0	A 82.7±2.3 a	A 82.0±2.8 a	A 81.0±4.2 a
			100	A 82.7±2.3 a	A 76.7±7.0 a	A 73.3±7.6 a
		50	0	A 82.7±2.3 a	A 77.0±4.2 a	A 84.0±0.0 a
			100	A 82.7±2.3 a	A 82.7±6.4 a	A 82.7±6.4 a
	85	25	0	A 82.7±2.3 a	A 88.0±2.8 a	A 86.0±5.7 a
			100	A 82.7±2.3 a	A 84.7±3.1 a	A 84.0±4.0 a
		50	0	A 82.7±2.3 a	A 91.0±1.4 a	A 90.0±2.8 a
			100	A 82.7±2.3 a	A 77.3±7.6 ab	A 61.3±13.3 b
2차	43	25	0	A 84.7±3.1 a	A 85.0±4.2 a	A 84.0±2.8 a
			100	A 84.7±3.1 a	A 82.7±8.1 a	A 82.0±8.0 a
		50	0	A 84.7±3.1 a	A 80.0±2.8 a	A 85.0±1.4 a
			100	A 84.7±3.1 a	A 88.7±8.1 a	A 88.7±8.1 a
	85	25	0	A 84.7±3.1 a	A 89.0±1.4 a	A 84.0±4.2 a
			100	A 84.7±3.1 a	A 86.0±2.0 a	A 91.3±3.1 a
		50	0	A 84.7±3.1 a	A 94.0±2.8 a	A 94.0±2.8 a
			100	A 84.7±3.1 a	A 80.0±7.2 a	A 74.7±9.5 a

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

⑥ 아세트산을 처리한 오이 종자의 1, 2차 발아율

- 아무런 처리를 가하지 않은 오이 종자의 1차 발아율은 92.0±3.5%였으며, 2차 발아율은 98.7±1.2%였다.
- 모든 처리조건에서 발아율이 감소하지 않았다.
- 따라서, 오이 종자는 43과 85%의 상대습도와 25, 50℃의 온도 조건에서 100 mg/L of air의 아세트산 기체 처리에 대해 2시간까지 저항성을 가지고 있다.

표 58. 상대습도 43·85%와 온도 25·50℃ 조건의 1.8 L airtight container에 아세트산을 157 µl 분주하고 자연 기화시켜 발생한 아세트산 기체 (100 mg/L of air)에 최대 2시간 처리 후 변온 incubator에 치상한 오이 종자의 1·2차 발아율

	상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	발아율±SD (%)		
				시간 (h)		
				0 (Initial)	1	2
1차	43	25	0	A 92.0±3.5 a	A 91.3±3.1 a	A 88.7±6.1 a
			100	A 92.0±3.5 a	A 89.3±1.2 a	A 93.3±4.2 a
	50	25	0	A 92.0±3.5 a	A 92.7±4.2 a	A 90.0±6.0 a
			100	A 92.0±3.5 a	A 87.3±5.0 a	A 93.3±3.1 a
	85	25	0	A 92.0±3.5 a	A 88.0±3.5 a	A 89.3±1.2 a
			100	A 92.0±3.5 a	A 90.0±3.5 a	A 94.0±3.5 a
		50	0	A 92.0±3.5 a	A 89.3±1.2 a	A 91.3±4.2 a
			100	A 92.0±3.5 a	A 88.0±4.0 a	A 91.3±2.3 a
2차	43	25	0	A 98.7±1.2 a	A 96.7±3.1 a	A 96.7±4.2 a
			100	A 98.7±1.2 a	A 98.0±0.0 a	A 98.7±2.3 a
	50	25	0	A 98.7±1.2 a	A 97.3±1.2 a	A 98.0±2.0 a
			100	A 98.7±1.2 a	A 96.0±3.5 a	A 98.7±1.2 a
	85	25	0	A 98.7±1.2 a	A 97.3±4.6 a	A 96.0±3.5 a
			100	A 98.7±1.2 a	A 94.7±1.2 a	A 96.7±1.2 a
		50	0	A 98.7±1.2 a	A 96.7±3.1 a	A 95.3±2.3 a
			100	A 98.7±1.2 a	A 96.0±2.0 a	A 95.3±2.3 a

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

⑦ 아세트산을 처리한 호박 종자의 1, 2차 발아율

- 아무런 처리를 가하지 않은 호박 종자의 1차 발아율은 62.7±4.2%였으며, 2차 발아율은 89.3±3.1%였다.
- 모든 처리조건에서 발아율이 감소했다.
- 따라서, 호박 종자는 43과 85%의 상대습도와 25, 50℃의 온도 조건에서 100 mg/L of air의 아세트산 기체 처리에 대해 저항성을 가지고 있지 않다.

표 59. 상대습도 43·85%와 온도 25·50℃ 조건의 1.8 L airtight container에 아세트산을 157 µl 분주하고 자연 기화시켜 발생한 아세트산 기체 (100 mg/L of air)에 최대 2시간 처리 후 변온 incubator에 치상한 호박 종자의 1·2차 발아율

	상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	발아율±SD (%)		
				시간 (h)		
				0 (Initial)	1	2
1차	43	25	0	A 62.7±4.2 a	A 64.0±1.2 a	A 64.7±1.2 a
			100	A 62.7±4.2 a	B 8.7±1.2 b	B 0.0±0.0 b
		50	0	A 62.7±4.2 a	A 66.0±3.1 a	A 66.0±4.0 a
			100	A 62.7±4.2 a	B 10.0±2.0 b	B 2.0±2.0 b
	85	25	0	A 62.7±4.2 a	A 65.3±6.1 a	A 66.0±5.3 a
			100	A 62.7±4.2 a	B 4.7±4.2 b	B 0.0±0.0 b
		50	0	A 62.7±4.2 a	A 62.7±3.1 a	A 63.3±2.3 a
			100	A 62.7±4.2 a	B 0.0±0.0 b	B 0.0±0.0 b
2차	43	25	0	A 89.3±3.1 a	A 89.3±2.3 a	A 90.0±2.8 a
			100	A 89.3±3.1 a	B 28.7±9.0 b	B 2.7±4.6 b
		50	0	A 89.3±3.1 a	A 90.0±2.0 a	A 90.0±2.8 a
			100	A 89.3±3.1 a	B 45.3±5.8 b	B 18.7±4.2 b
	85	25	0	A 89.3±3.1 a	A 88.0±2.0 a	A 88.0±2.3 a
			100	A 89.3±3.1 a	B 12.0±7.2 b	B 0.0±0.0 b
		50	0	A 89.3±3.1 a	A 88.7±3.1 a	A 90.0±2.0 a
			100	A 89.3±3.1 a	B 0.0±0.0 b	B 0.0±0.0 b

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

⑧ 프로피온산을 처리한 고추 종자의 1, 2차 발아율

- 아무런 처리를 가하지 않은 고추 종자의 1차 발아율은 84.7±4.2%였으며, 2차 발아율은 97.3±1.2%였다.
- 모든 처리조건에서 발아율이 감소하지 않았다.
- 따라서, 고추 종자는 43과 85%의 상대습도와 25, 50℃의 온도 조건에서 100 mg/L of air의 프로피온산 기체를 2시간 처리한 것에 대해 저항성을 가지고 있다.

표 60. 상대습도 43·85%와 온도 25·50℃ 조건의 1.8 L airtight container에 프로피온산을 167 µl 분주하고 자연 기화시켜 발생한 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)에 최대 2시간 처리 후 변온 incubator에 치상한 고추 종자의 1·2차 발아율

	상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	발아율±SD (%)		
				시간 (h)		
				0 (Initial)	1	2
1차	43	25	0	A 84.7±4.2 a	A 95.0±1.4 a	A 90.0±5.7 a
			100	A 84.7±4.2 a	A 94.0±2.0 a	A 93.3±2.3 a
		50	0	A 84.7±4.2 a	A 96.0±0.0 a	A 95.0±1.4 a
			100	A 84.7±4.2 a	A 94.7±1.2 a	A 94.0±2.0 a
	85	25	0	A 84.7±4.2 a	A 99.0±1.4 a	A 98.0±2.8 a
			100	A 84.7±4.2 a	A 93.3±3.1 a	A 92.0±2.0 a
		50	0	A 84.7±4.2 a	A 97.0±4.2 a	A 96.0±5.7 a
			100	A 84.7±4.2 a	A 93.3±1.2 a	A 92.0±2.0 a
2차	43	25	0	A 97.3±1.2 a	A 100.0±0.0 a	A 97.0±1.4 a
			100	A 97.3±1.2 a	A 95.3±1.2 a	A 96.0±3.5 a
		50	0	A 97.3±1.2 a	A 96.0±1.4 a	A 95.0±2.8 a
			100	A 97.3±1.2 a	A 96.7±1.2 a	A 96.7±1.2 a
	85	25	0	A 97.3±1.2 a	A 100.0±0.0 a	A 100.0±0.0 a
			100	A 97.3±1.2 a	A 98.0±2.0 a	A 97.3±2.3 a
		50	0	A 97.3±1.2 a	A 99.0±1.4 a	A 99.0±1.4 a
			100	A 97.3±1.2 a	A 98.7±1.2 a	A 98.7±1.2 a

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

⑨ 프로피온산을 처리한 멜론 종자의 1, 2차 발아율

- 아무런 처리를 가하지 않은 멜론 종자의 1차 발아율은 93.3±1.2%였으며, 2차 발아율은 98.7±1.2%였다.
- 모든 처리조건에서 발아율이 감소하지 않았다.
- 따라서, 멜론 종자는 43과 85%의 상대습도와 25, 50℃의 온도 조건에서 100 mg/L of air의 프로피온산 기체를 2시간 처리한 것에 대해 저항성을 가지고 있다.

표 61. 상대습도 43·85%와 온도 25·50°C 조건의 1.8 L airtight container에 프로피온산을 167 µl 분주하고 자연 기화시켜 발생한 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)에 최대 2시간 처리 후 변온 incubator에 치상한 멜론 종자의 1·2차 발아율

	상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	발아율±SD (%)		
				시간 (h)		
				0 (Initial)	1	2
1차	43	25	0	A 93.3±1.2 a	A 92.7±3.1 a	A 93.3±3.1 a
			100	A 93.3±1.2 a	A 95.3±3.1 a	A 97.3±1.2 a
		50	0	A 93.3±1.2 a	A 93.3±4.6 a	A 94.7±2.3 a
			100	A 93.3±1.2 a	A 96.7±2.3 a	A 96.7±1.2 a
	85	25	0	A 93.3±1.2 a	A 95.3±2.0 a	A 93.3±4.2 a
			100	A 93.3±1.2 a	A 97.3±1.2 a	A 96.7±2.3 a
		50	0	A 93.3±1.2 a	A 92.0±1.2 a	A 94.0±4.0 a
			100	A 93.3±1.2 a	A 95.3±3.1 a	A 97.3±1.2 a
2차	43	25	0	A 98.7±1.2 a	A 98.0±2.0 a	A 98.0±2.0 a
			100	A 98.7±1.2 a	A 99.3±1.2 a	A 99.3±1.2 a
		50	0	A 98.7±1.2 a	A 99.3±1.2 a	A 98.7±1.2 a
			100	A 98.7±1.2 a	A 98.7±2.3 a	A 99.3±1.2 a
	85	25	0	A 98.7±1.2 a	A 97.3±4.6 a	A 99.3±1.2 a
			100	A 98.7±1.2 a	A 100.0±0.0 a	A 99.0±1.4 a
		50	0	A 98.7±1.2 a	A 98.7±1.2 a	A 99.0±1.4 a
			100	A 98.7±1.2 a	A 99.3±1.2 a	A 98.7±1.2 a

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

⑩ 프로피온산을 처리한 상추 종자의 1, 2차 발아율

- 아무런 처리를 가하지 않은 상추 종자의 1차 발아율은 70.0±5.7%였으며, 2차 발아율은 74.0±2.8%였다.
- 85%의 상대습도와 50°C의 온도에서 100 mg/L of air의 프로피온산 기체를 2시간 처리한 상추 종자의 1차 발아율은 48.0%로 아무런 처리하지 않은 상추 종자의 발아율에 비해 감소했다.
- 따라서, 상추 종자는 45%의 상대습도에서 모든 온도조건, 그리고 85%의 25°C의 1, 2시간과 50°C의 1시간 처리에는 저항성을 갖고 있고, 85%의 상대습도와 50°C의 2시간 처리에는 저항성이 없다.

표 62. 상대습도 43·85%와 온도 25·50℃ 조건의 1.8 L airtight container에 프로피온산을 167 µl 분주하고 자연 기화시켜 발생한 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)에 최대 2시간 처리 후 변온 incubator에 치상한 상추 종자의 1·2차 발아율

	상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	발아율±SD (%)		
				시간 (h)		
				0 (Initial)	1	2
1차	43	25	0	A 70.0±5.7 a	A 74.0±2.8 a	A 72.0±2.8 a
			100	A 70.0±5.7 a	A 74.7±1.2 a	A 73.3±3.1 a
		50	0	A 70.0±5.7 a	A 71.0±1.4 a	A 68.0±2.8 a
			100	A 70.0±5.7 a	A 69.3±7.6 a	A 67.3±11.0 a
	85	25	0	A 70.0±5.7 a	A 73.0±1.4 a	A 71.0±1.4 a
			100	A 70.0±5.7 a	A 74.0±5.3 a	A 74.7±9.2 a
		50	0	A 70.0±5.7 a	A 71.0±1.4 a	A 69.0±1.4 a
			100	A 70.0±5.7 a	A 65.3±11.0 ab	B 48.0±16.0 b
2차	43	25	0	A 74.0±2.8 a	A 78.0±2.8 a	A 77.0±1.4 a
			100	A 74.0±2.8 a	A 76.0±2.0 a	A 75.3±3.1 a
		50	0	A 74.0±2.8 a	A 75.0±1.4 a	A 73.0±4.2 a
			100	A 74.0±2.8 a	A 70.7±8.3 a	A 74.0±8.7 a
	85	25	0	A 74.0±2.8 a	A 83.0±7.1 a	A 82.0±5.7 a
			100	A 74.0±2.8 a	A 75.3±5.0 a	A 76.7±9.5 a
		50	0	A 74.0±2.8 a	A 75.0±1.4 a	A 73.0±1.4 a
			100	A 74.0±2.8 a	A 68.7±11.0 a	A 60.7±12.9 a

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

㉠ 프로피온산을 처리한 수박 종자의 1, 2차 발아율

- 아무런 처리를 가하지 않은 수박 종자의 1차 발아율은 87.3±6.1%였으며, 2차 발아율은 98.0±2.0%였다.
- 모든 처리조건에서 발아율이 감소하지 않았다.
- 따라서, 수박 종자는 43과 85%의 상대습도와 25, 50℃의 온도 조건에서 100 mg/L of air의 프로피온산 기체를 2시간 처리한 것에 대해 저항성을 가지고 있다.

표 63. 상대습도 43·85%와 온도 25·50℃ 조건의 1.8 L airtight container에 프로피온산을 167 µl 분주하고 자연 기화시켜 발생한 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)에 최대 2시간 처리 후 변온 incubator에 치상한 수박 종자의 1·2차 발아율

	상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	발아율±SD (%)		
				시간 (h)		
				0 (Initial)	1	2
1차	43	25	0	A 87.3±6.1 a	A 86.0±3.5 a	A 86.0±2.0 a
			100	A 87.3±6.1 a	A 84.7±4.2 a	A 84.0±2.0 a
		50	0	A 87.3±6.1 a	A 86.0±2.0 a	A 85.3±3.1 a
			100	A 87.3±6.1 a	A 86.7±1.2 a	A 85.3±3.1 a
	85	25	0	A 87.3±6.1 a	A 84.7±5.8 a	A 84.7±4.2 a
			100	A 87.3±6.1 a	A 86.0±3.5 a	A 85.3±3.1 a
		50	0	A 87.3±6.1 a	A 86.0±2.0 a	A 85.3±3.1 a
			100	A 87.3±6.1 a	A 87.3±1.2 a	A 85.3±4.6 a
2차	43	25	0	A 98.0±2.0 a	A 96.7±2.3 a	A 97.3±4.6 a
			100	A 98.0±2.0 a	A 99.3±1.2 a	A 98.0±2.0 a
		50	0	A 98.0±2.0 a	A 95.3±4.2 a	A 97.3±3.1 a
			100	A 98.0±2.0 a	A 95.3±4.2 a	A 97.3±2.3 a
	85	25	0	A 98.0±2.0 a	A 97.3±3.1 a	A 98.7±2.3 a
			100	A 98.0±2.0 a	A 97.3±4.6 a	A 96.7±2.3 a
		50	0	A 98.0±2.0 a	A 98.0±2.0 a	A 98.7±1.2 a
			100	A 98.0±2.0 a	A 98.7±2.3 a	A 100.0±0.0 a

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

⑫ 프로피온산을 처리한 양배추 종자의 1, 2차 발아율

- 아무런 처리를 가하지 않은 양배추 종자의 1차 발아율은 82.7±2.3%였으며, 2차 발아율은 84.7±3.1%였다.
- 85%의 상대습도에서 25, 50℃의 온도에서 100 mg/L of air의 프로피온산 기체를 2시간까지 처리했을 때 1차 발아율은 각각 75.3%와 73.3%로 아무런 처리하지 않은 양배추 종자의 발아율보다 감소했다.
- 따라서, 양배추 종자는 85%의 상대습도에서 25, 50℃의 두 온도에서 100 mg/L of air의 프로피온산 기체를 2시간까지 처리하는 것에 대해 저항성을 가지고 있지 않고, 나머지 조건에 대해서는 저항성을 가지고 있다.

표 64. 상대습도 43·85%와 온도 25·50℃ 조건의 1.8 L airtight container에 프로피온산을 167 µl 분주하고 자연 기화시켜 발생한 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)에 최대 2시간 처리 후 변온 incubator에 치상한 양배추 종자의 1·2차 발아율

	상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	발아율±SD (%)		
				시간 (h)		
				0 (Initial)	1	2
1차	43	25	0	A 82.7±2.3 a	A 82.0±2.8 a	A 81.0±4.2 a
			100	A 82.7±2.3 a	A 80.7±7.6 a	A 78.0±0.0 a
		50	0	A 82.7±2.3 a	A 77.0±4.2 a	A 84.0±0.0 a
			100	A 82.7±2.3 a	A 79.3±3.1 a	A 76.7±4.6 a
	85	25	0	A 82.7±2.3 a	A 88.0±2.8 a	A 86.0±5.7 a
			100	A 82.7±2.3 a	A 78.0±2.8 ab	B 75.3±2.3 b
		50	0	A 82.7±2.3 a	A 91.0±1.4 a	A 90.0±2.8 a
			100	A 82.7±2.3 a	A 79.0±4.2 ab	B 73.3±2.3 b
2차	43	25	0	A 84.7±3.1 a	A 85.0±4.2 a	A 84.0±2.8 a
			100	A 84.7±3.1 a	A 82.0±8.7 a	A 84.0±2.8 a
		50	0	A 84.7±3.1 a	A 80.0±2.8 a	A 85.0±1.4 a
			100	A 84.7±3.1 a	A 80.7±4.2 a	A 79.3±3.1 a
	85	25	0	A 84.7±3.1 a	A 89.0±1.4 a	A 87.0±4.2 a
			100	A 84.7±3.1 a	A 87.0±4.2 a	A 81.3±1.2 a
		50	0	A 84.7±3.1 a	A 94.0±2.8 a	A 94.0±2.8 a
			100	A 84.7±3.1 a	A 82.0±2.8 ab	B 76.7±1.2 b

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

⑬ 프로피온산을 처리한 오이 종자의 1, 2차 발아율

- 아무런 처리를 가하지 않은 오이 종자의 1차 발아율은 92.0±3.5%였으며, 2차 발아율은 98.7±1.2%였다.
- 모든 처리조건에서 발아율이 감소하지 않았다.
- 따라서, 오이 종자는 43과 85%의 상대습도와 25, 50℃의 온도 조건에서 100 mg/L of air의 프로피온산 기체를 2시간 처리한 것에 대해 저항성을 가지고 있다.

표 65. 상대습도 43·85%와 온도 25·50℃ 조건의 1.8 L airtight container에 프로피온산을 167 µl 분주하고 자연 기화시켜 발생한 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)에 최대 2시간 처리 후 변온 incubator에 치상한 오이 종자의 1·2차 발아율

	상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	발아율±SD (%)		
				시간 (h)		
				0 (Initial)	1	2
1차	43	25	0	A 92.0±3.5 a	A 91.3±3.1 a	A 88.7±6.1 a
			100	A 92.0±3.5 a	A 88.7±1.2 a	A 92.7±3.1 a
		50	0	A 92.0±3.5 a	A 92.7±4.2 a	A 90.0±6.0 a
			100	A 92.0±3.5 a	A 89.3±2.3 a	A 88.7±1.2 a
	85	25	0	A 92.0±3.5 a	A 88.0±3.5 a	A 89.3±1.2 a
			100	A 92.0±3.5 a	A 88.0±0.0 a	A 92.0±2.0 a
		50	0	A 92.0±3.5 a	A 89.3±1.2 a	A 91.3±4.2 a
			100	A 92.0±3.5 a	A 87.3±6.4 a	A 89.3±2.3 a
2차	43	25	0	A 98.7±1.2 a	A 96.7±3.1 a	A 96.7±4.2 a
			100	A 98.7±1.2 a	A 98.0±0.0 a	A 96.7±1.2 a
		50	0	A 98.7±1.2 a	A 97.3±1.2 a	A 98.0±2.0 a
			100	A 98.7±1.2 a	A 96.7±4.2 a	A 95.3±3.1 a
	85	25	0	A 98.7±1.2 a	A 97.3±4.6 a	A 96.0±3.5 a
			100	A 98.7±1.2 a	A 97.3±2.3 a	A 96.0±0.0 a
		50	0	A 98.7±1.2 a	A 96.7±3.1 a	A 95.3±2.3 a
			100	A 98.7±1.2 a	A 96.7±2.3 a	A 94.0±4.0 a

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

⑭ 프로피온산을 처리한 오이 종자의 1, 2차 발아율

- 아무런 처리를 가하지 않은 호박 종자의 1차 발아율은 62.7±4.2%였으며, 2차 발아율은 89.3±3.1%였다.
- 25℃의 온도에서 43과 85% 두 상대습도에서 모두 발아율이 감소하지 않았다.
- 50℃의 온도에서 43과 85% 두 상대습도에서 모두 발아율이 감소했다.
- 따라서, 호박 종자는 100 mg/L of air의 아세트산 기체처리에 대해 25℃ 온도에서는 모든 상대습도와 시간 조건에서 저항성을 가지고 있고, 50℃의 온도에서는 저항성을 가지고 있지 않다.

표 66. 상대습도 43·85%와 온도 25·50℃ 조건의 1.8 L airtight container에 프로피온산을 167 µl 분주하고 자연 기화시켜 발생한 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)에 최대 2시간 처리 후 변온 incubator에 치상한 호박 종자의 1·2차 발아율

	상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	발아율±SD (%)		
				시간 (h)		
				0 (Initial)	1	2
1차	43	25	0	A 62.7±4.2 a	A 64.0±1.2 a	A 64.7±1.2 a
			100	A 62.7±4.2 a	A 64.7±5.0 a	A 65.3±6.4 a
		50	0	A 62.7±4.2 a	A 66.0±3.1 a	A 66.0±4.0 a
			100	A 62.7±4.2 b	B 16.0±5.3 b	B 13.3±7.0 b
	85	25	0	A 62.7±4.2 a	A 65.3±6.1 a	A 66.0±5.3 a
			100	A 62.7±4.2 a	A 68.7±4.2 a	A 67.3±8.3 a
		50	0	A 62.7±4.2 a	A 62.7±3.1 a	A 63.3±2.3 a
			100	A 62.7±4.2 b	B 16.7±6.1 b	B 8.7±5.0 b
2차	43	25	0	A 89.3±3.1 a	A 89.3±2.3 a	A 90.0±2.8 a
			100	A 89.3±3.1 a	A 90.0±2.0 a	A 88.7±2.3 a
		50	0	A 89.3±3.1 a	A 90.0±2.0 a	A 90.0±2.8 a
			100	A 89.3±3.1 b	B 39.3±9.0 b	B 41.3±15.1 b
	85	25	0	A 89.3±3.1 a	A 88.0±2.0 a	A 88.0±2.3 a
			100	A 89.3±3.1 a	A 90.0±2.0 a	A 88.7±2.3 a
		50	0	A 89.3±3.1 a	A 88.7±3.1 a	A 90.0±2.0 a
			100	A 89.3±3.1 b	B 54.0±12.2 b	B 41.3±8.1 b

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

(나) 종자에 접종된 식물병원균에 대한 유기산 기체와 다중스트레스 처리에 대한 살균력 확인

① 고추 종자에 접종된 *A. citrulli*에 대한 아세트산의 항균효과 확인

- 7.5 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 고추 종자를 43, 85% 상대습도와 25℃ 온도에서 아세트산 기체로 2시간까지 처리하여도 각각 6.1과 5.8 log CFU/g로 미비한 개체수 감소를 확인했다.
- 7.5 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 고추 종자를 43% 상대습도와 50℃ 온도에서 2시간까지 처리한 개체수는 2.7 log CFU/g이었고 동일한 조건에서 아세트산 기체 (100 mg/L of air)를 함께 처리시 멸균됨을 확인했다.

표 67. 멸균 고추 종자 (5g)에 *A. citrulli* cocktail suspension (ca. 8 log CFU/g)을 5분간 접종 및 120분간 건조하고 43·85% 상대습도와 25·50°C 온도 조건에서 157 µl의 아세트산을 자연 기화시켜 발생한 아세트산 기체 (100 mg/L of air)를 최대 2시간 처리 후 Nutrient agar에 48시간 배양한 *A. citrulli*의 개체수

상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	개체수 (log CFU/g)		
			시간 (h)		
			0 (Initial)	1	2
43	25	0	7.5±0.0	7.2±0.0	7.2±0.1
		100	7.5±0.0	6.9±0.1	6.1±0.1
	50	0	7.5±0.0	4.5±1.0	2.7±0.9
		100	7.5±0.0	3.0±0.3	<1.0 (0/3)
85	25	0	7.5±0.0	7.2±0.1	7.2±0.1
		100	7.5±0.0	6.8±0.1	5.8±0.5

② 멜론 종자에 접종된 *A. citrulli*에 대한 아세트산의 항균효과 확인

- 7.1 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 멜론 종자를 43, 85% 상대습도와 25°C 온도에서 아세트산 기체로 2시간까지 처리시 개체수는 각각 5.7과 3.8 log CFU/g로 멸균은 확인하지 못했다.
- 7.1 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 멜론 종자를 43% 상대습도와 50°C 온도에서 1시간 처리한 개체수는 5.0 log CFU/g이었고 동일한 조건에서 아세트산 기체 (100 mg/L of air)를 함께 처리시 멸균됨을 확인했다.
- 7.1 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 멜론 종자를 85% 상대습도와 50°C 온도에서 1시간 처리한 개체수는 4.9 log CFU/g이었고 동일한 조건에서 아세트산 기체 (100 mg/L of air)를 함께 처리시 멸균됨을 확인했다.

표 68. 멸균 멜론 종자 (5g)에 *A. citrulli* cocktail suspension (ca. 8 log CFU/g)을 5분간 접종 및 120분간 건조하고 43·85% 상대습도와 25·50°C 온도 조건에서 157 µl의 아세트산을 자연 기화시켜 발생한 아세트산 기체 (100 mg/L of air)를 최대 2시간 처리 후 Nutrient agar에 48시간 배양한 *A. citrulli*의 개체수

상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	개체수 (log CFU/g)		
			시간 (h)		
			0 (Initial)	1	2
43	25	0	7.1±0.4	6.4±0.2	6.2±0.1
		100	7.1±0.4	6.7±0.3	5.7±0.3
	50	0	7.1±0.4	5.0±0.3	3.5±0.2
		100	7.1±0.4	<1.0 (0/3)	<1.0 (0/3)
85	25	0	7.1±0.4	6.2±0.1	5.8±0.1
		100	7.1±0.4	6.4±0.1	3.8±0.3
	50	0	7.1±0.4	4.9±1.4	3.2±0.4
		100	7.1±0.4	<1.0 (0/3)	<1.0 (0/3)

③ 상추 종자에 접종된 *A. citrulli*에 대한 아세트산의 항균효과 확인

- 7.4 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 상추 종자를 43, 85% 상대습도와 25°C 온도에서 아세트산 기체로 2시간까지 처리하여도 각각 6.9과 6.6 log CFU/g로 미비한 개체수 감소를 확인했다.
- 7.4 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 상추 종자를 43% 상대습도와 50°C 온도에서 2시간까지 처리한 개체수는 4.0 log CFU/g이었고 동일한 조건에서 아세트산 기체 (100 mg/L of air)를 함께 처리시 멸균됨을 확인했다.

표 69. 멸균 상추 종자 (5g)에 *A. citrulli* cocktail suspension (ca. 8 log CFU/g)을 5분간 접종 및 120분간 건조하고 43·85% 상대습도와 25·50°C 온도 조건에서 157 µl의 아세트산을 자연 기화시켜 발생한 아세트산 기체 (100 mg/L of air)를 최대 2시간 처리 후 Nutrient agar에 48시간 배양한 *A. citrulli*의 개체수

상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	개체수 (log CFU/g)			
			시간 (h)			
			0 (Initial)	1	2	
43	25	0	7.4±0.3	7.2±0.0	7.3±0.0	
		100	7.4±0.3	7.1±0.1	6.9±0.1	
	50	0	7.4±0.3	6.9±0.0	4.0±0.9	
		100	7.4±0.3	4.4±0.8	<1.0 (0/3)	
	85	25	0	7.4±0.3	7.2±0.0	7.1±0.0
			100	7.4±0.3	7.1±0.1	6.6±0.2

④ 수박 종자에 접종된 *A. citrulli*에 대한 아세트산의 항균효과 확인

- 6.9 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 수박 종자를 43, 85% 상대습도와 25°C 온도에서 아세트산 기체로 2시간까지 처리하여도 각각 4.7과 4.6 log CFU/g로 멸균은 확인하지 못했다.
- 6.9 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 수박 종자를 43% 상대습도와 50°C 온도에서 1시간 처리한 개체수는 2.8 log CFU/g이었고 동일한 조건에서 아세트산 기체 (100 mg/L of air)를 함께 처리시 멸균됨을 확인했다.
- 6.9 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 수박 종자를 85% 상대습도와 50°C 온도에서 1시간 처리한 개체수는 1.9 log CFU/g이었고 동일한 조건에서 아세트산 기체 (100 mg/L of air)를 함께 처리시 멸균됨을 확인했다.

표 70. 멸균 수박 종자 (5g)에 *A. citrulli* cocktail suspension (ca. 8 log CFU/g)을 5분간 접종 및 120분간 건조하고 43·85% 상대습도와 25·50°C 온도 조건에서 157 μ l의 아세트산을 자연 기화시켜 발생한 아세트산 기체 (100 mg/L of air)를 최대 2시간 처리 후 Nutrient agar에 48시간 배양한 *A. citrulli*의 개체수

상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	개체수 (log CFU/g)		
			시간 (h)		
			0 (Initial)	1	2
43	25	0	6.9±0.1	6.6±0.0	6.7±0.1
		100	6.9±0.1	5.7±0.7	4.7±0.6
	50	0	6.9±0.1	2.8±0.3	<1.0 (3/3)
		100	6.9±0.1	<1.0 (0/3)	<1.0 (0/3)
85	25	0	6.9±0.1	6.4±0.1	5.8±0.1
		100	6.9±0.1	5.4±0.8	4.6±0.2
	50	0	6.9±0.1	1.9±0.5	<1.0 (3/3)
		100	6.9±0.1	<1.0 (0/3)	<1.0 (0/3)

⑤ 양배추 종자에 접종된 *A. citrulli*에 대한 아세트산의 항균효과 확인

- 7.4 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 양배추 종자를 43, 85% 상대습도와 25°C 온도에서 아세트산 기체로 2시간까지 처리하여도 각각 6.2과 6.0 log CFU/g로 미비한 개체수 감소를 확인했다.
- 7.4 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 양배추 종자를 43% 상대습도와 50°C 온도에서 2시간까지 처리한 개체수는 3.3 log CFU/g이었고 동일한 조건에서 아세트산 기체 (100 mg/L of air)를 함께 처리시 멸균됨을 확인했다.
- 7.4 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 양배추 종자를 85% 상대습도와 50°C 온도에서 2시간까지 처리한 개체수는 1.2 log CFU/g이었고 동일한 조건에서 아세트산 기체 (100 mg/L of air)를 함께 처리시 멸균됨을 확인했다.

표 71. 멸균 양배추 종자 (5g)에 *A. citrulli* cocktail suspension (ca. 8 log CFU/g)을 5분간 접종 및 120분간 건조하고 43·85% 상대습도와 25·50°C 온도 조건에서 157 μ l의 아세트산을 자연 기화시켜 발생한 아세트산 기체 (100 mg/L of air)를 최대 2시간 처리 후 Nutrient agar에 48시간 배양한 *A. citrulli*의 개체수

상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	개체수 (log CFU/g)		
			시간 (h)		
			0 (Initial)	1	2
43	25	0	7.4±0.2	6.8±0.1	6.8±0.1
		100	7.4±0.2	6.5±0.3	6.2±0.2
	50	0	7.4±0.2	6.3±0.1	3.3±0.4
		100	7.4±0.2	3.8±0.9	<1.0 (0/3)
85	25	0	7.4±0.2	6.8±0.0	7.0±0.1
		100	7.4±0.2	6.4±0.1	6.0±0.3
	50	0	7.4±0.2	4.4±0.7	1.2±0.3
		100	7.4±0.2	3.1±1.3	<1.0 (0/3)

⑥ 오이 종자에 접종된 *A. citrulli*에 대한 아세트산의 항균효과 확인

- 6.9 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 오이 종자를 43, 85% 상대습도와 25°C 온도에서 아세트산 기체로 2시간까지 처리하여도 각각 3.6과 1.6 log CFU/g로 미비한 개체수 감소를 보였다.
- 6.9 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 오이 종자를 43% 상대습도와 50°C 온도에서 1시간 처리한 개체수는 5.8 log CFU/g이었고 동일한 조건에서 아세트산 기체 (100 mg/L of air)를 함께 처리시 멸균됨을 확인했다.
- 6.9 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 오이 종자를 85% 상대습도와 50°C 온도에서 1시간 처리한 개체수는 3.6 log CFU/g이었고 동일한 조건에서 아세트산 기체 (100 mg/L of air)를 함께 처리시 멸균됨을 확인했다.

표 72. 멸균 오이 종자 (5g)에 *A. citrulli* cocktail suspension (ca. 8 log CFU/g)을 5분간 접종 및 120분간 건조하고 43·85% 상대습도와 25·50°C 온도 조건에서 157 µl의 아세트산을 자연 기화시켜 발생한 아세트산 기체 (100 mg/L of air)를 최대 2시간 처리 후 Nutrient agar에 48시간 배양한 *A. citrulli*의 개체수

상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	개체수 (log CFU/g)		
			시간 (h)		
			0 (Initial)	1	2
43	25	0	6.9±0.4	6.9±0.1	6.8±0.1
		100	6.9±0.4	4.8±0.2	3.6±0.2
	50	0	6.9±0.4	5.8±1.2	3.1±0.1
		100	6.9±0.4	<1.0 (0/3)	<1.0 (0/3)
85	25	0	6.9±0.4	6.9±0.1	6.8±0.2
		100	6.9±0.4	4.7±0.1	3.6±0.4
	50	0	6.9±0.4	3.6±0.1	3.3±0.5
		100	6.9±0.4	<1.0 (0/3)	<1.0 (0/3)

⑦ 고추 종자에 접종된 *A. citrulli*에 대한 프로피온산의 항균효과 확인

- 7.5 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 고추 종자를 43, 85% 상대습도와 25°C 온도에서 프로피온산 기체로 2시간까지 처리하여도 각각 6.9과 6.3 log CFU/g로 미비한 개체수 감소를 확인했다.
- 7.5 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 고추 종자를 43% 상대습도와 50°C 온도에서 2시간까지 처리한 개체수는 2.7 log CFU/g이었고 동일한 조건에서 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)를 함께 처리시 1.3 log CFU/g로 약 1 log CFU/g의 감소를 확인했고 반복 실험간 편차가 커서 멸균을 확인하기 어려웠다.
- 7.5 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 고추 종자를 85% 상대습도와 50°C 온도에서 2시간까지 처리한 개체수는 4.2 log CFU/g이었고 동일한 조건에서 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)를 함께 처리시 1.1 log CFU/g로 약 3 log CFU/g의 감소를 확인했고 반복 실험간 편차가 커서 멸균을 확인하기 어려웠다.

표 73. 멜론 고추 종자 (5g)에 *A. citrulli* cocktail suspension (ca. 8 log CFU/g)을 5분간 접종 및 120분간 건조하고 43·85% 상대습도와 25·50°C 온도 조건에서 167 µl의 프로피온산을 자연 기화시켜 발생한 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)를 최대 2시간 처리 후 Nutrient agar에 48시간 배양한 *A. citrulli*의 개체수

상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	개체수 (log CFU/g)		
			시간 (h)		
			0 (Initial)	1	2
43	25	0	7.5±0.0	7.2±0.0	7.2±0.1
		100	7.5±0.0	7.1±0.0	6.9±0.0
	50	0	7.5±0.0	4.5±1.0	2.7±0.9
		100	7.5±0.0	3.3±0.7	1.3±0.5
85	25	0	7.5±0.0	7.2±0.1	7.2±0.1
		100	7.5±0.0	6.7±0.2	6.3±0.1
	50	0	7.5±0.0	4.9±0.3	4.2±0.0
		100	7.5±0.0	2.0±1.4	1.1±0.2

⑧ 멜론 종자에 접종된 *A. citrulli*에 대한 프로피온산의 항균효과 확인

- 7.1 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 멜론 종자를 43, 85% 상대습도와 25°C 온도에서 프로피온산 기체로 2시간까지 처리하여도 각각 6.9과 6.3 log CFU/g로 미비한 개체수 감소를 확인했다.
- 7.1 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 멜론 종자를 43% 상대습도와 50°C 온도에서 2시간까지 처리한 개체수는 3.5 log CFU/g이었고 동일한 조건에서 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)를 함께 처리시 멸균됨을 확인했다.
- 7.1 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 멜론 종자를 85% 상대습도와 50°C 온도에서 2시간까지 처리한 개체수는 2.9 log CFU/g이었고 동일한 조건에서 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)를 함께 처리시 멸균됨을 확인했다.

표 74. 멜론 멜론 종자 (5g)에 *A. citrulli* cocktail suspension (ca. 8 log CFU/g)을 5분간 접종 및 120분간 건조하고 43·85% 상대습도와 25·50°C 온도 조건에서 167 µl의 프로피온산을 자연 기화시켜 발생한 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)를 최대 2시간 처리 후 Nutrient agar에 48시간 배양한 *A. citrulli*의 개체수

상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	개체수 (log CFU/g)		
			시간 (h)		
			0 (Initial)	1	2
43	25	0	7.1±0.4	6.4±0.2	6.2±0.1
		100	7.1±0.4	6.9±0.0	6.9±0.0
	50	0	7.1±0.4	5.0±0.3	3.5±0.2
		100	7.1±0.4	3.6±0.3	<1.0 (0/3)
85	25	0	7.1±0.4	6.2±0.1	5.8±0.1
		100	7.1±0.4	6.7±0.2	6.3±0.1
	50	0	7.1±0.4	3.8±0.7	2.9±0.4
		100	7.1±0.4	<1.0 (1/3)	<1.0 (0/3)

⑨ 상추 종자에 접종된 *A. citrulli*에 대한 프로피온산의 항균효과 확인

- 7.4 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 상추 종자를 43, 85% 상대습도와 25°C 온도에서 프로피온산 기체로 2시간까지 처리하여도 각각 7.4과 7.1 log CFU/g로 미비한 개체수 감소를 확인했다.
- 7.4 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 상추 종자를 43% 상대습도와 50°C 온도에서 2시간까지 처리한 개체수는 4.0 log CFU/g이었고 동일한 조건에서 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)를 함께 처리시 3.8 log CFU/g로 항균효과가 미비했다.
- 7.4 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 상추 종자를 85% 상대습도와 50°C 온도에서 1시간 처리한 개체수는 4.9 log CFU/g이었고 동일한 조건에서 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)를 함께 처리시 4.4 log CFU/g로 항균효과가 미비했다.

표 75. 멸균 상추 종자 (5g)에 *A. citrulli* cocktail suspension (ca. 8 log CFU/g)을 5분간 접종 및 120분간 건조하고 43·85% 상대습도와 25·50°C 온도 조건에서 167 µl의 프로피온산을 자연 기화시켜 발생한 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)를 최대 2시간 처리 후 Nutrient agar에 48시간 배양한 *A. citrulli*의 개체수

상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	개체수 (log CFU/g)		
			시간 (h)		
			0 (Initial)	1	2
43	25	0	7.4±0.3	7.2±0.0	7.3±0.0
		100	7.4±0.3	7.2±0.1	7.4±0.2
	50	0	7.4±0.3	6.9±0.0	4.0±0.9
		100	7.4±0.3	5.4±1.2	3.8±0.5
85	25	0	7.4±0.3	7.2±0.0	7.1±0.0
		100	7.4±0.3	7.3±0.1	7.1±0.1
	50	0	7.4±0.3	4.9±0.3	-
		100	7.4±0.3	4.4±1.3	-

⑩ 수박 종자에 접종된 *A. citrulli*에 대한 프로피온산의 항균효과 확인

- 6.8 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 수박 종자를 43, 85% 상대습도와 25°C 온도에서 프로피온산 기체로 1시간 처리하여도 각각 6.4과 6.7 log CFU/g로 미비한 개체수 감소를 확인했다.
- 6.8 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 수박 종자를 43% 상대습도와 50°C 온도에서 1시간 처리한 개체수는 2.8 log CFU/g이었고 동일한 조건에서 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)를 함께 처리시 멸균됨을 확인했다.
- 7.0 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 수박 종자를 85% 상대습도와 50°C 온도에서 1시간 처리한 개체수는 1.9 log CFU/g이었고 동일한 조건에서 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)를 함께 처리시 멸균됨을 확인했다.

표 76. 멸균 수박 종자 (5g)에 *A. citrulli* cocktail suspension (ca. 8 log CFU/g)을 5분간 접종 및 120분간 건조하고 43·85% 상대습도와 25·50°C 온도 조건에서 167 μ l의 프로피온산을 자연 기화시켜 발생한 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)를 최대 2시간 처리 후 Nutrient agar에 48시간 배양한 *A. citrulli*의 개체수

상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	개체수 (log CFU/g)		
			시간 (h)		
			0 (Initial)	1	2
43	25	0	6.8±0.2	6.6±0.0	-
		100	6.8±0.2	6.4±0.0	-
	50	0	6.8±0.2	2.8±0.3	-
		100	6.8±0.2	<1.0 (0/3)	-
85	25	0	6.8±0.2	6.2±0.1	-
		100	6.8±0.2	6.7±0.2	-
	50	0	6.8±0.2	1.9±0.5	-
		100	6.8±0.2	<1.0 (0/3)	-

㉠ 양배추 종자에 접종된 *A. citrulli*에 대한 프로피온산의 항균효과 확인

- 7.4 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 양배추 종자를 43% 상대습도와 25°C 온도에서 프로피온산 기체로 2시간까지 처리하여도 6.6 log CFU/g로 미비한 개체수 감소를 확인했다.
- 7.4 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 양배추 종자를 43% 상대습도와 50°C 온도에서 2시간까지 처리한 개체수는 3.3 log CFU/g이었고 동일한 조건에서 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)를 함께 처리시 멸균됨을 확인했다.
- 7.4 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 양배추 종자를 85% 상대습도와 50°C 온도에서 1시간 처리한 개체수는 4.4 log CFU/g이었고 동일한 조건에서 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)를 함께 처리시 개체수는 3.8 log CFU/g로 미비한 개체수 감소를 확인했다.

표 77. 멸균 양배추 종자 (5g)에 *A. citrulli* cocktail suspension (ca. 8 log CFU/g)을 5분간 접종 및 120분간 건조하고 43·85% 상대습도와 25·50°C 온도 조건에서 167 μ l의 프로피온산을 자연 기화시켜 발생한 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)를 최대 2시간 처리 후 Nutrient agar에 48시간 배양한 *A. citrulli*의 개체수

상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	개체수 (log CFU/g)		
			시간 (h)		
			0 (Initial)	1	2
43	25	0	7.4±0.2	6.8±0.1	6.8±0.1
		100	7.4±0.2	6.8±0.2	6.6±0.3
	50	0	7.4±0.2	6.4±0.1	3.3±0.4
		100	7.4±0.2	3.5±0.5	<1.0 (0/3)
85	25	0	7.4±0.2	6.8±0.0	-
		100	7.4±0.2	6.6±0.2	-
	50	0	7.4±0.2	4.4±0.7	-
		100	7.4±0.2	3.8±0.6	-

⑫ 오이 종자에 접종된 *A. citrulli*에 대한 프로피온산의 항균효과 확인

- 7.0 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 오이 종자를 43, 85% 상대습도와 25°C 온도에서 프로피온산 기체로 1시간 처리하여도 각각 5.6과 5.4 log CFU/g로 미비한 개체수 감소를 확인했다.
- 7.0 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 오이 종자를 43% 상대습도와 50°C 온도에서 1시간 처리한 개체수는 4.5 log CFU/g이었고 동일한 조건에서 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)를 함께 처리시 멸균됨을 확인했다.
- 7.0 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 무 종자를 85% 상대습도와 50°C 온도에서 1시간 처리한 개체수는 3.6 log CFU/g이었고 동일한 조건에서 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)를 함께 처리시 멸균됨을 확인했다.

표 78. 멸균 오이 종자 (5g)에 *A. citrulli* cocktail suspension (ca. 8 log CFU/g)을 5분간 접종 및 120분간 건조하고 43·85% 상대습도와 25·50°C 온도 조건에서 167 µl의 프로피온산을 자연 기화시켜 발생한 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)를 최대 2시간 처리 후 Nutrient agar에 48시간 배양한 *A. citrulli*의 개체수

상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	개체수 (log CFU/g)		
			시간 (h)		
			0 (Initial)	1	2
43	25	0	7.0±0.2	6.9±0.1	-
		100	7.0±0.2	5.6±0.3	-
	50	0	7.0±0.2	4.5±1.0	-
		100	7.0±0.2	<1.0 (0/3)	-
85	25	0	7.0±0.2	7.1±0.1	-
		100	7.0±0.2	5.4±0.1	-
	50	0	7.0±0.2	3.6±0.1	-
		100	7.0±0.2	<1.0 (0/3)	-

⑬ 호박 종자에 접종된 *A. citrulli*에 대한 프로피온산의 항균효과 확인

- 7.2 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 호박 종자를 43, 85% 상대습도와 25°C 온도에서 프로피온산 기체로 2시간까지 처리하여도 각각 6.8과 6.8 log CFU/g로 미비한 개체수 감소를 확인했다.

표 79. 멸균 호박 종자 (5g)에 *A. citrulli* cocktail suspension (ca. 8 log CFU/g)을 5분간 접종 및 120분간 건조하고 43·85% 상대습도와 25·50°C 온도 조건에서 167 µl의 프로피온산을 자연 기화시켜 발생한 프로피온산 기체 (100 mg/L of air)를 최대 2시간 처리 후 Nutrient agar에 48시간 배양한 *A. citrulli*의 개체수

상대습도 (%)	온도 (°C)	농도 (mg/L of air)	개체수 (log CFU/g)		
			시간 (h)		
			0 (Initial)	1	2
43	25	0	7.2±0.1	7.3±0.1	-
		100	7.2±0.1	6.8±0.1	-
85	50	0	7.2±0.1	7.3±0.0	-
		100	7.2±0.1	6.8±0.2	-

다. 종자의 발아율에 영향을 주지 않는 이산화염소와 유기산 기체의 최적조합 선별

(1) 연구 방법

(가) 이산화염소와 유기산 기체의 동시 처리를 통한 무 종자의 *A. citrulli*에 대한 살균력 확인

① 이산화염소 용액 제조

- 2 ml의 1 N 염산 (HCl)이 담긴 15 ml conical tube를 준비한다.
- 0.25 g의 아염소산나트륨 (NaClO₂)을 2 ml의 염산 (HCl)이 담긴 15 ml conical tube에 넣은 후 최대 세기로 1 분간 vortexing하여 반응시킨다.

② *A. citrulli* cocktail 제조 및 무 종자에 접종

- 30°C incubator의 nutrient broth (NB)에서 48 시간 씩 3번 계대배양한 5 균주의 *A. citrulli*을 각각 50 ml conical tube에 담고 centrifuge에서 2,002 rcf로 15 분간 원심분리한다.
- 원심분리가 끝난 5 균주의 *A. citrulli* solution 상층액을 10 ml의 pipette을 이용하여 제거한다.
- 상층액이 제거된 *A. citrulli* pellet이 담긴 50 ml conical tube에 PBS buffer를 10 ml pipette을 이용하여 제거한 상층액 만큼 분주한 후 vortexing을 실시한다.
- 위 과정을 한 번 더 반복하고 5 균주의 *A. citrulli* solution과 PBS buffer를 이용해 십진 희석한 *A. citrulli* cocktail을 만든다. (ca. 8 log CFU/ml)
- 5 g의 멸균 무 종자에 15 ml의 *A. citrulli* cocktail을 5 분간 침지해 접종하고 멸균된 sieve에서 2 시간 동안 건조한다.

③ *A. citrulli*가 접종된 무 종자에 이산화염소 및 유기산 동시 처리

- 건조가 끝난 종자는 culture dish lid에 옮겨 85%로 맞춰 24시간 동안 50°C incubator에 85%로 맞춰놓은 airtight container에서 위에서 만든 이산화염소 (155 µl)와 아세트산 (157 µl) 용액을 함께 분주하고 1 시간 동안 처리한다.
- 처리가 끝난 후 3 g의 처리된 종자와 30 ml의 NB를 whirl-pak bag에 넣고 stomacher (Interscience BagMixer 400W)에서 1 분간 pummeling한다.
- Pummeling이 끝난 whirl-pak bag에서 solution을 취하여 nutrient agar (NA)에 direct plating한다.
- 30°C 에서 48 시간 동안 배양시킨 후 counting을 실시한다.

(나) 이산화염소와 유기산 기체의 순차 처리를 통한 무 종자의 *A. citrulli*에 대한 살균력 확인

① 이산화염소 용액 제조

- 2 ml의 1 N 염산 (HCl)이 담긴 15 ml conical tube를 준비한다.
- 0.25 g의 아염소산나트륨 (NaClO₂)을 2 ml의 염산 (HCl)이 담긴 15 ml conical tube에 넣은 후 최대 세기로 1 분간 vortexing하여 반응시킨다.

② *A. citrulli* cocktail 제조 및 무 종자에 접종

- 30°C incubator의 nutrient broth (NB)에서 48 시간 씩 3번 계대배양한 5 균주의 *A. citrulli*을 각각 50 ml conical tube에 담고 centrifuge에서 2,002 rcf로 15 분간 원심분리한다.
- 원심분리가 끝난 5 균주의 *A. citrulli* solution 상층액을 10 ml의 pipette을 이용하여 제거한다.
- 상층액이 제거된 *A. citrulli* pellet이 담긴 50 ml conical tube에 PBS buffer를 10 ml pipette을 이용하여 제거한 상층액 만큼 분주한 후 vortexing을 실시한다.
- 위 과정을 한 번 더 반복하고 5 균주의 *A. citrulli* solution과 PBS buffer를 이용해 십진

희석한 *A. citrulli* cocktail을 만든다. (ca. 8 log CFU/ml)

- 5 g의 멸균 무 종자에 15 ml의 *A. citrulli* cocktail을 5 분간 침지해 접종하고 멸균된 sieve에서 2 시간 동안 건조한다.
- ③ *A. citrulli*가 접종된 무 종자에 이산화염소 및 유기산 순차 처리
 - 건조가 끝난 종자는 culture dish lid에 옮겨 24시간 동안 50°C incubator에 85%로 맞춰 놓은 airtight container에서 위에서 만든 이산화염소 (77.7, 155 μ l) 용액으로 30 분 동안 처리한다.
 - 30분 후 24시간 동안 50°C incubator에 85%로 맞춰 준비한 또 다른 airtight container에 아세트산 (78.6, 157 μ l)을 분주하고 이산화염소 기체를 처리한 무 종자를 옮긴 후 30 분 동안 처리한다.
 - 처리가 끝난 후 3 g의 처리된 종자와 30 ml의 NB를 whirl-pak bag에 넣고 stomacher (Interscience BagMixer 400W)에서 1 분간 pummeling한다.
 - Pummeling이 끝난 whirl-pak bag에서 solution을 취하여 nutrient agar (NA)에 direct plating한다.
 - 30°C 에서 48 시간 동안 배양시킨 후 counting을 실시한다.

(2) 연구 결과

(가) 이산화염소와 유기산 기체의 동시 처리를 통한 무 종자의 *A. citrulli*에 대한 살균력 확인

① 무 종자에 접종된 *A. citrulli*의 개체수

- 6.9 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 무 종자를 85% 상대습도와 50°C 온도에서 이산화염소 기체로 1시간 처리시 3.4 log CFU/g로 약 3.5 log CFU/g의 감소를 확인했다.
- 6.9 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 무 종자를 85% 상대습도와 50°C 온도에서 아세트산 기체로 1시간 처리시 2.1 log CFU/g로 약 4.7 log CFU/g의 감소를 확인했다.
- 6.9 log CFU/g의 *A. citrulli*가 접종된 무 종자를 85% 상대습도와 50°C 온도에서 이산화염소 기체와 아세트산 기체를 동시에 1시간 처리한 결과는 2.8 log CFU/g로 약 4.1 log CFU/g 감소해 아세트산을 단일로 처리한 것보다 할균 효과가 크다고 할 수 없다.
- 따라서, 이산화염소와 아세트산을 동시에 분주해 처리하는 것은 항균 시너지가 없다.

표 80. 멸균 무 종자 (5g)에 *A. citrulli* cocktail suspension (ca. 8 log CFU/g)을 5분간 접종 및 120분간 건조하고 85% 상대습도와 50°C 온도 조건에서 155 μ l의 이산화염소 용액과 157 μ l의 아세트산을 혼합한 혼합액을 자연기화시켜 발생한 기체를 1시간 동안 처리 후 Nutrient agar에 48시간 배양한 *A. citrulli*의 개체수

처리 종류	농도 (ppm)	개체수 (log CFU/g)	
		시간 (h)	
		0	1
Control	0	6.9 ± 0.1 A	4.1 ± 0.4 A
ClO ₂	1000	6.9 ± 0.1 A	3.4 ± 1.0 AB
Acetic acid	100	6.9 ± 0.1 A	2.1 ± 1.0 B
ClO ₂ +acetic acid	1000 and 100	6.9 ± 0.1 A	2.8 ± 0.6 AB

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not followed by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

(나) 이산화염소와 유기산 기체의 순차 처리를 통한 무 종자의 A. citrulli에 대한 살균력 확인

① 무 종자에 접종된 A. citrulli의 개체수

- 6.5 log CFU/g의 A. citrulli가 접종된 무 종자를 85% 상대습도와 50°C 온도에서 500과 1,000 ppm의 이산화염소 기체를 단일로 1시간 처리시 각각 3.4과 3.8 log CFU/g로 약 3.1, 2.7 log CFU/g의 감소를 확인했다.
- 6.5 log CFU/g의 A. citrulli가 접종된 무 종자를 85% 상대습도와 50°C 온도에서 50과 100 mg/L of air의 아세트산 기체로 1시간 처리시 각각 3.0과 2.1 log CFU/g로 약 3.5, 4.4 log CFU/g의 감소를 확인했다.
- 6.5 log CFU/g의 A. citrulli가 접종된 무 종자를 85% 상대습도와 50°C 온도에서 500 ppm의 이산화염소 기체를 30 분 처리하고 이어 50mg/L of air의 아세트산 기체를 30분 처리한 것과 1,000 ppm의 이산화염소 기체를 30 분 처리하고 이어 100mg/L of air의 아세트산 기체를 30분 처리한 것의 결과는 각각 3.6과 3.2 log CFU/g로 약 2.9, 3.3 log CFU/g 감소해 아세트산을 단일로 처리한 것보다 오히려 항균효과가 떨어졌다.
- 따라서, 이산화염소와 아세트산을 순차로 처리하는 것은 항균 시너지가 없다.

표 81. 멸균 무 종자 (5g)에 A. citrulli cocktail suspension (ca. 8 log CFU/g)을 5분간 접종 및 120분간 건조하고 85% 상대습도와 50°C 온도 조건에서 이산화염소 및 아세트산 기체를 60 분까지 처리 후 Nutrient agar에 48 시간 배양한 A. citrulli의 개체수

처리 종류	농도 (ppm or mg/L)	개체수 (log CFU/g)		
		시간 (min)		
		0	30	60
Control	0	6.5 ± 0.6	4.3 ± 0.1 A	3.9 ± 0.3 A
ClO ₂	500	6.5 ± 0.6	4.4 ± 0.2 A	3.6 ± 0.3 A
	1,000	6.5 ± 0.6	4.3 ± 0.3 A	3.8 ± 0.5 AB
Acetic acid	50	6.5 ± 0.6	3.5 ± 0.7 CB	3.0 ± 0.5 AB
	100	6.5 ± 0.6	3.2 ± 0.6 C	2.1 ± 1.0 C
ClO ₂ , Acetic acid	500 and 50	6.5 ± 0.6	-	3.6 ± 0.1 AB
	1,000 and 100	6.5 ± 0.6	-	3.2 ± 0.4 AB

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not followed by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

라. 위해미생물에 대한 살균력을 지닌 정유기체 선별

(1) 연구 방법

(가) Vapor diffusion assay를 통해 A. citrulli에 살균 효과를 보이는 정유기체 스크리닝

① A. citrulli에 살균 효과를 보이는 정유기체 스크리닝

- 30°C incubator의 nutrient broth (NB)에서 48 시간 씩 3번 계대배양한 5 균주의 A. citrulli를 각각 2 ml 씩 취해 50 ml conical tube에 담고 centrifuge에서 2,002 rcf로 15 분간 원심분리한다.
- 원심분리가 끝난 5 균주의 A. citrulli solution 상층액을 10 ml의 pipette을 이용하여 제거한다.
- 상층액이 제거된 A. citrulli pellet이 담긴 50 ml conical tube에 PBS buffer를 10 ml

pipette을 이용하여 제거한 상층액 만큼 분주한 후 vortexing을 실시한다.

- 위 과정을 한 번 더 반복해 10 ml의 A. citrulli cocktail을 만든다. (ca. 9 log CFU/ml)
- 10 µl inoculum (ca. 7 log CFU/mL) 을 micropipette (2-20 µl) 을 이용하여 Nutrient agar에 분주한 후 spreading 한다.
- Blotting paper를 멸균된 핀셋을 이용하여 petri dish의 lid에 위치시킨 뒤 양면테이프로 붙인다.
- 10 µl Essential oil 원액을 micropipette (2-20 µl)을 이용하여 blotting paper 위에 분주한다.
- 균 접종이 완료된 petri dish와 EO 원액이 분주 된 lid를 petri dish가 뒤집힌 상태로 결합하고 parafilm을 이용하여 밀봉한다.
- 30°C 에서 48 시간 동안 petri dish를 뒤집어서 배양하여 colony의 생성을 관찰한다.

(2) 연구 결과

(가) Vapor diffusion assay를 통해 A. citrulli에 살균 효과를 보이는 정유기체 스크리닝

① 정유기체를 통한 A. citrulli의 스크리닝결과

- 77가지의 정유기체를 스크리닝한 결과 A. citrulli에 전혀 항균력이 없는 정유기체는 Benzoin bio 55% in bio-alcohol, Carrot Seed, Cedarwood, Cederwood Atlas, Citronella, Clary Sage, Davana, Dill, Dwarf pine, Elemi, Fennel Sweet, Fir Needle, Geranium, Geranium Bourbon, Ginger, Helichrvsum, Hyssop, Iris root 1%, Juniper Berry, Laurel leaf, Lavandin Super, Lavender Extra fine, Lemon, Lime Expressed, Lotus Absolute 5%, Mandarin Green, Mandarin red, Manuka, Myrtle, Nutmeg, Orange Sweet, Palmarosa, Patchouli, Pepper black, Petitgrain, pine extra, Silver Fir Needle, Spike Lavender, Thyme Linalol, Ylang-Ylang Complete, Galbanium 었다.
- A. citrulli에 항균력이 좋은 정유기체는 Cinnamon bark, Cinnamon leaf, Garlic, Lemon grass, Marjoram sweet, May chang, Oregano, Thyme thymol 8 종 이었다.

표 82. 7 log CFU/g의 A. citrulli 가 접종된 NA에 정유기체가 분주된 blotting paper를 부착한 petri dish lid를 결합하고 48 시간 배양한 A. citrulli의 생장이 저해된 범위

정유기체 종류	항균력 범위 (cm)
Control	0
Cinnamon bark	5.50 ± 0.12
Cinnamon leaf	3.10 ± 0.90
Garlic	5.43 ± 0.99
Lemon grass	2.88 ± 0.16
Marjoram sweet	3.93 ± 0.47
May chang	2.97 ± 0.05
Oregano	3.38 ± 0.62
Thyme thymol	2.75 ± 0.17

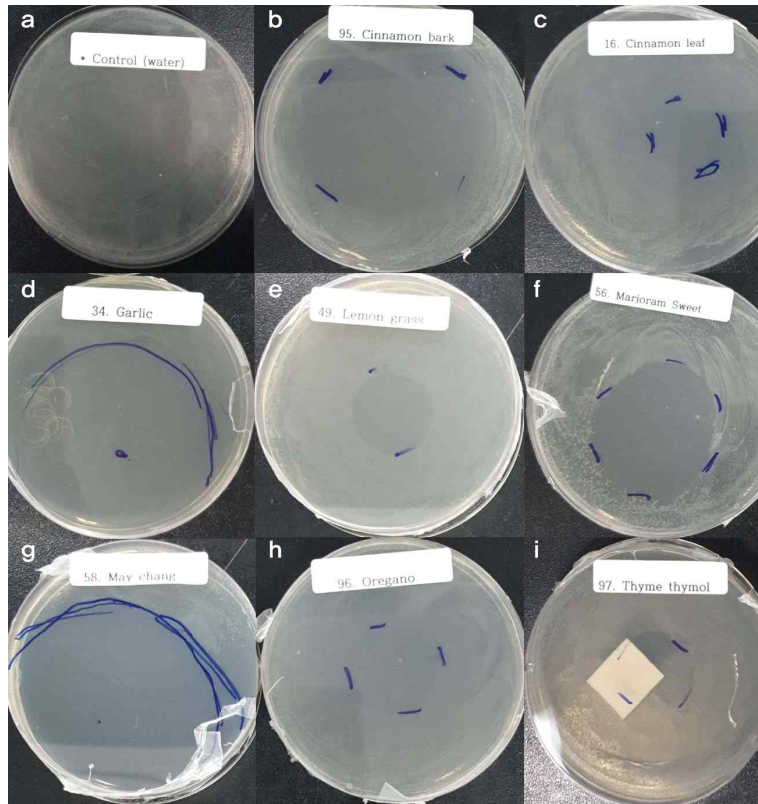


그림 16. *A. citrulli*에 대한 a) control과 정유기체 b) Cinnamon bark, c) Cinnamon leaf, d) Garlic, e) Lemon grass, f) Marjoram sweet, g) May chang, h) Oregano, i) Thyme thymol의 항균력 비교

2. 길항 미생물 대사체를 이용한 종자살균 연구

가. *in vitro* 상에서 유효성분과 부제와의 종류/농도/병해별 조합분석

(1) 연구 방법

(가) 선별된 길항미생물의 유효성분 분석

- 선별된 길항미생물 tryptic soy broth 1 L에 접종한 후 28°C에서 3일간 배양한다.
- 원심분리 (8,000 rpm, 30 min) 후 얻은 배양액을 동량의 butanol로 용매추출한 후 감압농축기로 농축한다.
- Dianion HP20, HiTrap Q HP anion exchange 크로마토그래피 컬럼, 역상 HPLC 크로마토그래피를 통해 얻은 분획을 paper disk bioassay (병원균 *Colletotrichum orbiculare*), overlay assay (병원균 *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*) 통해 병원균에 대한 항균활성을 확인한다.

(2) 연구 결과

(가) 선별된 길항미생물의 유효성분 분석

- KPP02639 배양액을 butanol로 추출, 감압농축 후 dianion 크로마토그래피를 실행한 후 paper disk assay방법 (병원균 *Colletotrichum orbiculare*)으로 활성검정한 결과, 100% methanol, acetone 분획에서 항균활성이 관찰되었다.

- 역상 HPLC로 시간별 분획, 210nm 파장에서 검출된 피크를 활성 검정한 결과 21분대에 두 개의 활성 피크를 분리하였으며, 분자량과 구조 분석 예정이다 (그림 17).

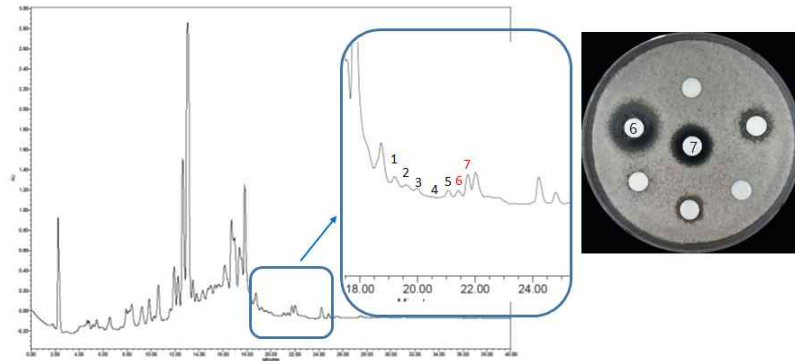


그림 17. KPP02639 diaion acetone 분획의 HPLC 크로마토그램과 항균활성검정

- KPP02129 배양액을 HiTrap Q HP anion exchange 크로마토그래피 컬럼을 통해 순화한 후, 활성 분획을 SDS, native gel에서 분리 후 *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* seeded medium으로 overlay한 결과, 80 kDa의 단백질이 검출되었고, 이 부분에서 항균 활성을 확인하였다(그림 18).

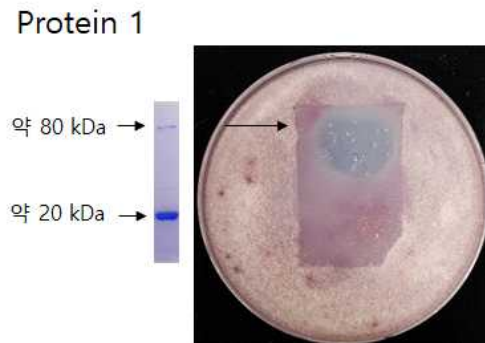


그림 18. KPP02129 SDS, native gel에서 분리 후 항균활성 확인

나. 선별된 조합의 종자에 대한 활력 및 유묘기 효과에 대한 검정

(1) 연구 방법

(가) 길항미생물 배양액 코팅된 무, 오이 종자의 활력 및 유묘기 효과 검정

- 각 길항미생물 배양액의 Diaion HP20 컬럼 크로마토그래피 활성 분획 또는 butanol 추출물이 포함된 코팅액으로 처리된 무, 오이 종자와 비교군으로 무처리된 종자, 상용살균제가 포함된 코팅액으로 처리된 종자를 노루기반에서 제공받아 실험한다.
- 종자활력은 테트라졸리움법과 발아율 산출로 검정한다.
- 테트라졸리움 염색은 5립씩 3반복 조사하며, 멸균수에 밤새 담근 후 면도칼로 반으로 갈라 1% tetrazolium chloride 용액에 침지시킨다.
- 3시간 후 각 종자의 배와 배유를 관찰한다.
- 각 종자의 발아율 확인은 pleated paper 용지의 한 간격에 5개씩 (10립, 2반복) 치상시킨 후 5일 후 관찰한다.

(2) 연구 결과

(가) 길항미생물 배양액 코팅된 무, 오이 종자의 활력 및 유묘기 효과 검정

① 무

- 무처리 대비 미생물 배양액 코팅된 무 종자는 비슷한 수준의 발아율을 보였다.
- 무처리 대비 미생물 배양액 코팅된 무 종자의 shoot 발달 향상에 대한 효과는 없었으며, KPP03317 배양액 코팅된 무 종자의 root 발달이 유의적으로 향상되었다.
- 테트라졸리움 검정결과, 배양액 코팅으로 종자의 활력이 유지됨을 확인하였다.

표 83. 무처리/미생물 배양액 코팅된 무 종자의 발아율, shoot, root 길이

Seed treatment	Seed germination (%)	Shoot length (cm)	Root length (cm)
Untreat	80	6.4±1.3 b	5.5±1.4 bc
Blue (코팅제)	100	7.3±0.9 a	5.4±2.1 bc
KPP02103	80	6.6±0.7 ab	6.5±1.0 abc
KPP02113	80	6.6±0.6 ab	6.4±1.0 abc
KPP02129	80	5.9±1.1 ab	6.2±0.9 abc
KPP02639	90	6.8±1.1 ab	5.8±2.4 ab
KPP03317	80	6.6±0.7 ab	7.5±1.5 a
SUN	70	6.5±0.3 ab	6.5±1.6 abc
Thiram	90	6.1±0.7 b	5.5±1.6 c

Comparison of the effect of seed treatment: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).



그림 19. 테트라졸리움 검정 (무)

② 오이

- 무처리 대비 미생물 배양액 코팅된 오이종자가 비슷한 수준의 발아율을 보였다.
- 무처리 대비 KPP02113 배양액으로 코팅된 오이종자의 shoot, root 발달이 유의적으로 향상되었다.
- 테트라졸리움 검정결과, 배양액 코팅으로 종자의 활력에는 영향이 없음을 확인하였다.



그림 20. 테트라졸리움 검정 (오이)

표 84. 무처리/미생물 배양액 코팅된 오이 종자의 발아율, shoot, root 길이

Seed treatment	Seed germination (%)	Shoot length (cm)	Root length (cm)
Untreat	100	3.9±1.3 c	4.2±1.9 c
Blue (코팅제)	90	4.8±0.4 ab	4.9±1.3 abc
KPP02103	100	4.6±0.5 bc	5.4±0.9 bc
KPP02113	80	5.3±0.8 a	5.9±1.5 a
KPP02129	90	4.9±0.8 ab	4.6±0.6 bc
KPP02639	100	4.7±1.0 bc	5.0±1.0 bc
KPP03317	100	4.9±0.9 abc	4.6±1.0 bc
SUN	90	4.3±0.6 bc	5.3±1.1 ab
Thiram	100	4.9±0.4 ab	5.3±1.0 abc

Comparison of the effect of seed treatment: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

다. 다양한 작물의 종자에 처리된 코팅제제의 항균활성, 발아율 촉진, 작물생육증진 효과에 대한 기전 분석을 통해 등록 및 상용화를 위한 자료 제작

(1) 연구 방법

(가) 길항미생물 배양액 코팅된 고추 종자의 활력 및 유묘기 효과 검정

- 각 길항미생물 배양액의 Diaion HP20 컬럼 크로마토그래피 활성 분획 또는 butanol 추출물이 포함된 코팅액으로 처리된 고추 종자와 비교군으로 무처리된 종자, 상용살균제가 포함된 코팅액으로 처리된 고추종자를 노루기반에서 제공받아 실험한다.
- 종자활력은 테트라졸리움법과 발아율 산출로 검정한다.
- 테트라졸리움 염색은 5립씩 3반복 조사하며, 멸균수에 밤새 담근 후 면도칼로 반으로 갈라 1% tetrazolium chloride 용액에 침지시킨다.
- 3시간 후 각 종자의 배와 배유를 관찰한다.
- 각 종자의 발아율 확인은 pleated paper 용지의 한 간격에 5개씩 (처리당 10립) 치상시킨 후 5일 후 관찰한다.

(나) 길항미생물 배양액 코팅된 고추 종자의 병 억제효과 Rhizoctonia solani

- 멸균토양에 Rhizoctonia solani (AG-4) KACC40139 콜로니를 접종 후 7일간 25°C 에서 배양하여 Rhizoctonia solani-infested soil을 만든다.
- pleated paper 용지의 한 간격에 각 고추 종자 5개씩 치상시킨 후 Rhizoctonia solani-infested soil로 덮고 비닐에 넣어 습도를 유지한다.
- 각 처리당 10 립 씩 시행하며, 처리 5일 후 관찰한다.

(2) 연구 결과

(가) 길항미생물 배양액 코팅된 고추 종자의 활력 및 유묘기 효과 검정

- 무처리 대비 미생물 배양액 코팅된 고추종자의 발아율은 차이가 없었다.
- 무처리 대비 미생물 배양액 코팅된 고추종자의 shoot, root 발달 향상에 대한 효과는 없었다.
- 테트라졸리움 검정결과, 배양액 코팅으로 종자의 활력이 유지됨을 확인하였다.

표 85. 무처리/미생물 배양액 코팅된 고추종자의 발아율, shoot, root 길이

Seed treatment	Seed germination (%)	Shoot length (cm)	Root length (cm)
Untreat	95	3.2±0.3 a	4.6±1.1 a
Blue (코팅제)	95	3.3±0.3 a	4.2±1.0 a
KPP02103	100	3.6±0.3 a	4.3±0.9 a
KPP02113	95	3.6±0.3 a	4.0±1.4 a
KPP02129	100	3.3±0.7 a	4.1±0.8 a
KPP02639	95	3.7±0.6 a	4.6±1.1 a
KPP03317	100	3.6±0.3 a	4.7±0.9 a
SUN	100	3.3±0.7 a	4.0±1.1 a
Thiram	100	3.3±0.2 a	4.1±1.3 a

Comparison of the effect of seed treatment: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).



그림 21. 테트라졸리움 검정 (고추)

(나) 길항미생물 배양액 코팅된 고추 종자의 병 억제효과 *Rhizoctonia solani*

- 무처리, 코팅제 처리 대비 5개 길항미생물 배양액 코팅된 고추 종자에서 증가된 발아율을 보였으며, 그중 KPP02639이 코팅된 고추 종자에서 가장 높은 발아율을 보였다.
- 발아한 종자 중에서 KPP02113, KPP02129, KPP02639, thiram이 코팅된 고추 종자에서 비교적 낮은 발병도를 보였다.

표 86. *Rhizoctonia solani*-infested soil에서 무처리/미생물 배양액 코팅된 고추 종자의 발아율

Seed treatment	발아율 (%)
	고추
Untreat	15
Blue (코팅제)	10
KPP02103	35
KPP02113	25
KPP02129	20
KPP02639	50
KPP03317	30
SUN	15
Thiram	45

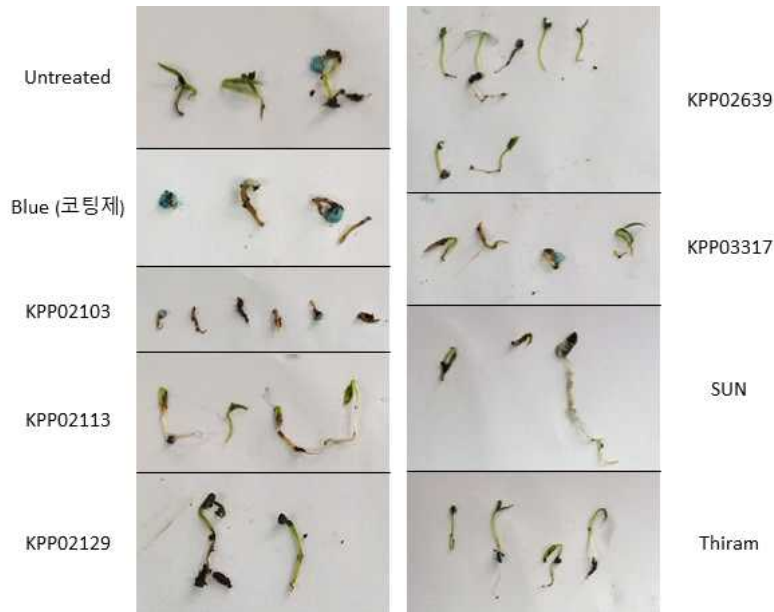


그림 22. *Rhizoctonia solani* 접종토양에서 무처리/미생물 배양액 코팅된 고추종자의 길항력

[5차년도]

1. 항균기체 기반 종자살균 연구 [종자의 위해미생물 제어를 위한 항균기체 (이산화염소, 유기산, 정유) 기반 종자 살균기술 개발]

가. 유기산 기체 기반 다중스트레스 조합의 최적조건 확립

(1) 연구 방법

(가) 고추, 무, 양배추 종자에 접종된 식물병원균에 대한 유기산의 살균효과 확인

- ① *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*(Xcc) cocktail 제조 및 고추, 무, 양배추 종자에 접종
 - 30°C incubator의 nutrient broth (NB)에서 48 시간 씩 3번 계대배양한 3 균주의 Xcc를 각각 50 ml conical tube에 담고 centrifuge에서 2,002 rcf로 15 분간 원심분리한다.
 - 원심분리가 끝난 3 균주의 Xcc solution 상층액을 10 ml의 pipette을 이용하여 제거한다.
 - 상층액이 제거된 Xcc pellet이 담긴 50 ml conical tube에 PBS buffer를 10 ml pipette을 이용하여 제거한 상층액 만큼 분주한 후 vortexing을 실시한다.
 - 위 과정을 한 번 더 반복하고 3 균주의 Xcc solution과 PBS buffer를 이용해 십진희석한 Xcc cocktail을 만든다. (ca. 7 log CFU/ml)
 - 5 g의 멸균 무 종자에 15 ml의 Xcc cocktail을 5 분간 침지해 접종하고 멸균된 sieve에서 2 시간동안 건조한다.
- ② Xcc가 접종된 종자의 처리
 - 건조가 끝난 종자는 culture dish lid에 옮겨 24시간 동안 50°C incubator에 85%로 맞춰놓은 airtight container에서 아세트산 (157 μ l), 프로피온산 (167 μ l) 용액으로 1, 2시간 처리한다.
 - 처리가 끝난 후 3 g의 처리된 종자와 30 ml의 NB를 whirl-pak bag에 넣고 stomacher (Interscience BagMixer 400W)에서 1 분간 pummeling한다.
 - Pummeling이 끝난 whirl-pak bag에서 solution을 취하여 nutrient agar (NA)에 direct plating한다.
 - 30°C에서 48 시간 동안 배양시킨 후 counting을 실시한다.

(2) 연구 결과

(가) 식물병원균 Xcc의 생육 패턴 확인

- 주로 십자화과(무, 양배추 등) 및 가지과(고추)에 검은빛 썩음 병을 일으키는 병원균
- KACC 19133, 19136, 그리고 10377 모두 48 시간안에 약 8 log CFU/ml까지 성장

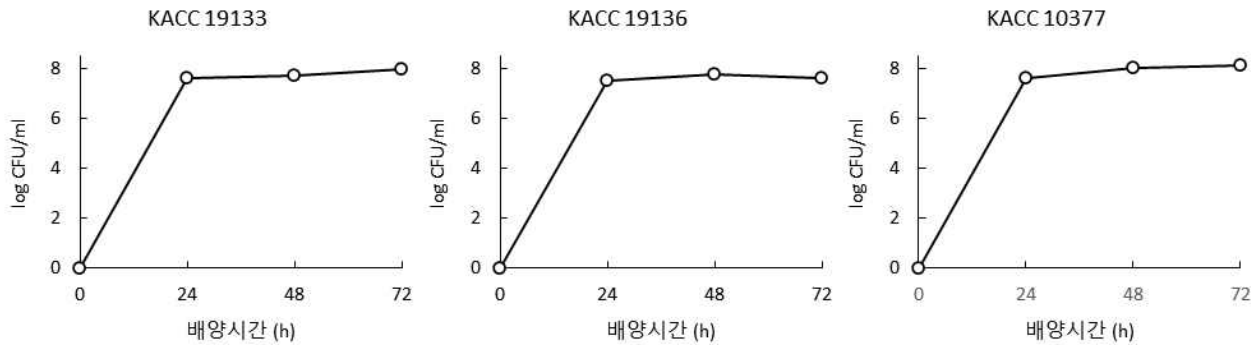


그림 23. Xcc의 strain별 생육 패턴

(나) 고추, 무, 양배추 종자에 접종된 식물병원균에 대한 유기산의 살균효과 확인

① 고추 종자에 접종된 Xcc의 개체수

- 4 차년도에서 발아율이 감소하지 않음이 확인된 조건에서 85% 상대습도와 50°C 온도에서 100 mg/L of air의 프로피온산 기체에 2시간처리된 고추 종자의 Xcc는 멸균되었다.

표 87. 멸균 고추 종자 (5g)에 Xcc cocktail suspension (ca. 6.6 log CFU/g)을 5분간 접종 및 120분간 건조하고 85% 상대습도와 50°C 온도 조건에서 168 μl의 프로피온산을 자연기화시켜 발생한 프로피온 기체 (100 mg/L of air)를 최대 2시간 처리 후 Nutrient agar에 48시간 배양한 Xcc의 개체수

상대습도 (%)	온도 (°C)	처리종류 (농도; mg/L of air)	개체수 (log CFU/g)		
			시간 (h)		
			0 (Initial)	1	2
85	50	Control (0)	6.0±0.3	5.0±0.4	1.3±0.6
		프로피온산 (100)	6.0±0.3	2.2±1.0	<1.0 (0/6)

② 무 종자에 접종된 Xcc의 개체수

- 4차년도에서 발아율이 감소하지 않음이 확인된 조건에서 85% 상대습도와 50°C 온도에서 100 mg/L of air의 아세트산과 프로피온산 기체에 2시간처리된 무종자의 Xcc는 멸균되었다.

표 88. 멸균 무 종자 (5g)에 Xcc cocktail suspension (ca. 6.6 log CFU/g)을 5분간 접종 및 120 분간 건조하고 85% 상대습도와 50°C 온도 조건에서 158 μ l의 아세트산 또는 168 μ l의 프로피온산을 자연기화 시켜 발생한 기체 (100 mg/L of air)를 최대 2시간 처리 후 Nutrient agar에 48시간 배양한 Xcc의 개체수

상대습도 (%)	온도 (°C)	처리종류 (농도; mg/L of air)	개체수 (log CFU/g)		
			시간 (h)		
			0 (Initial)	1	2
85	50	Control (0)	6.0±0.3	4.7±0.6	4.0±0.6
		아세트산 (100)	6.0±0.3	1.8±0.9	<1.0 (0/6)
		프로피온산 (100)	6.0±0.3	1.8±0.6	<1.0 (0/6)

③ 양배추 종자에 접종된 Xcc의 개체수

- 발아율이 감소하지 않은 조건에서 양배추 종자의 Xcc의 멸균을 확인할 수 없었다.

표 89. 멸균 양배추 종자 (5g)에 Xcc cocktail suspension (ca. 6.6 log CFU/g)을 5분간 접종 및 120분간 건조하고 85% 상대습도와 50°C 온도 조건에서 158 μ l의 아세트산 또는 168 μ l의 프로피온산을 자연기화 시켜 발생한 기체 (100 mg/L of air)를 최대 1시간 처리 후 Nutrient agar에 48시간 배양한 Xcc의 개체수

상대습도 (%)	온도 (°C)	처리종류 (농도;mg/L of air)	개체수 (log CFU/g)	
			시간 (h)	
			0 (Initial)	1
85	50	Control (0)	6.3±0.1	4.8±0.4
		아세트산 (100)	6.3±0.1	1.9±1.1
		프로피온산 (100)	6.3±0.1	2.0±1.0

나. 이산화염소 기체 기반 다중스트레스 조합의 최적조건 확립

(1) 연구 방법

(가) 박과 종자 (멜론, 수박, 오이, 호박)의 고농도의 이산화염소 기체에 대한 발아율 확인

① 이산화염소 용액의 제조

- 2 ml의 1 N 염산 (HCl)이 담긴 15 ml conical tube를 준비한다.
- 0.25 g의 아염소산나트륨 (NaClO₂)을 2 ml의 염산 (HCl)이 담긴 15 ml conical tube에 넣은 후 최대 세기로 1 분간 vortexing하여 반응시킨다.
- 이 때, 만들어진 이산화염소 용액 내 아염소산나트륨 (NaClO₂)의 농도는 100,000 μ g/ml 가 된다.

② 이산화염소 기체의 처리

- 24 시간 동안 50 또는 60°C에서 85% 상대습도로 맞춰진 airtight container의 뚜껑을 열고 핀셋을 이용하여 culture dish (100.00 diameter by 50.00 mm height; SPL)를 넣는다.
- Culture dish 내부에 반응시킨 이산화염소 용액을 일정량 분주한다.
- 2,000, 3,000 ppm 농도의 이산화염소 기체를 발생시키기 위한 용액의 분주량은 2,000 ppm의 경우 311 μ l, 3,000 ppm의 경우 466 또는 528(60°C에서) μ l 이다.

- 이산화염소 용액이 분주된 culture dish 내부에 sieve (75 mm diameter, 600 μ m pore size; Chung Gye Sang Gong Sa)를 넣고 sieve 위에 5 g 씩 정량한 종자를 올려놓은 다음 뚜껑을 닫는다.
- ③ 이산화염소 기체 처리 후 발아율 조사
 - 이산화염소 기체를 10, 20, 60 또는 120 min 처리한 후 incubator에서 airtight container를 꺼내 처리된 종자를 핀셋으로 집어 치상한 후 발아율을 조사한다. 위의 과정을 적어도 세 번 이상 반복한다.
 - ④ 이산화염소 기체를 처리하지 않은 종자의 발아율 조사 (대조군)
 - 이산화염소 용액을 분주하지 않은 상대습도 85% 및 50 또는 60°C container에서 10, 20, 60 또는 120 min 처리한 후 incubator에서 airtight container를 꺼내 처리된 종자를 핀셋으로 집어 치상한 후 발아율을 조사한다. 위의 과정을 적어도 세 번 이상 반복한다.
- (나) 박과 종자 (멜론, 수박, 오이, 호박)에 접종된 *A. citrulli*에 대한 고농도의 이산화염소 기체의 살균력 확인
 - ① *A. citrulli*의 준비
 - 4°C 에 보관된 *A. citrulli* 5 균주의 slant stock에서 blue needle을 이용하여 single colony를 취한 후 30 ml 의 NB가 담긴 50 ml conical tube에 접종한다.
 - 30°C 에서 48 시간 정지 배양한다.
 - 3 차례 계대배양 (transfer) 후 이를 실험에 사용한다.
 - ② Bacterial cocktail 제조
 - NB에서 48 시간 동안 배양된 5 균주의 *A. citrulli* solution 10 ml이 담긴 50 ml conical tube를 각각 centrifuge에 위치시키고 2002 rcf에서 15 분간 원심분리한다.
 - 원심분리가 끝난 5가지 strain의 *A. citrulli* solution 상층액을 10 ml pipette을 이용하여 각각 제거한다.
 - 상층액이 제거된 *A. citrulli* pellet이 담긴 50 ml conical tube에 10 ml의 PBS를 10 ml pipette을 이용하여 분주한 후 vortexing을 실시한다.
 - 각각의 *A. citrulli* 5 균주의 solution 10 ml이 담긴 50 ml conical tube에서 micropipette을 이용하여 1 ml의 solution을 취한 후 새로운 50 ml conical tube에 분주하여 섞어준다.
 - 제조된 *A. citrulli* cocktail (9 log CFU/ml)을 9 ml PBS를 이용하여 1 번 십진희석시킨다 (8 log CFU/ml).
 - ③ 종자시료에 *A. citrulli* cocktail 접종
 - 감마선 처리된 멸균 종자 5 g이 담긴 50 ml conical tube에 15 ml의 *A. citrulli* cocktail (8 log CFU/ml)을 Auto pipet을 이용하여 분주한다.
 - 15 ml의 *A. citrulli* cocktail과 5 g의 종자시료가 담긴 50 ml conical tube의 뚜껑을 닫고 5 분간 침지한다.
 - 멸균된 sterile sieve 를 재배틀 윗 부분에 위치시킨다.
 - 5 분간 처리된 5 g의 종자시료와 15 ml의 *A. citrulli*을 멸균된 sterile sieve에 부어 종자시료를 걸러낸다.
 - Sterile sieve 위 걸러진 종자시료를 멸균된 spoon을 이용하여 고르게 펼쳐준 후 2 시간동안 laminar flow bio safety hood에서 건조시킨다.

④ 이산화염소 기체 발생환경 구축

- 1.8 L airtight container 안의 상대습도를 조절하기 위해 potassium chloride (aw 0.850) 용액을 각각 150 ml씩 분주한 후 핀셋을 이용하여 culture dish (100.00 diameter by 50.00 mm height; SPL)를 넣는다.
- 50°C 로 설정된 incubator에 24 시간 동안 둔다.

⑤ 이산화염소 기체의 발생

- 2 ml의 1 N 염산 (HCl)이 담긴 15 ml conical tube를 준비한다.
- 0.25 g의 아염소산나트륨 (NaClO₂)을 2 ml의 염산 (HCl)이 담긴 15 ml conical tube에 넣은 후 최대 세기로 1 분간 vortexing하여 반응시킨다. (이 때, 만들어진 용액 내 아염소산나트륨 (NaClO₂)의 농도는 100,000 µg/ml가 된다.)
- 24 시간 동안 50 또는 60°C에서 85% 상대습도로 맞춰진 airtight container의 뚜껑을 열고, culture dish 내부에 311 µl (ca. 2,000 ppm) 또는 466 또는 528 (60°C에서) µl (ca. 3,000 ppm)의 1 N HCl과 NaClO₂의 혼합액을 분주한다.
- 멸균된 spoon을 이용하여 sterile sieve (75 mm diameter, 600 µm pore size; Chung Gye Sang Gong Sa)위에 접종된 종자를 펼친다.
- 멸균 핀셋을 이용하여 종자가 담긴 sieve를 1 N HCl과 NaClO₂의 혼합액이 분주된 culture dish에 넣은 다음 뚜껑을 닫는다.
- 85% 상대습도 그리고 50 또는 60°C에서 10, 20, 60 또는 120 분간 처리한다.
- 10, 20, 60 또는 120 분 처리가 끝난 종자는 핀셋을 이용하여 sieve를 clean bench 에 꺼내둔다.

⑥ A. citrulli의 개체수 확인

- Whirl-pak bag을 전자저울에 올린 후 영점을 맞춘다.
- ClO₂ (g)가 처리된 종자시료 3 g을 멸균된 spoon을 이용하여 전자저울 위 whirl-pak bag에 넣어준다.
- 30 ml pipette을 이용하여 멸균(Autoclaved in 121°C for 15 min)된 30 ml의 NB를 종자시료가 담긴 whirl-pak bag에 분주한다.
- Whirl-pak bag의 입구를 봉한 후 stomacher (Interscience BagMixer 400W)에서 1 분간 pummeling한다.
- Pummeling이 끝난 whirl-pak bag에서 solution을 취한 후, 0.1% peptone water로 serial dilution을 실시하여 NA plate에 direct plating 한다.
- 30°C에서 48 시간 동안 배양시킨 후 counting을 실시한다.

(다) 비 박과종자 (고추, 무, 양배추)의 고농도의 이산화염소 기체에 대한 발아율 확인

① 이산화염소 용액의 제조

- 2 ml의 1 N 염산 (HCl)이 담긴 15 ml conical tube를 준비한다.
- 0.25 g의 아염소산나트륨 (NaClO₂)을 2 ml의 염산 (HCl)이 담긴 15 ml conical tube에 넣은 후 최대 세기로 1 분간 vortexing하여 반응시킨다.
- 이 때, 만들어진 이산화염소 용액 내 아염소산나트륨 (NaClO₂)의 농도는 100,000 µg/ml가 된다.

② 이산화염소 기체의 처리

- 24시간 동안 50 또는 60°C에서 85% 상대습도로 맞춰진 airtight container의 뚜껑을 열고

핀셋을 이용하여 culture dish (100.00 diameter by 50.00 mm height; SPL)를 넣는다.

- Culture dish 내부에 반응시킨 이산화염소 용액을 일정량 분주한다.
- 1,000, 3,000 ppm 농도의 이산화염소 기체를 발생시키기 위한 용액의 분주량은 1,000 ppm의 경우 155 μ l, 3,000 ppm의 경우 466 또는 528 (60°C에서) μ l 이다.
- 이산화염소 용액이 분주된 culture dish 내부에 Culture dish lid (100.00 diameter, 40.00 mm ventilation hole size, 0.053 mesh hole size; SPL)를 넣고 lid 위에 5 g 씩 정량한 종자를 올려놓은 다음 뚜껑을 닫는다.

③ 이산화염소 기체 처리 후 발아율 조사

- 이산화염소 기체를 60 또는 120 min 처리한 후 incubator에서 airtight container를 꺼내 처리된 종자를 핀셋으로 집어 치상한 후 발아율을 조사한다. 위의 과정을 적어도 세 번 이상 반복한다.

④ 이산화염소 기체를 처리하지 않은 종자의 발아율 조사 (대조군)

- 이산화염소 용액을 분주하지 않은 상대습도 85% 및 50 또는 60°C container에서 60 또는 120 min 처리한 후 incubator에서 airtight container를 꺼내 처리된 종자를 핀셋으로 집어 치상한 후 발아율을 조사한다. 위의 과정을 적어도 세 번 이상 반복한다.

(라) 비 박과종자 (고추, 무, 양배추)에 접종된 Xcc에 대한 고농도의 이산화염소 기체의 살균력 확인

① Xcc의 준비

- 4°C 에 보관된 Xcc 5 균주의 slant stock에서 blue needle을 이용하여 single colony를 취한 후 30 ml 의 NB가 담긴 50 ml conical tube에 접종한다.
- 30°C 에서 48 시간 정치 배양한다.
- 3 차례 계대배양 (transfer) 후 이를 실험에 사용한다.

② Bacterial cocktail 제조

- NB에서 48 시간 동안 배양된 5 균주의 Xcc solution 10 ml이 담긴 50 ml conical tube를 각각 centrifuge에 위치시키고 2002 rcf에서 15 분간 원심분리한다.
- 원심분리가 끝난 5가지 strain의 Xcc solution 상층액을 10 ml pipette을 이용하여 각각 제거한다.
- 상층액이 제거된 Xcc pellet이 담긴 50 ml conical tube에 10 ml의 PBS를 10 ml pipette을 이용하여 분주한 후 vortexing을 실시한다.
- 각각의 Xcc 5 균주의 solution 10 ml이 담긴 50 ml conical tube에서 micropipette을 이용하여 1 ml의 solution을 취한 후 새로운 50 ml conical tube에 분주하여 섞어준다.
- 제조된 Xcc cocktail (8 log CFU/ml)을 9 ml PBS를 이용하여 1 번 십진희석시킨다 (7 log CFU/ml).

③ 종자시료에 Xcc cocktail 접종

- 감마선 처리된 멸균 종자 5 g이 담긴 50 ml conical tube에 15 ml의 Xcc cocktail cocktail (8 log CFU/ml)을 Auto pipet을 이용하여 분주한다.
- 15 ml의 Xcc cocktail과 5 g의 종자시료가 담긴 50 ml conical tube의 뚜껑을 닫고 5 분간 침지한다.
- 멸균된 sterile sieve 를 재배틀 윗 부분에 위치시킨다.
- 5 분간 처리된 5 g의 종자시료와 15 ml의 Xcc을 멸균된 sterile sieve에 부어 종자시료를

걸러낸다.

- Sterile sieve 위 걸러진 종자시료를 멸균된 spoon을 이용하여 고르게 펼쳐준 후 2 시간동안 laminar flow bio safety hood에서 건조시킨다.

④ 이산화염소 기체 발생환경 구축

- 1.8 L airtight container 안의 상대습도를 조절하기 위해 potassium chloride (aw 0.850) 용액을 각각 150 ml씩 분주한 후 핀셋을 이용하여 culture dish (100.00 diameter by 50.00 mm height; SPL)를 넣는다.
- 50°C 로 설정된 incubator에 24 시간 동안 둔다.

⑤ 이산화염소 기체의 발생

- 2 ml의 1 N 염산 (HCl)이 담긴 15 ml conical tube를 준비한다.
- 0.25 g의 아염소산나트륨 (NaClO₂)을 2 ml의 염산 (HCl)이 담긴 15 ml conical tube에 넣은 후 최대 세기로 1 분간 vortexing하여 반응시킨다. (이 때, 만들어진 용액 내 아염소산나트륨 (NaClO₂)의 농도는 100,000 µg/ml가 된다.)
- 24 시간 동안 50또는 60°C에서 85% 상대습도로 맞춰진 airtight container의 뚜껑을 열고, culture dish 내부에 155 µl (ca. 1,000 ppm) 또는 466 또는 528(60°C에서) µl (ca. 3,000 ppm)의 1 N HCl과 NaClO₂의 혼합액을 분주한다.
- 멸균된 spoon을 이용하여 Culture dish lid (100.00 diameter, 40.00 mm ventilation hole size, 0.053 mesh hole size; SPL)위에 접종된 종자를 펼친다.
- 멸균 핀셋을 이용하여 종자가 담긴 lid를 1 N HCl과 NaClO₂의 혼합액이 분주된 culture dish에 넣은 다음 뚜껑을 닫는다.
- 85% 상대습도 그리고 50 또는 60°C에서 60 또는 120 분간 처리한다.
- 60 또는 120 분 처리가 끝난 종자는 핀셋을 이용하여 lid를 clean bench에 꺼내둔다.

⑥ Xcc의 개체수 확인

- Whirl-pak bag을 전자저울에 올린 후 영점을 맞춘다.
- ClO₂ (g)가 처리된 종자시료 3 g을 멸균된 spoon을 이용하여 전자저울 위 whirl-pak bag에 넣어준다.
- 30 ml pipette을 이용하여 멸균(Autoclaved in 121°C for 15 min)된 30 ml의 NB를 종자시료가 담긴 whirl-pak bag에 분주한다.
- Whirl-pak bag의 입구를 봉한 후 stomacher (Interscience BagMixer 400W)에서 1 분간 pummeling한다.
- Pummeling이 끝난 whirl-pak bag에서 solution을 취한 후, 0.1% peptone water로 serial dilution을 실시하여 NA plate에 direct plating 한다.
- 30°C에서 48 시간 동안 배양시킨 후 counting을 실시한다.

(2) 연구 결과

(가) 박과 종자 (멜론, 수박, 오이, 호박)의 고농도의 이산화염소 기체에 대한 발아율

① 85% 상대습도와 50°C 온도에서 이산화염소 기체에 처리된 멜론 종자의 발아율

- 50°C 온도와 85% 상대습도 조건에서 ClO₂ 기체 (최대 3,000 ppm)를 최대 2시간까지 처리한 멜론 종자의 2차 발아율은 처리하지 않은 종자의 발아율(initial)에 비해 유의적으로 감소하지 않았다.

표 90. 50°C 온도와 85% 상대습도 조건의 1.8 L airtight container에 HCl-NaClO₂ solution을 0.311 혹은 0.466 mL 분주하고 자연기화 시켜 발생한 ClO₂ 기체(ca. 2,000 or 3,000 ppm)에 최대 2시간 처리 후 PP 용지에 심고 변온 incubator에 5일 (1차), 8일 (2차)간 키운 멜론 종자의 발아율

	Concentration (ppm)	Germination rate (%±SD%)		
		Time (h)		
		0 (Initial)	1	2
1차	0	A 97.0 ± 1.4 a	A 98.0 ± 2.0 a	A 96.7 ± 3.1 a
	2000	A 97.0 ± 1.4 a	A 96.0 ± 5.3 a	A 92.7 ± 6.4 a
	3000	A 97.0 ± 1.4 a	A 98.0 ± 2.0 a	A 94.7 ± 3.1 a
2차	0	A 100.0 ± 0.0 a	A 100.0 ± 0.0 a	A 99.3 ± 1.2 a
	2000	A 100.0 ± 0.0 a	A 99.3 ± 1.2 a	A 99.3 ± 1.2 a
	3000	A 100.0 ± 0.0 a	A 98.7 ± 1.2 a	A 98.0 ± 3.5 a

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

- ② 85% 상대습도와 50°C 온도에서 이산화염소 기체에 처리된 수박 종자의 발아율
 - 50°C 온도와 85% 상대습도 조건에서 3,000 ppm ClO₂ 기체를 2시간 처리한 수박 종자의 1, 2차 발아율은 처리하지 않은 종자의 발아율에 비해 유의적으로 감소하지 않았다.

표 91. 50°C 온도와 85% 상대습도 조건의 1.8 L airtight container에 HCl-NaClO₂ solution을 0.311 혹은 0.466 mL 분주하고 자연기화 시켜 발생한 ClO₂ 기체(ca. 2,000 or 3,000 ppm)에 최대 2시간 처리 후 P·P 용지에 심고 변온 incubator에 5일 (1차), 14일 (2차)간 키운 수박 종자의 발아율

	Concentration (ppm)	Germination rate (%±SD%)		
		Time (h)		
		0 (Initial)	1	2
1차	0	A 80.0±2.8 a	A 82.7±6.4 a	A 81.3±2.3 ab
	2000	A 80.0±2.8 a	AB 75.3±5.8 a	A 76.0±3.5 a
	3000	A 80.0±2.8 a	B 85.3±7.0 a	A 74.0±9.2 a
2차	0	A 97.0±1.4 a	A 99.3±1.2 b	A 100.0±0.0 b
	2000	A 97.0±1.4 a	A 100.0±0.0 b	A 100.0±0.0 b
	3000	A 97.0±1.4 a	A 99.3±1.2 a	B 98.7±1.2 a

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

- ③ 85% 상대습도와 50°C 온도에서 이산화염소 기체에 처리된 오이 종자의 발아율
 - 50°C 온도와 85% 상대습도 조건에서 ClO₂ 기체 (최대 3,000 ppm)를 2시간까지 처리한 오이 종자의 1, 2차 발아율은 처리하지 않은 종자의 발아율에 비해 유의적으로 감소하지 않았다.

표 92. 50°C 온도와 85% 상대습도 조건의 1.8 L airtight container에 HCl-NaClO₂ solution을 0.311 혹은 0.466 mL 분주하고 자연기화 시켜 발생한 ClO₂ 기체(ca. 2,000 or 3,000 ppm)에 최대 2시간 처리 후 P·P 용지에 심고 변온 incubator에 5일 (1차), 8일 (2차)간 키운 오이 종자의 발아율

	Concentration (ppm)	Germination rate (%±SD%)		
		Time (h)		
		0 (Initial)	1	2
1차	0	A 91.0±1.4 a	A 91.3±3.1 a	A 98.7±2.3 b
	2000	A 91.0±1.4 a	A 87.3±5.0 a	A 94.7±3.1 a
	3000	A 91.0±1.4 a	A 86.0±3.5 a	B 88.7±3.1 a
2차	0	A 97.0±4.2 a	A 96.7±3.1 a	A 99.3±1.2 a
	2000	A 97.0±4.2 a	A 91.3±5.8 a	A 96.7±3.1 a
	3000	A 97.0±4.2 a	A 94.7±2.3 a	A 98.0±0.0 a

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

- ④ 85% 상대습도와 50°C 온도에서 이산화염소 기체에 처리된 호박 종자의 발아율
 - 50°C 온도와 85% 상대습도 조건에서 ClO₂ 기체 (최대 3,000 ppm)를 2시간까지 처리한 오이 종자의 1,2차 발아율은 처리하지 않은 종자의 발아율에 비해 유의적으로 감소하지 않았다.

표 93. 50°C 온도와 85% 상대습도 조건의 1.8 L airtight container에 HCl-NaClO₂ solution을 0.311 혹은 0.466 mL 분주하고 자연기화 시켜 발생한 ClO₂ 기체(ca. 2,000 or 3,000 ppm)에 최대 2시간 처리 후 P·P 용지에 심고 변온 incubator에 5일 (1차), 8일 (2차)간 키운 호박 종자의 발아율

	Concentration (ppm)	Germination rate (%±SD%)		
		Time (h)		
		0 (Initial)	1	2
1차	0	A 90.0±8.5 a	A 88.7±3.1 a	A 86.0±6.0 a
	2000	A 90.0±8.5 a	A 88.0±2.0 a	A 79.3±6.1 a
	3000	A 90.0±8.5 a	A 81.3±5.8 a	A 81.3±3.1 a
2차	0	A 92.0±2.8 a	A 92.0±2.0 a	A 93.3±5.0 a
	2000	A 92.0±2.8 a	A 92.0±2.0 a	A 92.7±5.8 a
	3000	A 92.0±2.8 a	A 87.3±3.1 ab	A 96.0±2.0 b

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

- ⑤ 85% 상대습도와 60°C 온도에서 이산화염소 기체에 처리된 멜론 종자의 발아율
 - 60°C 온도와 85% 상대습도 조건에서 ClO₂ 기체 (ca. 3,000 ppm)를 최대 30분까지 처리한 멜론 종자의 1, 2차 발아율은 아무 처리하지 않은 종자의 발아율(initial)에 비해 유의적으로 감소하지 않았다.

표 94. 60°C 온도와 85% 상대습도 조건의 1.8 L airtight container에 HCl-NaClO₂ solution을 0.528 mL 분주하고 자연기화 시켜 발생한 ClO₂ 기체 (ca. 3,000 ppm)에 최대 30분 처리 후 P·P 용지에 심어 변온 incubator에 5일 (1차), 8일 (2차) 간 키운 멜론 종자의 발아율

	Concentration (ppm)	Germination rate (%±SD%)			
		Time (min)			
		0 (Initial)	10	20	30
1차	0	A 98.7±1.2 a	A 98.7±1.2 a	A 97.3±1.2 a	A 98.0±2.0 a
	3000	A 98.7±1.2 a	A 98.0±2.3 a	A 96.7±1.2 a	A 97.3±1.2 a
2차	0	A 99.3±1.2 a	A 100.0±0.0 a	A 100.0±0.0 a	A 99.3±1.2 a
	3000	A 99.3±1.2 a	A 100.0±0.0 a	A 99.3±1.2 a	A 100.0±0.0 a

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

- ⑥ 85% 상대습도와 60°C 온도에서 이산화염소 기체에 처리된 수박 종자의 발아율
 - 60°C 온도와 85% 상대습도 조건에서 ClO₂ 기체 (ca. 3,000 ppm)를 최대 30분까지 처리한 수박 종자의 1, 2차 발아율은 아무 처리하지 않은 종자의 발아율(initial)에 비해 유의적으로 감소하지 않았다.

표 95. 60°C 온도와 85% 상대습도 조건의 1.8 L airtight container에 HCl-NaClO₂ solution을 0.528 mL 분주하고 자연기화 시켜 발생한 ClO₂ 기체 (ca. 3,000 ppm)에 최대 30분 처리 후 P·P 용지에 심고 변온 incubator에 5일 (1차), 14일 (2차) 간 키운 수박 종자의 발아율

	Concentration (ppm)	Germination rate (%±SD%)			
		Time (min)			
		0 (Initial)	10	20	30
1차	0	A 86.5±6.8 a	A 86.0±6.0 a	A 82.7±1.2 a	A 80.7±5.0 a
	3000	A 86.5±6.8 a	A 88.0±2.0 a	A 80.7±1.2 a	A 82.7±4.2 a
2차	0	A 96.5±1.0 a	A 100.0±0.0 b	A 98.7±2.3 ab	A 99.3±1.2 b
	3000	A 96.5±1.0 ab	A 98.7±1.2 ab	A 100.0±0.0 b	A 96.0±4.0a

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

- ⑦ 85% 상대습도와 60°C 온도에서 이산화염소 기체에 처리된 오이 종자의 발아율
 - 60°C 온도와 85% 상대습도 조건에서 ClO₂ 기체 (ca. 3,000 ppm)를 최대 30분까지 처리한 오이 종자의 1, 2차 발아율은 아무 처리하지 않은 종자의 발아율(initial)에 비해 유의적으로 감소하지 않았다.

표 96. 60°C 온도와 85% 상대습도 조건의 1.8 L airtight container에 HCl-NaClO₂ solution을 0.528 mL 분주하고 자연기화 시켜 발생한 ClO₂ 기체 (ca. 3,000 ppm)에 최대 30분 처리 후 P·P 용지에 심고 변온 incubator에 5일 (1차), 8일 (2차) 간 키운 오이 종자의 발아율

	Concentration (ppm)	Germination rate (%±SD%)			
		Time (min)			
		0 (Initial)	10	20	30
1차	0	A 98.7±1.2 a	A 100.0±0.0 a	A 99.3±1.2 a	A 98.0±2.0 a
	3000	A 98.7±1.2 a	A 100.0±0.0 a	A 98.7±1.2 a	A 100.0±0.0 a
2차	0	A 99.3±1.2 a	A 100.0±0.0 a	A 99.3±1.2 a	A 98.0±2.0 a
	3000	A 99.3±1.2 a	A 100.0±0.0 a	A 100.0±0.0 a	A 100.0±0.0 a

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

- ⑧ 85% 상대습도와 60°C 온도에서 이산화염소 기체에 처리된 호박 종자의 발아율
 - 60°C 온도와 85% 상대습도 조건에서 ClO₂ 기체 (ca. 3,000 ppm)를 최대 30분까지 처리한 호박 종자의 1, 2차 발아율은 아무 처리하지 않은 종자의 발아율(initial)에 비해 유의적으로 감소하지 않았다.

표 97. 60°C 온도와 85% 상대습도 조건의 1.8 L airtight container에 HCl-NaClO₂ solution을 0.528 mL 분주하고 자연기화 시켜 발생한 ClO₂ 기체 (ca. 3,000 ppm)에 최대 30분 처리 후 P·P 용지에 심고 변온 incubator에 5일 (1차), 8일 (2차) 간 키운 호박 종자의 발아율

	Concentration (ppm)	Germination rate (%±SD%)			
		Time (min)			
		0 (Initial)	10	20	30
1차	0	82.7±4.2 a	A 82.0±5.3 a	A 80.7±3.1 a	A 80.0±2.0 a
	3000	82.7±4.2 a	A 76.7±6.1 a	A 76.0±2.0 a	A 76.7±1.2 a
2차	0	91.3±6.4 a	A 92.7±1.2 a	A 89.3±1.2 a	A 92.0±4.0 a
	3000	91.3±6.4 a	A 90.7±5.8 a	A 88.7±4.6 a	A 88.7±2.3 a

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

(나) 박과 종자 (멜론, 수박, 오이, 호박)에 접종된 *A. citrulli*에 대한 고농도의 이산화염소 기체의 살균력

① 85% 상대습도와 50°C 온도에서 이산화염소 기체의 멜론 종자에 접종된 식물병원균에 대한 살균력

- *A. citrulli*가 접종된 멜론 종자를 50°C 온도와 85% 상대습도 조건에서 2,000과 3,000 ppm의 ClO₂ 기체로 2시간까지 처리시 *A. citrulli*의 개체수는 detection limit 미만으로 감소하였지만, 멸균은 확인하지 못하였다.

표 98. 멸균 멜론 종자 (5g)에 *A. citrulli* cocktail suspension (ca. 7.4 log CFU/mL)을 접종하고 상온에서 2시간 건조 (in clean bench)하여, 85% 상대습도 및 50°C 온도조건에서 ClO₂ 기체 (ca. 2,000 or 3,000 ppm)를 1, 2시간 처리 후 Nutrient agar에 48시간 배양한 *A. citrulli*의 개체수

Concentration (ppm)	Population (log CFU/g)		
	Time (min)		
	0(Initial)	60	120
0	6.3±0.4	1.6±0.8	1.5±0.7
2,000	6.3±0.4	<1.0 (3/6)	<1.0 (2/6)
3,000	6.3±0.4	<1.0 (5/8)	<1.0 (1/6)

② 85% 상대습도와 50°C 온도에서 이산화염소 기체의 수박 종자에 접종된 식물병원균에 대한 살균력

- *A. citrulli*가 접종된 수박 종자를 50°C 온도와 85% 상대습도 조건에서 2,000과 3,000 ppm의 ClO₂ 기체로 2 시간 처리시 *A. citrulli*의 개체수는 detection limit 미만으로 감소하였지만, 멸균은 확인하지 못하였다.
- *A. citrulli*가 접종된 수박 종자를 ClO₂ 기체 없이 50°C 온도와 85% 상대습도로 2시간 처리시 (control) *A. citrulli*의 개체수는 detection limit 미만으로 감소하였다.

표 99. 멸균 수박 종자 (5g)에 *A. citrulli* cocktail suspension (ca. 7.4 log CFU/mL)을 접종하고 상온에서 2시간 건조 (in clean bench)하여, 85% 상대습도 및 50°C 온도조건에서 ClO₂ 기체 (ca. 2,000 or 3,000 ppm)를 1, 2시간 처리 후 Nutrient agar에 48시간 배양한 *A. citrulli*의 개체수

Concentration (ppm)	Population (log CFU/g)		
	Time (min)		
	0(Initial)	60	120
0	6.3±0.3	1.4±1.0	<1.0 (2/6)
2,000	6.3±0.3	<1.0 (2/5)	<1.0 (1/5)
3,000	6.3±0.3	<1.0 (1/5)	<1.0 (2/5)

③ 85% 상대습도와 50°C 온도에서 이산화염소 기체의 오이 종자에 접종된 식물병원균에 대한 살균력

- A. citrulli가 접종된 오이 종자를 50°C 온도와 85% 상대습도 조건에서 2,000과 3,000 ppm의 ClO₂ 기체로 2시간까지 처리시 A. citrulli의 개체수는 detection limit 미만으로 감소하였지만, 멸균은 확인하지 못하였다.

표 100. 멸균 오이 종자 (5g)에 A. citrulli cocktail suspension (ca. 7.3 log CFU/mL)을 접종하고 상온에서 2시간 건조 (in clean bench)하여, 85% 상대습도 및 50°C 온도조건에서 ClO₂ 기체 (ca. 2,000 or 3,000 ppm)를 1, 2시간 처리 후 Nutrient agar에 48시간 배양한 A. citrulli의 개체수

Concentration (ppm)	Population (log CFU/g)		
	Time (min)		
	0(Initial)	60	120
0	6.8±0.3	2.1±1.4	1.2±0.5
2,000	6.8±0.3	<1.0 (5/6)	<1.0 (3/6)
3,000	6.8±0.3	<1.0 (4/6)	<1.0 (3/6)

④ 85% 상대습도와 50°C 온도에서 이산화염소 기체의 호박 종자에 접종된 식물병원균에 대한 살균력

- A. citrulli가 접종된 호박 종자를 50°C 온도와 85% 상대습도 조건에서 2,000과 3,000 ppm의 ClO₂ 기체로 2시간까지 처리시 A. citrulli의 개체수는 detection limit 미만으로 감소하였지만, 멸균은 확인하지 못하였다.
- A. citrulli가 접종된 수박 종자를 ClO₂ 기체없이 50°C 온도와 85% 상대습도로 2 시간처리시 (control) A. citrulli의 개체수는 detection limit 미만으로 감소하였다.

표 101. 멸균 호박 종자 (5g)에 A. citrulli cocktail suspension (ca. 7.4 log CFU/mL)을 접종하고 상온에서 2시간 건조 (in clean bench)하여, 85% 상대습도 및 50°C 온도조건에서 ClO₂ 기체 (ca. 2,000 or 3,000 ppm)를 1, 2시간 처리 후 Nutrient agar에 48시간 배양한 A. citrulli의 개체수

Concentration (ppm)	Population (log CFU/g)		
	Time (min)		
	0(Initial)	60	120
0	6.5±0.3	2.8±1.5	<1.0 (5/9)
2,000	6.5±0.3	2.0±1.1	<1.0 (3/8)
3,000	6.5±0.3	2.0±1.2	<1.0 (2/6)

- ⑤ 85% 상대습도와 60°C 온도에서 이산화염소 기체의 멜론 종자에 접종된 식물병원균에 대한 살균력
- A. citrulli가 접종된 멜론 종자를 60°C 온도와 85% 상대습도 조건에서 3,000 ppm의 ClO₂ 기체로 20, 30분 처리시 멸균이 확인하였다.
 - A. citrulli가 접종된 멜론 종자를 60°C 온도와 85% 상대습도 조건에서 ClO₂ 기체 없이 30분 처리했을 때(control)도 멸균되었다.

표 102. 멸균 멜론 종자 (5g)에 A. citrulli cocktail suspension (ca. 7.6 log CFU/mL)을 접종하고 상온에서 2시간 건조 (in clean bench)하여, 85% 상대습도 및 60°C 온도조건에서 ClO₂ 기체 (ca. 3,000 ppm)를 10, 20, and 30 분 처리 후 Nutrient agar에 48시간 배양한 A. citrulli의 개체수

Concentration (ppm)	Population (log CFU/g)			
	Time (min)			
	0(Initial)	10	20	30
0	6.7±0.1	2.3±1.0	<1.0 (2/3)	<1.0 (0/3)
3,000	6.7±0.1	<1.0 (2/3)	<1.0 (0/3)	<1.0 (0/3)

- ⑥ 85% 상대습도와 60°C 온도에서 이산화염소 기체의 수박 종자에 접종된 식물병원균에 대한 살균력
- A. citrulli가 접종된 수박 종자를 60°C 온도와 85% 상대습도 조건에서 3,000 ppm의 ClO₂ 기체로 20, 30분 처리시 멸균이 확인하였다.

표 103. 멸균 수박 종자 (5g)에 A. citrulli cocktail suspension (ca. 7.4 log CFU/mL)을 접종하고 상온에서 2시간 건조 (in clean bench)하여, 85% 상대습도 및 60°C 온도조건에서 ClO₂ 기체 (ca. 3,000 ppm)를 10, 20, and 30 분 처리 후 Nutrient agar에 48시간 배양한 A. citrulli의 개체수

Concentration (ppm)	Population (log CFU/g)			
	Time (min)			
	0(Initial)	10	20	30
0	6.5±0.2	2.0±1.1	<1.0 (5/8)	<1.0 (3/10)
3,000	6.5±0.2	<1.0 (7/8)	<1.0 (0/8)	<1.0 (0/10)

- ⑦ 85% 상대습도와 60°C 온도에서 이산화염소 기체의 오이 종자에 접종된 식물병원균에 대한 살균력
- A. citrulli가 접종된 오이 종자를 60°C 온도와 85% 상대습도 조건에서 3,000 ppm의 ClO₂ 기체로 20분 처리시 멸균은 확인하였다.
 - A. citrulli가 접종된 오이 종자를 60°C 온도와 85% 상대습도 조건에서 ClO₂ 기체 없이 30분 처리했을 때 (control)도 멸균되었다.

표 104. 멸균 오이 종자 (5g)에 *A. citrulli* cocktail suspension (ca. 7.6 log CFU/mL)을 접종하고 상온에서 2시간 건조 (in clean bench)하여, 85% 상대습도 및 60°C 온도조건에서 ClO₂ 기체 (ca. 3,000 ppm)를 10, 20, and 30 분 처리 후 Nutrient agar에 48시간 배양한 *A. citrulli*의 개체수

Concentration (ppm)	Population (log CFU/g)			
	Time (min)			
	0(Initial)	10	20	30
0	6.9±0.1	2.9±1.0	1.1±0.2	<1.0 (0/3)
3,000	6.9±0.1	1.1±0.2	<1.0 (0/3)	<1.0 (0/3)

- ⑧ 85% 상대습도와 60°C 온도에서 이산화염소 기체의 호박 종자에 접종된 식물병원균에 대한 살균력
- *A. citrulli*가 접종된 호박 종자를 60°C 온도와 85% 상대습도 조건에서 3,000 ppm의 ClO₂ 기체로 30분까지 처리시 *A. citrulli*의 개체수는 detection limit 미만으로 감소하였지만 멸균은 확인하지 못하였다.

표 105. 멸균 호박 종자 (5g)에 *A. citrulli* cocktail suspension (ca. 7.4 log CFU/mL)을 접종하고 상온에서 2시간 건조 (in clean bench)하여, 85% 상대습도 및 60°C 온도조건에서 ClO₂ 기체 (ca. 3,000 ppm)를 10, 20, and 30 분 처리 후 Nutrient agar에 48시간 배양한 *A. citrulli*의 개체수

Concentration (ppm)	Population (log CFU/g)			
	Time (min)			
	0(Initial)	10	20	30
0	6.6±0.6	4.3±0.4	<1.0 (3/6)	<1.0 (2/6)
3,000	6.6±0.6	2.0±0.4	<1.0 (3/6)	<1.0 (2/6)

(다) 비 박과종자 (고추, 무, 양배추)의 고농도의 이산화염소 기체에 대한 발아율

- ① 85% 상대습도와 60°C 온도에서 이산화염소 기체에 처리된 비 박과 종자의 1차 발아율
- 고추, 무, 그리고 양배추 종자의 발아율은 종자를 3,000 ppm의 이산화염소 기체와 습열 (85% 상대습도와 60°C)로 120분까지 처리하여도 아무 처리하지 않은 종자의 발아율에 비해 감소하지 않았다.

표 106. 상대습도 85%와 온도 60°C 조건의 1.8 L airtight container에 1 N 염산 (HCl)과 100,000 $\mu\text{g/ml}$ 의 아염소산나트륨 (NaClO₂)을 반응시킨 혼합액을 528 μl 분주하여 발생한 이산화염소 기체를 (peak concentration: ca. 3,000 ppm) 60, 90, 그리고 120 분간 처리 후 변온 incubator에 치상한 고추, 무, 그리고 양배추 종자의 1 차 발아율

종자	처리농도 (ppm)	발아율 (%±SD)			
		처리시간 (min)			
		0	60	90	120
고추	0	A 92.0 ± 2.0 a	A 94.7±5.0 a	A 94.0±4.0 a	A 94.0±2.0 a
	3,000	A 92.0 ± 2.0 a	A 94.0±4.0 a	A 96.0±5.3 a	A 95.3±4.2 a
무	0	A 90.7 ± 5.0 a	A 90.7±3.1 a	A 93.3±2.3 a	A 92.0±2.0 a
	3,000	A 90.7 ± 5.0 a	A 90.7±4.6 a	A 88.0±2.0 a	A 87.3±3.1 a
양배추	0	A 72.0 ± 10.6 a	A 66.0±9.2 a	A 63.3±11.4 a	A 70.0±8.0 a
	3,000	A 72.0 ± 10.6 a	A 64.7±7.6 a	A 61.3±9.5 a	A 59.3±4.2 a

Comparison of the effect of concentration: within the same type of seed, value in the same column that are not followed by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

- ② 85% 상대습도와 60°C 온도에서 이산화염소 기체에 처리된 비 박과 종자의 2차 발아율 - 고추, 무, 그리고 양배추 종자의 발아율은 종자를 3,000 ppm의 이산화염소 기체와 습열 (85% 상대습도와 60°C)로 120분까지 처리하여도 아무 처리하지 않은 종자의 발아율에 비해 감소하지 않았다.

표 107. 상대습도 85%와 온도 60°C 조건의 1.8 L airtight container에 1 N 염산 (HCl)과 100,000 $\mu\text{g/ml}$ 의 아염소산나트륨 (NaClO₂)을 반응시킨 혼합액을 528 μl 분주하여 발생한 이산화염소 기체를 (peak concentration: ca. 3,000 ppm) 60, 90, 그리고 120 분간 처리 후 변온 incubator에 치상한 고추, 무, 그리고 양배추 종자의 2 차 발아율

종자	처리농도 (ppm)	발아율 (%±SD)			
		처리시간 (min)			
		0	60	90	120
고추	0	A 97.3 ± 1.2	A 96.0±2.3 a	A 97.3±2.3 a	A 98.0±3.5 a
	3,000	A 97.3 ± 1.2	A 94.7±4.2 a	A 96.7±1.2 a	A 97.3±1.2 a
무	0	A 93.3 ± 4.6 a	A 94.7±4.2 a	A 96.0±2.0 a	A 95.3±1.2 a
	3,000	A 93.3 ± 4.6 a	A 94.7±2.3 a	A 91.3±3.1 a	A 90.7±4.2 a
양배추	0	A 76.7 ± 8.3 a	A 73.3±7.0 a	A 68.7±4.6 a	A 74.0±9.2 a
	3,000	A 76.7 ± 8.3 a	A 72.0±9.2 a	A 71.3±6.4 a	A 64.7±6.4 a

Comparison of the effect of concentration: within the same type of seed, value in the same column that are not followed by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

- (라) 비 박과종자 (고추, 무, 양배추)에 접종된 Xcc에 대한 고농도의 이산화염소 기체의 살균력
- ① 85% 상대습도와 50°C 온도에서 이산화염소 기체의 고추, 무, 양배추 종자에 접종된 식물병원균에 대한 살균력
- 모든 종자에서 종자에 접종된 Xcc의 개체수는 85% 상대습도와 50°C의 환경조건에서 1,000 ppm의 이산화염소 기체로 2시간까지 처리하였을 때 약 4 log CFU/g 감소하였으나 멸균은 확인하지 못하였다.

표108. 멸균 고추, 무, 그리고 양배추 종자 (5g)에 Xcc cocktail suspension (ca. 6.7 log CFU/mL)을 5분간 접종 및 120분간 건조하고 85% 상대습도와 50°C 온도 조건에서 HCl-NaClO₂ 혼합액 155 μl에서 발생한 이산화염소 기체 (peak concentration: ca.1,000 ppm)에 최대 2시간 처리 후 Nutrient agar에 48시간 배양한 Xcc의 개체수

종자	농도 (ppm)	개체수 (log CFU/g)		
		시간 (h)		
		0 (Initial)	1	2
고추	0	6.3±0.2	5.0±0.4	4.7±0.6
	1000	6.3±0.2	3.5±0.6	2.5±1.4
무	0	6.3±0.1	4.5±0.6	4.0±0.7
	1000	6.3±0.1	3.1±0.5	2.1±1.0
양배추	0	6.3±0.2	4.8±0.4	4.5±0.4
	1000	6.3±0.2	3.0±0.1	2.2±0.4

- ② 85% 상대습도와 60°C 온도에서 이산화염소 기체의 무 종자에 접종된 식물병원균에 대한 살균력
- 고추 그리고 양배추 종자에 접종된 Xcc의 개체수는 종자를 3,000 ppm의 이산화염소 기체와 습열 (85% 상대습도와 60°C)로 30분간 처리하였을 때 detection limit 이하로 내려갔으며 enrichment 후에도 검출되지 않았다.
 - 무 종자에 접종된 Xcc의 개체수는 종자를 3,000 ppm의 이산화염소 기체와 습열 (85% 상대습도와 60°C)로 30분간 처리하였을 때 detection limit 이하로 내려갔으나 enrichment 후에 검출되었다.
 - 무 종자에 접종된 Xcc의 개체수는 종자를 3,000 ppm의 이산화염소 기체와 습열 (85% 상대습도와 60°C)로 60분간 처리하였을 때 detection limit 이하로 내려갔으며 enrichment 후에도 검출되지 않았다.

표109. 멸균 고추, 무, 그리고 양배추 종자 (5 g)에 Xcc cocktail suspension (ca. 6.8 log CFU/mL)을 5분간 접촉 및 120분간 건조하고 85% 상대습도와 60°C 온도 조건에서 HCl-NaClO₂ 혼합액 528 μl에서 발생한 이산화염소 기체 (peak concentration: ca.3,000 ppm)에 최대 60 분 처리 후 Nutrient agar에 48시간 배양한 Xcc의 개체수

종자	농도 (ppm)	개체수 (log CFU/g)		
		시간 (min)		
		0 (Initial)	30	60
고추	0	6.3 ± 0.1	2.8 ± 0.4	<1.0 (1/6)
	3,000	6.3 ± 0.1	<1.0 (0/9)	<1.0 (0/6)
무	0	6.3 ± 0.1	4.5 ± 0.3	2.9 ± 0.5
	3,000	6.3 ± 0.1	<1.0 (3/3)	<1.0 (0/8)
양배추	0	6.4 ± 0.2	4.3 ± 0.2	1.4 ± 0.7
	3,000	6.4 ± 0.2	<1.0 (0/9)	<1.0 (0/6)

다. 종자별 정유기체에 대한 저항성 및 식물병원균에 대한 정유기체의 살균력 확인

(1) 연구 방법

(가) Vapor diffusion assay를 이용한 식물병원균에 대한 정유기체의 항균성 확인

① Nutrient agar 의 준비

- 10 mL의 nutrient agar를 10 mL pipette를 이용하여 petri dish에 분주하여 nutrient agar plate를 준비한다.

② 식물병원균의 접종 준비

- 각각의 strain들을 10 mL의 nutrient broth에 48 시간 간격으로 세 번 계대배양한 후 각 strain 별로 5 mL씩 혼합하여 cocktail 을 제조한다.

③ Vapor diffusion assay

- 10 μL inoculum (ca. 7 log CFU/mL) 을 micropipette (2-20 μL) 을 이용하여 nutrient agar에 분주한 후 spreading 한다.

- Blotting paper를 멸균된 핀셋을 이용하여 petri dish의 lid에 위치시킨 뒤 양면테이프로 붙인다.

- 10 μL essential oil 원액을 micropipette (2-20 μL)을 이용하여 blotting paper 위에 분주한다.

- 하나의 blotting paper 위에는 negative control로 사용하기 위해 증류수 10 μL를 분주한다.

- 균 접종이 완료된 petri dish와 EO 원액이 분주된 lid를 결합하고 parafilm을 이용하여 밀봉한다. 이 때, 모든 작업은 petri dish를 뒤집은 상태에서 진행한다.

- 30°C 에서 48시간 동안 petri dish를 뒤집어서 배양하여 colony의 생성을 관찰한다.

(나) 식물병원균에 대한 살균력을 지닌 정유기체 선별 및 MIC, MLC 측정

① Experimental apparatus 의 준비

- Experimental apparatus (vial type)의 lower well 내부에 핀셋을 이용하여 멸균된 8 mm 지름의 paper disc를 넣고 고압멸균한다.

- Experimental apparatus (vial type)의 upper well을 비커에 담아 고압멸균한다.

② Nutrient agar의 제조 및 분주

- Nutrient agar를 제조하여 고압멸균한 후 water bath를 이용하여 50°C로 유지시킨다.
- Laminar flow biosafety hood 안에서 experimental apparatus의 upper well에 NA 0.35 mL을 분주하고, flow를 high로 설정한 상태에서 30분간 상온 (22±2°C)에서 굳힌다.

③ 식물병원균의 cocktail 제조 및 접종

- 30°C에서 3번 계대배양된 *A. citrulli* 및 *X. campestris* pv. *campestris* 배양액 (ca. 8 log CFU/mL)의 각각의 strain들을 9 mL씩 50 mL conical tube에 담아 vortexing하여 cocktail 을 제조한다.
- Cocktail 용액을 2,002 rcf에서 15 분간 원심 분리한다.
- 원심분리 후 상층액을 10 mL serological pippette을 이용하여 제거한 뒤, 제거한 상층액 만큼 PBS를 분주하여 vortexing한다.
- 2,002 rcf에서 15분간 한번 더 원심 분리한다.
- 원심분리 후 위와 동일한 방법으로 상층액을 제거한 뒤, 제거한 상층액만큼 NB를 분주하여 vortexing한다.
- 9 mL의 NB를 이용하여 1번 십진 희석한다.

④ Essential oil의 희석 및 식물병원균에 대한 MIC 확인

- Laminar flow biosafety hood 안에서 micropipette을 이용하여 10 μL inoculum (ca. 7 log CFU/ml)을 고체화된 NA 위에 접종한 후 flow를 high로 설정하여 30 분간 건조시킨다.
- 희석액으로 사용하는 ethanol을 멸균된 conical tube에 소량 옮겨 담는다.
- Essential oil 원액을 EP tube로 옮긴 후 ethanol을 이용해 순차적으로 2배씩 희석하여 원액 및 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 210, 211배 희석된 희석액을 제조한다.
- Micropipette을 이용하여 essential oil 원액과 희석액들을 낮은 농도 순으로 각 experimental apparatus의 lower well 안의 paper disc에 5 μL씩 분주한다. 일련의 분주 과정 중에는 pipette tip을 교체하지 않는다.
- Experimental apparatus의 head space는 1 mL이며, 처리한 essential oil 원액 및 희석액이 전부 증발했다고 가정하여 처리 농도를 계산한다.
- 건조가 완료된 upper well과 lower well을 빠르게 조립한 후 parafilm으로 밀봉한다.
- 30°C에서 48 시간 동안 배양한 뒤, NA의 색 변화를 관찰하여 색 변화가 일어나지 않는 최소농도를 MIC로 선정한다.

⑤ 식물병원균에 대한 MLC 확인

- 분별해낸(색 변화가 일어나지 않은) NA의 표면을 loop로 훑은 다음 각각의 샘플별로 NA에 streaking한다.
- Streaking된 NA를 30°C에서 48 시간동안 배양하여 colony가 뜨는지 확인하고 colony가 뜨지 않는 가장 낮은 essential oil의 농도를 MLC로 판단한다.

(다) 정유기체에 대한 종자의 발아율 확인

① 정유기체 발생환경 구축

- 1.8 L airtight container 안의 상대습도를 조절하기 위해 saturated potassium carbonate (aw 0.430)과 potassium chloride (aw 0.850) 용액을 각각 150 ml씩 분주한 후 25°C로 설정된 incubator에 24 시간 동안 둔다.

② 정유기체의 처리

- Spoon을 이용해서 culture dish lid 위에 종자를 5 g 정량하여 펼쳐 놓는다.
 - 상대습도 용액을 제외한 container 내의 부피는 1.65 L이므로, 해당 부피를 기준으로 분주할 EO 용액의 양을 계산한다.
 - Culture dish 내부에 blotting paper를 놓은 뒤 그 위에 EO 용액을 일정량 분주한다.
 - EO 용액이 분주된 culture dish 위에 culture dish lid를 넣고 이 위에 5 g씩 정량한 종자를 올려놓은 다음 뚜껑을 닫는다.
- ③ 정유기체 처리 후 발아율 조사
- 정유기체를 1 day 또는 2 day 동안 처리한 후 incubator에서 airtight container를 꺼내 처리된 종자를 핀셋으로 집어 치상한 후 발아율을 조사한다. 위의 과정을 적어도 세 번 이상 반복한다.
- ④ 정유기체를 처리하지 않은 종자의 발아율 조사 (대조군)
- EO 용액을 분주하지 않은 상대습도 43%, 85% container에서 25°C에서 1 day 또는 2 day 동안 처리한 후 incubator에서 airtight container를 꺼내 처리된 종자를 핀셋으로 집어 치상한 후 발아율을 조사한다. 위의 과정을 적어도 세 번 이상 반복한다.
- (라) 종자에 접종한 식물병원균에 대한 정유기체의 살균효과 확인
- ① 식물병원균 준비
- -18°C에 보관된 식물병원균의 각 균주의 stock을 꺼내서 laminar flow biosafety hood에서 15분간 녹인다.
 - Micro-pipette을 이용하여 1 mL를 취한 후 10 mL의 NB가 담긴 test tube에 접종하여 30°C에서 48시간 정지 배양한다.
 - 30°C 에서 48시간씩 3번 계대배양한 후 이를 실험에 사용한다.
- ② 식물병원균의 접종
- ㉠ Cell wash
- 3번 계대배양한 식물병원균 (ca. 9.0 log CFU/mL)의 각 strain solution 10 mL를 각각 50 mL conical tube에 균주 별로 옮겨 담는다.
 - 50 mL conical tube를 centrifuge에 위치시켜 2,002 rcf에서 15분간 원심분리한 후, 상등액을 10 mL pipette을 이용하여 제거한다. 상등액이 제거된 pellet이 담긴 50 mL conical tube에 PBS를 10 mL 분주한 뒤 vortexing을 실시한다.
 - 위와 같은 과정을 2 회 반복한다.
- ㉡ Bacterial cocktail 제조
- Cell wash를 통해 만들어진 식물병원균의 각 균주의 solution을 각각 8 mL 취한 후 500 mL bottle에 분주하여 stirring 한다.
 - 제조된 cocktail (9 log CFU/mL) 40 mL에 360 mL PBS를 분주하여 십진희석한다 (8 log CFU/mL).
- ㉢ 종자시료에 cocktail 접종
- 감마선 처리된 멸균 종자 5 g이 담긴 50 mL conical tube에 식물병원균의 15 mL bacterial cocktail (8 log CFU/mL)을 auto pipet을 이용하여 분주한다.
 - 15 mL의 cocktail과 5 g의 종자시료가 담긴 50 mL conical tube의 뚜껑을 닫고 5 분간 침지한다.
 - 멸균된 sterile sieve를 재배틀 윗 부분에 위치시킨다.

- 5 분간 처리된 5 g의 종자시료와 15 mL의 균액 (bacterial cocktail)을 멸균된 sterile sieve 에 붓고 멸균된 spoon을 이용하여 고르게 펼쳐준 후 2시간 동안 laminar flow bio safety hood에서 건조시킨다.

③ 정유기체의 처리

㉓ 정유기체 발생환경 구축

- 1.8 L airtight container 안의 상대습도를 조절하기 위해 saturated potassium carbonate (aw 0.430)과 potassium chloride (aw 0.850) 용액을 각각 150 mL씩 분주한 후 핀셋을 이용하여 culture dish를 넣는다.
- 25°C 로 설정된 incubator에 24 시간 동안 둔다.

㉔ 정유기체의 발생 및 분주

- Culture dish 위에 10x8 (cm) 크기의 blotting paper를 올려놓는다.
- Blotting paper 위에 정유기체를 필요 농도에 해당하는 만큼 분주한다.
- 멸균된 spoon을 이용하여 culture dish lid 위에 균이 접종된 종자를 펼친다.
- 멸균 핀셋을 이용하여 접종된 종자가 담긴 culture dish lid를 Garlic 정유기체가 분주된 culture dish에 넣은 다음 뚜껑을 닫는다.
- 25°C에서 24 h 또는 48 h 동안 처리한다.
- 처리시간이 끝나면, 핀셋을 이용하여 접종된 종자가 올려진 culture dish lid를 clean bench에 꺼내 둔다.

④ 식물병원균의 개체수 확인

㉓ Pummeling

- Whirl-pak bag을 2 L beaker에 얹어 전자저울에 올린 후 영점을 맞춘다.
- Garlic 정유기체가 처리된 종자 시료 3 g을 멸균된 spoon을 이용하여 whirl-pak bag에 넣어준다.
- 멸균(Autoclaved in 121°C for 15 min)된 30 mL의 NB를 종자 시료가 담긴 whirl-pak bag에 분주한다.
- Whirl-pak bag의 입구를 봉한 후 stomacher (Interscience BagMixer 400W)에서 1 분간 pummeling한다.

㉔ Plating

- Pummeling이 끝난 whirl-pak bag에서 solution을 취한 후, 0.1% peptone water로 serial dilution을 실시하여 NA plate에 direct plating 한다.
- 30 °C에서 48 시간 동안 배양시킨 후 counting을 실시한다.

(2) 연구 결과

(가) Vapor diffusion assay를 이용한 식물병원균에 대한 정유기체의 항균성 확인

① A. citrulli 에 대한 정유기체의 항균성 확인

- Vapor diffusion assay를 이용하여 77종의 EO 중 A. citrulli에 대해 상대적으로 높은 항균력을 보인 8 종의 essential oil을 선별하였다.
- 환의 지름이 높게 측정된 8 종의 essential oil은 크기순으로 cinnamon bark, garlic, marjoram sweet, oregano, cinnamon leaf, may chang, lemon grass, thyme thymol이었다.

표 110. 환의 지름(cm)이 상대적으로 높게 측정된 essential oil 7종

No	Essentail oil	환 지름(cm)
1	Cinnamon bark	5.50 ± 0.12
2	Garlic	5.43 ± 0.99
3	Marjoram sweet	3.93 ± 0.47
4	Oregano	3.38 ± 0.62
5	Cinnamon leaf	3.10 ± 0.90
6	Lemon grass	2.88 ± 0.16
7	May chang	2.97 ± 0.05
8	Thyme thymol	2.75 ± 0.17

② Xcc에 대한 정유기체의 항균성 확인

- Vapor diffusion assay를 이용하여 83종의 EO 중 Xcc에 대해 상대적으로 높은 항균력을 보인 7 종의 essential oil을 선별하였다.
- 환의 지름이 높게 측정된 7 종의 essential oil은 크기순으로 garlic, onion, oregano, lemon grass, cypress, marjoram sweet, cinnamon bark이었다.

표 111. 환의 지름(cm)이 상대적으로 높게 측정된 essential oil 7종

No	Essentail oil	환 지름(cm)
1	Garlic	8.60 ± 0.01
2	Onion	6.73 ± 3.23
3	Oregano	5.93 ± 0.83
4	Lemon grass	4.50 ± 2.75
5	Cypress	4.50 ± 1.11
6	Marjoram Sweet	4.28 ± 0.39
7	Cinnamon bark	4.08 ± 1.32

(나) 식물병원균에 대한 살균력을 지닌 정유기체 선별 및 MIC, MLC 측정

① A. citrulli 에 대한 선별된 정유기체의 MIC 및 MLC 확인

- 선별된 8 종의 EO의 A. citrulli에 대한 MIC를 측정한 결과, garlic < cinnamon bark < lemon grass = oregano = may chang = thyme thymol < cinnamon leaf 순으로 낮게 나타났다.
- 선별된 8 종의 EO의 A. citrulli에 대한 MLC를 측정한 결과, garlic < cinnamon bark = lemon grass = oregano < may chang = thyme thymol < cinnamon leaf 순으로 낮게 나타났다.

표 112. 선별된 EO의 A. citrulli에 대한 MIC 및 MLC

Essential oil	MLC 농도(mL/mL)	MLC 농도(mL/mL)
Garlic	0.004875	0.0195
Cinnamon bark	0.0390	0.0781
Lemon grass	0.0781	0.0781
Oregano	0.0781	0.0781
May chang	0.0781	0.1563
Thyme thymol	0.0781	0.1563
Cinnamon leaf	0.1563	0.3125

② Xcc에 대한 선별된 정유기체의 MIC 및 MLC 확인

- 선별된 7 종의 EO의 Xcc에 대한 MIC를 측정한 결과, garlic = onion < thyme thymol < lemon grass = majoram sweet < oregano = cinnamon bark < cypress 순으로 낮게 나타났다.
- 선별된 7 종의 EO의 Xcc에 대한 MLC를 측정한 결과, garlic = onion < thyme thymol = lemon grass < majoram sweet = oregano < cinnamon bark < cypress 순으로 낮게 나타났다.

표 113. 선별된 EO의 Xcc에 대한 MIC 및 MLC

Essential oil	MIC 농도(mL/mL)	MLC 농도(mL/mL)
Garlic	0.0195	0.1563
Onion	0.0195	0.1563
Thyme thymol	0.0781	0.3126
Lemon grass	0.1563	0.3126
Majoram sweet	0.1563	0.6252
Oregano	0.3126	0.6252
Cinnamon bark	0.3126	1.2504
Cypress	2.5008	>2.5008

(다) 정유기체에 대한 종자의 발아율 확인

① 정유기체 처리에 대한 박과 종자 4종의 발아율 확인

- Garlic 및 cinnamon bark EO를 48 시간 동안 처리시 멜론, 오이, 호박, 수박 종자 모두에서 1, 2 차 발아율이 감소하지 않았다.
- 오이 종자의 경우, EO를 48 시간 동안 처리한 종자가 initial 조건의 종자에 비해 1차 발아율이 유의미하게 높아지는 경우는 있었으나, 감소한 경우는 없었다.
- EO 처리가 종자의 발아율을 감소시키지 않는다는 것이 확인되었으므로, 동일한 처리 조건을 활용하여 박과 종자에 접종된 *A. citrulli*에 대한 EO의 살균효과 확인 실험을 진행할 수 있다.

㉔ 멜론

표 114. 상대습도 43·85%와 온도 25°C 조건의 1.8 L airtight container에 4 MLC의 cinnamon bark (515.8 mL) 및 garlic (257.9 mL) EO를 분주하고 자연기화시켜 발생한 정유기체에 48시간 처리 후 변온 incubator에 치상한 멜론 종자의 1·2차 발아율

	상대습도 (%)	온도 (°C)	EO농도 (mg/L of air)	발아율 (%±SD%)	
				시간 (h)	
				0 (Initial)	48
1차	43	25	0	A 95.3±3.1 a	A 91.3±3.1 a
			CB	A 95.3±3.1 a	A 93.3±1.2 a
			Garlic	A 95.3±3.1 a	A 94.0±2.0 a
	85	25	0	A 95.3±3.1 a	A 89.3±3.1 a
			CB	A 95.3±3.1 a	A 91.3±1.2 a
			Garlic	A 95.3±3.1 a	A 89.3±3.1 a
2차	43	25	0	A 98.7±1.2 a	A 98.7±2.3 a
			CB	A 98.7±1.2 a	A 98.7±1.2 a
			Garlic	A 98.7±1.2 a	A 98.0±2.0 a
	85	25	0	A 98.7±1.2 a	A 97.3±3.1 a
			CB	A 98.7±1.2 a	A 98.0±2.0 a
			Garlic	A 98.7±1.2 a	A 96.7±4.2 a

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

㉔ 오이

표 115. 상대습도 43·85%와 온도 25°C 조건의 1.8 L airtight container에 4 MLC의 cinnamon bark (515.8 mL) 및 garlic (257.9 mL) EO를 분주하고 자연기화 시켜 발생한 정유기체에 48시간 처리 후 변온 incubator에 치상한 오이 종자의 1·2차 발아율

	상대습도 (%)	온도 (°C)	EO 종류 (4 MLC)	발아율 (%±SD%)	
				시간 (h)	
				0 (Initial)	48
1차	43	25	0	A 86.7±3.1 b	A 93.3±4.6 b
			CB	A 86.7±3.1 b	A 94.7±3.1 a
			Garlic	A 86.7±3.1 b	A 95.3±2.3 a
	85	25	0	A 86.7±3.1 b	A 94.7±5.0 b
			CB	A 86.7±3.1 b	A 94.0±4.0 b
			Garlic	A 86.7±3.1 b	A 93.3±3.1 b
2차	43	25	0	A 92.0±2.0 b	A 94.0±5.3 b
			CB	A 92.0±2.0 b	A 96.7±3.1 b
			Garlic	A 92.0±2.0 b	A 95.3±2.3 b
	85	25	0	A 92.0±2.0 b	A 97.3±4.6 b
			CB	A 92.0±2.0 b	A 96.7±4.2 b
			Garlic	A 92.0±2.0 b	A 94.0±3.5 b

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

㉕ 호박

	상대습도 (%)	온도 (°C)	EO 종류 (4 MLC)	발아율 (%±SD%)	
				시간 (h)	
				0 (Initial)	48
1차	43	25	0	A 84.7±3.1 a	A 86.0±4.0 a
			CB	A 84.7±3.1 a	A 81.3±6.1 a
			Garlic	A 84.7±3.1 a	A 84.0±5.3 a
	85	25	0	A 84.7±3.1 a	A 85.3±6.4 a
			CB	A 84.7±3.1 a	A 82.0±3.5 a
			Garlic	A 84.7±3.1 a	A 82.0±5.3 a
2차	43	25	0	A 93.3±2.3 a	A 93.3±1.2 a
			CB	A 93.3±2.3 a	A 90.0±3.5 a
			Garlic	A 93.3±2.3 a	A 93.3±5.0 a
	85	25	0	A 93.3±2.3 a	A 91.3±5.0 a
			CB	A 93.3±2.3 a	A 90.7±2.3 a
			Garlic	A 93.3±2.3 a	A 92.0±3.5 a

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

㉔ 수박

표 117. 상대습도 43·85%와 온도 25°C 조건의 1.8 L airtight container에 4 MLC의 cinnamon bark (515.8 mL) 및 garlic (257.9 mL) EO를 분주하고 자연기화시켜 발생한 정유기체에 48시간 처리 후 변온 incubator에 치상한 수박 종자의 1·2차 발아율

	상대습도 (%)	온도 (°C)	EO 종류 (4 MLC)	발아율 (%±SD%)	
				시간 (h)	
				0 (Initial)	48
1차	43	25	0	A 89.3±3.1 a	A 86.7±1.2 a
			CB	A 89.3±3.1 a	A 87.3±1.2 a
			Garlic	A 89.3±3.1 a	A 84.7±3.1 a
	85	25	0	A 89.3±3.1 a	A 86.7±2.3 a
			CB	A 89.3±3.1 a	A 87.3±2.3 a
			Garlic	A 89.3±3.1 a	A 89.3±1.2 a
2차	43	25	0	A 98.7±1.2 a	A 99.3±1.2 a
			CB	A 98.7±1.2 a	A 97.3±1.2 a
			Garlic	A 98.7±1.2 a	A 97.3±2.3 a
	85	25	0	A 98.7±1.2 a	A 99.3±1.2 a
			CB	A 98.7±1.2 a	A 96.0±2.0 a
			Garlic	A 98.7±1.2 a	A 97.3±3.1 a

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

㉕ 정유기체 처리에 대한 비박과 종자 3종의 발아율 확인

- Garlic 및 onion EO를 48 시간 동안 처리시 무, 양배추, 고추 종자 모두에서 1, 2 차 발아율이 감소하지 않았다.
- 양배추 종자의 경우, EO를 48 시간 동안 처리한 종자가 initial 조건의 종자에 비해 1차 발아율이 유의미하게 높아지는 경우는 있었으나, 감소한 경우는 없었다.
- EO 처리가 종자의 발아율을 감소시키지 않는다는 것이 확인되었으므로, 동일한 처리조건을 활용하여 비박과 종자에 접종된 Xcc에 대한 EO의 살균효과 확인 실험을 진행할 수 있다.

㉗ 무

표 118. 상대습도 43·85%와 온도 25°C 조건의 1.8 L airtight container에 1 MLC의 onion (257.9 mL) 및 garlic (257.9 mL) EO를 분주하고 자연기화시켜 발생한 정유기체에 48시간 처리 후 변온 incubator에 치상한 무 종자의 1·2차 발아율

	상대습도 (%)	온도 (°C)	EO 종류 (1 MLC)	발아율 (%±SD%)	
				시간 (h)	
				0 (Initial)	48
1차	43	25	0	A 92.7±4.2 a	A 90.7±3.1 a
			Onion	A 92.7±4.2 a	A 94.0±3.5 a
			Garlic	A 92.7±4.2 a	A 94.0±2.0 a
	85	25	0	A 92.7±4.2 a	A 89.3±5.8 a
			Onion	A 92.7±4.2 a	A 90.0±2.0 a
			Garlic	A 92.7±4.2 a	A 92.7±4.2 a
2차	43	25	0	A 95.3±3.1 a	A 93.3±1.2 a
			Onion	A 95.3±3.1 a	A 95.3±1.2 a
			Garlic	A 95.3±3.1 a	A 96.0±2.0 a
	85	25	0	A 95.3±3.1 a	A 94.0±2.0 a
			Onion	A 95.3±3.1 a	A 92.7±1.2 a
			Garlic	A 95.3±3.1 a	A 94.0±4.0 a

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

㉘ 양배추

표 119. 상대습도 43·85%와 온도 25°C 조건의 1.8 L airtight container에 1 MLC의 onion (257.9 mL) 및 garlic (257.9 mL) EO를 분주하고 자연기화시켜 발생한 정유기체에 48시간 처리 후 변온 incubator에 치상한 양배추 종자의 1·2차 발아율

	상대습도 (%)	온도 (°C)	EO 종류 (1 MLC)	발아율 (%±SD%)	
				시간 (h)	
				0 (Initial)	48
1차	43	25	0	A 63.3±4.2 b	A 74.0±3.5 a
			Onion	A 63.3±4.2 a	A 72.0±8.7 a
			Garlic	A 63.3±4.2 b	A 74.0±3.5 a
	85	25	0	A 63.3±4.2 a	A 66.0±8.7 a
			Onion	A 63.3±4.2 b	A 72.7±2.3 a
			Garlic	A 63.3±4.2 b	A 78.0±5.3 a
2차	43	25	0	A 74.0±6.0 a	A 82.0±4.0 a
			Onion	A 74.0±6.0 a	A 83.3±5.0 a
			Garlic	A 74.0±6.0 a	A 81.3±1.2 a
	85	25	0	A 74.0±6.0 a	A 84.0±6.9 a
			Onion	A 74.0±6.0 a	A 84.7±5.8 a
			Garlic	A 74.0±6.0 a	A 82.0±4.0 a

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

㉔ 고추

표 120. 상대습도 43·85%와 온도 25°C 조건의 1.8 L airtight container에 1 MLC의 onion (257.9 mL) 및 garlic (257.9 mL) EO를 분주하고 자연기화시켜 발생한 정유기체에 48시간 처리 후 변온 incubator에 치상한 고추 종자의 1·2차 발아율

	상대습도 (%)	온도 (°C)	EO 종류 (1 MLC)	발아율 (%±SD%)	
				시간 (h)	
				0 (Initial)	48
1차	43	25	0	A 89.3±8.1 a	A 86.7±6.1 a
			Onion	A 89.3±8.1 a	A 86.7±5.0 a
			Garlic	A 89.3±8.1 a	A 90.7±2.3 a
	85	25	0	A 89.3±8.1 a	A 91.3±1.2 a
			Onion	A 89.3±8.1 a	A 90.0±8.7 a
			Garlic	A 89.3±8.1 a	A 88.7±3.1 a
2차	43	25	0	A 92.7±4.2 a	A 94.7±4.2 a
			Onion	A 92.7±4.2 a	A 97.3±2.3 a
			Garlic	A 92.7±4.2 a	A 94.7±1.2 a
	85	25	0	A 92.7±4.2 a	A 98.0±2.0 a
			Onion	A 92.7±4.2 a	A 95.3±3.1 a
			Garlic	A 92.7±4.2 a	A 98.7±1.2 a

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

(라) 종자에 접종한 식물병원균에 대한 정유기체의 살균효과 확인

① 4종의 박과 종자에 접종된 *A. citrulli* 에 대한 정유기체의 살균효과 확인

- 48시간 처리시 모든 종자에서 *A. citrulli*의 개체수가 ca. 1~2 log CFU/g 정도 감소하는 것을 확인하였다.
- 멜론 종자의 경우, 43%, 85% RH 조건에서 최대로 각각 1.1 log CFU/g, 1.0 log CFU/g 정도의 개체수 감소를 보였다.
- 오이 종자의 경우, 43%, 85% RH 조건에서 최대로 각각 1.4 log CFU/g, 2.6 log CFU/g 정도의 개체수 감소를 보였다.
- 호박 종자의 경우, 43%, 85% RH 조건에서 최대로 각각 2.1 log CFU/g, 2.6 log CFU/g 정도의 개체수 감소를 보였다.
- 수박 종자의 경우, 43% RH 조건에서 최대로 1.0 log CFU/g 정도의 개체수 감소를 보였으며 85% RH 조건에서는 개체수가 감소하지 않았다.
- 모든 종자에서 멸균은 확인하지 못했다.

㉗ 멜론

표 121. 평균 멜론 종자 (5g)에 *A. citrulli* cocktail suspension (ca. 8 log CFU/g)을 5분간 접종 및 120분간 건조하고 43·85% 상대습도와 25°C 온도 조건에서 4 MLC의 cinnamon bark (515.8 mL) 및 garlic (257.9 mL) EO를 자연기화 시켜 발생한 EO를 48시간 처리 후 nutrient agar에 48시간 배양한 *A. citrulli*의 개체수

상대습도 (%)	온도 (°C)	EO 종류 (4 MLC)	개체수 (log CFU/g)	
			시간 (h)	
			0 (Initial)	48
43	25	0	A 6.8±0.1 a	A 4.1±0.3 b
		CB	A 6.8±0.1 a	B 3.1±0.4 b
		Garlic	A 6.8±0.1 a	B 3.0±0.2 b
85	25	0	A 6.8±0.1 a	A 4.2±0.2 b
		CB	A 6.8±0.1 a	B 3.4±0.3 b
		Garlic	A 6.8±0.1 a	B 3.2±0.2 b

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

㉘ 오이

표 122. 평균 오이 종자 (5g)에 *A. citrulli* cocktail suspension (ca. 8 log CFU/g)을 5분간 접종 및 120분간 건조하고 43·85% RH와 25°C 조건에서 4 MLC의 cinnamon bark (515.8 mL) 및 garlic (257.9 mL) EO를 자연기화 시켜 발생한 EO를 48시간 처리 후 nutrient agar에 48시간 배양한 *A. citrulli*의 개체수

상대습도 (%)	온도 (°C)	EO 종류 (4 MLC)	개체수 (log CFU/g)	
			시간 (h)	
			0 (Initial)	48
43	25	0	A 5.7±0.2 a	A 3.6±0.4 b
		CB	A 5.7±0.2 a	B 2.5±0.5 b
		Garlic	A 5.7±0.2 a	B 2.2±0.3 b
85	25	0	A 5.7±0.2 a	A 4.6±0.1 b
		CB	A 5.7±0.2 a	B 3.1±0.3 b
		Garlic	A 5.7±0.2 a	C 2.0±0.2 b

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

㉔ 호박

표 123. 멸균 호박 종자 (5g)에 *A. citrulli* cocktail suspension (ca. 8 log CFU/g)을 5분간 접종 및 120분간 건조하고 43·85% RH와 25°C 조건에서 4 MLC의 cinnamon bark (515.8 mL) 및 garlic (257.9 mL) EO를 자연기화 시켜 발생한 EO를 48시간 처리 후 nutrient agar에 48시간 배양한 *A. citrulli*의 개체수

상대습도 (%)	온도 (°C)	EO 종류 (4 MLC)	개체수 (log CFU/g)	
			시간 (h)	
			0 (Initial)	48
43	25	0	A 7.0±0.1 a	A 6.3±0.1 b
		CB	A 7.0±0.1 a	B 4.3±0.1 b
		Garlic	A 7.0±0.1 a	B 4.2±0.2 b
85	25	0	A 7.0±0.1 a	A 7.0±0.1 a
		CB	A 7.0±0.1 a	B 5.5±0.1 b
		Garlic	A 7.0±0.1 a	C 4.4±0.1 b

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

㉕ 수박

표 124. 멸균 수박 종자 (5g)에 *A. citrulli* cocktail suspension (ca. 8 log CFU/g)을 5분간 접종 및 120분간 건조하고 43·85% RH와 25°C 조건에서 4 MLC의 cinnamon bark (515.8 mL) 및 garlic (257.9 mL) EO를 자연기화 시켜 발생한 EO를 48시간 처리 후 nutrient agar에 48시간 배양한 *A. citrulli*의 개체수

상대습도 (%)	온도 (°C)	EO 종류 (4 MLC)	개체수 (log CFU/g)	
			시간 (h)	
			0 (Initial)	48
43	25	0	A 6.5±0.2 a	A 3.4±0.3 b
		CB	A 6.5±0.2 a	AB 3.1±0.2 b
		Garlic	A 6.5±0.2 a	B 2.4±0.4 b
85	25	0	A 6.5±0.2 a	A 1.1±0.2 b
		CB	A 6.5±0.2 a	A 1.3±0.6 b
		Garlic	A 6.5±0.2 a	A 1.4±0.6 b

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

② 3종의 비박과 종자에 접종된 Xcc 에 대한 정유기체의 살균효과 확인

- 48시간 처리시 모든 종자에서 Xcc의 개체수가 ca. 0.7~2.7 log CFU/g 정도 감소하는 것을 확인하였다.
- 무 종자의 경우, 43% 및 85% RH 조건에서 최대로 각각 2.5 log CFU/g, 1.8 log CFU/g 정도의 개체수 감소를 보였다.
- 양배추 종자의 경우, 43% 및 85% RH 조건에서 최대로 각각 2.1 log CFU/g, 1.6 log CFU/g 정도의 개체수 감소를 보였다.
- 고추 종자의 경우, 43% 및 85% RH 조건에서 최대로 각각 1.8 log CFU/g, 2.7 log CFU/g 정도의 개체수 감소를 보였다.
- 모든 종자에서 평균은 확인하지 못했다.

㉞ 무

표 125. 멸균 무 종자 (5g)에 Xcc cocktail suspension (ca. 7 log CFU/g)을 5분간 접종 및 120 분간 건조하고 43·85% 상대습도와 25℃ 온도 조건에서 1 MLC의 onion (257.9 mL) 및 garlic (257.9 mL) EO를 자연기화 시켜 발생한 EO를 48시간 처리 후 nutrient agar에 48시간 배양한 Xcc의 개체수

상대습도 (%)	온도 (°C)	EO 종류 (1 MLC)	개체수 (log CFU/g)	
			0 (Initial)	48
43	25	0	A 6.4±0.2 a	A 4.2±0.2 b
		Onion	A 6.4±0.2 a	AB 4.1±0.1 b
		Garlic	A 6.4±0.2 a	B 3.9±0.1 b
85	25	0	A 6.4±0.2 a	A 4.6±0.1 b
		Onion	A 6.4±0.2 a	B 4.2±0.1 b
		Garlic	A 6.4±0.2 a	B 4.1±0.2 b

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

㉔ 양배추

표 126. 멸균 양배추 종자 (5g)에 Xcc cocktail suspension (ca. 7 log CFU/g)을 5분간 접종 및 120분간 건조하고 43·85% 상대습도와 25°C 온도 조건에서 1 MLC의 onion (257.9 mL) 및 garlic (257.9 mL) EO를 자연기화 시켜 발생한 EO를 48시간 처리 후 nutrient agar에 48시간 배양한 Xcc의 개체수

상대습도 (%)	온도 (°C)	EO 종류 (1 MLC)	개체수 (log CFU/g)	
			시간 (h)	
			0 (Initial)	48
43	25	0	A 6.5±0.1 a	A 5.0±0.1 b
		Onion	A 6.5±0.1 a	A 5.0±0.1 b
		Garlic	A 6.5±0.1 a	B 4.4±0.1 b
85	25	0	A 6.5±0.1 a	A 5.2±0.2 b
		Onion	A 6.5±0.1 a	A 4.9±0.3 b
		Garlic	A 6.5±0.1 a	A 5.1±0.1 b

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

㉕ 고추

표 127. 멸균 고추 종자 (5g)에 Xcc cocktail suspension (ca. 7 log CFU/g)을 5분간 접종 및 120분간 건조하고 43·85% 상대습도와 25°C 온도 조건에서 1 MLC의 onion (257.9 mL) 및 garlic (257.9 mL) EO를 자연기화 시켜 발생한 EO를 48시간 처리 후 nutrient agar에 48시간 배양한 Xcc의 개체수

상대습도 (%)	온도 (°C)	EO 종류 (1 MLC)	개체수 (log CFU/g)	
			시간 (h)	
			0 (Initial)	48
43	25	0	A 6.5±0.1 a	A 5.2±0.1 b
		Onion	A 6.5±0.1 a	B 4.7±0.1 b
		Garlic	A 6.5±0.1 a	B 4.7±0.2 b
85	25	0	A 6.5±0.1 a	A 5.6±0.1 b
		Onion	A 6.5±0.1 a	B 5.0±0.1 b
		Garlic	A 6.5±0.1 a	C 3.8±0.1 b

Comparison of the effect of concentration: value in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$). Comparison of the effect of treatment time: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

2. 길항미생물 대사체를 이용한 종자살균 연구 [항균성 물질의 유효성분 분석 및 종자처리용 부제 개발]

가. 제제의 항균스펙트럼, 활성 및 지속력 최대 조합의 in vivo 검증

(1) 연구 방법

(가) 선발된 길항미생물의 유효성분 분석

- 대치배양으로 선발된 길항미생물 두 종류의 균주 (KPP02113과 KPP03845)를 tryptic soy broth 1L에 각각 접종한 후 28°C 에서 3일간 배양한다.
- 유기용매추출 가능한 유효성분을 생성하는 KPP02113균주는 유기용매 추출 후, Diaion HP20, ODS reverse phase flash column chromatography를 거쳐, HPLC를 통해 순화하였다.
- KPP03845균주의 배양액은 원심분리 (8000rpm, 30min) 후 얻은 상등액을 Dianion HP20, HiTrap Q SP anion exchange 크로마토그래피를 통해 순화하였다.
- 각각의 순화된 분획을 paper disk bioassay (병원균 *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*) 통해 병원균에 대한 항균활성을 확인한다.

(2) 연구 결과

(가) 선발된 길항미생물의 유효성분 분석

- 길항 미생물 KPP02113균주가 생성하는 저분자 물질은 순화된 물질의 NMR, MS spectrometry 등의 분광화학적 분석을 통해 lucensomycin으로 확인되었다(그림 24).

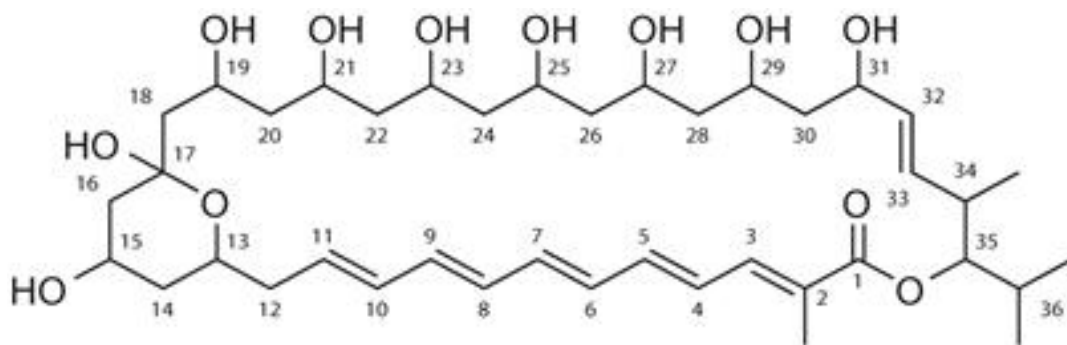


그림 24. 동정된 항균활성 물질 lucensomycin의 구조

- 길항미생물 KPP03845의 배양여액을 Dianion HP20, HiTrap Q SP anion exchange 크로마토그래피를 통해 얻은 순화된 물질은 분자량 899.6과 771.5두가지 저분자 펩타이드의 혼합물 혹은 화합물일 것으로 추정되어, 펩타이드 계열의 항균활성물질임이 확인되었다. 아래 그림은 활성분획의 ESI 질량분석 결과이다(그림 25).
- 항균활성 저분자펩타이드 물질의 순화단계별 활성분획으로 병원균 *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*에 대해 항균활성 검정한 결과, HP20 (20,40,60% methanol), SP(800mM,1M NaCl) 활성분획을 관찰하였다(그림 26).

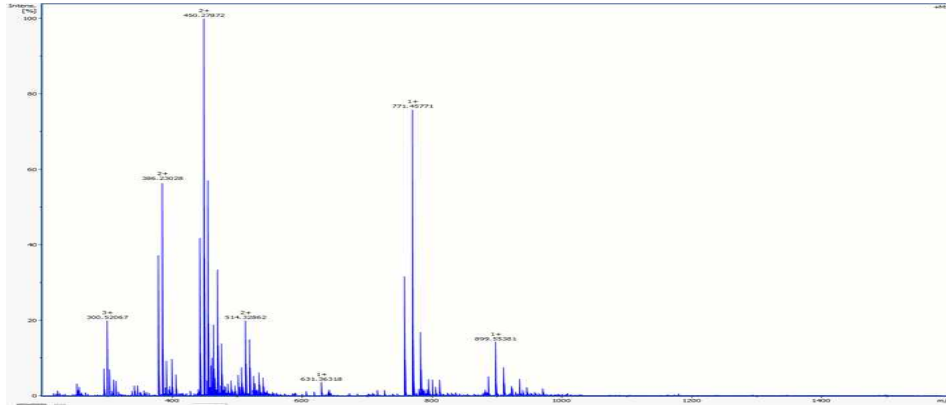


그림 25. KPP03845 가 생산하는 저분자성 펩타이드의 ESI-MS 분석

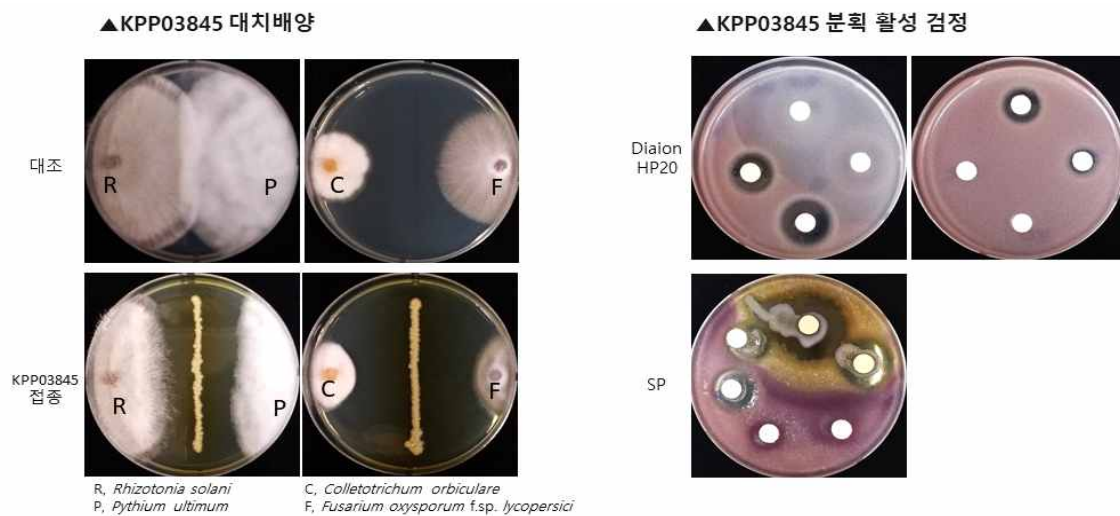


그림 26. PP03845의 항균활성 및 활성분획 검정

나. 검정종자병원균에 대한 탁월한 효능을 입증한 상용화 후보물질 제제화 및 효과 검정

(1) 연구 방법

(가) 상용화 후보물질의 코팅된 무, 오이 종자의 활력 및 유묘기 효과 검정

- 종자활력은 발아율과 shoot 길이로 검정한다.
- 포트 당 무처리, 길항미생물 KPP03845 배양액 Diaion, SP 이온교환 크로마토그래피 활성 분획으로 코팅된 오이, 무종자를 10립씩 과중하여 처리 5일 후 관찰한다.

(2) 연구 결과

(가) 상용화 후보물질의 코팅된 무, 오이 종자의 활력 및 유묘기 효과 검정

- 무처리 대비 KPP03845 HP 20 활성분획 코팅된 무종자의 shoot 발달이 유의적 감소가 관찰되었다.
- 무처리 대비 KPP03845 추출물로 코팅된 오이종자의 전체적인 shoot발달이 차이가 없었다.

표 128. 무처리/미생물 배양액 코팅된 무, 오이 종자의 발아율, shoot, root 길이

Seed treatment	Seed germination (%)		Shoot length (cm)	
	무	오이	무	오이
무처리	66.7	100.0	10.5±0.4 a	10.7±0.0 a
Blue (코팅제)	83.3	83.3	9.9±0.2 ab	10.5±1.2 a
KPP03845 HP 20 fraction	83.3	83.3	9.4±0.3 b	11.9±0.0 a
KPP03845 SP fraction	100.0	100.0	10.3±0.8 ab	11.5±0.3 a
Thiram	66.7	100.0	10.2±0.4 ab	11.3±0.9 a
SUN	100.0	83.3	10.3±0.3 ab	10.8±0.6 a

Comparison of the effect of seed treatment: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

다. 혼합제제 처리 시 종자 발아율, 감염률 등의 영향 확인 및 부제와의 상호작용 분석

(1) 연구 방법

(가) 상용화 후보물질의 코팅된 종자의 발아율과 감염률 검정

- 멸균토양에 *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* 포자현탁액 107/ml 접종 후 7일간 25°C 에서 배양하여 *Fusarium*- infested soil을 만든다.
- 포트 당 *Fusarium*- infested soil을 100ml 씩 담고 각 길항미생물 KPP03845 배양액 HP20, SP 이온교환 크로마토그래피 활성 분획으로 코팅된 오이, 무종자를 파종한다.
- 각 처리당 10 립 씩 3 반복으로 시행하며, 처리 5일 후 관찰한다.

(2) 연구 결과

(가) 상용화 후보물질의 코팅된 종자의 발아율과 감염률 검정

- *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* 접종 토양에서 코팅된 무 종자에서 처리간 유의한 차이가 관찰되지 않았다.
- *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* 접종 토양에서 무처리, 코팅제 처리 대비 KPP03845 HP20 활성분획이 코팅된 오이 종자에서 높은 발아율이 확인되었으며, SP컬럼 활성분획이 코팅된 오이 종자에서 낮은 발아율이 관찰되었다.

표 129. *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*- infested soil에서 무처리/ KPP03845 배양액 코팅된 무, 오이 종자의 발아율

Seed treatment	발아율 (%)	
	무	오이
무처리	58.3±25.0 a	25.0±8.3 ab
Blue (코팅제)	75.0±8.3 a	41.7±8.3 ab
KPP03845 HP 20 fraction	91.7±8.3 a	75.0±25.0 a
KPP03845 SP fraction	41.7±41.7 a	16.7±16.7 b
Thiram	58.3±8.3 a	25.0±25.0 ab
SUN	66.7±33.3 a	50.0±0.0 ab

Comparison of the effect of seed treatment: value in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ($P \leq 0.05$).

[제1위탁 : 고품질 필름코팅 및 펠렛코팅 원료 개발 및 국산화]

1. 종자용 필름 코팅제 원료 개발

가. 필름 코팅제의 분석

1) A사 필름코팅제

- 기존에 종자 회사에서 사용되고 있는 필름 코팅제의 구성성분 및 물성 평가를 위하여 기기를 이용하여 정밀 분석을 실시하였다.

가) 점착제의 분석

- 필름 코팅제에 사용되는 점착제의 종류와 성분을 알아보기 위하여 코팅제 전체의 성분 중에서 점착제만을 분리하기 위하여 원심분리기를 이용하여 하층에 가라앉아 있는 안료 성분을 제거하고, 상층에 남아 있는 점착제와 용제를 따로 분리하여 용제는 온도를 가하여 제거 하고 점착제의 성분만 Infra-Red spectrometer를 사용하여 spectrum를 얻어 해석하였다.

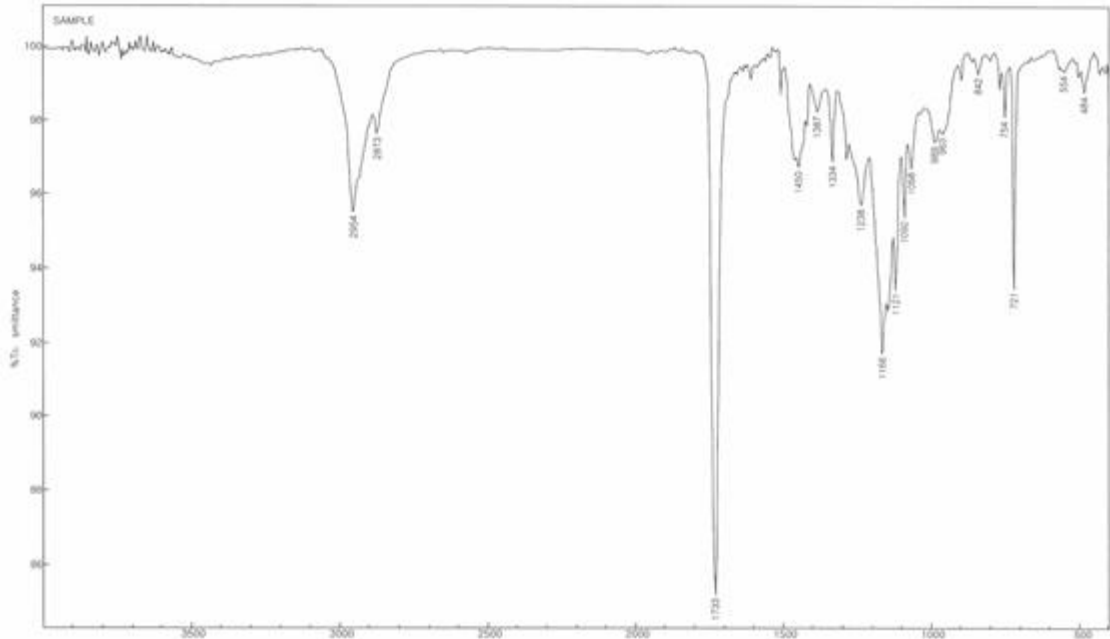


그림 1. A사 점착제의 Infra-red Spectrum

- 그림 1.에서 1730cm-1 carbonyl peak와 1100cm-1의 -C-O-C- bond의 특징적인 peak로 인하여 acrylic emulsion type의 점착제를 사용하였음을 알 수 있었다. 이후 acrylic 점착제에 사용된 아크릴 모노머의 비율을 확인하고자 pyro-GC-Mass를 사용하여 모노머의 비율을 측정하였다.

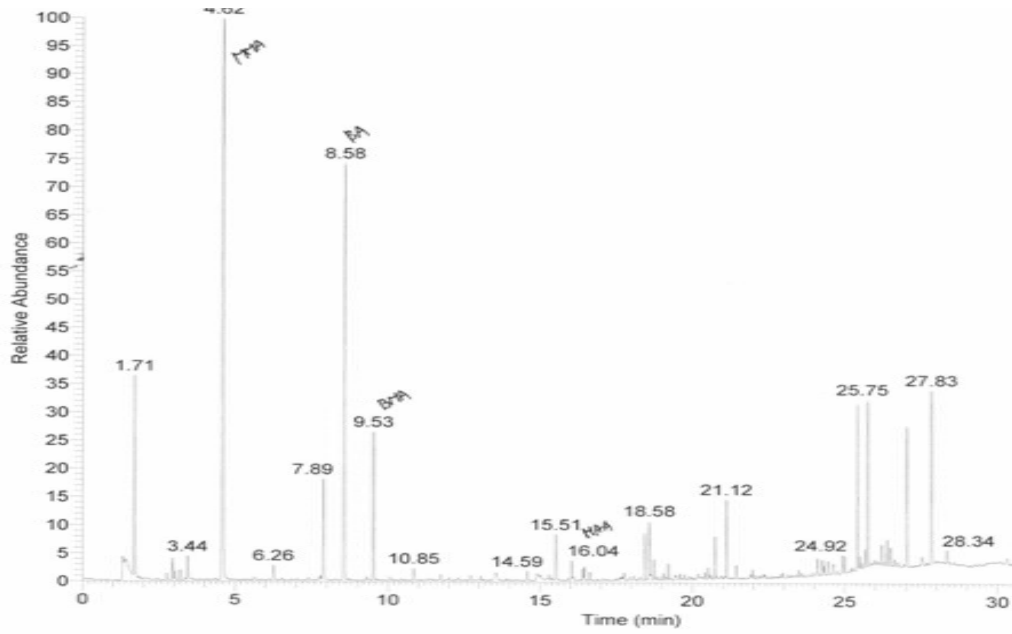


그림 2 A사 점착제에 대한 Pyro-GC-Mass Spectrum

- Mass spectrum으로 점착제의 모노머 함량을 정량 분석한 결과 methyl methacrylate 43%, butyl acrylate 52%, butyl methacrylate 5%이었다. 또한 DSC를 이용하여 유리전이 온도를 측정 한 결과 10~20°C의 유리 전이 온도를 가진 acrylic emulsion인 것을 알 수 있었다.

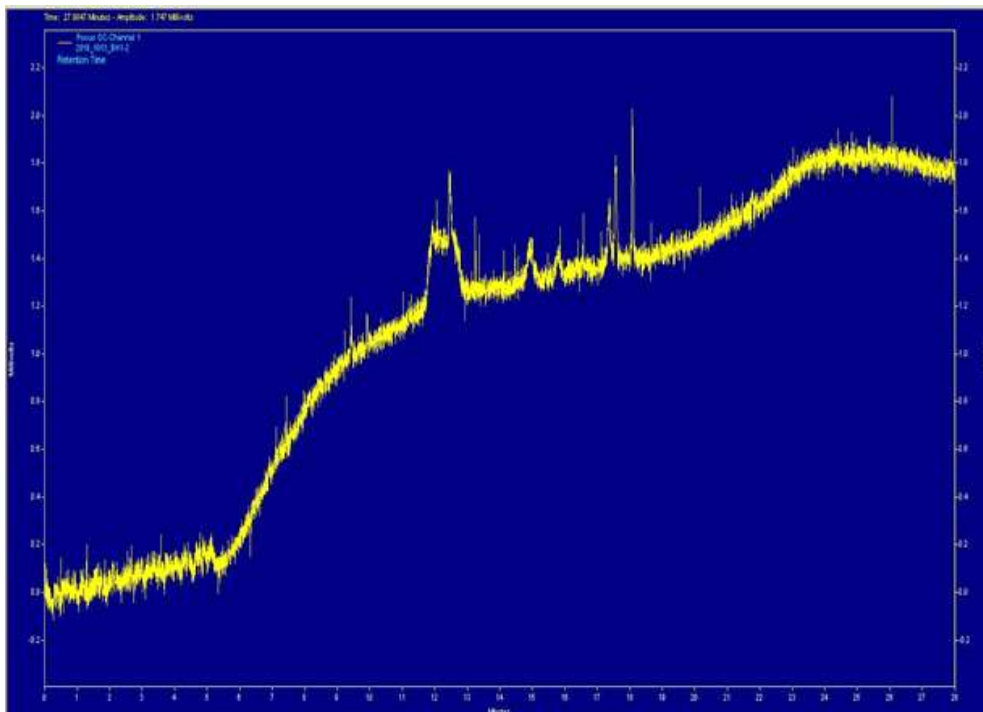


그림 3. A사 필름 코팅제의 Gas chromatogram

나) 용제의 종류 및 함량 분석

- 용제의 종류와 함량의 정성 분석을 위하여 Gas Chromatograph(GC)를 이용하였다.
- 샘플의 상태가 완벽한 용제의 타입이 아니여서 Head space 전처리 장비를 이용하여 Gas chromatograph 장비에 주입하였다. head space의 온도는 약 150°C로 셋팅 하여 휘발점이 150°C 이하인 유기물은 전부 검출이 되도록 측정하였다.
- 그림 3. 에 A사 필름 코팅액의 Gas chromatogram을 수록하였다. GC data에서 볼 수 있듯이 일반적인 유기 용제는 검출되지 않았으며 수분함량 측정기를 이용하여 수분을 측정한 결과 약 67%의 수분을 함유하고 있음을 알 수 있었다. 즉 용매는 물만 사용하였으며, 유기용매는 전혀 사용하지 않았음을 알 수 있었다.

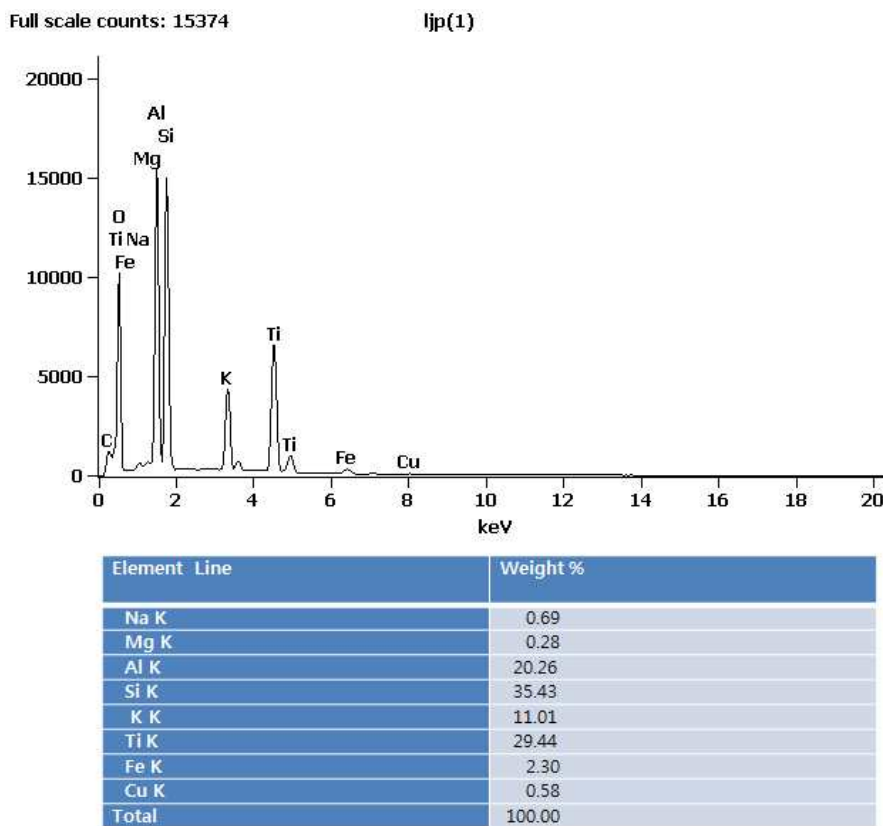


그림 4. A사 무기 체질안료의 EDS spectrum

다) 무기 체질 안료분석

- 필름코팅제의 무기 체질을 분석하기 위하여 전처리를 통하여 유기물을 제거하여야 한다.
- 유기물을 제거하기 위하여 코팅제 수 그램을 600°C에서 태운 후 남아 있는 무기물을 취하여 분석을 실시하였다. 무기물 분석의 정성 분석을 위하여 EDS (Energy dispersive spectroscopy)를 이용하였고, 무기물 형태를 관찰하기 위하여 SEM(Scanning emission microscope:전자현미경)을 이용하였다.
- EDS spectrum에서 볼 수 있듯이 체질의 주성분은 Si, Al, Ti인 것을 알 수가 있었으며

SEM image를 통하여 대략 20~50 μm 의 판상형 구조를 가지는 무기물인 것을 알 수 있었다. 이 판상의 형태로 인하여 코팅제의 성상이 반짝 거리는 필의 형상을 가지게 됨을 유추 할 수 있었다.

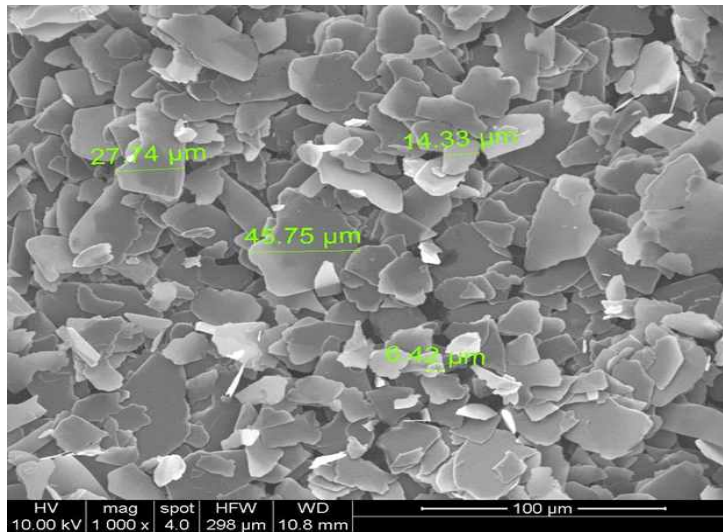


그림 5. A사 필름 코팅액의 무기 체질안료 SEM Image

2) B사 필름코팅제

가) 점착제의 분석

- A가 필름 코팅제를 분석한 방법과 같이 원심분리기를 이용하여 점착제만을 분리하여 Infra-Red spectrometer를 사용하여 spectrum를 얻었다.
- spectrum에서 1739 cm^{-1} 의 carbonyl peak과 1230 cm^{-1} 특징적인 강한 peak로 보아 B사에서 사용하는 점착제는 ethylene-vinyl acetate copolymer(EVA) emulsion을 사용하였다는 것을 알 수 있다.

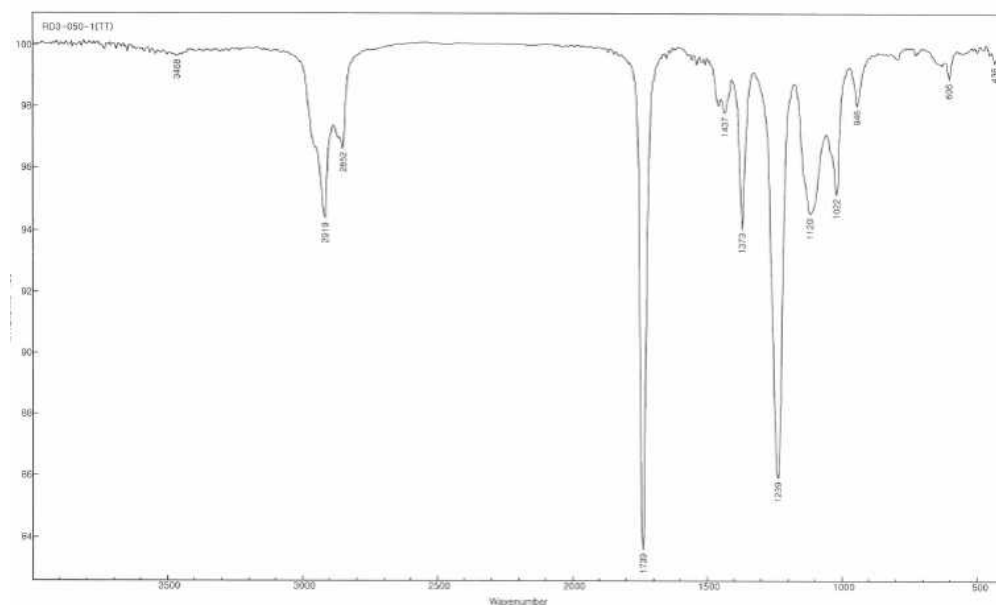


그림 6. B사 점착제의 Infra-red spectrum

나) 용제의 종류 및 함량 분석

- B사의 필름코팅제도 Head space-Gas chromatograph를 사용하여 유기화합물의 검출을 시도하였으나 휘발성 유기화합물은 검출되지 않았고, 수분측정을 통하여 필름코팅제에 약 65%의 물을 함유하고 있음을 알 수 있었다.

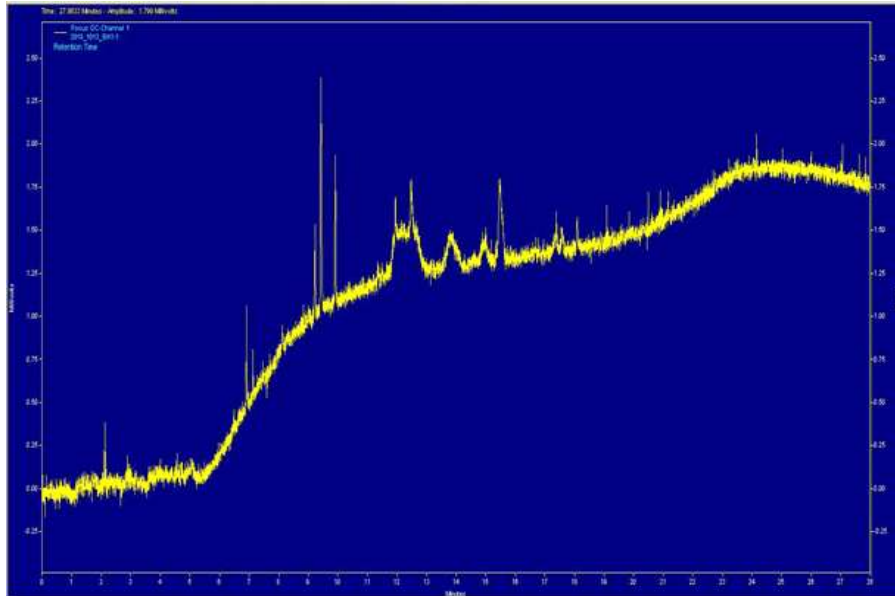


그림 7. B사 점착제의 Gas chromatogram

다) 무기 체질 안료분석

- 무기체질 안료 분석을 위하여 코팅제를 600°C에서 완전히 연소시킨 후 잔량인 무기성분을 SEM과 EDS를 이용하여 분석하였다. 무기성분은 A사 코팅제와 다른 점을 찾지 못하였다.

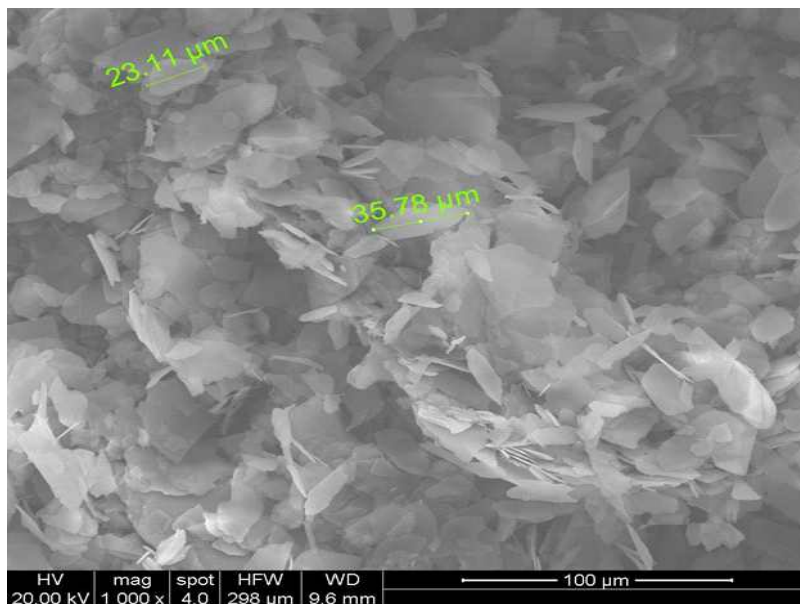
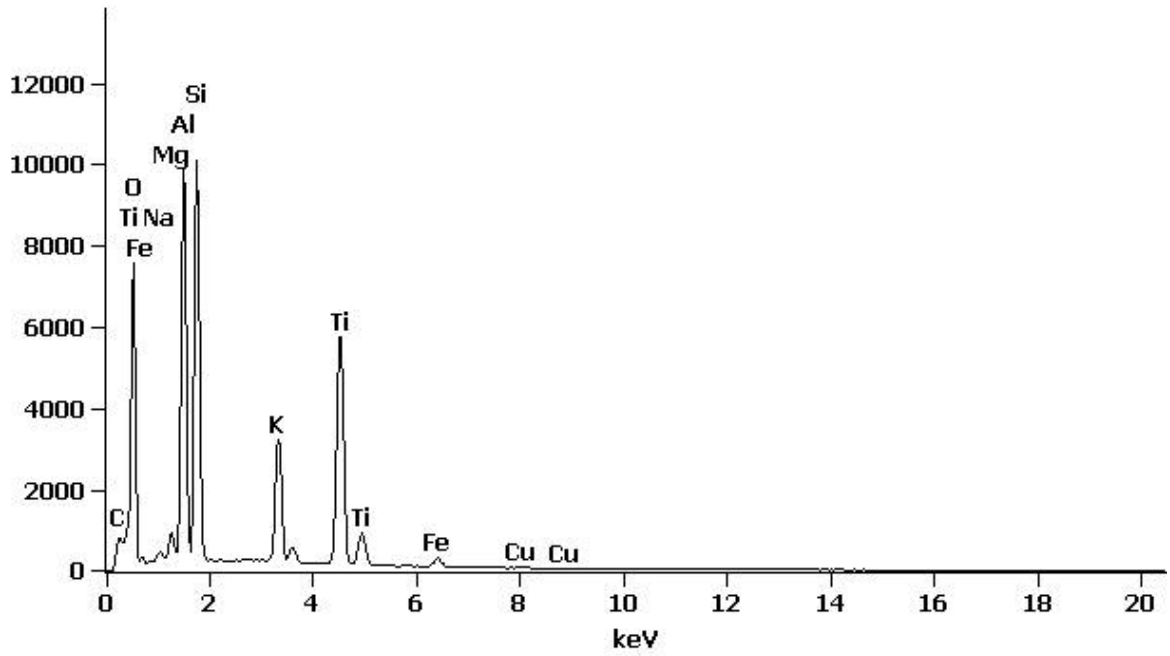


그림 8. B사 필름 코팅액의 무기 체질안료 SEM Image

Full scale counts: 10088

0905(2)



Element Line	Weight %
Na K	0.76
Mg K	1.23
Al K	18.33
Si K	31.83
K K	10.85
Ti K	34.14
Fe K	2.05
Cu K	0.81
Total	100.00

그림 9. B사 무기 체질안료의 EDS spectrum

- 3) A사와 B사의 종자 필름 코팅제의 분석결과
 - A사와 B사의 종자 필름 코팅제의 분석결과는 아래의 표와 같다.

표 1. 종자 필름 코팅제 분석결과 표

	A사	함량(%)	
점착제	Acrylic emulsion (MMA,BA)	13%	
Solvent(%)	Water	67%	
Pigment(%)	Ti	37	20%
	Si	30	
	Al	17	
	K	8	
	Cu	3	
	Ca, Fe, Na, Mg	5	
	Σ	100	
Σ	-	100%	

	B사	함량(%)	
점착제	EVA emulsion	12%	
Solvent(%)	Water	65%	
Pigment(%)	Ti	47	23%
	Si	24	
	Al	15	
	K	7	
	Cu	3	
	Ca, Fe, Na, Mg	4	
	Σ	100	
Σ	-	100%	

나. 종자별 필름 코팅제 기초 배합 수립 및 코팅방법 수립

가) 종자별 필름 코팅제 기초 배합 수립

1) 최초 4개의 종자(무, 호박, 오이, 수박)에 대해 기초 배합 수립

- 종자의 외관 및 표피 특성에 따라 바인더의 함량 뿐만 아니라 pigment의 함량을 달리하였다. 무종자의 경우 종자의 외관이 원형이므로 종자 코팅기를 이용하여 코팅 시 모든 표면에서 고르게 코팅이 되었으나 호박이나 수박과 같은 박과류의 경우 표면이 납작하므로 binder의 함량 및 첨가제의 함량을 적절하게 사용하여 종자 외관이 골고루 코팅 될수 있도록 조절 하였다.

	무	호박	오이	수박
Binder	20~30%	12~26%	20~30%	15~30%
Water	30~50%	30~70%	30~50%	30~50%
Dispersant	0.5~1%	0.5~1%	0.5~1%	0.5~1%
Wetting agent	0.5~1.5%	0.5~1.5%	0.5~1.5%	0.5~1.5%
<u>Defoamer</u>	0.5~1.5%	0.5~1.5%	0.5~1.5%	0.5~1.5%
Slip agent	0.5~1.5%	0.5~1.5%	0.5~1.5%	0.5~2.5%
Thickener	0.1~0.5%	0.1~0.5%	0.1~0.5%	0.1~0.5%
Anti-freezing	0.5~4%	0.5~4%	0.5~4%	0.5~4%
Pigments	7~25%	6~30%	7~25%	10~30%
Total	100%	100%	100%	100%

2) 무종자 코팅제 함량 및 코팅방법, 외관 평가

- 무종자를 코팅 시 코팅 장비는 원판 코팅기를 사용하였으며 무게 대비 종자 필름 코팅제의 함량을 약 4%정도 사용하였을 때 가장 외관이 우수하였다. 코팅 방법은 최초 무종자를 투입 후 원판 코팅기를 통해 회전을 시키면서 스포이드를 통해 회전하는 무종자위로 직접 분사하는 방법을 사용하였다.
- 또한 필름 코팅제의 함량이 4% 미만으로 첨가되었을 때 표피의 외관이 보여질만큼 충분히 코팅이 되지 않았으며 4% 이상이 첨가되었을 시 종자 외관은 우수하였으나 발아율에 영향을 줄 수도 있으며 작업시 건조되면서 분진이 발생할 수 있기 때문에 적정량인 4%를 사용하였다. 전자현미경으로 코팅 되어진 무종자의 표면을 관찰하였을 때 모든 표면에서 고르게 코팅되었음을 확인 할 수 있었다. 건조시간은 약 2분정도였으며 2분안에 충분히 건조가 되었음은 건조 후 이염 평가를 통해 확인하였다.



그림 10. 무종자 코팅 후 외관 및 확대 사진

3) 호박 종자 코팅제 함량 및 코팅방법, 외관 평가

- 호박 종자를 코팅 시 코팅 장비는 원판 코팅기를 사용하였으며 무게 대비 종자 필름 코팅제의 함량을 약 8%정도 사용하였을 때 호박 종자의 모든 표면이 코팅이 됨을 확인하였다. 코팅 방법은 최초 호박 종자를 투입 후 원판코팅기를 통해 회전을 시키면서 스포이드를 통해 회전하는 호박종자위로 직접 분사하는 방법과 원판코팅기가 회전시 코팅기의 가운데에 분사하여 원심력을 이용하여 간접 분사하는 방법등 2가지 방법을 이용하여 코팅하였다.

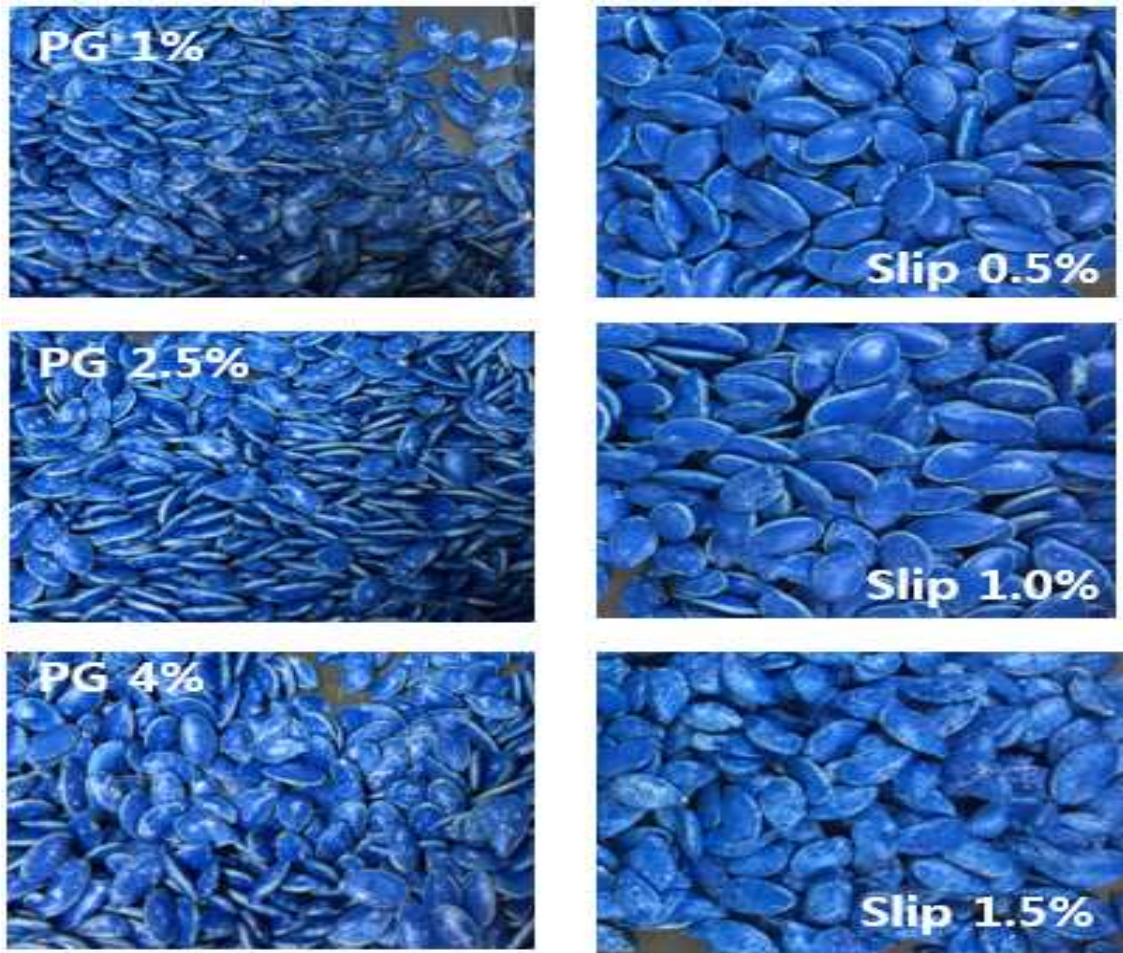


그림 11. 호박 종자 코팅 후 외관 및 첨가제(PG, Slip agent) 함량별 코팅 후 사진

- 직접분사와 간접분사 모두 코팅시 외관은 큰 차이를 보이지 않았다. 호박종자와 같은 박과류는 종자의 특성상 표면이 납작하므로 표면의 edge 부분에 골고루 코팅이 되지 않으며, 코팅 시 종자끼리의 마찰로 인해 건조되면서 코팅부분이 벗겨지는 현상이 발생하였다.
- 이를 개선하고자 첨가제를 사용하여 필름 코팅제 함량을 조절하였다. 먼저 동결방지제로 사용되는 propylene glycol의 함량을 조절하였다. propylene glycol은 건조속도가 늦으므로 코팅 시 회전 하는동안 slip을 향상시켜 외관을 개선시켜 줄 수 있다.
- 하지만 코팅제의 함량에서 최초 1.5%이상으로 사용 시 분진이 많이 발생되며 2.5%이상으로 과량 사용 되었을때에는 분진 뿐만 아니라 건조속도 및 외관불량으로

이어졌다. propylene glycol의 함량의 적정량은 0.5~1%에서 외관 및 건조속도가 가장 양호하였음을 확인하였다.

- 또한 도료의 slip agent를 이용하여 외관 개선 실험을 진행하였을 때도 마찬가지로 slip agent의 함량이 0.5%를 초과하였을 시 외관 불량 및 건조속도 불량으로 평가되었으며 적정 함량 0.5%로 사용시 가장 우수한 외관이 나옴을 확인할 수 있었다.

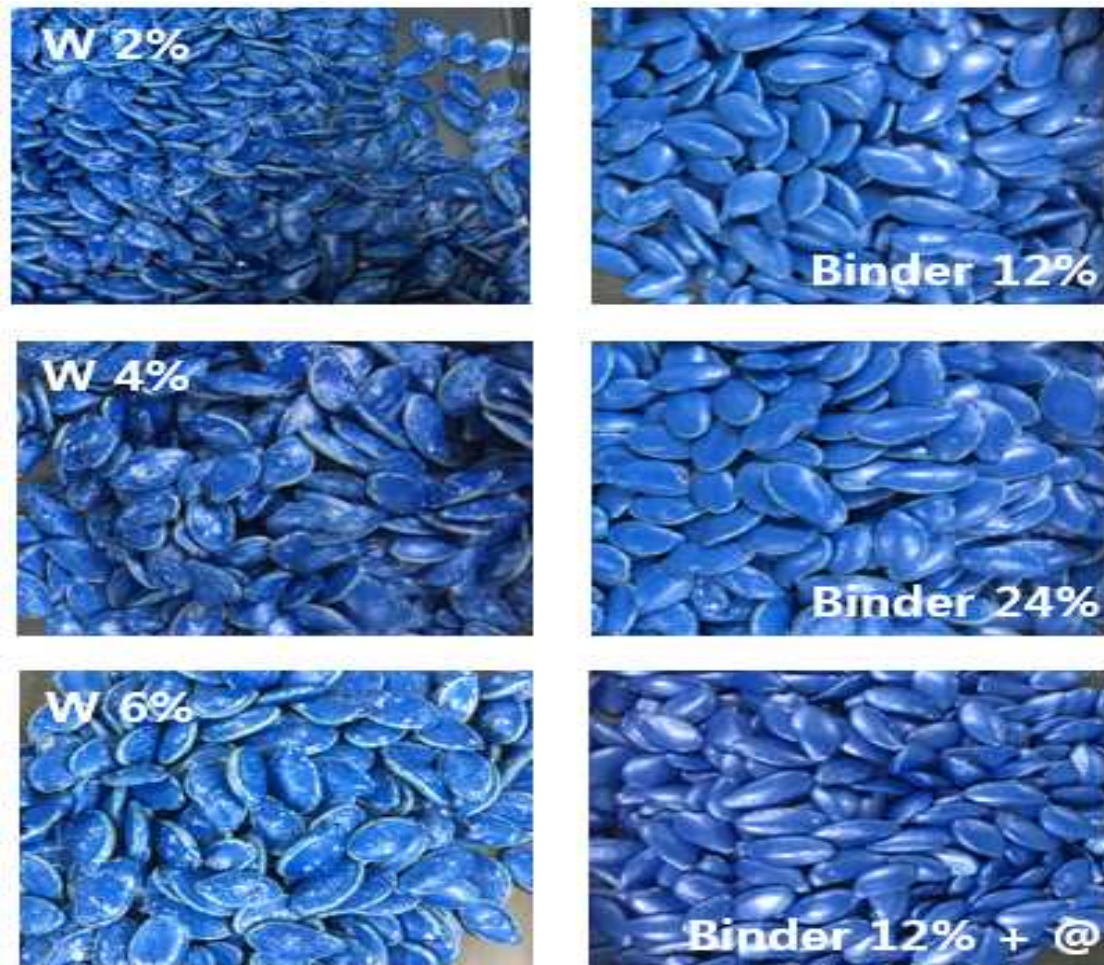


그림 12. 호박 종자 코팅 후 외관 및 첨가제(wetting agent, binder) 함량별 코팅 후 사진

- 박과류와 같은 특성을 가진 종자의 외관을 개선하기 위해 추가적으로 wetting agent 및 Binder의 함량을 조절하여 실험하였다. wetting agent 첨가제를 이용하여, 코팅과 동시에 건조시 외관을 고르게 코팅하기 위해 함량별 실험을 진행하였으나 그림 19와 같이 함량이 증가할수록 외관이 불량해지는 현상을 보임을 확인할 수 있었다.
- 또한 그림 19의 오른쪽 사진과 같이 코팅제에서 에멀전 binder의 함량이 감소하였을 때 외관이 점점 감소하였을 때 외관이 가장 양호함을 알수 있었다. 이때 최소 함량은 약 12%정도이며 함량이 증가 할수록 외관 불량 및 건조속도 지연을 확인하였다.

호박종자 표면(전자현미경 30배)



호박종자 측면 (전자 현미경 30배)

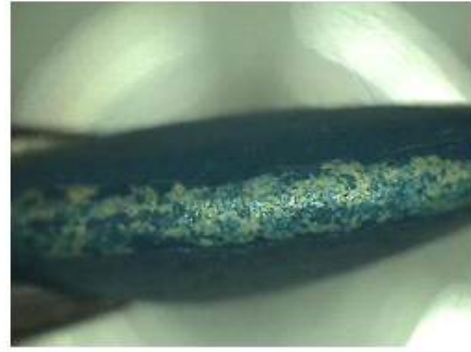


그림 13. 호박 종자 코팅 후 표면 및 측면의 전자현미경 확대 사진

- 호박종자의 경우 종자표피의 특성으로 인해 건조는 약 1분 30초안으로 이루어져야하며 건조시간이 지연 될수록 분진이 발생함을 확인하였으며 binder의 함량이 낮아질수록 건조속도 및 외관이 양호해 짐을 확인하였다. 또한 첨가제의 함량에 따른 코팅 외관 특성을 확인하였다.

4) 수박종자 코팅제 함량 및 코팅방법, 외관 평가

- 수박 종자를 코팅시 코팅 장비는 원판 코팅기를 사용하였으며 무게 대비 종자 필름 코팅제의 함량을 약 6%정도 사용하였을 때 수박종자의 모든 표면이 코팅이 됨을 확인 하였다.



그림 14. 수박 종자 코팅 후 표면 및 측면의 전자현미경 확대 사진

- 코팅 방법은 최초 수박 종자를 투입 후 원판 코팅기를 통해 회전을 시키면서 스포이드를

통해 회전하는 수박종자위로 직접 분사하는 방법을 사용하였다. 수박종자의 경우 호박종자와는 다르게 박과류이면서 종자표피의 흡수성으로 인해 코팅액의 수분을 흡수, 건조되면서 그림 21의 오른쪽 상단과 같이 double seed가 발생함을 확인하였다.

- 코팅제의 함량이 수박종자의 모든 표면을 안정적으로 코팅시키는 6% 미만의 함량에서도 발생되므로 추가적으로 slip agent 및 wetting agent의 종류나 함량으로 개선 실험을 진행하기로 하였다. 추가적으로 double seed의 발생은 코팅장비의 작업방법이나 코팅장비의 종류에 따라 발생 유무가 달리되므로 각 기관과 협조하여 진행하기로 하였다

5) 오이종자 코팅제 함량 및 코팅방법, 외관 평가

- 오이 종자를 코팅시 코팅 장비는 원판 코팅기를 사용하였으며 무게 대비 종자 필름 코팅제의 함량을 약 8%정도 사용하였을 때 오이종자의 모든 표면이 코팅이 됨을 확인하였다. 코팅 방법은 최초 오이 종자를 투입 후 원판코팅기를 통해 회전을 시키면서 스포이드를 통해 회전하는 수박종자위로 직접 분사하는 방법을 사용하였다.
- 오이종자의 경우 코팅제의 pearl의 함량이 증가하거나 건조시간이 지연 될 경우 그림 15의 왼쪽 상단과 같이 분진이 발생함을 확인 할 수 있었다. 또한 오이종자의 배부분의 주름진 형태를 띄기 때문에 다른 부분에 비해 코팅 외관이 양호하지 않았다. 이를 개선하기 위해 Binder의 함량 및 pearl의 함량을 감소하였으며 코팅 공정을 일부분 조절하여 그림 15의 오른쪽 상단과 같이 외관이 양호한 오이종자 표면을 얻을 수 있었다.



그림 15. 오이 종자 코팅 후 표면 및 측면의 전자현미경 확대 사진

6) 종자용 코팅제 중간 배합 수립

- 종자의 종류 및 특성에 따라 코팅액의 배합이 다르지만, 코팅배합으로 인한 process의 간소화 및 비용 경쟁력 강화를 위해 종자 type에 의한 코팅제가 아닌 1가지 model type의 코팅제의 중간 배합을 수립하였다.
- 코팅제의 불휘발분은 약 34%이며 점도는 Krebs Stomer Viscometer 점도계로 약 58KU이다. 코팅제 안에는 많은 양의 pearl이 있으므로 보관시 pearl이 침전해 있으며 사용하기전 충분히 교반해 주어야 한다.

표 2. 종자용 코팅제 기초 배합

	코팅제
Binder	25%
Water	45%
Dispersant	0.5%
Wetting agent	0.5%
Defoamer	0.5%
Slip agent	0.5%
Thickener	0.5%
Anti-freezing	0.5%
Pigments	17%
Total	100%

나) 종자별 필름 코팅제 공정 조건 수립

- 종자 코팅의 외관은 코팅장비와 코팅방법, 코팅시간, 코팅제 투입액의 함량에 따라 달라진다.
- 종자의 외관은 무종자와 같이 둥근 type과 호박종자와 같이 납작한 박과류로 크게 나뉘지므로 종자외관에 따른 코팅제의 함량과 코팅장비에 따른 방법 등, 공정 조건을 표 3에 나타내었다.
- 무종자의 경우 원판코팅기는 회전속도가 빠른 반면, 당의기는 회전속도가 원판코팅기에 비해 상당히 느리므로 상대적으로 천천히 교반, 코팅하였다.
- 호박 종자의 경우 원판코팅기를 이용할시, 코팅액의 함량을 모두 투입후 코팅하지 않고 코팅 후, 건조, 코팅, 건조의 순서대로 공정을 나눠서 진행하였을 때 골고루 모든 표면이 양호하게 코팅 되었다. 당의기를 이용하여 코팅할때에는 원판코팅기와는 다르게 고속 회전 후 건조시키면서 교반속도를 낮추어 코팅 하였을때가 가장 외관이 양호하였다.

무 종자

원판 코팅기	당의기
종자량 : 200.0g	종자량 : 200.0g
코팅액 : 7.9g	코팅액 : 8.0g
코팅조건	코팅조건
1. 580rpm 60초후 작업완료	1. 48rpm 60초 후 작업완료

호박 종자

원판 코팅기	당의기
종자량 : 200.0g	종자량 : 200.0g
코팅액 : 총 15.0g	코팅액 : 16.0g
코팅조건	코팅조건
1. 580rpm에서 13g 투입 2. 30초 유지 후 140rpm으로. 3. 1분30초 후 2g 투입 4. 1분 유지 후 작업종료	1. 48rpm에서 코팅제 투입 2. 30초 경과 후 22rpm으로. 3. 60초 후 작업완료
총 작업시간 : 3분	총 작업시간 : 1분 30초

표 3. 종자용 코팅제 공정 조건 수립

다) 각 기관별, 종자용 필름 코팅제에 대한 코팅 실험 평가 및 기관별 결과 공유, 개선 샘플 진행

- 앞서 제조되어진 코팅제를 1세부~3세부 등의 각 기관에 보냈을 때 다음과 같은 결과를 공유하였다.
- 각 세부기관이 보유하고 있는 코팅장비에 따른 코팅공정의 어려움
- 종자 필름코팅제의 점도별 코팅 방법
- 종자 필름 코팅제가 코팅 후 물에 녹지 않음으로 인한 환경유해성
- 코팅장비의 일원화는 2세부(신농)에서 장비제조 진행 중이므로 각 세부기관이 보유한 원판코팅기기 및 당의기로 위탁기관(노루)에서 제시한 코팅 작업 방법으로 진행하기로 하였다.
- 또한 1세부(코레곤)의 경우 코팅액의 점도가 높았을 때 종자코팅의 외관이 양호한 모습을 나타내므로 점도를 2가지 type으로 제작하였다. 마지막으로 앞서 제조한 코팅제는 물에 쉽게 녹지 않은 type이므로 intotec에서 판매되어지는 종자 코팅액을 입수한 후 분석, 제조 하였다.

1) PVA type 종자 코팅제 제조

- 분석되어진 자료를 토대로 PVA을 주 수지로 하는 종자 코팅제를 제조하였다. PVA, Poly vinyl alcohol은 폴리아세트산 비닐을 가수분해하여 얻어지는 무색 가루이며 물에 쉽게

녹는 특성을 가지기 때문에 도료, 접착제등으로 널리 사용된다.

- 먼저 PVA의 분자량에 따른 코팅액 배합을 위해 2가지 분자량을 지닌 PVA를 조사하였다. PVA 분자량에 따른 2종류를 이용하여 P1030과 P2030, 2종류의 코팅제를 제조하였다.
- PVA를 이용한 코팅액은 기존 emulsion type의 종자 코팅제에 비해 점도 조절이 어렵기 때문에 물에 PVA를 얼마나 수용화 시키느냐가 중요한 요소 중 하나이다. 또한 분자량에 따른 수용화도가 다르기 때문에 코팅제 안에서의 함량을 조절 하였다.
- 제조 되어진 PVA type의 코팅제를 이용하여 무종자 및 기타 종자를 코팅실험을 하였을 때 기존에 사용되었던 emulsion type에 비해 건조속도가 지연됨을 확인 할 수 있었다. 건조속도가 지연되면 코팅제가 종자에 wetting 되어 질 수 있는 충분한 작업시간은 얻을 수 있으나, 일정 시간이 지나면 공정상 생산성이 낮아 질 수 있으므로 PVA의 함량 및 분자량에 따른 조절 실험을 통해 건조시간이 최대 5분을 넘기지 않도록 배합을 조절 하였다.
- 코팅 공정이 끝난 후 포장공장과 배송 과정중 발생할 수 있는 분진량을 비교하기 위해 분자량 이 서로 다른 P1030과 P2030의 코팅 후 분진량 실험을 진행 하였다.
- 수박종자 200g을 zipper bag에 투입 후 5분에 걸쳐 동일한 힘으로 상/하로 흔들어 발생하는 분진량을 육안으로 식별하였다. 이때 분자량이 큰 P2030이 P1030에 비해 분진량이 적게 발생함을 확인하였다. 또한 코팅제에 함유 되어 있는 일부 첨가제에서 발생하는 유성 냄새를 제거하기 위해 수성 type의 첨가제로 교체하였으며 코팅 후 외관 및 건조속도, 분진량 및 이염에서 양호함을 확인하였다.

다. 종자 필름 코팅제의 개량

1) 분산제의 선정 및 최적화 실험

- 종자코팅제에 사용 가능한(첨가제 업체에서 무독성 및 환경적으로 인정된) 분산제를 선정하여 코팅제에 각각 0.3% 투입 후 포드컵을 통해 점도 변화를 확인 하였다.
- 이중 d-1 및 d-2, d-5, d-7의 경우 분산제가 들어 있지 않은 도료만큼 점도의 변화가 크지 않았으며 d-3, d-4, d-6의 경우 작업 점도가 크게 증가 하였다. 분산제 종류에 따른 코팅외관을 확인하기 위하여 분산제 14종을 선별하여 도료에 분산시킨 후 유리에 코팅하여 외관을 확인하였다.
- 실험 결과 분산제 d-1이 점도 변화 및 코팅외관에서 양호함을 나타내었다.

표 4. 분산제 종류에 따른 외관 확인 실험

분산제	결과(유리)	분산제	결과(유리)
d-8	양호	d-1	양호
d-9	Cratering	d-15	양호
d-10	Cratering	d-16	Cratering
d-11	Cratering	d-17	양호
d-12	Cratering	d-18	Cratering
d-13	Cratering	d-19	Cratering
d-14	Cratering	d-20	Cratering

표 5. 분산제 종류에 따른 점도 변화

분산제	Ford cup(#4), 초
무	16.09초
d-1	17.38초
d-2	17.41초
d-3	18.28초
d-4	23.50초
d-5	17.69초
d-6	18.25초
d-7	16.81초

2) 소포제의 선정 및 최적화 실험

- 코팅제 제조 중 발생하고, 제조 완료 후 포장이나 코팅제 사용시 발생할 수 있는 기포를 억제하기 위해 소포제의 종류 및 함량별 실험을 진행하였다.

표 6. 소포제 종류 및 함량에 따른 외관 평가

	0.3%	0.5%	0.7%
deform-1	+	++	+++
deform-2	+	++	+++
deform-3	+	+	+
deform-4	+	+	+

- deform-1을 0.5%에서 0.7%로 함량 증가 시 소포력은 가장 양호하였으나 결과적으로 0.3%, 0.5%, 0.7% 사용, 유리판에 코팅 시 cartering이 발생하였다. deform-2 역시 0.5%에서 0.7%로 함량 증가 시 소포력이 증가 하였으나 0.7% 사용하여 유리판에 코팅 시 cratering이 발생하였다.
- 위의 결과를 토대로 소포제 혼용하여 유리판 코팅 후 외관을 확인하였다. 결과적으로 deform-2 0.5%에 deform-3 0.3%를 혼용 하였을 때 소포력이 가장 우수하고 유리판에 코팅 한 후에 cratering도 발생하지 않았다. 또한 deform-3이 첨가 되었을 때 pearl감이 증가함을 육안으로 확인 할 수 있었다.

표 7. 소포제 혼용에 따른 실험 결과

소포제1	소포제2	결과
deform-2 0.5%	deform-1 0.3%	+
	deform-1 0.5%	+
	deform-3 0.3%	+++
	deform-3 0.5%	++

3) Wetting agent의 선정 및 최적화 실험

- Wetting agent을 선정하여 유리판에 application하여 외관을 확인하였다. 그림 2에서 보여지듯이 몇가지 종류의 wetting agent만이 표면이 고르게 나왔으며, 도료의 다른 성분과 상용성이 부족한 경우에도 점도 증가 발생과 더불어 cratering이 발생되어 표면이 고르지 못한 형상을 나타내었다. 이를 바탕으로 수지, 선택된 분산제, 소포제등을 함께 혼합하여 아래 표 5와 같은 결과를 얻었다.
- 앞서 실험으로 가장 양호한 결과를 얻었던 분산제 d-1, d-8와 소포제 deform-2, deform-4등을 사용하여 위의 실험으로 결정된 4가지 wetting agent를 첨가하여 외관 및 수지와 첨가제들 사이의 혼용성을 살펴 보았다.

표 8. Wetting agent 종류에 따른 외관 확인 실험

Wetting agent	결과(유리판)	Wetting agent	결과(유리판)
wa-1	Cratering	wa-7	Cratering
wa-2	양호	wa-8	Cratering
wa-3	Cratering	wa-9	Cratering
wa-4	양호	wa-10	양호
wa-5	Cratering	wa-11	양호
wa-6	양호		

표 9 .소포제, 분산제 혼합 첨가에 의한 wetting agent의 결과

소포제	분산제	Wetting agent	유리판 외관	소포력
deform-2	d-1	wa-2	불량	불량
		wa-4	불량	불량
		wa-10	양호	양호
		wa-11	양호	양호
	d-15	wa-2	불량	불량
		wa-4	불량	불량
		wa-10	양호	양호
		wa-11	양호	양호
deform-4	d-1	wa-2	불량	불량
		wa-4	불량	불량
		wa-10	양호	양호
		wa-11	양호	양호
	d-15	wa-2	불량	불량
		wa-4	불량	불량
		wa-10	양호	양호
		wa-11	양호	양호

- 위의 실험 데이터를 기반으로 하여 분산제는 d-1을, 소포제는 deform-2, wetting agent는 wa-11을 선정하게 되었다.

4) 저장성 개선 실험

- 기 개발된 종자필름 코팅액 제품들은 장기간 보관 시 pearl이 침전되는 현상이 발생하였으며, 이는 작업자가 코팅 작업 시 pearl을 다시 교반해야 하는 상황이 발생 할 수 있었다. 이를 개선하기 위해 실험을 진행 하였다.
- 다음과 같이 urea or urethane type 및 clay based type 총 9가지의 첨가제를 이용하여 저장성 점도 및 코팅제 외관을 확인 하였다.

표 10. 첨가제 종류에 따른 저장 후 점도 및 외관 실험 결과

	첨가제	저장 전				저장 후		
		함량	KU	TI	외관	KU	TI	외관
	STD		57	1.39	X	56.7	2.79	○
Urea or Urethane type	su-1	0.5	61.9	2.58	X	61.6	2.98	△
	su-2	0.5	61.9	1.57	X	59.4	2.23	X
	su-3	0.5	58.9	2.52	○	60.1	2.91	○
	su-4	0.5	61.4	2.96	○△	62.6	3.49	○
Clay Based type	sc-1	4	64.3	1.72	○△	63.6	1.99	○
	sc-2	2	70.7	2.29	△	79.3	2.42	X
	sc-3	2	61.4	2.48	○△	62.1	2.50	△
	sc-4	5.5	58.9	1.38	△	61.6	1.73	X
	sc-5	3.2	56.2	1.37	○△	56.7	1.56	△

- 9가지 첨가제 중에서 su-2의 경우 첨가 후 및 저장 후 모두에서 색상 변화가 발생하였다. 나머지 첨가제들도 눈에 띄게 cratering이 발생하거나 색상 분리가 발생하지는 않았지만 60°C, 1주일 후 외관이 양호한 첨가제는 su-3, su-4, sc-1 3종밖에 없었으며 최종적으로 층 분리가 발생하지 않은 첨가제는 그 중 su-4가 유일하였고 이를 침강방지제 첨가제로 선정하였다. su-4을 사용하였을 때 층 분리가 발생하지 않으며, caking도 없고 색상 변화도 없음을 확인 할 수 있었다.

표 11. 첨가제 종류에 따른 층분리 및 caking 정도

	저장 후				
		층 분리	Caking	Caking 고형정도	색상
	STD	2cm	△	△	○
Urea or Urethane type	su-1	2cm	△	△	○
	su-2	3cm	△	X	X
	su-3	3cm	△	△	○
	su-4	0cm	○	○	○
Clay Based type	sc-1	2.5cm	△	X	○
	sc-2	3cm	X	X	X
	sc-3	3cm	X	X	○
	sc-4	3cm	△	△	○
	sc-5	2cm	△	△	○

- 이를 바탕으로 색상별 코팅제에 su-4를 0.5% 함량 첨가 후, 60°C 1주일 후 외관 및 점도를 확인 하였다.

표 12. 색상에 따른 SU-4 투입, 저장성 결과

	Blue	Red	Green	Yellow	Orange
STD 점도	56KU	56.5KU	53.3KU	51.8KU	54.2KU
SU-4 0.5%첨가	62.6KU	71.5KU	66KU	65.2KU	63.3KU
60°C 7일 후	62.4KU	72.2KU	66.2KU	66.1KU	63.4KU
층 분리	없음	없음	없음	없음	없음

- 위의 표에서 나타나듯이 SU-4를 첨가하였을 때 약 6~10KU 정도 점도가 증가하였으며, 60°C 1주일 고온 저장성을 확인 하였을 때에도 각각 색상별 코팅제의 점도는 크게 변하지 않았음을 확인 할 수 있었다.

라. 필름 코팅제 해외 샘플 테스트 현황

- 해외 종자 업체에 본 과제에서 개발된 종자 필름 코팅제를 샘플로 제공하여 테스트를 진행하였다. 국외 샘플 발송은 아래의 표와 같다.

표 13. 필름 코팅제 국외 발송 현황

	Company	Product Name
1	Eastwest (태국)	Green-1, Yellow-1, Gold-1, Blue-4, Red-4
2	몬산토 (태국)	Blue-1, Orange-1, Red-4
3	Chia Tai	Red-2,3,4 Blue-3,4 Gold-2,3
4	대만 농우 그룹	Red-2,4 Blue-4, Orange-2, Yellow-1, Green-1, Gold-1
5	EastWest (필리핀)	Red-2,4 Blue-4, Orange-2, Yellow-1, Green-1, Gold-1
6	Rasi seed (인도)	Yellow-1, Red-4
7	UNITED GENETIC Seed (미국)	Red-1,2,3,4,5, Red-E4P4
8	몬산토 (인도)	Green-1, Red-4, Gold-1
9	금마마 (중국)	Blue-1, Red-2

- 해외 업체의 테스트 결과 전반적인 반응은 색감이 우수하고, 기존에 사용하던 종자 필름 코팅제에 비해 분진 발생이 덜하고, 건조 속도가 빠르다는 의견이 대체적이었다. 미국의 United Genetic Seed라는 종자회사에서는 제공 받은 종자용 필름 코팅제 샘플테스트 결과를 자세하게 보내 주었는데, 색깔의 구현이 전체적으로 좋고, 특히 분진이 거의 나지 않는다는 점을 가장 큰 장점이라고 하였다.



그림 16. United Genetic Seed 사의 샘플 테스트 결과

마. 기능성 필름 코팅제 개발 기초 실험

- 종자 필름 코팅제에 기능성을 부여하기 위하여, 항균 특성을 지니는 미생물을 선정하여 필름 코팅제에 첨가하는 실험을 진행하였다. 먼저 선정된 미생물이 코팅액과 혼합하여도 활성도를 가지는지 시간에 따른 실험을 진행하였다.

표 14. 미생물 적용 코팅제와 코팅 종자의 저장성에 따른 활성도

코팅액		보관중인 코팅액으로 코팅한 종자의 미생물 성장률			
보관장소	제조 즉시	1개월 후	2개월 후	4개월 후	6개월 후
상온	100%	100%	100%	100%	%
냉장		100%	100%	100%	%

코팅된 종자		코팅 후 보관중인 코팅 종자의 미생물 성장률			
보관장소 / 경과시간	1개월 후	2개월 후	4개월 후	6개월 후	
상온	100%	100%	100%	%	
냉장	100%	100%	100%	%	

- 제조된 종자 필름 코팅제에 선정된 미생물을 1% 첨가하여, 고추 종자에 코팅하여, 코팅된 종자를 보관하면서, 제조 직후, 1, 2, 4 개월 후 미생물 활성도를 검사하였다. 또한 미생물을 1%첨가한 코팅제를 상온과 냉장에서 6개월간 보관하면서 보관 후 1개월, 2개월, 4개월 차에 고추 종자에 코팅하여 미생물의 활성도를 검사하였다. 현재까지 4개월 차 진행 중이며, 미생물 함유 코팅된 종자 및 미생물 함유된 코팅액 모두 미생물의 성장에는 이상이 없음을 확인하였다.
- 또한 선정된 미생물의 항균성을 확인하기 위하여, 7개의 균을 선발하여 항균성실험을 진행하였다. 선정된 미생물은 무 배추 갈색 뿌리 썩음병에 가장 큰 항균성을 보였으며, 박과 덩굴 썩음병, 오이 시들음 병, 무시들음 병, 양배추 시들음병, 양배추 균핵병 등에서 중간 이상의 항균성을 보였다.(표 15)

표 15. 선정된 미생물의 항균성

검사대상	균분류	병원체명	항균성	사진	
호박 참박	진균	박과 검은뿌리썩음병	3		
	진균	박과 덩굴썩김병	4		
오이	진균	오이 시들음병	4		
무	진균	무 시들음병	4		
	진균	무 배추 갈색 뿌리썩음병	5		
양배추	진균	양배추 시들음병	4		
	진균	양배추 균핵병	4		

- 선정된 미생물의 유묘에서의 효과를 검증하기 위하여, 호박, 참박, 오이, 무, 양배추 종자를 일반 종자 필름 코팅제, 베노람이 첨가된 종자 필름 코팅제, 미생물이 함유된 코팅제로 각각 종자를 코팅하여 각각의 성분으로 코팅된 종자로 유묘를 준비하여 박과 검은뿌리썩음병, 박과 덩굴썩김병, 오이 시들음병, 무 시들음병, 무 갈색 뿌리썩음병, 양배추 시들음병, 양배추 균핵병등을 접종하고 생장을 관찰하였다.
- 호박 검은 뿌리썩음병, 오이 시들음병, 무시들음병, 무 갈색 뿌리 썩음병에 대하여는 일반 종자 필름 코팅제와 베노람이 첨가된 종자 필름 코팅제 보다 미생물이 함유된 코팅제로 코팅한 종자의 유묘들에게서 항균성이 유의미하게 좋은 결과를 보였다.
- 박과 덩굴썩김병, 양배추 시들음병, 양배추 균핵병에 대하여는 일반 코팅제보다는 베노람, 미생물이 첨가된 코팅액으로 코팅한 종자의 유묘들이 병원체의 영향을 덜 받는 것으로 보이며, 베노람과 미생물의 첨가의 유의미한 차이는 없었다. 표 16에 유묘에서의 항균력 검사 내용을 정리하였으며, 그림 18~2 에 유묘 성장 사진을 첨부하였다.

표 16. 유묘에서의 미생물의 항균력 검사

검사대상	병원체명	항균성 (%)			비고
		무첨가 코팅	베노람 코팅	기능성미생물 코팅	
호박	박과 검은뿌리썩음 병	30	40	60	무첨가, 베노람 대비 효과 보임
참박	박과 덩굴썩김병	40	50	50	
오이	오이 시들음병	30	50	60	무첨가, 베노람 대비 효과 보임
무	무 시들음병	20	50	70	무첨가, 베노람 대비 효과 보임
	무 갈색뿌리썩음병	30	40	60	
양배추	양배추 시들음병	40	50	60	
	양배추 균핵병	40	50	50	



그림 18 유묘에서의 항균력 검사(호박, 참박)



그림 19. 유묘에서의 항균력 검사(오이)

- 현재 종자회사에서 가장 많이 사용되고 있는 살균제는 베노람(베노밀, 티람)으로 시판되고 있는 종자 필름 코팅제에 베노람을 일정량 혼합하여 실제 종자회사에서는 종자 코팅 처리를 진행하고 있다. 기능성 필름 코팅제(항균 미생물 함유)제품을 출시하였을 때, 종자회사에서는 종자 가공 처리 시에 베노람을 혼합하여 사용할 가능성이 농후하다.
- 그래서 선정된 미생물과 베노람의 공존 가능성을 실험하였다. 우선 베노람을 1%, 2%, 3%, 4% 종자필름 코팅액에 첨가하고, 각각의 베노람이 첨가된 코팅액에 미생물을 1%, 2%, 3%, 4% 첨가하여, 각 코팅액을 이용하여 무 종자에 코팅을 하여, 코팅 후 7일까지 미생물의 발현을 관찰하였다.
- 베노람 2%이상 첨가된 코팅액으로 코팅된 무종자의 미생물 발현은 3일 이후에 급격히 나타났으며, 미생물의 투입 함량은 크게 영향을 미치지 못하는 듯하였다. 7일 후에는 모든 테스트 샘플에서 미생물의 발현이 되었으나, 베노람 2%이상 첨가된 샘플에 대하여 4일차 이후에 미생물이 발현됨을 알 수 있었다.
- 위의 실험으로 베노람 함유 2%이상은 베노람 증가에 따른 효과가 없는 것을 알 수 있었다. 그래서 베노람 농도는 0%, 1%, 2%로 선정하고, 미생물 농도는 0%, 1%, 2%, 3%, 4%로 선정하여, 종자별로 베노람과 미생물의 농도 변화 시에 미생물의 활동도를 조사하였다.
- 종자는 무, 양배추, 오이, 고추 종자를 선정하여 실험을 진행하였다. 무 종자에서는 직전 실험결과와 유사하게, 베노람 2% 함유된 #7 샘플 코팅 종자만 3일차에 미생물 발현이 상대적으로 적으며, 이후에 미생물 발현율은 회복함을 볼 수 있었고, 양배추 종자, 고추 종자의 경우에도 무 종자와 비슷한 결과를 보였다. 베노람이 2% 함유된 #7번 샘플 코팅 종자만 4일 이후에 미생물 발현율이 타 대조구와 비슷하게 진행되었다.
- 오이 종자의 경우 모든 샘플에서(#2 ~ #7) 4일차 이후 미생물이 발현율이 증가 되며, 7일차까지 계속 발현율이 증가하는 것을 볼 수 있었다.



그림 20. 유묘에서의 항균력 검사(무)

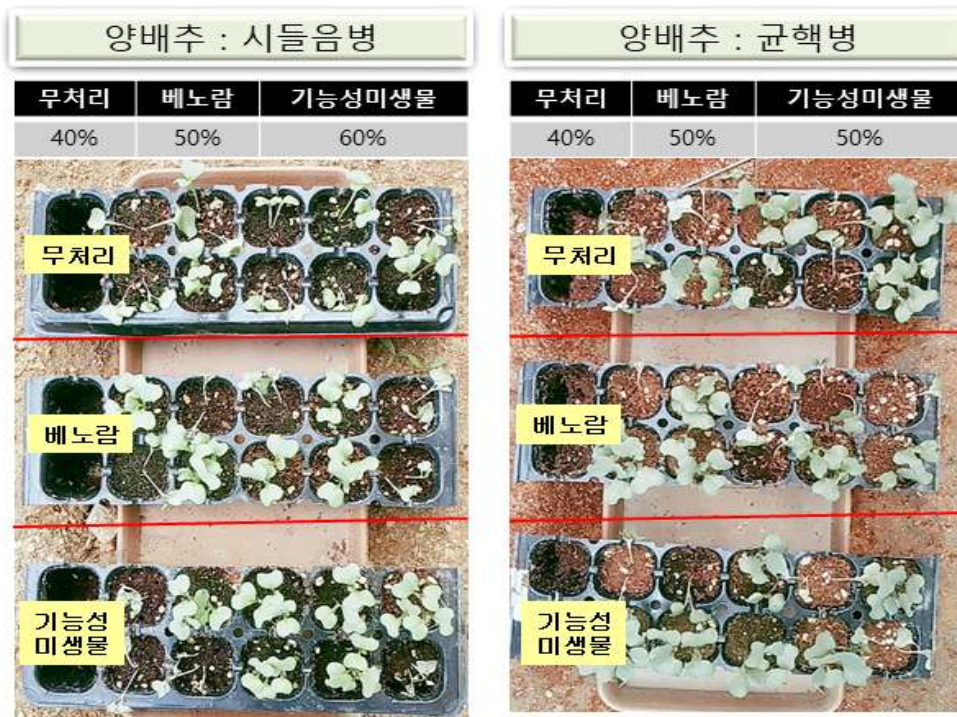


그림 21. 유묘에서의 항균력 검사(양배추)

- 결론적으로 베노람 2%이상 함유 되었을 시에 미생물 발현이 3일차 까지 늦어지는 경향이 있으며, 이후에는 발현율이 회복이 되고, 베노람과 선정된 미생물이 혼합되어 있어도 미생물의 발현에 부정적인 영향을 미치지 않는 것으로 파악하였다.

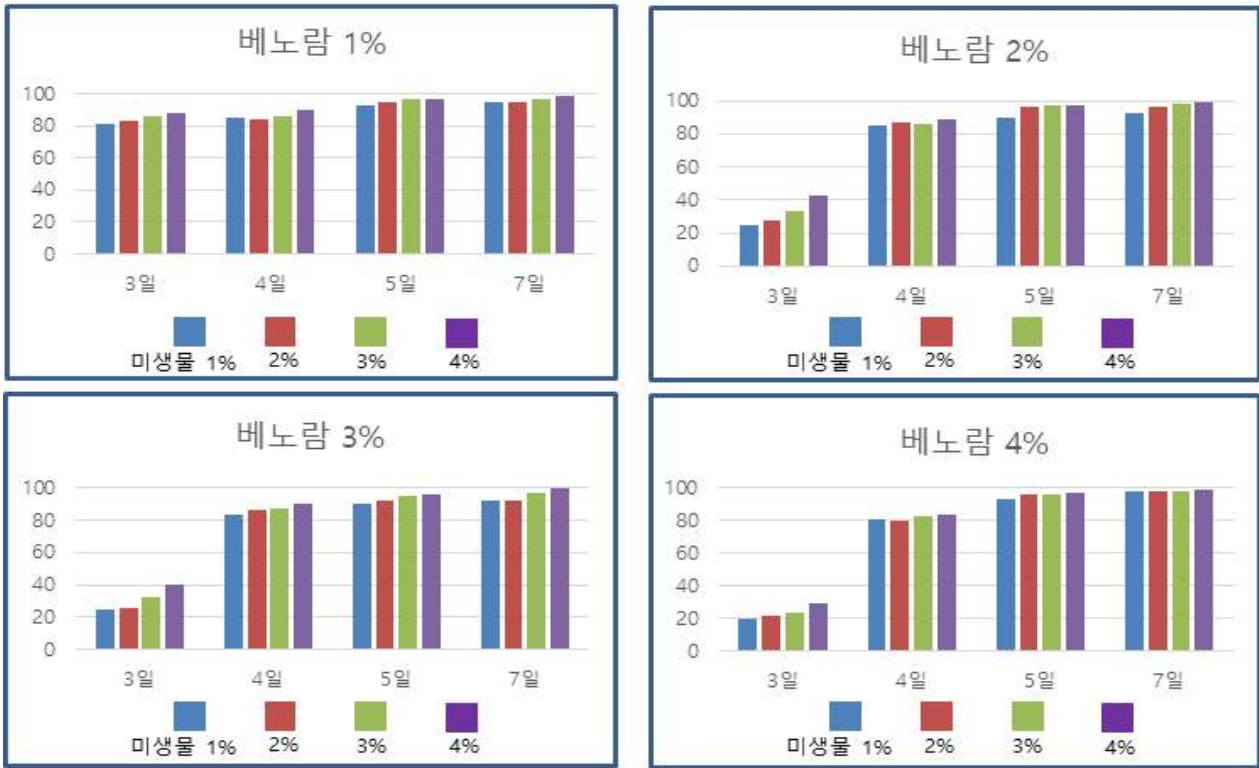


그림 22. 베노람, 미생물 농도에 따른 미생물 발현율.(세로축:미생물 발현율%, 테스트 종자:무)

구분	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7
미생물	0	2%	1%	2%	3%	4%	2%
베노람	0	0	1%	1%	1%	1%	2%



그림 23. 베노람, 미생물 농도에 따른 미생물 발현율 (종자별)

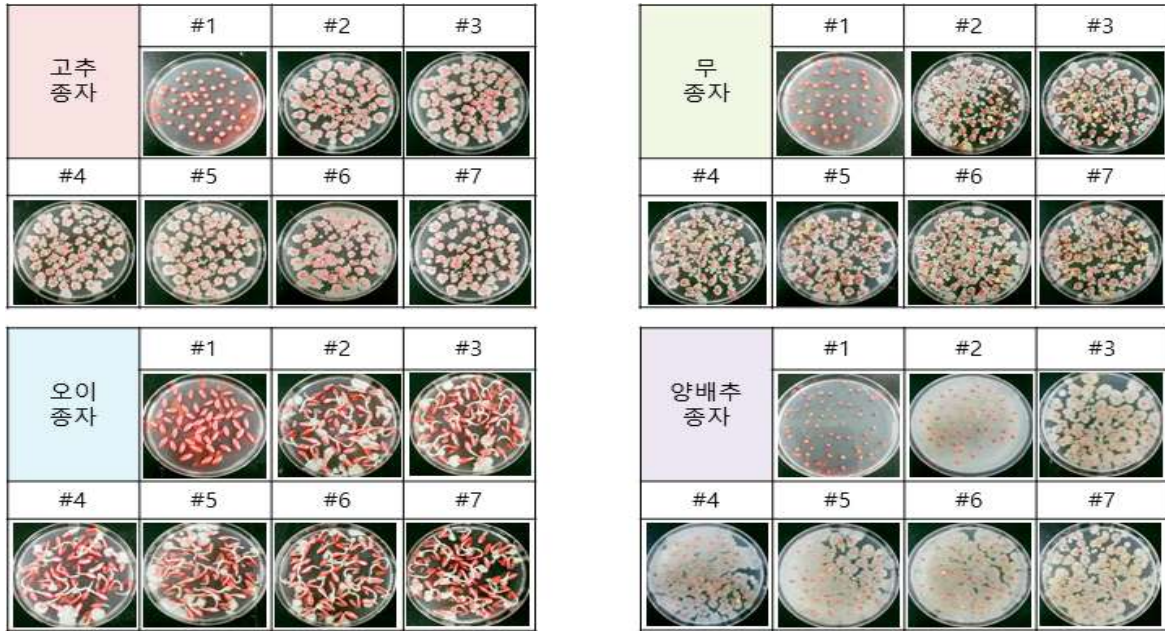


그림 24. 베노람, 미생물 농도에 따른 미생물 발현율 (종자별 사진, 7일차)

바. 결과 및 고찰

- 기존 종자 필름 코팅제의 분석을 통해 종자 필름 코팅제의 기초 배합을 설정하고, 물성을 보완하고자 분산제, 소포제의 선정, wetting agent 및 저장성 개선을 위한 첨가제 선정 실험을 통하여, 종자에 적용 시 발아율에 영향을 미치지 않고, 종자의 가치를 상승시키며, 분진 감소, 물에 의해 쉽게 제거 되는 필름 코팅제개발을 완료하였다. 무, 배추, 양배추, 상추, 당근, 고추, 수박, 호박, 대목, 오이 등 다양한 작물에 적용할 수 있으며, 별도의 전처리 없이 원판 코팅기나 당의기를 이용하여 종자에 필름 코팅을 수행 할 수 있었다.

표 17. 종자 필름 코팅제의 제원

항 목	결 과 치	시 험 방 법
불휘발분	32 ~ 37	105℃ X 3시간, %
점 도	54 ~ 60	KU
비 중	1.17 ~ 1.27	Solution
pH	8.2 ~ 9.3	25℃

- 해외 판매와 코팅제의 고온 안정성을 확보하기 위해 Rheology 개선 실험을 진행하여, 인 코텍 제품보다 저점도의 고온 안정성 및 rheology를 확보하였다. 종자용 필름 코팅제의 해외 판매를 위하여 다수 나라의 다수 종자 업체에 샘플을 제공하여 종자 필름 코팅제의 평가를 받았다. 전반적인 평가는 기존에 사용하던 제품보다 분진의 양이 현저히 적었으며, 색감의 구현이 잘되고, 건조 속도가 빠르다는 평가를 받았다.
- 기능성 필름 코팅제 개발을 위하여 항균 성능을 보유하고 있는 미생물을 선정하여, 종자용 필름 코팅제에 적용하여 항균 성능을 확인하였고, 유묘 테스트에도 유해 없이 적용 가능함을 알 수 있었다.

2. 종자용 펠렛 코팅 원료 개발

가. 기존 펠렛 코팅제의 분석

○ 기존에 사용되고 있는 펠렛 코팅제의 성분을 조사하기 위하여 국내 시중에 유통되고 있는 펠렛 종자를(총 4종) 입수하여 분석을 진행하였다.

1) 점착제(결체물질) 분석

- 종자를 펠렛팅하는 과정에서 사용되어진 점착제 성분(결체물질, 바인더등)을 조사하기 위하여, 입수한 펠렛 종자 각각을 THF(tetrahydrofuran) 용매에 넣어 THF 용매층에 유기화합물이 용해되도록 하고, 원심분리 하여 무기물을 제거한 후 THF 용매층에 용해되어 있는 유기물을 Infra-red spectrometer를 사용하여 spectrum을 얻은 후, spectrum을 해석한 결과 4종 모두 carboxy acid를 함유하고 있는 olefine계 화합물이 검출되었다.

2) 증량제(Extender) 분석

- 종자를 펠렛팅 하는데 주성분인 extender를 분석하기 위하여 EDS를 사용하였다.
- Extender의 주 구성 성분이 무기물인 관계로 무기물의 대략적인 정성, 정량 분석에 유리한 기기로 일반적으로 사용되고 있다. 4종 모두 가장 많은 양을 함유하고 있는 성분은 Si로써 구조토가 종자 펠렛팅의 주성분임을 유추 할 수 있었다.
- A 샘플과 B 샘플에서 보이는 Al, Ti의 성분은 펠렛 후 칼라코팅에서 기인하는 펄의 피크라고 유추되어 지고, C샘플과 D샘플에서 확연하게 보이는 Mg, Al, Ca의 피크들은 Talc에서 기인된다고 판단된다.
- 분석된 4가지 종자 펠렛 코팅제의 결과는 아래 표와 같다.

표 18. 국내 입수 4종류의 펠렛 코팅제의 성분 분석표

A社		B社		C社		D社	
Olefin계 (Carboxylic acid) Type		Olefin계 (Carboxylic acid) Type		Olefin계 (Carboxylic acid) Type		Olefin계 (Carboxylic acid) Type	
* EDX data		* EDX data		* EDX data		* EDX data	
Si	63	Si	56	Si	57	Si	64
Al	19	Al	20	Ba	10	Ca	13
K	7	Ti	8	Mg	10	Al	9
Mg	4	K	7	Al	9	Mg	9
Ti	3	Mg	4	Ca	6	Fe	3
Fe,Ca,Cl,Na	4	Fe,Ca,Cl,Na	5	S	4	Na,K,Ti	2
				Fe,K,P,Na	4		
Σ	100	Σ	100	Σ	100	Σ	100

- Si 성분은 구조토, Mg과 Al, Ca은 Talc에서 검출되는 성분이므로, 펠렛 코팅제의 주성분은 구조토이고, Talc가 혼합되어 사용되는 것으로 판단된다. 검출된 유기물(olefine계)은 종자 펠렛팅 과정에서의 점착제(결체물질)로 판단된다.

○ 세계선도 기업 제품의 분석

- 선진국의 펠렛 소재를 탐색하기 위하여 세계적으로 선두인 두 업체(S社, I社)의 종자 펠렛을 입수하여 분석 하였다. 그림 25는 S社 펠렛 제품의 SEM 이미지와 EDX 스펙트럼 이다.

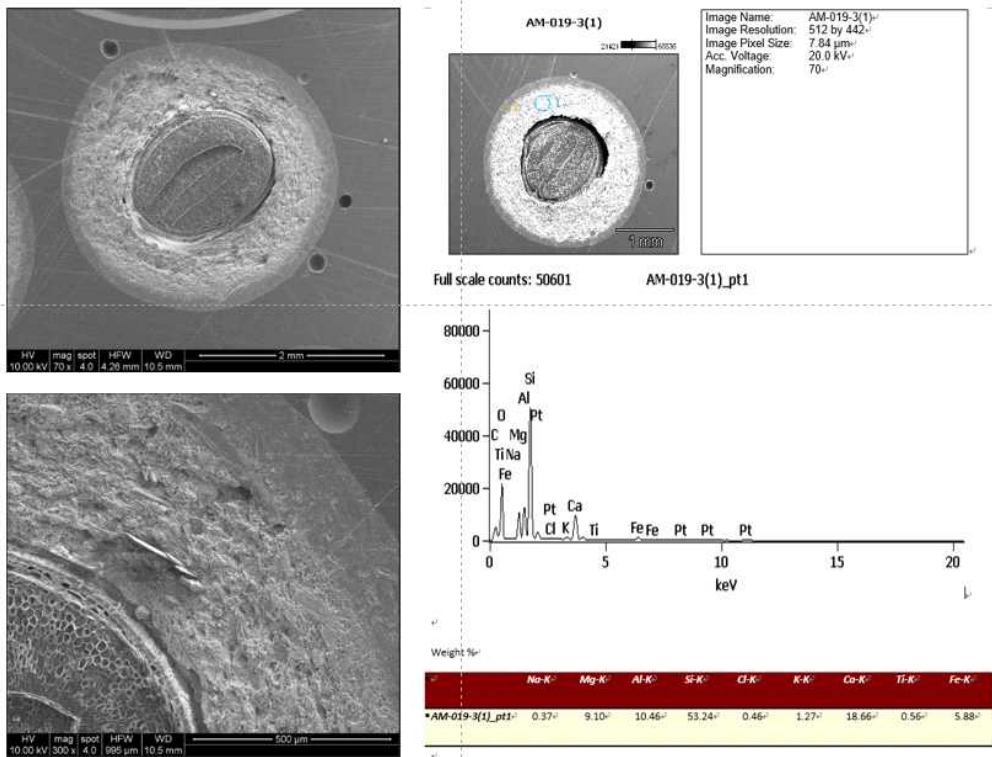


그림 24. S社의 펠렛 코팅된 종자의 SEM, EDX 이미지

- 증량제를 이용하여 종자의 표면에서부터 약 1mm정도 종자를 감싸고 있는 형태이고, EDX 스펙트럼에 기인하면, Si가 주성분이고, 약간의 Ca, Mg, Al등이 혼합되어 있음을 알 수 있다. Binder성분의 유무와 성분을 확인하고자 유기물 파트를 분석한 결과, binder로 쓰일 만한 유기물은 검출이 되지 않았다.

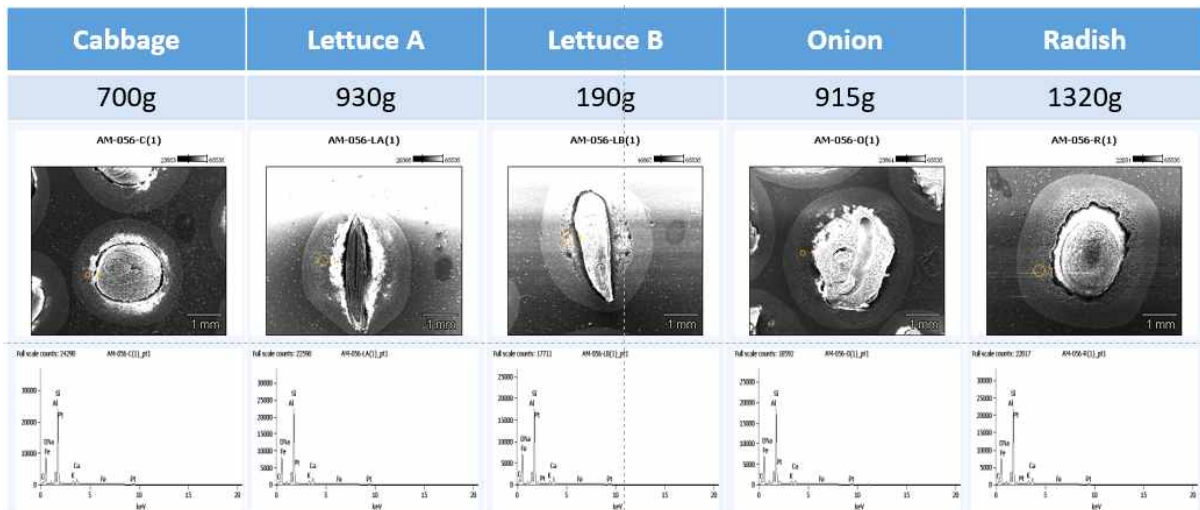


그림 25. I社의 펠렛 종자의 SEM 및 EDX 이미지.

- I社의 펠렛 종자는 배추, 상추, 양파, 무 모두 동일하게 Si를 주 원료로 하고 있다. S社의 펠렛 제품과의 차이점은 Si의 함량이 높고, S社 제품에서 보다 Ca, Mg, Al 등의

함량이 적은 것을 알 수 있다. 또한 S社와는 다르게 binder 검출을 위한 유기물 분석에서 PVA로 추정되는 유기물이 소량 검출되었다.

- 종자의 종류에 따라 펠렛 작업 후의 경도에 차이가 있으나 대략적으로 700~1000 N/m²이었다. 무종자 펠렛의 경우 사이즈가 종자의 원 사이즈가 커서 경도가 강하게 나온 것으로 추정되며, 상추의 경우 때에 따라서 경도 조절을 하며 펠렛 코팅 작업을 진행하는 것으로 추정된다.

나. 체질의 특성 파악 및 체질 배합 실험

- 펠렛을 구성할 수 있는 성분들의 특성을 파악하기 위하여 규조토 및 실리카, 탈크, 카오린을 선별하여 각각의 성분의 특성을 파악하였다. 각 체질의 구성성분은 표 19에 수록하였다. 규조토와 탈크는 Si가 주성분이고, 카오린은 Al, Si가 주성분임을 알 수 있다.

표 19. 체질별 구성 원소

체질	구성성분
규조토	Si 74%, Al 8%, Fe 2%, Ca 6%, Etc.10%
탈크	Si 61%, Mg 31%, Etc 8%
카오린	Al 14%, Si 82%, Etc 4%

표 20. 체질 종류 별 물 소요량 및 경도 (a: 성형 가능한 시점까지의 물 필요량, b: Kg(N/m²))

	규조토	실리카	탈크1	탈크2	탈크3	카오린
수분량 ^a	100%	30%	30%	30%	30%	35%
경도 ^b	1.00	1.20	0.10	0.15	0.12	0.30

- 표 20은 체질별 성형이 가능한 시점의 수분함유량과 성형, 건조 후의 경도를 나타내는 표이다. 표 20에서 볼 수 있듯이 규조토는 규조토 함량의 무게 만큼의 수분이 공급되어야 성형이 가능한 형태로 되며, 건조 후에는 경도가 상당히 강하게 형성되는 것을 알 수 있다. 반면에 탈크는 종류에 상관없이 탈크 무게의 약 30%정도의 수분이 공급되어야 성형이 가능하고, 성형 후의 경도는 강하지 않음(약 0.1Kg)을 알 수 있다. 카오린도 탈크와 비슷한 수준이었으며, 실리카는 실리카 무게 대비 약 30%정도의 수분으로 성형이 가능하였으며, 건조 후 경도도 1.2Kg으로 강함을 알 수 있었다.
- 기 펠렛 코팅 제품의 분석 결과 Si가 주성분임을 알 수 있었고, 표 3의 기초실험으로 인하여 Si가 주성분인 무기물 중에서 자체적으로 기공이 많고, 경도를 확보 할 수 있는 규조토를 메인 성분으로 선정하여 혼합 실험을 진행하였다.

표 21. 체질 배합에 따른 물 소요량 및 경도 변화(a: 성형 가능한 시점까지의 물 필요량, b: Kg(N/m2))

	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8	#9
규조토	3	5	7	3	5	7	3	5	7
탈크1	7	5	3	-	-	-	-	-	-
탈크2	-	-	-	7	5	3	-	-	-
탈크3	-	-	-	-	-	-	7	5	3
합계	10	10	10	10	10	10	10	10	10
수분량a	43%	64%	78%	48%	68%	79%	48%	66%	78%
경도b	0.95	1.4	1.27	1.22	1.13	1.5	0.84	1.08	1.15

- 표 21 에 따르면, 규조토의 함량이 증가 할수록 물이 많이 필요하게 되고, 경도도 증가함을 알 수 있다. 규조토의 다공질 성질에 의해 규조토 함량에 따라 물이 필요하게 되고, 규조토의 특성상 규조토의 함량이 증가할수록 강도가 증가하게 된다. 반면 탈크1, 탈크2, 탈크3 에 따른 차이점은 크게 나타나지 않았다.

표 22. 체질 혼합에 따른 물 소요량 및 경도 변화(a: 성형 가능한 시점까지의 물 필요량, b: Kg(N/m2))

	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7
규조토	3	2	5	5	4	3	2
탈크1	3	4	1	2	3	3	4
탈크2	4	4	4	-	-	-	-
카오린	-	-	-	3	3	4	4
합계	10	10	10	10	10	10	10
수분량a	50%	38%	60%	60%	55%	47%	42%
경도b	0.74	0.45	1.15	0.88	0.73	0.63	0.26

- 표 21에서의 실험과 비슷한 결과를 표 22의 실험에서도 나타내고 있다. 규조토의 함량이 많아 질수록 경도는 증가하였으며, 사용되는 수분량도 증가하였다. 탈크와 카오린의 함량은 경도에는 크게 영향을 미치지 못하는 못하였으나, 탈크와 카오린 함량의 합이 80%이상 일 때 경도가 좋지 않음을 알 수 있다. 규조토의 함량이 40%이상이어야 0.7Kg 이상의 경도를 확보 할 수 있고, 규조토의 함량이 사용되어야 하는 물의 함량을 결정하는 요인이라고 할 수 있다. 위와 같은 실험의 결과로 적절한 경도와 적절한 수분 필요량을 만족하는 #5번을 선정하여 펠렛 실험을 진행하였다.

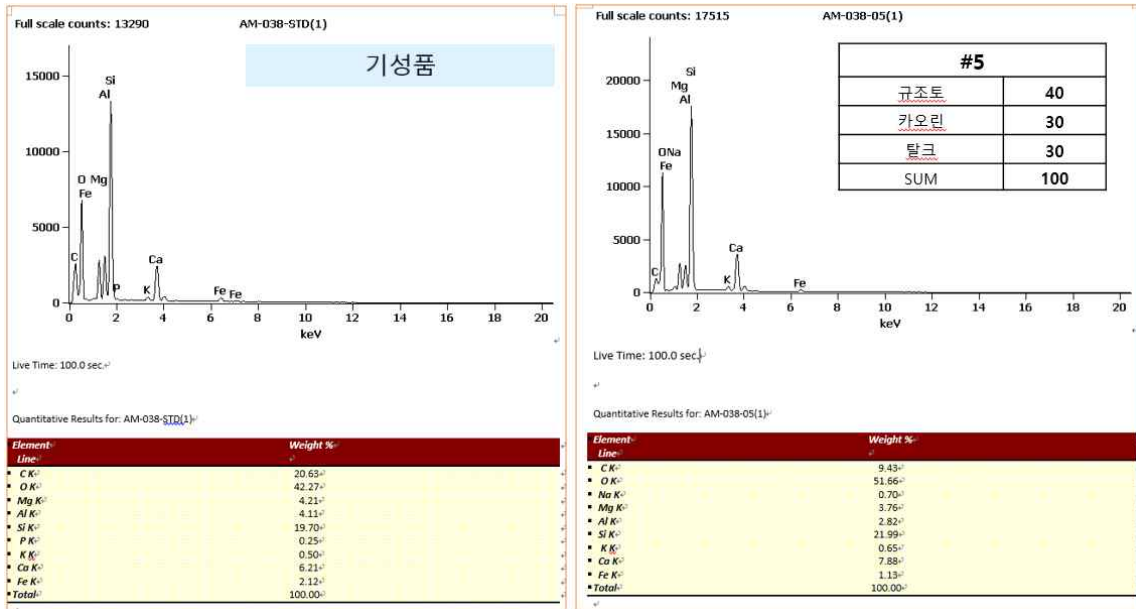


그림 27. 기성품과 #5번 배합품의 EDX data

- 그림 3에 기성품과 #5번 배합품의 EDX data를 비교하였다. 전체적인 무기물의 조성에는 EDX data상으로는 큰 차이가 없음을 알 수 있었다.

다. 종자 발아율 향상을 위한 펠렛 재료 배합비 개발

- 위의 실험에서 선정된 #5번 배합품을 이용하여 배추종자에 펠렛 코팅 작업을 진행하여 발아율 및 성형정도를 테스트 하였다.

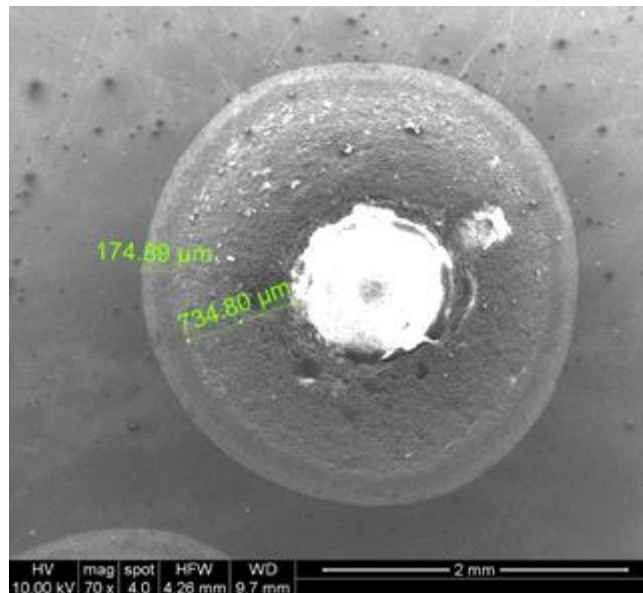


그림 28. #5 배합을 이용한 배추 펠렛

표 23. #5번을 이용한 배추 펠렛 종자의 발아율

종자	번호	내용	발아율	경도
배추	1	나중자	97 / 99	-
	2	#5번 배합품 + 물	95 / 98	0.43
	3	#5번 배합품 + 바인더(CMC)	97 / 99	0.64
	4	#5번 배합품 + 물(방부제)제	96 / 98	0.44
	5	규조토양 70%증가	92 / 95	0.62

- 표 23 은 #5 배합을 이용하여 배추 펠렛을 성형하고 발아율 테스트를 진행한 결과이다. 배추의 나중자 발아율은 99%이고, #5번에 바인더로 CMC(Carboxyl Methyl Cellulose)를 사용하거나 물에 방부제를 첨가하여 펠렛을 제조하여도 발아율은 98%~99%로 변화가 없음을 알 수 있다. 펠렛 성형 작업 시에 바인더를 물 대신 CMC를 사용하면 경도가 0.43Kg에서 0.64Kg으로 약 48%증가하는 것을 볼 수 있었다.
- CMC solution은 일정 기간이 지나면 곰팡이가 생기기 시작되는데 이러한 곰팡이를 방지하고자 방부제를 사용하여도 괜찮은지, 즉 펠렛된 종자에 방부제의 영향을 알아보려고 방부제가 함유된 물로 성형 작업을 진행하였고, 발아율에는 영향을 미치지 않는다는 것을 알 수 있었다.
- 또한 기존 배합에서 규조토의 양을 증가하여(약 70%) 펠렛 작업을 진행하여 발아율 테스트도 수행하였는데, 경도가 약 46%증가함을 알 수 있었다. 이러한 표 6 의 결과로 규조토의 양과 바인더(CMC)사용으로 요구하는 펠렛의 경도를 조절 할 수 있음을 확인하였다.

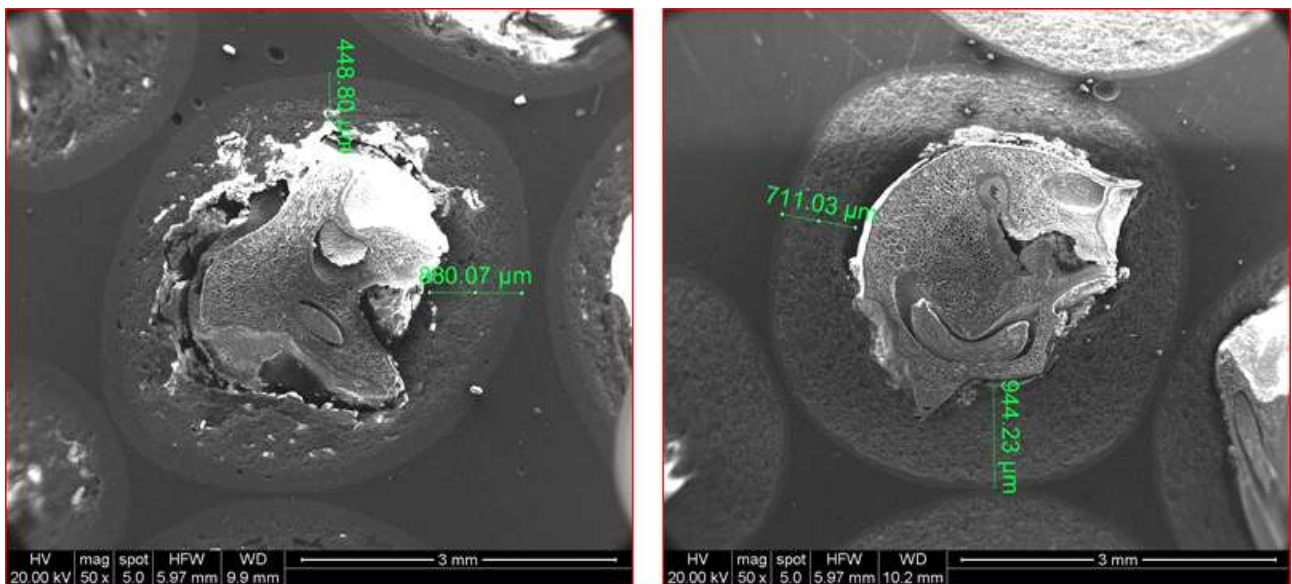


그림 29. 양과종자의 펠렛 코팅 후 SEM을 이용한 단면 이미지. (좌:#5기본, 우:수입소재)

- 그림 29는 #5번 배합을 기본으로 하는 펠렛 소재와 기존에 사용하던 수입소재를 이용하여 양과 종자의 펠렛 작업을 진행(1협동)하여 SEM을 이용하여 얻은 단면이미지이다. 이미지 상으로는 두 펠렛 종자 상의 차이점은 크게 없는 것으로 판단된다. 그림 6은 무종자의 펠렛 코팅 이미지로 그림 29과 같이 1협동에서 두 가지의 소재를 이용하여 작업한 펠렛 종자의 SEM 단면 이미지이다.

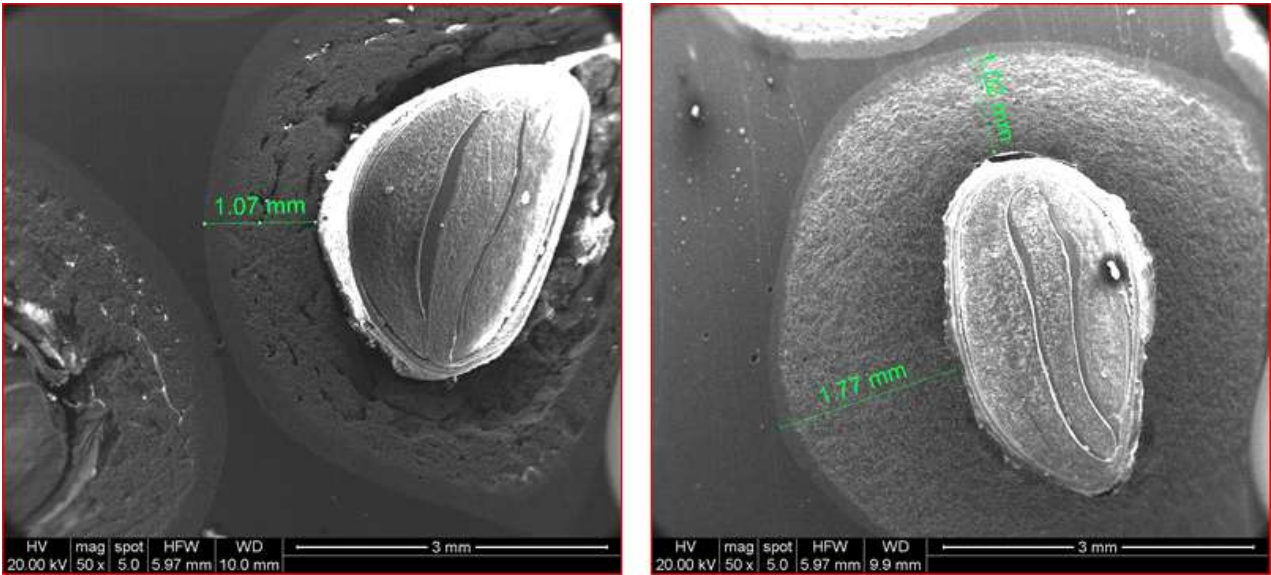


그림 30. 무 종자의 펠렛 코팅 후 SEM을 이용한 단면 이미지. (좌:#5기본, 우:수입소재)

라. 결과 및 고찰

- 종자 펠렛 코팅에 사용 가능한 원재료들을 선별하여, 펠렛 코팅 소재로서의 가능성을 확인하였다.
 - 펠렛 코팅 원재료로 사용될 체질은 규조토, 탈크, 카오린을 선정하였으며, 실험을 통하여 각각의 원재료의 혼합비율을 결정하였다.
 - 혼합비율이 결정된 #5 배합품으로 배추 펠렛 코팅 작업 시 성형에 문제가 되지 않았고, 바인더(CMC)의 사용으로 적정한 펠렛 경도를 확보 할 수 있었다.
 - #5 배합품의 배추 펠렛 발아율도 나종자와 비교하였을 때 발아에 부정적인 요소가 없음을 알 수 있었다.
- 펠렛 코팅 소재의 #5번의 배합을 기본으로 하여 함량 변화 및 과산화물 첨가 등의 배합으로 현재 까지 총 5개의 펠렛 소재를 제공하여 성형정도, 종자 발아율 등을 참여기관에서 테스트 하였지만, 상업적으로 이용하기 위해서는 발아율도 중요한 인자이지만, 대량 작업 시에 펠렛 코팅 작업의 효율도 중요한 인자이므로, 펠렛 코팅시의 작업 적인 측면에 대한 배합 개선도 필요하다.

3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

3-1. 목표

내용	현재 수준	목표 수준 및 최종 성과물(2020)
프라이밍 처리 기술개발	30%	75%
	<ul style="list-style-type: none"> ▷ 무, 배추, 수박, 고추의 발아 개량처리는 상위권이나 그 외 10 품목은 중하위권임 	<ul style="list-style-type: none"> ▷ 친환경적 가공처리 기술개발→특허 ▷ 품목별 2개 이상의 선택적 제조법 개발(28개) → 산업화 ▷ 장비 개발 → 기술이전
필름코팅 처리 기술개발	50%	100%
	<ul style="list-style-type: none"> ▷ 수입원재를 모방하여 재현 ▷ 수입장비를 모방하여 재현 ▷ 자체적인 기술개발 	<ul style="list-style-type: none"> ▷ 발아율에 영향없는 기술개발→특허 ▷ 품목별 제조법 개발(14개) → 산업화 ▷ 장비 개발 → 기술이전
펠릿코팅 처리 기술개발	10%	30%
	<ul style="list-style-type: none"> ▷ 수명저하(3개월 이하) ▷ 발아율 저하 ▷ 수입원재 및 장비 활용 ▷ 성형기술만 보유 	<ul style="list-style-type: none"> ▷ 품목별 제조법 개발 → 산업화 ▷ 종자수명 6개월 보장 → 특허 ▷ 2종의 펠릿 소재 개발 ▷ 장비 개발 → 기술이전 및 특허
비파괴종자 선별기술개발	60%	90%
	<ul style="list-style-type: none"> ▷ 인위적 퇴화종자의 비활력 선별 ▷ 단립선별만 가능 ▷ 활력수준까지 분석안됨 	<ul style="list-style-type: none"> ▷ 비정상립, 비활력립 선별장비 및 시스템 개발 → 전시 및 특허 ▷ 집단선별 → 기술이전 ▷ 99%의 정확성 ▷ 활력수준까지 선별 → 특허
종자소독처리 기술개발	30%	70%
	<ul style="list-style-type: none"> ▷ 대부분 건열처리나 농약처리 ▷ 발아율 저하시킴 ▷ 상용화된 제제 없음 	<ul style="list-style-type: none"> ▷ 다중스트레스 조합처리를 이용한 위 해미생물 저감화기술 개발 → 논문, 특허 ▷ 친환경적 종자소독기술개발 → 논문, 특허 ▷ 발아율 저하없는 기술개발 → 논문, 특허
가공처리 장비 개발	20%	90%
	<ul style="list-style-type: none"> ▷ 수입장비 모방 ▷ 분진발생 	<ul style="list-style-type: none"> ▷ 한국형 가공처리 장비개발(3개) → 산업화
종자품질보증패키지 개발	-	100%
	<ul style="list-style-type: none"> ▷ 프로토콜 부재 ▷ 표준운영절차 부재 	<ul style="list-style-type: none"> ▷ 품목별 최적처리·보관 품질보증(14개) → 교육, 인력양성

3-2. 목표 달성여부

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 프라이밍 처리 기술개발 · 친환경적 가공처리 기술개발 → 특허 · 품목별 2개 이상의 선택적 제조법 개발(28개) → 산업화 · 장비 개발 → 기술이전	○ 다양한 프라이밍 조건(시약, 친환경소재 등)을 처리하여 작물별 최적화된 처리 조건 규명 ○ 연구용 프라이밍(35L) 기기 제작 완료 ○ 드럼 프라이밍 기기 제작 완료 ○ 산업용 프라이밍(3구:210L) 기기 제작 완료
② 필름코팅 처리 기술개발 · 발아율에 영향없는 기술개발 → 특허 · 품목별 제조법 개발(14개) → 산업화 · 장비 개발 → 기술이전	○ 기존 외산 필름 코팅제품에 비해 동등이상의 성능을 가지는 종자용 필름코팅제 개발 ○ 과제 성과로 개발된 필름코팅제 및 방법은 현재 산업화하여 판매 중
③ 펠렛코팅 처리 기술개발 · 품목별 제조법 개발 → 산업화 · 종자수명 6개월 보장 → 특허 · 2종의 펠렛 소재 개발 · 장비 개발 → 기술이전 및 특허	○ 펠렛 소재개발은 당초 연구 목표는 달성하였으나, 기타 종자에 적용 시 산업적으로 이용 한계가 있음 ○ 소재 개발은 진행 중이지만, 연구 목표인 선진국 대비 30% 이상의 기술개발은 이루어짐
④ 비파괴종자 선별 기술개발 · 비정상립, 비활력립 선별장비 및 시스템 개발 → 전시 및 특허 · 집단선별 → 기술이전 · 99%의 정확성 · 활력수준까지 선별 → 특허	○ 종자 비활력/비정상발아 검출 시스템 개발 및 지적재산권 확보 완료 ○ 초분광 영상을 활용한 집단선별 특허 기술이전 완료 ○ 영상분석 기술을 이용한 종자품질 선별 정확도는 X-ray 영상 91%와 초분광 영상 89%를 기준으로 연속적 선별 가정 시 98.8% 이상의 정확성 확보가 가능함(수박 청북꿀 품종 기준) ○ 종자발아 비파괴 선별기술에 대한 특허 등록 완료
⑤ 종자소독처리 기술개발 · 다중스트레스 조합처리를 이용한 위해미생물 저감화기술 개발 → 논문, 특허 · 친환경적 종자소독기술개발 → 논문, 특허 · 발아율 저하없는 기술개발 → 논문, 특허	○ 다중스트레스 조합을 이용한 종자살균 연구 → 논문 7건, 특허 출원 2건, 특허 등록 1건 ○ 길항미생물 대사체를 이용한 종자살균 연구 → 논문 2건, 특허 출원 4건, 특허 등록 3건
⑥ 가공처리 장비 개발 · 한국형 가공처리 장비개발(3개) → 산업화	○ 직경 500mm 의 크기로, 용제의 주입방식은 주사기 방식으로 코팅 원관 가운데에 용제를 투입하면 용제가 스프레이분사 형태로 종자에 코팅이 입혀지는 방식으로 실험용으로 제작완료 ○ 기존 제작한 필름코팅기보다 원관길이를 700mm(700mm)로 늘려서 제작 완료 ○ 소형(5L), 대형(85L) 종자건조기 제작 완료 ○ 기기제작 후 사업화 하여 판매 중
⑦ 종자품질보증패키지개발 · 품목별 최적처리·보관 품질보증(14개) → 교육, 인력양성	○ 프라이밍 처리 종자의 최적 저장 조건 규명: 작물별 프라이밍 처리종자를 온도, 기간, 용기별로 저장하여 최적 저장 조건 선정 ○ 필름코팅 처리 종자의 최적 저장 조건 규명: 작물별 프라이밍 처리종자를 온도, 기간, 용기별로 저장하여 최적 저장 조건 선정 ○ 프라이밍, 필름코팅 처리 종자의 최적 저장 조건 규명 ○ 교육 및 인력양성 11건 완료

3-3. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

4. 연구결과의 활용 계획 등

4-1. 활용분야

- 1) 처리 조건의 다양화로 양파, 당근 등 채소 종자의 친환경적 프라이밍처리 산업화
- 2) 초음파와 적외선을 이용한 친환경적인 종자 표면의 발아억제물질 제거 및 소독 효과를 통해 프라이밍의 효과를 극대화시킴으로써 종자의 품질 향상
- 3) 해외 수입에 의존하던 종자 코팅제의 국산화로 국내 영세 종자업체의 생산단가 절감효과 증대 및 코팅제 수출을 통한 산업화
- 4) 종자 코팅기계 장치 국산화로 종자가공처리 분야의 기술 발전 및 종자품질 향상
- 5) 초분광, 근적외선 및 X-ray 영상장치를 이용한 딥러닝 분석기술 및 빅데이터 등의 융복합 기술을 통한 종자품질검정법의 개발
- 6) 종자의 발아에 영향을 미치지 않으며 친환경적인 종자소독

4-2. 추가연구 수행 및 타연구 활용

- 1) 기계생력화 파종을 위한 종자 펠렛 물질의 완성도를 높이기 위하여 추가 연구가 필요함
- 2) 초분광, 근적외선 및 X-ray 영상장치를 이용한 종자품질검정에 대한 후속연구가 요구됨
가. 고가종자 발아판별 모델 개발을 위한 다양한 종자 분광 빅 데이터구축 연구
나. 최신 인공지능 딥러닝 판별 모델 적용을 통한 정확도 향상 연구
다. 초고속 선별을 위한 자유낙하방식의 초분광 영상종자선별 신기술 도입 연구
라. 현장적용을 위한 초분광 및 X-ray 영상 융합장치 개발
- 3) 세계 최초로 도입된 초음파와 적외선을 이용한 프라이밍 처리는 다양한 작물에 적용할 수 있는 기초자료로 사용될 수 있음
- 4) 친환경적인 종자소독법은 종자의 생산, 저장, 유통 및 판매의 모든 과정에서 적용할 수 있도록 응용 연구 가능

붙임. 참고문헌

- Ahmed, M. R., Yasmin, J., Lee, W.-H., Mo, C., & Cho, B.-K. (2017). Imaging Technologies for Nondestructive Measurement of Internal Properties of Agricultural Products: A Review. *Journal of Biosystems Engineering*, 42(3), 199-216. <https://doi.org/10.5307/JBE.2017.42.3>. 199
- Ahonen, T., Matas, J., He, C., & Pietikäinen, M. (2009). Rotation invariant image description with local binary pattern histogram fourier features. *Lecture Notes in Computer Science*, 5575 LNCS, 61-70. https://doi.org/10.1007/978-3-642-02230-2_7
- Al-Turki, T. A., & Baskin, C. C. (2017). Determination of seed viability of eight wild Saudi Arabian species by germination and X-ray tests. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(4), 822-829. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.06.009>
- Alvarenga, A. V., Pereira, W. C. A., Infantosi, A. F. C., & Azevedo, C. M. (2007). Complexity curve and grey level co-occurrence matrix in the texture evaluation of breast tumor on ultrasound images. *Medical Physics*, 34(2), 379-387. <https://doi.org/10.1118/1.2401039>
- Amaral, J. B. do, Martins, L., Forti, V. A., Cícero, S. M., & Marcos Filho, J. (2011). X-ray test to evaluate the physiological potential of *Tabebuia heptaphylla* seeds. *Revista Brasileira de Sementes*, 33(4), 601-607. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222011000400001>
- Anjos, A. dos, & Shahbazkia, H. R. (2008). Bi-level image thresholding—a fast method. *Biosignals*, 2, 70-76. <https://doi.org/10.5220/0001064300700076>
- Argerich, C. A., & Bradford, K. J. (1989). The effects of priming and ageing on seed vigour in tomato. *Journal of Experimental Botany*, 40(5), 599-607. <https://doi.org/10.1093/jxb/40.5.599>
- Arias-Castro, E., & Donoho, D. L. (2009). Does median filtering truly preserve edges better than linear filtering? *Annals of Statistics*, 37(3), 1172-1206. <https://doi.org/10.1214/08-AOS604>
- Association of Analytical Chemists (AOAC). (1980). *Official methods of analysis* (13th edn.).
- Bala, M., & Singh, M. (2013). Non destructive estimation of total phenol and crude fiber content in intact seeds of rapeseed-mustard using FTNIR. *Industrial Crops and Products*, 42(1), 357-362. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.06.014>
- Balešević-Tubić, S., Malenčić, Đ., Tatić, M., & Miladinović, J. (2005). Influence of aging process on biochemical changes in sunflower seed. *Helia*, 28(42), 107-114. <https://www.degruyter.com/view/j/helia.2005.28.issue-42/hel0542107b/hel0542107b.xml>
- Barcelon, E. G., Tojo, S., & Watanabe, K. (1999a). Relating X-ray absorption and some quality characteristics of mango fruit (*Mangifera indica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(9), 3822-3825. <https://doi.org/10.1021/jf980690e>
- Barcelon, E. G., Tojo, S., & Watanabe, K. (1999b). X-ray Computed Tomography for In

- ternal Quality Evaluation of Peaches. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 73(4), 323-330. <https://doi.org/10.1006/JAER.1999.0409>
- Barton, L. V. (1961). Seed Preservation and Longevity. In *Seed Preservation and Longevity*. Leonard Hill, London, and Interscience Publishers, N.Y.
- Baskin, J. M., & Baskin, C. C. (2014). Types of seeds and kinds of seed dormancy. In *Seeds*. Elsevier, Amsterdam. <https://doi.org/10.1079/ssr2003150>
- Begum, M., Venudevan, B., & Journal, M. J. (2013). Storage fungi in groundnut and the associate seed quality deterioration-A Review. *Plant Pathology Journal*, 12(3), 127-134. <http://docsdrive.com/pdfs/ansinet/ppj/2013/127-134.pdf>
- Bewley, J. D., & Black, M. (1994). Seeds. In *Seeds* (pp. 1-33). Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-1002-8_1
- Bailly C, Benamar A, Corbineau F, Come D. 1996. Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated aging. *Physiol. Plant.* 97: 104-110.
- Bethke PC, Gubler F, Jacobsen JV, Jones RL. 2004. Dormancy of Arabidopsis seeds and barley grains can be broken by nitric oxide. *Planta.* 219: 847-855.
- Bethke PC, Libourel IGL, Jones RL. 2007. Nitric oxide in seed dormancy and germination. In: Bradford, K. and Nonogaki, H. (eds) *Seed Development, Dormancy and Germination*. Blackwell Publishing Ltd. Oxford. 153-175.
- Beligni MV, Lamattina L. 2000. Nitric oxide stimulates seed germination and de-etiolation, and inhibits hypocotyl elongation, three light-inducible responses in plants. *Planta.* 210: 215-221.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature.* 181: 1199-1200.
- Biglari F, AlKarkhi AMF, Easa AM. 2008. Antioxidant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran. *Food Chem.* 107: 1636-164.
- Bhatia, V. S., Yadav, S., Jumrani, K., & Guruprasad, K. N. (2010). Field Deterioration of Soybean Seed: Role of Oxidative Stresses and Antioxidant Defense Mechanism. *Journal of Plant Biology*, 30(2), 179-190. <https://www.researchgate.net/publication/263004071>
- Biabani, A., Carpenter Boggs, L., Katozi, M., & Sabouri, H. (2011). Effects of seed deterioration and inoculation with *Mesorhizobium ciceri* on yield and plant performance of chickpea. *Australian Journal of Crop Science*, 5(1), 66-70. <https://search.informit.com.au/documentSummary?dn=834683561630686;res=IELHSS>
- Bino, R. J., Aartse, J. W., & van der Burg, W. J. (1993). Non-destructive X-ray analysis of Arabidopsis embryo mutants. *Seed Science Research*, 3(3), 167-170. <https://doi.org/10.1017/S0960258500001744>
- Bishop, C. M. (2006). *Pattern Recognition and Machine Learning (Information Science and Statistics)*. Springer-Verlag New York, Inc.

- Boesewinkel, F. D., & Bouman, F. (1984a). The Seed: Structure. In B. M. Johri (Ed.), *Embryology of Angiosperms* (pp. 567-610). Springer Berlin Heidelberg.
- Boesewinkel, F. D., & Bouman, F. (1984b). The Seed: Structure. In *Embryology of Angiosperms* (pp. 567-610). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-69302-1_12
- Borràs, E., Ferré, J., Boqué, R., Mestres, M., Aceña, L., Calvo, A., & Busto, O. (2016). Olive oil sensory defects classification with data fusion of instrumental techniques and multivariate analysis (PLS-DA). *Food Chemistry*, *203*, 314-322. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.038>
- Botella, C., Ferré, J., & Boqué, R. (2009). Classification from microarray data using probabilistic discriminant partial least squares with reject option. *Talanta*, *80*(1), 321-328. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.06.072>
- Bro, R., & Smilde, A. K. (2014). Principal component analysis. *Analytical Methods*, *6*(9), 2812-2831. <https://doi.org/10.1039/c3ay41907j>
- Burg, W. J. van der, Aartse, J. W., Zwol, R. van, Jalink, H., & Bino, R. J. (1994). Predicting tomato seedling morphology by X-ray analysis of seeds. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, *119*(2), 258-263.
- Bushberg, J. T., Seibert, J. A., Leidholdt, E. M., & Boone, J. M. (2002). The essential physics of medical imaging. In *Lippincott Williams & Wilkins*. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, USA. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00259-003-1310-2>
- Carvalho, M. L. M., Van Aelst, A. C., Walter Van Eck, J., & Hoekstra, F. A. (1999). Pre-harvest stress cracks in maize (*Zea mays* L.) kernels as characterized by visual, X-ray and low temperature scanning electron microscopical analysis: effect on kernel quality. *Seed Science Research*, *9*, 227-236. <https://doi.org/10.1017/S0960258599000239>
- Clissia BS, Julio MF. 2015. Performance of bell pepper seeds in response to drum priming with addition of 2,4-Epibrassinolide. *Hort. Sci.* *50*(6): 873-878.
- Chai, Z., Mendez-Vazquez, H., He, R., Sun, Z., & Tan, T. (2013). Semantic pixel sets based local binary patterns for face recognition. *Lecture Notes in Computer Science*, *7725 LNCS(PART 2)*, 639-651. https://doi.org/10.1007/978-3-642-37444-9_50
- Chavagnat, A., & Le Lezec, M. (1985). Assessment of seed quality by industrial X-ray radiography. Application to apple seeds (*Malus pumila* Mill.). *Agronomie*, *5*, 187-192.
- Christin, C., Hoefsloot, H. C. J., Smilde, A. K., Hoekman, B., Suits, F., Bischoff, R., & Horvatovich, P. (2013). A critical assessment of feature selection methods for biomarker discovery in clinical proteomics. *Molecular and Cellular Proteomics*, *12*(1), 263-276. <https://doi.org/10.1074/mcp.M112.022566>
- Cicero, S. M., Van Der Heijden, G. W. A. M., Van Der Burg, W. J., & Bino, R. J. (1998). Evaluation of mechanical damage in seeds of maize (*Zea mays* L.) by X-ray a

- nd digital imaging. *Seed Science and Technology*, 26, 603-612.
- Cireşan, D. C., Giusti, A., Gambardella, L. M., & Schmidhuber, J. (2013). Mitosis detection in breast cancer histology images with deep neural networks. *International Conference on Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention*, 411-418. https://doi.org/10.1007/978-3-642-40763-5_51
- Clausi, D. A. (2002). An analysis of co-occurrence texture statistics as a function of grey level quantization. *Canadian Journal of Remote Sensing*, 28(1), 45-62. <https://doi.org/10.5589/m02-004>
- Copeland, L. O., & McDonald, M. B. (1999). Seed Formation and Development. In *Principles of Seed Science and Technology* (pp. 17-39). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1783-2_2
- Craviotto, R. M., Arango, M. R., Salinas, A. R., Gibbons, R., Bergmann, R., & Montero, M. S. (2004). A device for automated digital x-ray imaging for seed analysis. *Seed Science and Technology*, 32(3), 867-871.
- Craviotto, Roque Mario, Yoldjian, A. M., Salinas, A. R., Arango, M. R., Bisaro, V., & Maturo, H. (2002). Description of a pure seed fraction of oat through usual evaluations and radiographic images. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 37(8), 1183-1188. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2002000800017>
- Cunningham, P.´adraig, & Delany, S. J. (2007). *k-Nearest neighbour classifiers*. Technical Report UCD-CSI-2007-4.
- Da Silva, R. R., Siqueira, M. H., Calôba, L. P., Da Silva, I. C., De Carvalho, A., & Rebello, J. (2002). Contribution To The Development Of A Radiographic Inspection Automated System. *Journal of Nondestructive Testing*, 7(12), 1-8. <https://www.ndt.net/article/ecndt02/274/274.htm>
- Danielsson, P. E. (1980). Euclidean distance mapping. *Computer Graphics and Image Processing*, 14(3), 227-248. [https://doi.org/10.1016/0146-664X\(80\)90054-4](https://doi.org/10.1016/0146-664X(80)90054-4)
- De Maesschalck, R., Jouan-Rimbaud, D., & Massart, D. L. (2000). The Mahalanobis distance. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 50(1), 1-18. [https://doi.org/10.1016/S0169-7439\(99\)00047-7](https://doi.org/10.1016/S0169-7439(99)00047-7)
- Delledonne M. 2005. NO news is good news for plants. *Current Opinion in Plant Biology*. 8: 390-396.
- Donis-González, I. R., Guyer, D. E., Pease, A., & Fulbright, D. W. (2012). Relation of computerized tomography Hounsfield unit measurements and internal components of fresh chestnuts (*Castanea* spp.). *Postharvest Biology and Technology*, 64(1), 74-82. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.09.018>
- Donis-González, Irwin R., Guyer, D. E., Chen, R., & Pease, A. (2015). Evaluation of undesirable fibrous tissue in processing carrots using Computed Tomography (CT) and structural fiber biochemistry. *Journal of Food Engineering*, 153, 108-116. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.12.012>
- Donis-González, Irwin R., Guyer, D. E., Fulbright, D. W., & Pease, A. (2014). Postharve

- st noninvasive assessment of fresh chestnut (*Castanea* spp.) internal decay using computer tomography images. *Postharvest Biology and Technology*, *94*, 14-25. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.02.016>
- Donis-González, Irwin R., Guyer, D. E., Leiva-Valenzuela, G. A., & Burns, J. (2013). Assessment of chestnut (*Castanea* spp.) slice quality using color images. *Journal of Food Engineering*, *115*(3), 407-414. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.09.017>
- Donis-González, Irwin R., Guyer, D. E., & Pease, A. (2012). Application of Response Surface Methodology to systematically optimize image quality in computer tomography: A case study using fresh chestnuts (*Castanea* spp.). *Computers and Electronics in Agriculture*, *87*, 94-107. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2012.04.006>
- Donis-González, Irwin R., Guyer, D. E., & Pease, A. (2016a). Postharvest noninvasive assessment of undesirable fibrous tissue in fresh processing carrots using computer tomography images. *Journal of Food Engineering*, *190*, 154-166. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.06.024>
- Donis-González, Irwin R., Guyer, D. E., & Pease, A. (2016b). Postharvest noninvasive assessment of undesirable fibrous tissue in fresh processing carrots using computer tomography images. *Journal of Food Engineering*, *190*, 154-166. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2016.06.024>
- Dos Santos, S. A., Da Silva, R. F., Pereira, M. G., Machado, J. C., Machado, C. F., Borém, F. M., Gomes, V. M., & Tonetti, O. A. O. (2009). X-ray technique application in evaluating the quality of papaya seeds. *Seed Science and Technology*, *37*(3), 776-780. <https://doi.org/10.15258/sst.2009.37.3.25>
- Duda, R. O., Hart, P. E., & Stork, D. G. (2012). *Pattern Classification*. Wiley-Interscience, New-York.
- Farhadi, R., Rahmani, M. R., Salehi, M., & Sadeghi, M. (2012). The effect of Artificial ageing on germination components and seedling growth of Basil (*Ocimum basilicum* L.) seeds. *Journal of Agricultural and Food Technology*, *2*(4), 69-72.
- Fernandes, J. S., Silva, D. F. D., Santos, H. O. D., & Pinho, É. V. D. R. V. (2016). X-ray test in the evaluation of seed quality of physalis at different stages of development. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, *15*(2), 165-168. <https://doi.org/10.5965/223811711842019459>
- Gagliardi, B., & Marcos-Filho, J. (2011). Relationship between germination and bell pepper seed structure assessed by the X-ray test. *Scientia Agricola*, *68*(4), 411-416. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162011000400004>
- Grinblat, G. L., Uzal, L. C., Larese, M. G., & Granitto, P. M. (2016). Deep learning for plant identification using vein morphological patterns. *Computers and Electronics in Agriculture*, *127*, 418-424. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2016.07.003>
- Gu, Q., Li, Z., & Han, J. (2012). Generalized Fisher Score for Feature Selection. *ArXiv Preprint ArXiv:1202.3725*. <http://arxiv.org/abs/1202.3725>
- Gu, Q., Li, Z., & Han, J. (2011). Linear discriminant dimensionality reduction. *Joint Eu*

- ropean Conference on Machine Learning and Knowledge Discovery in Databases, 549-564. https://doi.org/10.1007/978-3-642-23780-5_45
- Guyon, I., & Elisseeff, A. (2003). An introduction to variable and feature selection. *Journal of Machine Learning Research*, 3, 1157-1182. <https://doi.org/10.1162/153244303322753616>
- Haff, R. P., & Toyofuku, N. (2008). X-ray detection of defects and contaminants in the food industry. In *Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety* (Vol. 2, Issue 4, pp. 262-273). Springer. <https://doi.org/10.1007/s11694-008-9059-8>
- Han, Y. J., Bowers, S. V., & Dodd, R. B. (1992). Nondestructive Detection of Split-pit Peaches. *Transactions of the ASAE*, 35(6), 2063-2067. <https://doi.org/10.13031/2013.28835>
- Haralick, R. M., Shanmugam, K., & Dinstein, I. (1973). Textural Features. In *IEEE Transactions on Systems, Man and Cybernetics: Vol. SMC-3, No.* (pp. 610-621).
- Haralick, Robert M., Shanmugam, K., & Dinstein, I. (1973). Textural Features for Image Classification. *IEEE Transactions on Systems, Man and Cybernetics*, 3(6), 610-621.
- Harrington, J. F. (1972). Seed storage and longevity. In T. T. Kozlowski (Ed.), *Seed biology* (3rd ed., pp. 145-245). Academic Press, Inc., New York. https://books.google.co.kr/books?hl=en&lr=&id=RI04Uvkwq-sC&oi=fnd&pg=PA145&dq=Seed+biology+by+Harrington&ots=bAHBe38y9w&sig=-w7Dh27eSuHaf79wD54OKfhR-Gc&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false
- Hasan, M., preformanceedi, Kotov, A., Idalski Carcone, A., Dong, M., Naar, S., & Brogan Hartlieb, K. (2016). A study of the effectiveness of machine learning methods for classification of clinical interview fragments into a large number of categories. *Journal of Biomedical Informatics*, 62, 21-31. <https://doi.org/10.1016/j.jbi.2016.05.004>
- Herremans, E., Verboven, P., Bongaers, E., Estrade, P., Verlinden, B. E., Wevers, M., Hertog, M. L. A. T. M., & Nicolai, B. M. (2013). Characterisation of “Braeburn” broming disorder by means of X-ray micro-CT. *Postharvest Biology and Technology*, 75, 114-124. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.08.008>
- Herremans, E., Verboven, P., Defraeye, T., Rogge, S., Ho, Q. T., Hertog, M. L. A. T. M., Verlinden, B. E., Bongaers, E., Wevers, M., & Nicolai, B. M. (2014). X-ray CT for quantitative food microstructure engineering: The apple case. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 324, 88-94. <https://doi.org/10.1016/j.nimb.2013.07.035>
- Herremans, E., Verboven, P., Verlinden, B. E., Cantre, D., Abera, M., Wevers, M., & Nicolai, B. M. (2015). Automatic analysis of the 3-D microstructure of fruit parenchyma tissue using X-ray micro-CT explains differences in aeration. *BMC Plant Biology*, 15(1), 264. <https://doi.org/10.1186/s12870-015-0650-y>
- Heydecker, W., higgins, J, Gulliver, RL. 1973. Accelerated germination by osmotic seed

- treatment. *Naure, Lond.* 246:42-44.
- Heydecker, W, Turner, YJ.. 1975. Invigoration of seeds? *Seed science and Technology* 3: 881-888.
- Hu, L. Y., Huang, M. W., Ke, S. W., & Tsai, C. F. (2016). The distance function effect on k-nearest neighbor classification for medical datasets. *SpringerPlus*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/s40064-016-2941-7>
- Huang, M., Wang, Q. G., Zhu, Q. B., Qin, J. W., & Huang, G. (2015). Review of seed quality and safety tests using optical sensing technologies. In *Seed Science and Technology* (Vol. 43, Issue 3, pp. 337-366). International Seed Testing Association. <https://doi.org/10.15258/sst.2015.43.3.16>
- Huang, M., Wang, Q., Zhang, M., & Zhu, Q. (2014). Prediction of color and moisture content for vegetable soybean during drying using hyperspectral imaging technology. *Journal of Food Engineering*, 128, 24-30. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.12.008>
- International Seed Testing Association. (1993). International rules for seed testing. *Seed Science and Technology*, 21(Suppl.), 141-146. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19990307875>
- Ivanescu, A. E., Li, P., George, B., Brown, A. W., Keith, S. W., Raju, D., & Allison, D. B. (2016). The importance of prediction model validation and assessment in obesity and nutrition research. *International Journal of Obesity*, 40(6), 887-894. <https://doi.org/10.1038/ijo.2015.214>
- Jain, A. K., Duin, R. P. W., & Mao, J. (2000). Statistical pattern recognition: A review. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 22(1), 4-37. <https://doi.org/10.1109/34.824819>
- Jorge, M. H. A., & Ray, D. T. (2005a). Germination characterization of guayule seed by morphology, mass and, X-ray analysis. *Industrial Crops and Products*, 22(1), 59-63. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2004.05.007>
- Jorge, M. H. A., & Ray, D. T. (2005b). Germination characterization of guayule seed by morphology, mass and, X-ray analysis. *Industrial Crops and Products*, 22(1), 59-63. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2004.05.007>
- Jyoti, & Malik, C. P. (2013). Seed Deterioration : a Review. *International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research*, 2(3), 374-385.
- Kamm, K. F. (1998). Moderne Bildgebung: Physik, Geratetechnik, Bildbearbeitung und -kommunikation, Strahlenschutz, Qualitätskontrolle. In K. Ewen (Ed.), *Grundlagen der Rontgenabbildung* (pp. 45-62). Georg Thieme Verlag, Stuttgart & New York. https://doi.org/10.1007/978-3-642-55825-2_1
- Kapoor, N., Arya, A., Siddiqui, M. A., Amir, A., & Kumar, H. (2010). Seed deterioration in chickpea (*Cicer arietinum* L.) under accelerated ageing. *Asian Journal of Plant Sciences*, 9(3), 158-162.
- Karunakaran, C., Jayas, D. S., & White, N. D. G. (2003). Soft X-ray inspection of whe

- at kernels infested by *Sitophilus oryzae*. *Transactions of the ASAE*, 46(3), 739. <https://doi.org/10.13031/2013.13576>
- Keagy, P. M., & Schatzki, T. F. (1993). Machine recognition of weevil damage in wheat radiographs. In J. A. DeShazer & G. E. Meyer (Eds.), *Optics in Agriculture and Forestry* (Vol. 1836, pp. 108-119). SPIE. <https://doi.org/10.1117/12.144020>
- Kecman, V. (2005). *Support Vector Machines - An Introduction* (pp. 1-47). Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/10984697_1
- Kim, M. S., & Schatzki, T. F. (2000). Apple watercore sorting using X-ray imagery: I. Algorithm development. *Transactions of the ASAE*, 43(6), 1695-1702. <https://doi.org/10.13031/2013.3070>
- Kim, M. S., & Schatzki, T. F. (2001). Detection of pinholes in almonds through X-ray imaging. *Transactions of the ASAE*, 44(4), 997-1003. <https://doi.org/10.13031/2013.6232>
- Kotwaliwale, N., Kalne, A., & Singh, K. (2010). Radiography, CT and MRI. In *Nondestructive Evaluation of Food Quality* (pp. 101-140). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-15796-7_5
- Krizhevsky, A., Sutskever, I., & Hinton, G. E. (2012). ImageNet classification with deep convolutional neural networks. *Advances in Neural Information Processing Systems*, 2, 1097-1105.
- Kumar, A., & Pang, G. K. H. (2002). Defect detection in textured materials using Gabor filters. *IEEE Transactions on Industry Applications*, 38(2), 425-440. <https://doi.org/10.1109/28.993164>
- Kumar, G., & Bhatia, P. K. (2014). A detailed review of feature extraction in image processing systems. *International Conference on Advanced Computing and Communication Technologies, ACCT*, 5-12. <https://doi.org/10.1109/ACCT.2014.74>
- Lammertyn, J., Dresselaers, T., Van Hecke, P., Jancsó, P., Wevers, M., & Nicolai, B. M. (2003). MRI and X-ray CT study of spatial distribution of core breakdown in "Conference" pears. *Magnetic Resonance Imaging*, 21(7), 805-815. [https://doi.org/10.1016/S0730-725X\(03\)00105-X](https://doi.org/10.1016/S0730-725X(03)00105-X)
- Lamattina L, Garcia-Mata C, Graziano M, Pagnussat G. 2003. Nitric oxide: the versatility of an extensive signal molecule. *Annual Review of Plant Biology*. 54: 109-136.
- LeCun, Y., Bengio, Y., & Hinton, G. (2015). Deep learning. In *Nature* (Vol. 521, Issue 7553, pp. 436-444). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nature14539>
- Lee, H., Cho, B. K., Kim, M. S., Lee, W. H., Tewari, J., Bae, H., Sohn, S. I., & Chi, H. Y. (2013). Prediction of crude protein and oil content of soybeans using Raman spectroscopy. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 185, 694-700. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2013.04.103>
- López-Ribera, I., Vicent, C.M. 2017. Drought tolerance induced by sound in Arabidopsis plants. *Plant Signaling & Behav.*, 12, e1368938.
- Magwaza, L. S., & Opara, U. L. (2014). Investigating non-destructive quantification an

- d characterization of pomegranate fruit internal structure using X-ray computed tomography. *Postharvest Biology and Technology*, *95*, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.03.014>
- Mazliak, P. (1983). Plant membrane lipids: changes and alterations during aging and senescence. In M. Liebermann (Ed.), *Postharvest Physiology and Crop Preservation* (pp. 123-140). Plenum Press, New York. [https://books.google.co.kr/books?hl=en&lr=&id=bnrSBwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA1&dq=Postharvest+Physiology+and+Crop+Preservation+by+Mazliak&ots=HbcTGDEKml&sig=hPCRmiAa9tgwOgpB6RF_rHtq_wA&redir_esc=y#v=onepage&q=Postharvest Physiology and Crop Preservation by Mazliak](https://books.google.co.kr/books?hl=en&lr=&id=bnrSBwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA1&dq=Postharvest+Physiology+and+Crop+Preservation+by+Mazliak&ots=HbcTGDEKml&sig=hPCRmiAa9tgwOgpB6RF_rHtq_wA&redir_esc=y#v=onepage&q=Postharvest+Physiology+and+Crop+Preservation+by+Mazliak)
- McDonald, M. B. (1998). Seed quality assessment. *Seed Science Research*, *8*(02), 265-275.
- McDonald, M. B. (1999). Seed deterioration: physiology, repair and assessment. *Seed Science and Technology*, *27*(1), 177-237. <https://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=1898410>
- Mendoza, F., Verboven, P., Mebatsion, H. K., Kerckhofs, G., Wevers, M., & Nicolai, B. (2007). Three-dimensional pore space quantification of apple tissue using X-ray computed microtomography. *Planta*, *226*(3), 559-570. <https://doi.org/10.1007/s00425-007-0504-4>
- Meng, L.-S., Wang, Y.-B., Loake, G. J., & Jiang, J.-H. (2016). Seed Embryo Development Is Regulated via an AN3-MINI3 Gene Cascade. *Frontiers in Plant Science*, *7*, 1645.
- Mery, D. (2001). *Automated Flaw Detection in Castings from Digital Radioscopic Image Sequences*. Technical University of Berlin, Berlin.
- Mery, D., Chanona-Pérez, J. J., Soto, A., Aguilera, J. M., Cipriano, A., Veléz-Rivera, N., Arzate-Vázquez, I., & Gutiérrez-López, G. F. (2010). Quality classification of corn tortillas using computer vision. *Journal of Food Engineering*, *101*(4), 357-364. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.07.018>
- Mery, Domingo, & Filbert, D. (2002). Classification of potential defects in automated inspection of aluminium castings using statistical pattern recognition. *Proceedings of 8th European Conference on Non-Destructive Testing (ECNDT 2002)*. <http://www.diinf.usach.cl/~dmery/http://mt.tu-berlin.de/~filbert/>
- Mery, Domingo, Lillo, I., Loebel, H., Riffo, V., Soto, A., Cipriano, A., & Aguilera, J. M. (2011). Automated fish bone detection using X-ray imaging. *Journal of Food Engineering*, *105*(3), 485-492. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.03.007>
- Milner, M., Christensen, C. M., & Geddes, W. P. (1947). Grain storage studies. 6. Wheat respiration in relation to moisture content, mold growth, chemical deterioration, and heating. *Cereal Chemistry*, *24*, 182-199. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19471401554>
- Mitchell, T. (1997). *Machine learning*. McGraw Hill, New York. <https://profs.info.uaic.ro/~ciortuz/SLIDES/2017s/ml0.pdf>

- Mitsuhashi-Gonzalez, K., Pitts, M. J., Fellman, J. K., Curry, E. A., & Clary, C. D. (2010). Bruising Profile of Fresh Apples Associated with Tissue Type and Structure. *Applied Engineering in Agriculture*, 26(3), 509-517. <https://doi.org/10.13031/2013.29942>
- Nazari, M, Eteghadipour, M. 2017. Impacts of ultrasonic waves on seeds: a mini-review. *Agriculture Research & Technology: Open Access Journal*, 6, 555688.
- Neill S, Desikan R, Hancock JT. 2003. Nitric oxide signaling in plants. *New Phytologist*. 159: 11-35.
- Neethirajan, S., Jayas, D. S., & White, N. D. G. (2007). Detection of sprouted wheat kernels using soft X-ray image analysis. *Journal of Food Engineering*, 81(3), 509-513. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.11.020>
- Ng, C. B. R., Lu, G., & Zhang, D. (2005). Performance study of gabor filters and rotation invariant gabor filters. *Proceedings of the 11th International Multimedia Modelling Conference, MMM 2005*, 158-162. <https://doi.org/10.1109/MMMC.2005.59>
- Nguyen, D. V., & Rocke, D. M. (2002). Classification of Acute Leukemia Based on DNA Microarray Gene Expressions Using Partial Least Squares. In *Methods of Microarray Data Analysis* (pp. 109-124). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-0873-1_9
- Nixon, M. S., & Aguado, A. S. (2008). *Feature Extraction and Image Processing*. Elsevier, London. https://books.google.co.kr/books?hl=en&lr=&id=KcW-DwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Feature+Extraction+and+Image+Processing+by+nixon&ots=1-pD2pVB6O&sig=iTW1fQNjeIK77N8oSHjW4uFO4uM&redir_esc=y#v=onepage&q=Feature+Extraction+and+Image+Processing+by+nixon&f=false
- Ogawa, Y., Kondo, N., & Shibusawa, S. (2003). Inside quality evaluation of fruit by X-ray image. *IEEE/ASME International Conference on Advanced Intelligent Mechatronics, AIM, 2*, 1360-1365. <https://doi.org/10.1109/AIM.2003.1225541>
- Ojala, T., Pietikäinen, M., & Mäenpää, T. (2002). Multiresolution gray-scale and rotation invariant texture classification with local binary patterns. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 24(7), 971-987. <https://doi.org/10.1109/TPAMI.2002.1017623>
- Okochi, T., Hoshino, Y., Fujii, H., & Mitsutani, T. (2007). Nondestructive tree-ring measurements for Japanese oak and Japanese beech using micro-focus X-ray computed tomography. *Dendrochronologia*, 24(2-3), 155-164. <https://doi.org/10.1016/j.dendro.2006.10.010>
- Oquab, M., Bottou, L., Laptev, I., & Sivic, J. (2014). Learning and Transferring Mid-Level Image Representations using Convolutional Neural Networks. *Proceedings of the IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition*, 1717-1724.
- Otsu, N. (1979). A threshold selection method from gray-level histograms. *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics*, 9(1), 62-66. <http://webserver2.tecgraf.puc-rio.br/~mgattass/cg/trblmg/Otsu.pdf>

- Paradelo Gomes, K. B., Mesquita Matos, J. M., Soares Martins, I., Martins, C., & de Carvalho, R. (2016). X-ray test to evaluate the physiological potential of *Platypodium elegans* Vog. Seeds (Fabaceae). *Scientia Agropecuaria*, 7(3), 305-311. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.03.19>
- Pietikäinen, M., Ojala, T., & Xu, Z. (2000). Rotation-invariant texture classification using feature distributions. *Pattern Recognition*, 33(1), 43-52. [https://doi.org/10.1016/S0031-3203\(99\)00032-1](https://doi.org/10.1016/S0031-3203(99)00032-1)
- Qiu, Z., Chen, J., Zhao, Y., Zhu, S., He, Y., & Zhang, C. (2018). Variety identification of single rice seed using hyperspectral imaging combined with convolutional neural network. *Applied Sciences*, 8(2), 1-12. <https://doi.org/10.3390/app8020212>
- Rahman, A., & Cho, B. K. (2016). Assessment of seed quality using non-destructive measurement techniques: A review. In *Seed Science Research* (Vol. 26, Issue 4, pp. 285-305). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/S0960258516000234>
- Rahman, M. M., Gu, Y., & Karim, M. A. (2018). Development of realistic food microstructure considering the structural heterogeneity of cells and intercellular space. *Food Structure*, 15, 9-16. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2018.01.002>
- Sa, I., Ge, Z., Dayoub, F., Upcroft, B., Perez, T., & McCool, C. (2016). DeepFruits: A Fruit Detection System Using Deep Neural Networks. *Sensors*, 16(8), 1222. <https://doi.org/10.3390/s16081222>
- Shahin, M. A., Tollner, E. W., Gitaitis, R. D., Sumner, D. R., & Maw, B. W. (2002). Classification of sweet onions based on internal defects using image processing and neural network techniques. *Transactions of the ASAE*, 45(5), 1613-1618. <https://doi.org/10.13031/2013.11046>
- Shapiro, L., & Stockman, G. (2001). *Computer Vision*. Prentice Hall Inc., NJ. [https://books.google.co.kr/books?hl=en&lr=&id=HpQLbBL9ENkC&oi=fnd&pg=PP1&dq=computer+vision+by+shapiro&ots=4c1RzRM1ZL&sig=V2fwnsTsXo48YqYP0Fqtjh8lxUw&redir_esc=y#v=onepage&q=computer vision by shapiro&f=false](https://books.google.co.kr/books?hl=en&lr=&id=HpQLbBL9ENkC&oi=fnd&pg=PP1&dq=computer+vision+by+shapiro&ots=4c1RzRM1ZL&sig=V2fwnsTsXo48YqYP0Fqtjh8lxUw&redir_esc=y#v=onepage&q=computer%20vision%20by%20shapiro&f=false)
- Sharma, E. K., Priyanka, E., Kalsh, E. A., & Saini, E. K. (2015). GLCM and its Features. *International Journal of Advanced Research in Electronics and Communication Engineering (IJARECE)*, 4(8), 2180-2182.
- Shelar, V., Shaikh, R., & Nikam, A. (2008). Soybean seed quality during storage: a review. *Agricultural Reviews*, 29(2), 125-131. <http://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:ar&volume=29&issue=2&article=006>
- Shin, H. C., Roth, H. R., Gao, M., Lu, L., Xu, Z., Nogues, I., Yao, J., Mollura, D., & Summers, R. M. (2016). Deep Convolutional Neural Networks for Computer-Aided Detection: CNN Architectures, Dataset Characteristics and Transfer Learning. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 35(5), 1285-1298. <https://doi.org/10.1109/TMI.2016.2528162>
- Silva, V. N., Cicero, S. M., & Bennett, M. (2012). Relationship between eggplant seed morphology and germination. *Revista Brasileira de Sementes*, 34(4), 597-604. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1516949912000000>

s://doi.org/10.1590/S0101-31222012000400010

- Simak, M., & Gustafsson, V. (1953). X-ray photography and sensitivity in forest tree species. *Hereditas*, 39(3-4), 458-468. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1953.tb03430.x>
- Singh, S., Haddon, J., & Markou, M. (2001). Nearest-neighbour classifiers in natural scene analysis. *Pattern Recognition*, 34(8), 1601-1612. [https://doi.org/10.1016/S0031-3203\(00\)00099-6](https://doi.org/10.1016/S0031-3203(00)00099-6)
- Soh, L., Tsatsoulis, C., & Member, S. (1999). Texture Analysis of SAR Sea Ice Imagery. *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing*, 37(2), 780-795. <https://doi.org/10.1109/36.752194>
- Song, Y., Huang, J., Zhou, D., Zha, H., & Lee, G. C. (2007). IKNN: Informative K-nearest neighbor pattern classification. *European Conference on Principles of Data Mining and Knowledge Discovery*, 248-264. https://doi.org/10.1007/978-3-540-74976-9_25
- Sood, S., Mahajan, S., Doegar, A., & Das, A. (2016). Internal crack detection in kidney bean seeds using X-ray imaging technique. *International Conference on Advances in Computing, Communications and Informatics (ICACCI)*, 2258-2261. <https://doi.org/10.1109/ICACCI.2016.7732388>
- Sreedhar, K., & Panlal, B. (2012). Enhancement of Images using Morphological Transformation. *International Journal of Computer Science and Information Technology*, 4(1), 33-50. <https://doi.org/10.5121/ijcsit.2012.4103>
- Suh, H. K., IJsselmuiden, J., Hofstee, J. W., & van Henten, E. J. (2018). Transfer learning for the classification of sugar beet and volunteer potato under field conditions. *Biosystems Engineering*, 174, 50-65. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2018.06.017>
- Sun, Y., Wang, X., & Tang, X. (2014). Deep Learning Face Representation from Predicting 10,000 Classes. *Proceedings of the IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition*, 1891-1898. https://www.cv-foundation.org/openaccess/content_cvpr_2014/html/Sun_Deep_Learning_Face_2014_CVPR_paper.html
- Sun, Yu, Liu, Y., Wang, G., & Zhang, H. (2017). Deep Learning for Plant Identification in Natural Environment. *Computational Intelligence and Neuroscience*, 2017(Article ID 7361042), 1-6. <https://doi.org/10.1155/2017/7361042>
- Sunoj, S., Igathinathane, C., & Visvanathan, R. (2016). Nondestructive determination of cocoa bean quality using FT-NIR spectroscopy. *Computers and Electronics in Agriculture*, 124, 234-242. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2016.04.012>
- Taiyan, Y., Yang, M., Ranzato, M., & Wolf, L. (2014). DeepFace: Closing the gap to human-level performance in face verification. *2014 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition*, 1701-1708. <https://doi.org/10.1109/CVPR.2014.220>
- Tao, Y., Chen, Z., Jing, H., & Walker, J. (2001). Internal inspection of deboned poultry using X-ray imaging and adaptive thresholding. *Transactions of the ASAE*, 44(4),

1005-1009. <https://doi.org/10.13031/2013.6233>

- Tilebeni, H. G., & Golpayegani, A. (2011). Effect of seed ageing on physiological and biochemical changes in rice seed (*Oryza sativa* L.). *International Journal of AgriScience*, 1(3), 138-143. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20123239771>
- Unser, M. (1986). Sum and difference histograms for texture classification. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 8(1), 118-125.
- Van der Burg, W. J., Aartse, J. W., Van Zwol, R. A., Jalink, H., & Bino, R. J. (1994). Predicting tomato seedling morphology by x-ray analysis of seeds. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119(2), 258-263.
- Vardhan, M. H., & Rao, S. V. (2014). GICM Architecture for Image Extraction. *International Journal of Advanced Research in Electronics and Communication Engineering (IJARECE)*, 3(1), 75-82.
- Varmuza, K., & Filzmsger, P. (2008). *Introduction to Multivariate Statistical Analysis in Chemometrics*. CRC Press Taylor & Francis Group.
- Verboven, P., Kerckhofs, G., Mebatsion, H. K., Quang, T. H., Temst, K., Wevers, M., Cloetens, P., & Nicolai, B. M. (2008). Three-dimensional gas exchange pathways in pome fruit characterized by synchrotron X-ray computed tomography. *Plant Physiology*, 147(2), 518-527. <https://doi.org/10.1104/pp.108.118935>
- VR Shelar, V. R. (2008). Role of mechanical damage in deterioration of soybean seed quality during storage—a review. *Agricultural Reviews*, 29(3), 177-184. <http://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:ar&volume=29&issue=3&article=003>
- Wang, S. X., Hu, R. F., Gao, K., Wali, F., Zan, G. Bin, Wang, D. J., Pan, Z. Y., & Wei, S. Q. (2017). Non-destructive study of fruits using grating-based X-ray imaging. *Nuclear Science and Techniques*, 28(2), 1-4. <https://doi.org/10.1007/s41365-016-0169-4>
- Warren JE., Bennett MA. 1997. Seed hydration using the drum priming system. *Hort. Sci.* 32(7):1220-1221.
- Wendehenne D, Durner J, Klessig DF. 2004. Nitric oxide: a new player in plant signaling and defence responses. *Current Opinion in Plant Biology*. 7: 449-455.
- Weiss, K., Khoshgoftaar, T. M., & Wang, D. D. (2016). A survey of transfer learning. *Journal of Big Data*, 3(1), 9. <https://doi.org/10.1186/s40537-016-0043-6>
- Wold, S., Sjöström, M., & Eriksson, L. (2001). PLS-regression: A basic tool of chemometrics. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 58(2), 109-130. [https://doi.org/10.1016/S0169-7439\(01\)00155-1](https://doi.org/10.1016/S0169-7439(01)00155-1)
- Wu, D., & Sun, D. W. (2013). Advanced applications of hyperspectral imaging technology for food quality and safety analysis and assessment: A review - Part I: Fundamentals. In *Innovative Food Science and Emerging Technologies* (Vol. 19, pp. 1-14). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.04.014>
- Xie, M., Jean, N., Burke, M., Lobell, D., & Ermon, S. (2016, March 5). Transfer Learning from Deep Features for Remote Sensing and Poverty Mapping. *Thirtieth AAAI*

Conference on Artificial Intelligence. www.aaai.org

- Xing, J., Symons, S., Hatcher, D., & Shahin, M. (2011). Comparison of short-wavelength infrared (SWIR) hyperspectral imaging system with an FT-NIR spectrophotometer for predicting alpha-amylase activities in individual Canadian Western Red Spring (CWRS) wheat kernels. *Biosystems Engineering*, *108*(4), 303–310. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2011.01.002>
- Yan, D., Duermeyer, L., Leoveanu, C., & Nambara, E. (2014). The functions of the endosperm during seed germination. *Plant and Cell Physiology*, *55*(9), 1521–1533. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcu089>
- Yasmin, J., Ahmed, M. R., Lohumi, S., Wakholi, C., Kim, M. S., & Cho, B. K. (2019). Classification method for viability screening of naturally aged watermelon seeds using FT-NIR spectroscopy. *Sensors*, *19*(5), 1190. <https://doi.org/10.3390/s19051190>
- Yin S et al. 2016. Nitric Oxide and Reactive Oxygen Species Coordinately Regulate the Germination of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* Urediniospores. *Front Microbiol.* *7*: 178.
- Zhang, J., Tan, T., & Ma, L. (2002). Invariant texture segmentation via circular gabor filters. *Proceedings - International Conference on Pattern Recognition*, *16*(2), 901–904. <https://doi.org/10.1109/icpr.2002.1048450>
- Zhao, X., Gao, Y., Wang, X., Li, C., Wang, S., & Feng, Q. (2016). Research on tomato seed vigor based on X-ray digital image. *Optoelectronic Imaging and Multimedia Technology IV*, *10020*, 100200J. <https://doi.org/10.1117/12.2246145>
- Zhou, F., Feng, J., & Shi, Q. (2001). Texture feature based on local fourier transform. *IEEE International Conference on Image Processing*, *2*, 610–613. <https://doi.org/10.1109/icip.2001.958567>
- Zhu, B., Jiang, L., Luo, Y., & Tao, Y. (2007). Gabor feature-based apple quality inspection using kernel principal component analysis. *Journal of Food Engineering*, *81*(4), 741–749. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.01.008>
- Zhu, S., Zhou, L., Gao, P., Bao, Y., He, Y., & Feng, L. (2019). Near-Infrared Hyperspectral Imaging Combined with Deep Learning to Identify Cotton Seed Varieties. *Molecules*, *24*(18), 3268. <https://doi.org/10.3390/molecules24183268>

[별첨 1]

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 선진국수준의 종자가공처리기술·장비개발의 국산화로 종자수출 지원				
	(영문) Localization and commercialization of product and equipment for seed enhancement and treatment with international level using advanced technology for seed exporting expansion				
주관연구기관	국립종자원		주 관 연 구 책 임 자	(소속) 종자검정연구센터	
참 여 기 업	(주)신농, (주)코레곤, 동아대, 충남대, 고려대, (주)노루홀딩스			(성명) 정은선	
총연구개발비 (4,667,500천원)	계	1,003,500천원	총 연구 기간	2016.05.19. ~ 2020.12.31.(5년6월)	
	정부출연 연구개발비	725,500천원	총 참 여 연 구 원 수	총 인 원	244
	기업부담금	251,000천원		내부인원	234
	연구기관부담금	-		외부인원	10
<p>○ 연구개발 목표 및 성과</p> <ul style="list-style-type: none"> - 세계 최고 기술력보유 선진국(일본, 네덜란드)수준까지 근접한 종자가공처리 신기술 개발 및 산업화 - 국제수준의 프라이밍 및 펠름코팅 장치 개발(현재 20%→ 선진국대비 90%) 및 산업화 - 가공처리종자의 품질보증 패키징 개발 <p>○ 연구내용 및 결과</p> <ul style="list-style-type: none"> - 주요 수출·입 채소원예작물 종자의 가공처리 신기술 개발 및 최적조건 선정 <ul style="list-style-type: none"> · (14작물): 무, 배추, 양배추, 상추, 수박, 호박, 대목, 오이, 멜론, 고추, 토마토, 파프리카, 양파, 당근 - 프라이밍처리 기술 개발 및 장비 개발 <ul style="list-style-type: none"> · 종자활력 증진 및 품질향상을 위한 친환경적 처리기술 개발 - 펠름코팅 원료 및 처리 기술 개발 및 장비 개발 <ul style="list-style-type: none"> · 저비용 고품질 무독성 원료 및 종자수명 유지의 점성조절제 개발 - 펠렛코팅 원료 및 처리 기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> · 종자수명에 영향을 미치지 않는 펠렛코팅 원료 및 처리 기술 개발 - 다중스트레스 조합을 이용한 종자의 살균기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> · 액체 및 기체 이산화염소 기반 허드테크놀러지를 이용한 종자의 살균기술 개발 - 식물유래 천연항균소재를 이용한 종자의 살균기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> · 액체상 및 기체상 식물 정유를 이용한 종자의 살균기술 개발 - 미생물 유래 천연항균소재를 이용한 종자 살균기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> · 길항미생물 및 길항미생물의 조추출물을 이용한 종자의 살균기술 개발 - 신속·정확한 비파괴 종자품질 검정 기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> · 종자품질(비정상립, 불충실립, 비활력립) 및 활력수준 선별 기술 개발 · X-ray 및 초분광 근적외선, 라만 영상 등 융·복합적 선별기법 개발 - 가공처리종자의 품질보증 패키징 기술개발 <ul style="list-style-type: none"> · 최적 가공처리→저장→기계화생력재배 품질보증 구축을 위한 품목별 프로토콜 구축 <p>○ 연구성과 활용실적 및 계획</p> <ul style="list-style-type: none"> - 가공처리 원료 및 원천기술력의 국산화·산업화로 민간기업 지원 - 종자가공처리 기술 및 장비(프라이밍, 펠렛코팅)의 산업화로 처리기술수준 상향화 - 선진국수준의 국내종자가공 전문처리업체가 신장할 수 있는 기반구축 					

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호		316011-05	
사업구분	수출전략기술개발사업				
연구분야				과제구분	단위
사업명	수출전략기술개발사업				주관
총괄과제	기재하지 않음			총괄책임자	기재하지 않음
과제명	선진국수준의 종자가공처리기술·장비 개발의 국산화로 종자수출 지원			과제유형	(기초,응용,개발)
연구기관	국립종자원			연구책임자	정은선
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차연도	2016.05.19.~2016.12.31.	490,000	163,500	653,500
	2차연도	2017.01.01.~2017.12.31.	752,500	251,000	1,003,500
	3차연도	2018.01.01.~2018.12.31.	752,500	251,000	1,003,500
	4차연도	2019.01.01.~2019.12.31.	752,500	251,000	1,003,500
	5차연도	2020.01.01.~2020.12.31.	752,500	251,000	1,003,500
	계	2016.05.19.~2020.12.31.	3,500,000	1,167,500	4,667,500
참여기업	(주)신농, (주)코레곤, 동아대학교, 충남대학교, 고려대학교, (주)노루홀딩스				
상대국	상대국연구기관				

※ 총 연구기간이 5차연도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2021년 2월 15일

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
국립종자원	센터장	정은선

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약	
----	--

I. 연구개발실적

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : 아주우수

- 종자가공 처리기술의 중요한 부분을 차지하고 있는 프라이밍 및 코팅 처리 장비·소재의 국산화는 최근 종자회사의 요구를 충실히 반영한 결과임
- 신기술을 도입한 작물별 최적의 프라이밍 처리기술은 종자 회사의 수익창출 등 종자산업에 긍정적인 영향을 줄 수 있으며, 친환경적인 종자 소독법 개발은 환경오염을 최소화 하며 종자품질 향상은 극대화 할 수 있는 기술임
- 초분광 등을 이용한 비파괴 종자품질 검정기술은 국제적으로도 개발이 시작 단계인 최신 기술로, 기술 선점 효과가 있음

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : 아주우수

- 쉽게 접할 수 있고 저렴한 종자가공처리의 기준을 제시함으로써 국내 종자가공처리 시장의 영세성, 미흡한 기술역량 및 전문인력부족 등의 극복에 기여
- 장비 및 소재의 국산화로 종자회사의 종자 생산비 절감 및 외화 유출 방지 효과 증대
- 비파괴 종자품질검정을 통해 종자의 가공처리 시 발생하는 손실을 줄이고, 종자의 품위를 높임으로써 수출 증대 등 종자산업발전에 기여

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : 우수

- 중소 규모의 종자회사에 저 비용의 종자처리 장비 및 기술을 보급함으로써 수익증대 효과
- 최적 프라이밍 조건 및 필름코팅 장비의 활용으로 고가종자 및 주요작물 종자의 품질을 향상시킴으로써 고품질 종자의 국내유통 및 종자 수출 증대에 기여
- 종자살균기술을 통해 국내 농작물의 생산량 증대, 종자의 저장성 향상 등의 효과를 가져 올 수 있으며 해외산업 시장 개척 기대

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : 우수

- 신 개념의 기술을 도입하여 연구함에 있어 선행연구에 대한 자료수집이나 정보가 많이 부족함에도 우수한 결과를 도출하였으며, 비파괴 종자품질검정법 연구는 세계적인 기술을 상회하는 수준으로 후행연구를 통하여 완성도 높은 결과를 기대

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수)

- 연구개발 시작 당시 계획했던 목표를 상회하는 논문발표 건수 및 특허 등록을 이루었으며, 국제종자 박람회 출품 전시 2회, 각 분야의 학회 발표 등 활발한 연구 활동을 수행하였음

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
① 프라이밍 처리 기술개발 · 친환경적 가공처리 기술개발 → 특허 · 품목별 2개 이상의 선택적 제조법 개발(28개) → 산업화 · 장비 개발 → 기술이전	20	100	○ 다양한 프라이밍 조건(시약, 친환경소재 등)을 처리하여 작물별 최적화된 처리 조건을 규명 ○ 연구용, 산업용 및 드럼 프라이밍 기기 제작 완료
② 필름코팅 처리 기술개발 · 발아율에 영향없는 기술개발 → 특허 · 품목별 제조법 개발(14개) → 산업화 · 장비 개발 → 기술이전	20	100	○ 종자 발아율에 영향이 없는 종자용 필름코팅제 개발로 외산제품을 대체할 수 있음. 기존 외산제품을 사용하던 종자회사에 제품 판매가 이루어지고 있음.
③ 펠렛코팅 처리 기술개발 · 품목별 제조법 개발 → 산업화 · 종자수명 6개월 보장 → 특허 · 2종의 펠렛 소재 개발 · 장비 개발 → 기술이전 및 특허	15	100	○ 종자용 펠렛 코팅소재의 개발로 십자화과에 펠렛 소재 적용 가능함. 기타 종자에 적용 시 산업적으로 이용 한계가 있음. ○ 소재 개발은 진행 중이지만, 연구 목표인 선진국 대비 30% 이상의 기술개발은 이루어짐
④ 비파괴종자 선별 기술개발 · 비정상립, 비활력립 선별장비 및 시스템 개발 → 전시 및 특허 · 집단선별 → 기술이전 · 99%의 정확성 · 활력수준까지 선별 → 특허	15	100	○ 종자 비활력/비정상발아 검출 시스템 개발 및 지적재산권 확보 완료 ○ 초분광 영상을 활용한 집단선별 특허 기술이전 완료 ○ 영상분석 기술을 이용한 종자품질 선별 정확도는 X-ray 영상 91%와 초분광 영상 89%를 기준으로 연속적 선별 가정 시 98.8% 이상의 정확성 확보가 가능함(수박 청복꿀 품종 기준) ○ 종자발아 비파괴 선별기술에 대한 특허 등록 완료
⑤ 종자소독처리 기술개발 · 다중스트레스 조합처리를 이용한 위해미생물 저감화기술 개발 → 논문, 특허 · 친환경적 종자소독기술개발 → 논문, 특허 · 발아율 저하없는 기술개발 → 논문, 특허	15	100	○ 기화성이 좋은 유기산을 선별하고, 액체 및 기체 이산화염소와 유기산 기체가 종자의 발아율에 미치는 영향과 위해미생물에 대한 항균력을 측정하였으며 상대습도와 온도 등 환경을 조절하여 보다 빠른 시간에 멸균을 시키기 위한 조건을 최적화함 ○ 식물위해미생물에 대해 항균성을 가지는 정유기체를 선별하고, 선별된 정유기체가 종자의 발아율에 미치는 영향과 위해미생물에 대한 항균효과를 측정하여 종자 살균기술로서의 실용성을 모색함 ○ 다양한 스크리닝법을 통해 종자감염 위해미생물에 대한 길항미생물을 선별하고, 유효성분 분석하였으며, 종자 처리 시 종자 발아율에 미치는 영향과 항균력을 검정하였음
⑥ 종자품질보증패키지개발 · 품목별 최적처리·보관 품질보증(14개) → 교육, 인력양성	15	100	○ 프라이밍 처리 종자의 최적 저장 조건 규명: 작물별 프라이밍 처리종자를 온도, 기간, 용기별로 저장하여 최적 저장 조건 선정 ○ 필름코팅 처리 종자의 최적 저장 조건 규명: 작물별 프라이밍 처리종자를 온도, 기간, 용기별로 저장하여 최적 저장 조건 선정 ○ 프라이밍, 필름코팅 처리 종자의 최적 저장 조건 규명 ○ 교육 및 인력양성 11건 완료
합계	100점		

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

- 국내의 종자 가공처리 기술은 20여년 전까지만 하더라도 크게 중요시 되지 않았지만, 국내·외 종자산업의 발전과 육종기술의 발달로 고품질 우량종자가 생산되고 소비자의 요구도가 크게 증가함에 따라 고도의 가공처리기술 개발이 필요하게 되었다.
- 시대의 흐름에 맞추어 선행 연구들이 진행 되었으나 영세 규모의 종자회사가 대다수인 국내 종자시장은 값싸고 손쉽게 접할 수 있는 장비와 기술들이 필요했다.
- 이에 본 연구는 신개념 프라이밍 장비 및 필름코팅 장비, 필름코팅소재 및 최적 프라이밍 기술을 개발하여 중소규모의 종자업체가 저 비용으로 쉽게 활용할 수 있도록 하였다.
- 초음파와 적외선을 이용한 프라이밍 기기는 세계 최초로 도입된 개념의 장비이며, 필름코팅 소재의 국산화와 종자소독기술의 개발은 미래지향적인 친 환경기술이다.
- 본 연구는 기초자료 제공에서 그치지 않고 상용화, 상업화 할 수 있는 장비와 소재 및 기술을 개발했다는데 큰 의미를 갖는다.

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

- 다른 선행연구들과 달리 장비 및 소재의 **국산화**를 이루었으며, 상업화에 일부 성공하여 매출이 발생하고 있고 이에 따른 **외화유출 방지**에 기여한 점
- **신기술**을 이용한 프라이밍 장비개발 및 국제수준을 상회하는 비파괴 종자품질검정 기술을 확보한 점
- 종자처리기술이 영세 종자회사 등, 종자산업에 적용되어 발전할 수 있는 가능성을 제시한 점

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

- **활용방안**
 - 초음파와 적외선을 이용한 친환경적인 종자 표면의 발아억제물질 제거 및 소독 효과를 통해 프라이밍의 효과를 극대화시킴으로써 양파, 당근 등 채소 종자의 친환경적 프라이밍처리 산업화
 - 해외 수입에 의존하던 종자 코팅제의 국산화로 국내 영세 종자업체의 생산단가 절감효과 증대 및 코팅제 수출을 통한 산업화
 - 종자 코팅기계 장치 국산화로 종자가공처리 분야의 기술 발전 및 종자품질 향상
 - 초분광, 근적외선 및 X-ray 영상장치를 이용한 딥러닝 분석기술 및 빅데이터 등의 융복합 기술을 통한 종자품질검정법의 개발
 - 종자의 발아에 영향을 미치지 않으며 친환경적인 종자소독
- **향후조치계획**
 - 기계생력화 파종을 위한 종자 펠렛 물질의 완성도를 높이기 위하여 추가 연구시행
 - 초분광, 근적외선 및 X-ray 영상장치를 이용한 종자품질검정에 대한 후속연구시행

IV. 보안성 검토

해당없음

1. 연구책임자의 의견

2. 연구기관 자체의 검토결과

[별첨 3]

연구성과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input type="checkbox"/> 자유응모과제 <input checked="" type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야		
연구과제명	종자수출확대를 위한 가공처리 기술 국산화			
주관연구기관	국립종자원		주관연구책임자	정은선
연구개발비	정부출연 연구개발비	기업부담금	연구기관부담금	총연구개발비
	3,500,000,000	1,167,500,000	-	4,667,500,000
연구개발기간	2016. 05. 19 - 2020. 12. 31 (56개월)			
주요활용유형	<input checked="" type="checkbox"/> 산업체이전 <input checked="" type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input type="checkbox"/> 기타() <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:)			

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 프라이밍 처리 기술개발 .친환경적 가공처리 기술개발 → 특허 .품목별 2개 이상의 선택적 제조법 개발(28개) → 산업화 .장비 개발 → 기술이전	○ 다양한 프라이밍 조건(시약, 친환경소재 등)을 처리하여 작물별 최적화된 처리 조건을 규명 ○ 연구용, 산업용 및 드럼 프라이밍 기기 제작 완료
② 필름코팅 처리 기술개발 .발아율에 영향없는 기술개발 → 특허 .품목별 제조법 개발(14개) → 산업화 .장비 개발 → 기술이전	○ 종자 발아율에 영향이 없는 종자용 필름코팅제 개발로 외산제품을 대체할 수 있음. 기존 외산제품을 사용하던 종자회사에 제품 판매가 이루어지고 있음.
③ 펠렛코팅 처리 기술개발 .품목별 제조법 개발 → 산업화 .종자수명 6개월 보장 → 특허 .2종의 펠렛 소재 개발 .장비 개발 → 기술이전 및 특허	○ 종자용 펠렛 코팅소재의 개발로 십자화과에 펠렛 소재 적용 가능함. 기타 종자에 적용 시 산업적으로 이용 한계가 있음. ○ 소재 개발은 진행 중이지만, 연구 목표인 선진국 대비 30% 이상의 기술개발은 이루어짐
④ 비파괴종자 선별 기술개발 .비정상립, 비활력립 선별장비 및 시스템 개발 → 전시 및 특허 .집단선별 → 기술이전 .99%의 정확성 .활력수준까지 선별 → 특허	○ 종자 비활력/비정상발아 검출 시스템 개발 및 지적재산권 확보 완료 ○ 초분광 영상을 활용한 집단선별 특허 기술이전 완료 ○ 영상분석 기술을 이용한 종자품질 선별 정확도는 X-ray 영상 91%와 초분광 영상 89%를 기준으로 연속적 선별 가정 시 98.8% 이상의 정확성 확보가 가능함(수박 청복꿀 품종 기준) ○ 종자발아 비파괴 선별기술에 대한 특허 등록 완료
⑤ 종자소독처리 기술개발 .다중스트레스 조합처리를 이용한 위해미생물 저감화 기술 개발 → 논문, 특허 .친환경적 종자소독기술개발 → 논문, 특허 .발아율 저하없는 기술개발 → 논문, 특허	○ 다중스트레스 조합을 이용한 종자살균 연구 → 논문 7건, 특허 출원 2건, 특허 등록 1건 ○ 길항미생물 대사체를 이용한 종자살균 연구 → 논문 2건, 특허 출원 4건, 특허 등록 3건

<p>⑥ 가공처리 장비 개발 .한국형 가공처리 장비개발(3개) → 산업화</p>	<p>○ 직경 500mm 의 크기로, 용제의 주입방식은 주사기 방식으로 코팅 원판 가운데에 용제를 투입하면 용제가 스프레이분사 형태로 종자에 코팅이 입혀지는 방식으로 실험용으로 제작완료 ○ 기존 제작한 필름코팅기보다 원판길이를 700mm (700mm)로 늘려서 제작 완료 ○ 소형(5L), 대형(85L) 종자건조기 제작 완료 ○ 기기제작 후 사업화 하여 판매 중</p>
<p>⑦ 종자품질보증패키지개발 .품목별 최적처리·보관 품질보증(14개) → 교육, 인력양성</p>	<p>○ 프라이밍 처리 종자의 최적 저장 조건 규명: 작물별 프라이밍 처리종자를 온도, 기간, 용기별로 저장하여 최적 저장 조건 선정 ○ 필름코팅 처리 종자의 최적 저장 조건 규명: 작물별 프라이밍 처리종자를 온도, 기간, 용기별로 저장하여 최적 저장 조건 선정 ○ 프라이밍, 필름코팅 처리 종자의 최적 저장 조건 규명 ○ 교육 및 인력양성 11건 완료</p>

* 결과에 대한 의견 첨부 가능

3. 연구목표 대비 성과

성과 목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술인증	학술성과				교육지도	인력양성	정책 활용·홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허출원	특허등록	생명자원등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		논문		학술발표	정책활용			홍보전시		
												SCI	비SCI						논문평균IF	
단위	건	건	건	건	백만원	백만원	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명	건	건			
가중치	10	10		15		15							5	10	10	10	15			
최종목표	14	10	-	6		8					11	10		23	10	16	5	4		
연구기간 내 달성실적	15	10	4	10		10					18	5		41	11	33	5	4		
달성율(%)	107	100	초과	166		125					164	50		178	110	206	100	100		

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	프라이밍 처리 장비 및 기술
②	필름코팅 처리 장비 및 기술
③	펠렛코팅 처리 기술
④	종자선별 및 활력수준 규명을 위한 비파괴적 종자품질 검정 기술개발
⑤	건전종자 생산을 위한 종자살균 기술
⑥	품목별 가공처리종자의 품질보증 패키징 구축

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화.흡수	외국기술 개선.개발	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장애로 해결	정책 자료	기타
①의 기술	√					√	√			
②의 기술				√		√	√			
③의 기술				√					√	
④의 기술		√				√	√		√	
⑤의 기술		√				√				
⑥의 기술		√							√	

* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	종자에 붙어 있는 발아억제 물질을 제거하는 초음파와 적외선을 이용한 새로운 기술 및 기기를 제작은 세계 최초이며 국내 원천기술력 확보의 기반
②의 기술	현재 고추, 수박등에 적용하는 필름코팅 기술은 중상위로서 다른 주요 채소종자에 접목시킬 수 있는 코팅제(중합제)를 개발하고 자체 장비를 제작하여 산업화하는 본 연구과제는 수입의존도를 개선할 수 있는 기술
③의 기술	국내 펠렛종자의 가장 큰 단점인 가공종자의 수명향상과 적정 표면 경도의 펠렛종자 제조 기술을 확보하여 선진국 수준으로 도약할 수 있는 기반을 마련
④의 기술	정밀 종자 품질측정 선별시스템 개발을 통한 시장선점 및 제품 수출
⑤의 기술	유기농을 위한 종자의 개발을 목적으로 한 친환경적 종자 살균기술개발은 향후 유기농을 위한 종자의 기준 설정 등에 대한 정책제안 및 새로운 환경친화적 방제법을 내세운 해외시장개척의 첨병으로 활용
⑥의 기술	품목별 다양한 종자가공처리 기술개발은 종자생리기작의 규명과 더불어 종자활력과 저장성에 대한 기초자료 및 향후 다양한 연구를 파생할 것임

7. 연구종료 후 성과창출 계획

성과목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술실시 (이전)		사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책 활용·홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		논문		학술발표			정책활용	홍보전시	
												SCI	비SCI						
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명				
가중치	10	10		15		15								5	10	10	10	15	
최종목표	14	13		6		8	27	28				11	10		33	10	16	5	4
연구기간 내 달성실적	15	10	4	9		9						15	4		39	11	26	5	4
연구종료 후 성과창출 계획	-	3		-		-	27	28				-	2		-	-	-	-	-

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

핵심기술명1)			
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	천원
이전방식2)	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타()		
이전소요기간		실용화예상시기3)	
기술이전시 선행조건4)			

- 1) 핵심기술이 2개 이상일 경우에는 각 핵심기술별로 위의 표를 별도로 작성
- 2) 전용실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 다른 1인에게 독점적으로 허락한 권리
통상실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 제3자에게 중복적으로 허락한 권리
- 3) 실용화예상시기 : 상품화인 경우 상품의 최초 출시 시기, 공정개선인 경우 공정개선 완료시기 등
- 4) 기술 이전 시 선행요건 : 기술실시계약을 체결하기 위한 제반 사전협의사항(기술지도, 설비 및 장비 등 기술이전에 실시기업에서 갖추어야 할 조건을 기재)

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 수출전략기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 수출전략기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.