

발간등록번호

11-1543000-000960-01

**고구마 무병주 생산 / 검증 시스템 및 품종
판별 마커 개발**

Development of marker system, diagnosis of viral disease and
virus-free plant mass production methods of sweet potato

서울시립대학교 산학협력단

농 립 축 산 식 품 부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “고구마 무병주 생산 / 검증 시스템 및 품종 판별 마커 개발” 과제의 보고서로 제출합니다.

2015년 08월 13일

주관연구기관명 : 서울시립대학교

주관연구책임자 : 김 선 형

세부연구책임자 : 김 선 형

협동연구기관명 : 국립농업과학원

협동연구책임자 : 최 홍 수

협동연구기관명 : 부산대학교

협동연구책임자 : 김 선 태

협동연구기관명 : 농업기술실용화재단

협동연구책임자 : 서 재 환

협동연구기관명 : 참다래유통사업단

협동연구책임자 : 이 승 환

요 약 문

I. 제 목

- 고구마 무병주 생산 / 검증 시스템 및 품종 판별 마커 개발

II. 연구성과 목표 대비 실적

1. 연구성과 목표 대비 실적

구분	특허		신품종				유전자원 등록	논문		기타 (논문발표 등)
	출원	등록	품종명 등록	중생산 수입판매 신고	품종보호			SCI	비SCI	
					출원	등록				
1차 년도	목표								2	
	달성									1
2차 년도	목표							3	1	1
	달성	1						2	1	4
3차 년도	목표	2						3	1	2
	달성	2						2	1	3
4차 년도	목표	2	1				5	3	1	3
	달성	3	2					2		4
5차 년도	목표	2	1	1		1	5	3	1	3
	달성	1	2					4		4
계	목표	6	2	1		1	10	12	6	9
	달성	7	3	0		0	0	10	2	16

2. 연구성과 활용 목표 대비 실적

구분	기술실시(이전)	상품화	정책자료	교육지도	언론홍보	기타	
활용건수	목표	8	0	0	6	3	0
	달성	1	1	0	13	9	27

기타: 27건

- 영농활용: 국내 고구마에서 발생하는 8종의 바이러스 특성 및 예방 (2013년)
- 생명자원등록: NCBI GenBank 등록 26건

Ⅲ. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구개발의 필요성

고구마는 세계 7대 식용작물 중 하나로 단백질과 탄수화물이 풍부하여 식량자원으로 이용될 뿐 아니라 사료 및 전분, 향산화물질 등의 생산이 가능하며, 최근에는 바이오에탄올 등 신재생에너지 개발을 위한 중요한 에너지 작물로도 주목받고 있다. 국내에서 고구마시장은 1999년 43만톤의 생산량을 기록한 이후 연평균 약 27~35만톤 수준을 유지하고 있으며, 2013년에는 약 33만 톤의 고구마가 생산되었다. 국내 고구마 생산량의 대부분인 78%가 식용고구마로 소비되었고, 작물로서는 보기 드물게 자급률이 100%이지만, 전분용과 가공용은 대부분 수입에 의존하고 있으며, 2010년에 약 80,000여 톤의 가공용 고구마가 중국 등으로부터 수입되고 있는 실정이다.

한편 현재 국내에서 재배되는 고구마는 품종 구분 없이 물, 밤, 호박, 자색 고구마 등 외형에 따른 분류, 판매되고 있는 실정이라서 품종혼입으로 인한 품질의 단일화가 이루어지지 않고 있어 소비자의 구매력과 만족도를 저하시키고 있는 원인이 되고 있다. 또한 지속적인 영양변식에 의해 유묘를 생산하게 되면서 바이러스의 감염률이 거의 100%에 이르고 있고, 이는 품질 저하의 주요 원인 나타나게 되었다. 특히 고구마 바이러스 병은 국내 뿐 아니라 세계적으로도 수량감소의 가장 큰 원인 중 하나로 지목되고 있어 이에 대한 시급한 개선이 필요하다.

바이러스에 의한 고구마의 수량 및 품질저하는 20~30% 정도로 나타나며, 복합감염시에는 보다 큰 피해가 나타나지만, 무병묘 공급에 의해 수량 및 품질이 획기적으로 향상되기 때문에 체계적인 바이러스 무병주의 보급이 절실히 필요하다고 생각된다. 이와 함께 고구마 재배지에서는 고구마의 단일 품종화가 이루어지지 않고 있으며 혼재되어 존재하여 상품의 단일화나 규격화가 힘들며, 고구마의 산업적 이용도 증대 및 새로운 시장개척 등을 위해서는 고구마 품종 판별을 위한 마커개발이 필요하다.

따라서 고구마의 고품질 생산 및 농가소득 증대를 위해서는 체계적인 고구마 무병주 대량생산 시스템 확립이 중요하며, 앞으로 다가올 종자보호법을 대비하기 위해서도 각 품종별 마커 선별이 시급한 실정이다.

2. 연구개발의 목적

고구마 작물의 품질 및 수량감소를 일으키는 바이러스병의 피해를 경감시키기 위해 바이러스병의 진단체계 확립하고, 바이러스 무병주 생산 및 대량생산 시스템 개발과 실용화를 통하여 고품질의 작물 생산 및 농가소득 증대에 기여할 뿐만 아니라, 품종판별을 위한 DNA 및 단백질 마커를 개발하여 작물의 산업적 이용 가치 및 부가가치를 향상시킴으로서 우리나라 농업 발전에 기여하고자 한다.

Ⅳ. 연구개발 내용 및 범위

1. 고구마 바이러스 무병주 생산 및 대량번식 시스템 개발

- 고구마 성장점을 이용한 배발생 캘러스 유도 및 재분화를 통한 in vitro system 확립
 - 주요 보급종을 대상으로 재분화효율 조사 및 각종 생장조절제 및 배지 조건을 이용하여 재분화 속도 및 재분화율 향상 도모
- 재분화 식물체에서의 후대 검정을 통한 바이러스 무병주 생산체계확립
 - RT-PCR 등을 이용한 바이러스 무병주 검정 및 재분화체를 이용한 후대 배양을 통해 무병핵주 확보
- 무병주고구마를 이용한 대량번식 시스템 개발
 - 대량번식에 적합한 양액관리, 배지조성 및 환경관리모형을 함께 구축
- 무병주 대량증식 시스템을 통한 무병주의 대량보급 및 보급체계 평가
 - 무병진진묘 대량생산 및 포장 증식 효율성 증대
 - 무병진진묘의 생산보급에 대한 기술적 보완 및 산업화

2. 고구마 바이러스병 진단 시스템 개발

- 국내에 분포된 바이러스 종류와 피해증상을 명확히 밝히고 진단기술 확립
- 고구마 바이러스병의 발생상황 조사 및 바이러스별 계통 분석
 - 고구마 유전 자원 및 전국 재배 묘상에서 시료를 수집하여 바이러스 발병 상황을 조사
 - 고구마에서 분리된 바이러스를 대상으로 외피단백질 영역을 증폭하여 염기서열을 결정 한 후 계통 분석할 예정임
 - 고구마에 감염을 일으키는 바이러스의 전체 유전자 염기서열을 결정한 후 계통 분석할 예정임
- 고구마 바이러스병 진단시스템 개발 및 확립
 - 바이러스 및 계통별 진단시스템 확립
 - : SPFMV, SPGV, SPLV 및 SPLCV를 포함한 국내외 주요 발병 바이러스에 대한 진단 시스템 확립
 - 미동정 고구마 바이러스 진단시스템 개발 : SPMMV, SPCSV 및 SPMSV 등
 - multiplex RT-PCR 방법을 이용한 바이러스 다중 동시진단시스템 개발
 - 바이러스 진단 키트 제작을 통한 바이러스 무병묘 생산을 위한 진단 시스템 확립

3. 고구마 품종 판별을 위한 DNA 및 단백질 마커 개발

- 고구마 판별용 단백질 마크 개발을 위한 단백질 분리 최적화 기술 개발
- 고구마 품종 간 단백질 2차원 전기영동 분리
- 고구마 품종 간 특이적인 단백질 동정 및 항체생산과 2-DE map 구축
- 단백질 마커와 연계된 CAPS, RAPD 등을 이용한 계통별 유전형 분석
- 분자마커 및 분자생물학적 기법을 이용한 유망 계통선별

4. 고구마 무병주 생산기술 재연성 검정 및 현장보급 시스템 확립

- 품종별 고구마 바이러스 무병주 대량 생산 기술모델 구축
- 대량 생산된 바이러스 무병주 주요 특성 및 우수성 검정
- 고구마 바이러스 무병주 주산지 조기 보급 및 산업화를 위한 시스템 확립
- 전국 네트워크 구축을 통한 연구내용의 실용화 추진을 위한 시범평가

5. 고구마 무병주 대량 생산기술을 이용한 실증화 및 농가적용

- 고구마 무병묘를 대량생산 시스템의 검증 및 실증화
 - 무병주 생산방식의 농가 보급형 시스템 전환
 - 농가 실증 실험을 통한 검증 평가
- 검증된 무병묘 대량생산 시스템의 농가 적용 및 보급
- 고구마 바이러스 무병주의 주산지 조기 보급 및 산업화를 위한 시스템 확립

V. 연구개발결과

1. 고구마 바이러스 무병주 생산 및 대량번식 시스템 개발

- 국내 주요 보급품종을 이용하여 배지 및 성장조절제 처리를 통한 고구마 재분화에 성공하였으며, 성장점 배양을 통한 바이러스 무병주를 확보하였다. 또한 무병주 생산에 적합한 배지, 양액조성, 환경조건에 대한 최적화 평가를 통해, 무병주 생산 효율증진을 위한 방안제시 및 무병주 생산체계에 기술을 접목하였다.
- 무병주의 기대증식의 효율성 이외에 대량생산을 위한 포장 증식법 4종의 효율성 평가를 통해 안정적이고 지속적인 방법을 대량 증식, 번식 시스템에 적용하여 실증평가를 실시하였다.
- 무병건전묘 생산을 위하여 식물생장촉진 박테리아 적용과 함께, 식물뿌리 발달을 촉진하는 발근체를 개발 적용하였으며, 육묘장을 이용하여 무병 건전묘 증식 및 고구마 무병종순 생산의 산업화를 시험하였다.

2. 고구마 바이러스병 진단 시스템 개발

- 국내에서 주로 문제가 되고 있는 SPFMV, SPLV, SPGV 및 SPLCV 4종 바이러스에 대한 multiplex RT-PCR 진단법을 확립하였다 (특허 출원, 등록 및 기술이전).
- 새로 발생이 확인된 4종 바이러스, SPVC, SPV2, SPSMV-1 및 SPCFV 를 동시에 진단할 수 있는 multiplex RT-PCR 방법을 확립하였다 (특허출원).
- 상기 8종 외에 *Sweet potato mild speckling virus*, *Sweet potato mild mottle virus*, *Sweet potato chlorotic stunt virus* 및 *Sweet potato collusive virus*를 포함하는 9종의 고구마 감염 바이러스에 대한 RT-PCR 진단 방법을 확립하였다.
- 고구마 바이러스병의 발생상황을 조사하기 위해, 국내 고구마 유전자원 452점에 대해 고구마 바이러스의 분포 조사를 실시하였으며, 2011년부터 2013년에 걸쳐 지역별 농가 포장 및 묘상에서의 바이러스를 검정한 결과, 기존 4종(SPFMV, SPLV, SPGV 및 SPLCV) 바이러스 외에 새로 4종 바이러스(SPVC, SPV2, SPSMV-1 및 SPCFV)가 추가로 확인되었고, 높은 바이러스 복합 감염율을 보여주었다.
- 국내에서 분리된 고구마 바이러스 SPFMV, SPGV 및 SPLV에 대한 외피단백질의 염기서열을 분석과 유연관계를 분석하였다. 또한, 고구마 감염 베고모바이러스의 분리주들에 대해서 전체 염기 서열 분석과 유연관계를 분석하였다. 이를 통해 새로운 계통의 바이러스

의 유입을 확인할 수 있었다. 또한 고구마 감염 바이러스 중 포티바이러스 속에 속하는 바이러스 5종과 Calavirus속에 속하는 SPCFV에 대한 유전자 전체 염기서열 분석을 분석하여, 유전자 구조 해석 및 계통분석을 실시하였다.

3. 고구마 품종 판별을 위한 DNA 및 단백질 마커 개발

- 국내 고구마를 대상으로 RAPD분석을 실시하여 얻은 다형성이 높은 DNA 밴드를 이용하여, SCAR마커 개발에 이용하였으며, 결과적으로 국내 고구마 27종의 SCAR marker를 개발하였다.
- 고구마 괴근에서 단백질 마커연구에 문제가 되었던 과발현 단백질을 효과적이고 간단하게 제거한 기술을 최초로 개발하였다.
- 국내 육성종인 고구마 6품종에 대한 Genomics적 접근뿐만 아니라 Proteomics적 접근을 통하여 7개의 단백질 마크 개발하였다.

4. 고구마 무병주 생산기술 재연성 검정 및 현장보급 시스템 확립

- 고구마 바이러스 무병주 생산을 위한 성장점 배양에 적합한 배지는 MS + BA 0.5 mg/L + NAA 0.05 MA/L 배지 선발, 성장점 유래 무병묘 기내 계대배양 증식 배을 마디배양 증식 배지는 LS + NAA 0.1/L 이었다.
- 고구마 바이러스 무병주 대량 생산 기술 모델로 무병 씨고구마을 재배 이후는 바이러스 발생율이 높아지므로 3년 주기로 갱신한다.
- 40일마다 5배 증식율을 구명하여 무병묘 조직 배양묘 순화 방법과 무병묘 증식 방법을 단기간에 최대 증식하고 연구팀이 개발한 보급체계를 통해 무병묘 종순을 보급하였다.

5. 고구마 무병주 대량 생산기술을 이용한 실증화 및 농가적용

- 펄라이트배지 양액재배에서 휘문이방법을 도입하여 효과적으로 고구마 무병주를 증식할 수 있는 재배 방법을 개발 하였다.
- 토경재배에서 휘문이방법을 도입하여 통해 고구마 무병주를 대량 증식 할 수 있는 재배 방법을 개발 하였다.

VI. 연구성과 활용 계획

1. 고구마 바이러스 무병주 생산 및 대량번식 시스템 개발

- 대량생산에 적합한 무병주 기내증식 기술의 무상 이전 및 교육자료로 활용
- 민간업체 및 영농조합과 연계하여 무병주 대량생산체계에 성장촉진 박테리아, 환경조절 기법이 들어간 우량무병건전묘 생산과 산업화에 활용

2. 고구마 바이러스병 진단 시스템 개발

- 고구마 바이러스 검정을 위한 Multiplex RT-PCR 방법을 고구마 주산지 농촌진흥기관에 보급하여 고구마 바이러스 감염주 조기 정밀 진단에 활용
- 바이러스 감염 현황에 대한 정보를 제공하여 고구마 재배 현장에서 바이러스 무병묘 및

건전주 재배의 중요성 홍보

- 바이러스 유전자 계통 분석을 통해 새로운 계통의 바이러스 병에 대한 조기 대응책 마련

3. 고구마 품종 판별을 위한 DNA 및 단백질 마커 개발

- 고구마 국내 품종보호를 위한 DNA 및 단백질 마커를 개발하여 계통 분석 및 품종보호에 활용할
- multiplex PCR 및 간편한 검증시스템 개발
- 마커개발을 통한 고유품종 보호가 이루어 질 것으로 판단
- 참여 연구팀이 개발한 기술은 자체적으로 기술실시를 하든지 민간 업체에 이전 또는 농민에게 무상으로 이전하여 산업화

4. 고구마 무병주 생산기술 재연성 검정 및 현장보급 시스템 확립

- 고구마 바이러스 무병주 대량생산 기술모델은 성장점 유래 마디배양으로 40일마다 5배수 증가에 활용
- 고구마 바이러스 무병주를 재배한 경우 상품괴근 수량18~36%증가로 농가에 대단위 주산지에 기술이전으로 산업화
- 고구마 주산단지 및 작목반. 민간업체에 무병주 생산기술 보급을 시스템화하여 활용보급 전개
- 고구마 바이러스 무병주 및 씨고구마 묘 생산으로 상품수량 증가로 농가 소득증대 향상

5. 고구마 무병주 대량 생산기술을 이용한 실증화 및 농가적용

- 고구마 무병주를 농가의 포장에 공급하여 균일한 품질의 고구마 생산 및 자가생산량 증진
- 농가에 해당 방법을 지도/교육
- 고구마 무병주에 의한 수확물을 일반묘의 수확물과 차별화하여 농가와 상생발전

SUMMARY

Sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) is one of the most important food crops in the world. Sweetpotato is enriched in vitamins, proteins and carbohydrates, and so represents a good nutritional source. Appropriately, it is used widely as a food, feed, source of starch and as a dietary supplement. In the present study, we carried out research on "Development of marker system, diagnosis of viral disease and virus-free plant mass production methods of sweet potato". Virus-free stocks were obtained by apical meristem culture using MS medium with NAA and BAP, and approved by virus detection.-RT-PCR assay.

Multiplication of virus-free stocks was conducted on liquid MS medium, and virus-free stocks were proliferated 5~7 times per 20Days. To mass-produce healthy sweetpotato seedling, we used a cut-out method continuously in insect-screened enclosures and simultaneously treated with Plant-growth-promoting rhizobacteria, *Bacillus subtilis* strain JS, which positively effect on plant growth, and biotic or abiotic stress tolerance and controlled water and light etc. Application of healthy sweetpotato seedling increased yield and quality of sweetpotato and expect to increase in income about 500~1,000 won/ m². This system of mass production and supply of virus-free sweet potato is valuable in economical and industrial aspects.

Viral diseases of sweet potato have become widespread, causing serious crop losses around the world. In total, more than 30 viruses have now been reported to infect sweet potato. The number continues to increase as virus detection methods are improved. Only a few of the viruses are considered to be of major economic importance. In this study, we established detection methods for 17 major sweet potato viruses using reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR), and investigated the current incidence of viral disease in Korean sweet potatoes samples of various cultivars showing virus-like symptoms collected from growing fields and sweet potato germplasm of Korea during 2010 to 2013.

Of the 17 possible viruses, we detected eight in our samples. Sweet potato feathery mottle virus (SPFMV) and sweet potato virus C (SPVC) were most commonly detected. Furthermore, sweet potato symptomless virus 1 (SPSMV-1), sweet potato virus G (SPVG), sweet potato leaf curl virus (SPLCV), sweet potato virus 2 (SPV2), sweet potato chlorotic fleck virus (SPCFV), and sweet potato latent virus (SPLV) were detected. This study presents the first documented occurrence of four viruses (SPVC, SPV2, SPCFV, and SPSMV-1) in Korea. Based on the results of our survey, we developed multiplex RT-PCR assays for simple and simultaneous detection of the eight sweet potato viruses we recorded.

This study was conducted to develop biomarkers to identify between 28 cultivars of Korean sweet potato (*Ipomoea batatas* L.Lam) using omics-based methods. Here, we

analyzed 200 pairs of the random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers to uncover the polymorphisms in sweet potato and subsequently developed 13 pairs of sequence-characterized amplified region (SCAR) markers.

Changes in the proteomes of these six sweet potato cultivars were investigated by 2-DGE coupled with MALDI-TOF/TOF MS analysis. Overall, ten protein spots were expressed differentially between 6 cultivars. Among these, an ATP-dependent zinc metalloprotease and the chaperone protein, ClpC1, were accumulated specifically in ‘Singeonmi’ and ‘Jami’, respectively.

Furthermore, here, we report a novel ethanol precipitation method (EPM) for HAPs depletion from total tuber proteins. Overall, the EPM is simple, reproducible, and economical for depletion of SPs and is suitable for downstream proteomics study. This study opens a door for its potential application to other tuber crops or fruits rich in carbohydrates.

CONTENTS

Chapter 1. Overview of Research projects	12
Chapter 2. Current research activities in domestic or foreign countries	15
Chapter 3. Contents and results of the research	20
Chapter 4. Achievements and Contribution to related research areas	122
Chapter 5. Plan for utilization of results of the research	129
Chapter 6. Information of science and technology of foreign countries	137
Chapter 7. Status of research equipment	138
Chapter 8. Performance of safety management in research lab	139
Chapter 9. References	144

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요	12
제 2 장	국내외 기술개발 현황	15
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과	20
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도	122
제 5 장	연구개발 성과 및 성과활용 계획	129
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	137
제 7 장	연구시설·장비 현황	138
제 8 장	연구실 안전관리 이행실적	139
제 9 장	참고문헌	144

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 필요성

세계 7대 작물인 고구마(*Ipomoea batatas* (L.) Lam.)는 통화식물목 메꽃과(Convolvulaceae)에 속하는 쌍떡잎 여러해살이 식용작물이다(Austine, 1979). 고구마는 주로 열대 및 아열대 지방에서 재배되는 작물로(Walter et al, 1975) 다른 작물에 비하여 재배가 쉽고 단위 면적당 수확량이 높으며, 기후 조건의 변화에도 저항력이 강하여 넓은 지역에서 많은 양이 생산되고 있다(MAF, 1994). 고구마에는 단백질과 탄수화물이 풍부하여 식량자원으로 이용될 뿐 아니라 사료 및 전분, 향산화물질 등의 생산이 가능하며, 최근에는 바이오에탄올 등 신재생에너지 개발을 위한 중요한 에너지 작물로도 주목받고 있다(정 등, 2012). 국내에서 고구마시장은 1999년 43만 톤의 생산량을 기록한 이후 연평균 약 27~35만 톤 수준을 유지하고 있으며, 2013년에는 약 33만 톤의 고구마가 생산되었다(농림수산통계연보 2014). 국내 고구마 생산량의 대부분인 78%가 식용고구마로 소비되었고, 작물로서는 보기 드물게 자급율이 100%이지만, 전분용과 가공용은 대부분 수입에 의존하고 있으며, 2010년에 약 80,000여 톤의 가공용 고구마가 중국 등으로부터 수입되고 있는 실정이다(정 등, 2012). 고구마의 풍부한 탄수화물 외에도 프로비타민 A인 카로틴과 자색고구마에는 안토시아닌이 다량 함유되어 있으며, 비타민B1, B2, C, 니아신 등을 함유하고 있어, 피로회복, 노화방지, 시력향상 및 성인병예방에 효과적이다. 또한 고구마에 풍부한 식물성 섬유 및 알라틴, 칼륨 등의 작용으로 인해 변비, 비만, 지방간 등을 예방하는 건강기능식품으로 자리매김하고 있으며(Woolfe, 1992; 정 등, 2012), 이를 이용한 가공품의 개발도 이뤄지고 있다(정 등, 2012)

한편 고구마는 대표적인 영양변식 작물로 바이러스, 선충, 토양병해 등에 의해 품질과 수량 저하가 발생하고 있으며, 그중에서 최근 바이러스에 의한 피해가 점점 증가하고 있는 추세이다(Kwak 등, 2006; 정 2008). 또한 생식이나 채소용으로 육성된 주황색고구마(신황미)와 기능성 식품 원료나 색소용으로 재배되고 있는 자색고구마(자미, 신자미 등) 등에 있어서도 바이러스 병의 피해증상으로 인한 모양과 색소함량이 저하되는 경향을 보이고 있다. 일반적으로 고구마 바이러스병(Sweet potato virus disease, SPVD)은 *Sweet potato feathery mottle virus* (SPFMV)과 *Sweet potato chlorotic stunt virus* (SPCSV)의 중복감염으로 인해 위축, 가는 잎, 기형 등의 병징을 보이게 되며, 이 바이러스병에 의하여 약 20~80%의 수량 감소 및 상품의 질 저하 등 피해가 큰 것으로 보고되었다(Gao 등, 2000; Gibson 등, 1998; Hahn, 1979; Karyeija 등, 1998; Karyeija 등, 2000; Wisler 등, 1998). 또한, 우량 건전 종자나 종묘를 이용하여 수시로 갱신하지 않으면, SPFMV에 의해 수량이 20~78% 감소하고, 품질이 악화된다는 보고도 있다(Gao 등, 2000). 국내에서의 고구마 바이러스병은 현재까지 SPFMV, SwPLV 및 SPCSV 등 3종이 보고되어 있다(Kim 등, 1998; Park 등, 1994; Park 등, 1995; Ryu와 Choi, 2002; Yun 등, 2002). SPFMV는 생물검정, 혈청검정, 전자현미경 검정 방법에 의하여 처음 동정된 이후로, 바이러스에 감염된 24주를 coat protein(CP) 영역을 대상으로 5종의 제한효소를 이용하여 RFLP 분석을 하여 3가지 타입으로 분류하였다(Kim 등, 1998; Park 등, 1994; Park 등, 1995; Ryu와 Choi, 2002). 또한, Yun 등(2002)에 의하여 바이러스 입자 및 western blot 분

석에 의하여 SwPLV와 SPCSV를 처음으로 보고하였고, 1종 이상의 복합감염 가능성을 제시하였다. Jeong (2001)에 의해서는 국내 고구마재배 포장의 바이러스 발생상황을 NCM-ELISA 검정을 한 결과, SPFMV 발병 포장율이 17~25% 이었음을 보고하였다. 또한 바이러스 무병묘의 효과를 조사한 결과 일반묘보다 수량이 22~25% 증수되었으며, 외관, 피색 및 조구의 다소 등 상품성이 향상되는 것을 확인하였다. 이와 같이 국내 고구마 재배포장에서의 바이러스 감염 및 이로 인한 품질과 수량의 감소는 명확하며, 이에 대한 대책으로 바이러스 무병묘나 종자를 생산 공급하는 체계를 확립하여야 한다. 이에 더불어 지금까지의 국내 고구마 바이러스연구와 같이 부분적이며, 단편적이 연구가 아닌 전반적이고 체계적인 연구가 뒷받침 되어야 할 것이다. 즉 국내에서 발생하고 있는 고구마 바이러스에 대한 바이러스 자체의 특성연구는 물론 지역 환경별 혹은 품종별 발생분포를 조사하고 이를 정밀하게 조기 진단할 수 있는 시스템개발이 함께 이루어져야만 할 것이다.

현재 국내에서 재배되는 고구마는 품종 구분 없이 물, 밤, 호박, 자색 고구마 등 외형에 따른 분류, 판매되고 있는 실정이어서 품종혼입으로 인한 품질의 단일화가 이루어지지 않고 있어 소비자의 구매력과 만족도를 저하시키고 있는 원인이 되고 있다. 이에 더해, 국내에서 재배 중인 많은 품종은 해외 특히 일본에서 도입한 품종이 주류를 이루고 있으며, 합법적이지 못한 방법에 의한 국내유입이 다수 존재한다. 많은 국가에서 자국 식물 신품종의 육성자 권리보호를 위해 노력을 기울이고 있으며, 1991년 3월에 식물 신품종 보호 국제조약(UPOV)이 개정되어 품종 육성자의 권리를 강화하기 위하여 어떤 품종(원품종)의 형질을 일부 변경시킨 품종(종속 품종)에는 원품종의 효력이 미치는 것으로 하는 새로운 규정이 만들어졌으며, 이에 따라 각국에서 종속품종의 판별기술 개발에 대한 다양한 연구사업이 수행되어왔다. 품종 식별 기술은 자국 식물 신품종의 적극적인 해외진출을 담보하기 위해서도 없어서는 안 되는 것으로 이 기술의 개발, 특히, DNA 품종 식별 기술 개발에 많은 노력을 기하고 있다. 국제적으로 품종등록 출원시의 조건으로 DNA 품종 식별 정보의 추가가 검토되고 있는 것으로부터도 앞으로 보다 중요시 된다고 생각된다. 국내에서의 고구마 품종을 식별하기 위한 마커 개발에 대한 연구는 매우 미흡한 실정이며, 이제 일부 연구기관에서 시작단계에 있다. 국내에서 재배되고 있는 많은 고구마 품종은 해외 도입 종(특히 일본)의 비율이 매우 높으며, 2012년 품종보호제도의 전면시행에 따라 앞으로의 고구마 산업에 큰 영향을 미칠 수 있다. 일본에서는 자국 품종의 보호는 물론 생산, 유통단계에서의 품종혼란을 막기 위해 수년 전부터 DNA를 이용한 품종 식별 마커 개발을 수행해 왔다. 특히 일본에서 고구마 품종개발 등에 많은 연구를 수행하고 있는 큐슈·오키나와 농업연구센터에서는 고무마의 품종 식별을 위해, 고무마의 유전자 배열로부터 설계한 12쌍의 프라이머와 제한 효소의 편성에 의해 품종·계통간에 다형을 볼 수 있는 마커 26개 언어 품종식별의 기초로 삼았으며, 이를 통하여 66종의 일본 자국내 등록품종을 포함한 103종의 품종·계통이 식별 가능케 하였다 (九州沖繩農業研究センター成果情報, 2006). 우리나라에서는 고구마 품종의 다양화에 수반해 재배·유통단계에 있어서 품종의 혼란이 문제가 되고 있다. 또한, 해외로부터 무분별한 품종도입으로 인해 생산지에서 국내외 품종이 혼용 사용되고 있는 경우도 자주 볼 수 있어 품종 식별 기술의 개발의 필요성이 더욱 높아지고 있는 실정이다. 특히 고구마는 재배 조건의 영향을 받기 쉬운 지상부나 덩이뿌리의 형질만으로는 품종의 식별이 어려운 경우도 많아, DNA 마커를 이용한 고구마 품종 식별 기술 개발을 적극적으로 수행하여, 품종 보호권에 대응하여야 한다.

현재 국내 고구마산업에서 나타나는 품종의 혼용이나 바이러스 감염에 의한 품질과

생산량의 감소를 해결하기 위해서는 일본이나 중국에서와 같이 바이러스 무병묘에 의한 고구마의 생산이 농업현장에서 실용화 되어야하며, 품종 식별마커 도입을 통하여 재배품종의 혼용을 막아야한다. 특히 고구마 바이러스 무병묘에 대한 긍정적인 인식은 고구마 농가를 중심으로 크게 증가를 하였지만, 현재에는 지역농가에 무병묘를 투입하기 위한 체제가 미비한 상태이다. 식물의 분열조직에는 바이러스가 존재하지 않는다는 것이 처음 발표되고 (White, 1943), 이후 정단분열조직을 이용한 바이러스 무병주에 제작이 시도되어 (Morel 과 Martin, 1952), 1970년대에 완전한 식물체를 얻는데 성공하였다. 고구마에서도 정단분열조직을 이용하여 식물체 재분화에 대한 연구는 다수 수행되어 왔으며(Cheng, 1990; Eun 등, 2002; Park 2003, Yang 등 1996), 이를 통하여 고구마바이러스 무병묘의 생산이 가능해졌다. 그러나 기내에서 만들어진 한정된 무병묘를 재배현장에 투입하기 위해서는 충분한 개체를 확보가 선행되어야하여 이는 중요한 과제로 남아있다. 고구마 무병묘의 대량생산에 관한 몇몇 연구가 수행되면서(Chun, 2001; 정 2008), 가능성을 보여줬지만, 농업현장에서 실용화 가능할 정도의 체계와 파급력을 보여주지는 못했다. 따라서 고구마 바이러스 무병묘를 생산하고 이를 대량으로 증식하여, 농가가 직접 이용가능한 상태의 고구마 묘를 보급하기 위해서는 여러 가지 과정과 문제점을 해결해 나가야 하며, 실용화가 현실화 될 수 있는 연구 및 연구팀의 구성이 꼭 필요하다고 판단된다.

제 2 절 연구개발의 목적

현재 국내 고구마 산업에서는 바이러스에 의한 상품성 및 수량의 감소가 발생하고, 품종 혼용에 따른 소비자의 구매력과 만족도를 저하시키고 있으며, 가공산업으로의 전환에도 문제가 되고 있다. 이에 대한 해결책으로 고품질의 고구마 제품을 생산하는 것은 물론 품종화를 통한 소비자의 선택의 다양화와 품종 특성에 맞는 가공품 및 제품 생산이 이뤄져야 하며, 또한 품종 보호권에 대응하여야 할 필요가 있다. 따라서 본 연구과제는 고구마 작물의 품질 및 수량 감소를 일으키는 바이러스병의 피해를 경감시키기 위해 바이러스병의 진단체계 확립하고, 바이러스 무병주 생산 및 대량생산 시스템 개발과 실용화를 통하여 고품질의 작물 생산 및 농가 소득 증대에 기여할 뿐만 아니라, 품종판별을 위한 DNA 및 단백질 마커를 개발하여 작물의 산업적 이용 가치 및 부가가치를 향상시킴으로서 우리나라 농업 발전에 기여하고자 한다. 이를 위해 본 연구과제는 첫 번째 “고구마 바이러스 무병주 생산 및 대량번식 시스템 개발”, 두 번째 “고구마 바이러스병 진단 시스템 개발”, 세 번째 “고구마 품종 판별을 위한 DNA 및 단백질 마커 개발”, 네 번째 “고구마 무병주 생산기술 재연성 검정 및 현장보급 시스템 확립”, 다섯 번째 “고구마 무병주 대량 생산기술을 이용한 실증화 및 농가적용”으로 구성하여 본 연구를 수행하고자 한다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

고구마 생산량 중에서 씨고구마로 이용은 1ha 당 약 750~1000kg 정도가 사용되어 생산량의 약 5%가 씨고구마로 이용된다. 고구마의 종순 가격은 시기에 따라 큰 차이를 보이거나 일반 종순의 경우에 평균 3000~5000원/100주 정도하며, 1ha에 필요한 75,000주의 종순이 사용되므로 국내의 종순시장은 약 600억 원 정도의 시장규모를 가진다. 고구마의 무병주의 경우에는 높은 가격으로 인해 극히 한정적인 지역에서 사용하며. 기내배양을 통한 무병묘는 개당 500원 정도의 높은 가격을 형성하고 있으나 그 이용률은 극히 낮아 국내시장은 약 7,500만 원 정도이다. 국내에서 이용되고 있는 대부분의 무병묘는 기내배양을 통해 나온 무병묘로 생산한 고구마를 이용하여 생산한 종순을 무병주라 하고 있으며, 100주당 10,000원대의 가격을 형성하고 있다. 바이러스 무병묘 재배에 의한 고구마의 증수효과는 20~30% 정도로 나타나고 있으며, 외관의 선호도 및 조구의 다소 등에서 우수하여 상품성이 증가한다. 국외로 시선을 돌리면 세계 고구마의 재배면적은 2006년도에 9,751천이며 생산량은 129,404천 톤이었으며, 아시아를 비롯해 아프리카 북중미 남미 등에서 주로 생산되고 있다. 특히 아시아에서 세계 재배면적의 66%, 생산량의 90%정도를 차지하고 있다. 단위면적당 생산량은 약 15톤/ha이며, 중국과 일본은 각각 21톤/ha, 26톤/ha 정도로 높은 단위생산성을 보이고 있다. 세계 최대의 고구마 생산국인 중국에서는 바이러스 검정 무병주에 관한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 5대 주산지에서 다수의 고구마 바이러스병이 확인되고 있다. 바이러스병에 의한 고구마 생산 손실량은 20~30% 정도이며, 최대 78%의 손실이 관찰되었다. 중국에서 바이러스병에 의한 경제적 손실액은 6억 달러에 이르는 것으로 알려져 있다. 중국에서의 고구마 바이러스 무병주 생산에 대한 노력은 1980년대 후반부터 바이러스 무병주 생산 및 실용화에 관한 프로젝트가 진행되면서 이뤄졌으며, 1994년에는 상업적 생산을 위해 고구마 재배농가에 무병주를 분양하기 시작하였다. 1998년에는 산동성의 재배면적의 80%를 바이러스 무병주를 이용하여 재배했으며. 2009년에는 466천 ha이상의 면적에 바이러스 무병주를 이용되고 있다. 또한 우리나라에 비해 세배 이상의 고구마 시장규모를 가진 일본에서는 무병묘에 의한 고구마 생산이 농가현장에서 실용화가 되어 있으며, 각 현의 농업기술센터와 지정농가(JA)의 연계를 통해 무병주를 공급하고 있다. 또 소규모 개인을 타겟으로 하여 무병주 인터넷 예약판매가 이뤄지고 이루어지고 있는 실정이다.

고구마는 영양번식이 가능하여 농가에서 자체적으로 유묘 생산을 하여 재배한다. 만약 유묘를 생산하려는 원주가 바이러스에 감염되어 있다면 묘상 전체에 바이러스를 확산시키는 원인이 되며, 이는 생산량 감소로 이어질 것이다. 이는 대륙별로 단위면적당 고구마 생산량의 차이가 나타나는 한 원인으로 해석할 수 있는데, 즉, 아프리카 대륙의 고구마 생산량은 평균 7.02 톤/ha인 반면, 아시아는 12.41 톤/ha, 미국은 20.1 톤/ha, 남미는 10.74톤/ha, 이스라엘은 44.4톤/ha으로 (FAOSTAT 2007), 이는 재배 방법의 차이와 더불어 바이러스 무병묘에 대한 인식 차이와 사용여부가 생산량에 영향이 주고 있음을 추정할 수 있다 (Loebenstein, 등, 2009).

고구마의 바이러스 병은 전 세계적으로 심각한 작물 손실의 원인으로 점차 확산되고 있다. 현재까지, 총 30 종 이상의 바이러스가 고구마에서 감염이 보고되었으며 (Brunt 등, 1996; Clark 등, 2012), 이 중 23종의 바이러스는 국제 바이러스 분류 학회 (ICTV)에 의해 공식적인

계통 분류가 확정되어 있다. 그러나 이 중에서 일부 바이러스만이 경제적으로 중요한 것으로 여겨지고 있다. 고구마의 가장 심각한 바이러스 병은 담배가루이 및 온실가루이가 매개하는 *Sweet potato chlorotic stunt virus* (SPCSV)와 진딧물이 매개하는 *Sweet potato feathery mottle virus* (SPFMV)의 동시 감염에 의한 병징의 상승작용에 의한 것이 있으며 이로 인해 고구마 생산량이 70%에서 100%까지도 감소한다는 보고가 있다 (Gibson 등, 1998; Karyeija 등, 2000; Mukasa 등, 2006). 또한, 복합 감염의 바이러스 병징 상승효과는 SPCSV와 가루이가 매개할 것으로 추정되는 *Sweet potato mild mottle virus* (SPMMV) 사이에서 관찰된 보고가 있다 (Gutiérrez 등, 2003; Hahn, 1979). SPCSV는 다른 여러 고구마 바이러스와 복합감염 되었을 때 고구마의 바이러스 병징을 심화시켰다 (Untiveros 등., 2007).

고구마 바이러스 중에 가장 만연한 바이러스는 SPFMV로 *Potyvirus* 속의 *Potyvirus* 속에 속하며, 괴근에 쪼개짐이나 내부경화를 유도하거나 잎에서 얼룩(mottle) 또는 유색의 원형 반점을 유도하는 것으로 알려져 있다. 현재 3개의 계통 - Russet Crack (RC), Ordinary (O), and East Africa (EA) - 으로 분류하고 있으며 (Abad 등, 1992; Kreuze 등, 2000; Kwak 등, 2007), SPFMV의 C 계통은 전체 계통의 상동성이 낮고 계통분석 결과 다른 SPFMV 계통들과 유연관계가 낮아 새로운 종, *Sweet potato virus C* (SPVC)로 분리되었다 (Untiveros 등, 2010). 기존의 보고에 의하면, 국내의 SPFMV는 RC계통과 O 계통으로 분류되었다 (Kwak 등, 2007). EA 계통은 동부 아프리카에서 처음 분리 동정되었으며 (Kreuze 등, 2000; Mukasa 등, 2003), 페루 (Untiveros 등, 2008), 베트남 (Ha 등, 2008), 이스터 섬 (Rännäli 등, 2009) 등에서 보고되었으며 최근에는 중국에서도 발생이 보고되었으나 (Qin 등, 2013) 국내에는 분포하지 않는 것으로 보고되어 있다 (Kwak 등, 2007). SPFMV 이외의 고구마 감염 potyvirus (SPVG, SPLV 및 SPV2)에 관한 연구는 아직까지 활성화되어 있지 않으나, 최근에 전체 유전자 염기서열이 보고되고 있으며, SPFMV를 비롯한 다른 potyvirus들과의 비교 분석이 이루어지고 있다 (Ateka 등, 2007; Li 등, 2012; Rodriguez Pardiña 등, 2012; Wang 등, 2013).

SPFMV와 더불어 가장 활발하게 연구되고 있는 바이러스는 *Geminiviridae*의 *Sweet potato leaf curl virus* (SPLCV)로 *Begomovirus* 속으로 분류되며, 중국과 대만에서 처음 병 발생을 보고하였다 (Shinkai, 1979, Liao 등, 1979). 이후 케냐와 미국, 브라질, 멕시코, 중국, 푸에르토리코와 페루 및 우리나라에서 그 발생이 보고되었다 (Lotrakul 등, 2002; Miamo 등, 2006; Fuentes and Salazar 2003; Kwak 등, 2006). SPLCV를 비롯한 고구마에 감염하는 베킨모바이러스의 여러 종들 (SPLCV, IYVV, SPLCGV, SPLCCaV, SPLCLaV, SPLCESV, SPGVaV, and SPMaV)의 전체 계통이 결정되어 보고되어 있으며 이들을 Sweepovirus라는 subgenus로 묶어 명명하고 있다 (Lotrakul et al., 1998; Banks et al., 1999; Lotrakul et al., 2003; Fauquet 등, 2003; Lozano 등, 2009; Paprotka 등, 2010). 감염된 고구마의 어린 잎에서 위쪽으로의 잎 말림과 엽맥이 굵어지는 병징을 관찰할 수 있으나 병징이 약화되거나 없어지는 경향을 보였다. SPLCV로 감염은 품종에 따라 30%에 이르는 수량감소가 나타난다. 또한 SPLCV는 담배가루이에 의해서 영속전염하나 전염율 및 확산율이 낮으며 (Valverde 등, 2004), 접목에 의한 전염 또한 가능하다. 그러나 일반적으로는 유료 생산을 위한 영양번식 과정에서 재배포장 내 확산이 이뤄지는 것으로 알려져 있으며 최근에는 종자전염이 가능함이 보고되었다 (Kim 등, 2015). 국내에서는 SPLCV에 대한 전체 유전자 결정 및 계통 분석이 이뤄진 바가 있으며 (Park 등, 2012; Choi 등, 2012), 근래에는 새로이 분리 동정된 SPGVaV에 대한 전체 염기서열이 보고되어 있다 (Kil 등, 2014).

기존의 연구를 통해 조사한 바이러스 감염을 조사 결과, 국내에서는 *Potyvirus*속에 속하는 SPFMV, SPVG, SPLV와 *Geminivirus*과에 속하는 고구마 잎 말림 바이러스 (SPLCV)가 보고 되어있으며, 이전에 수행된 바이러스의 감염 현황 전국 조사에서는, 시료의 약 73%가 이들 4종 바이러스 중 하나 이상에 감염된 것으로 나타났다 (Kwak 등. 2006). SPFMV과 SPVG는 각각 40% 및 16%의 감염율로 우점을 보였으며, SPFMV+SPVG의 복합감염이 전체 조사 시료의 11%에서 검출되었다. SPCSV는 윤 등(2002)에 의해 보고되었지만, 최초 보고 이후 현재까지 국내에서 검출되지 않았다. 따라서 지속적인 바이러스 감염을 현황에 대한 조사와 새로운 계통의 유입에 대한 모니터링이 필요할 것으로 사료된다.

한편, 고구마 품종 판별을 위한 DNA 및 단백질 마커 개발과 관련하여 살펴보면, DNA품종 식별 기술에 이용되는 DNA마커로서는 다양한 종류가 있으며, 마커 개발에는 여러 가지 방법 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)법, AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)법, ISSR (Inter Simple Sequence Repeat)법, RFLP(Restriction Fragment Length Polymorphism)법 등이 적용되고 있다. 식물분야에서는 지금까지 RFLP, RAPD, AFLP법 등을 이용해, 각종 농산물의 품종식별을 해왔지만, 밴드의 유무나 밴드의 패턴으로 판정하는 RAPD 등은 재현성을 확보하는 것이 곤란하며, DNA식별에는 부적합하다. 때문에 금후에는 식별자체가 잘 이루어지는지의 판정의 지표가 되는 inner 마커(반드시 검출되는 DNA마커(밴드)) 등을 키트에 포함키는 방향으로 진행되어야 한다고 생각된다. 또한 DNA마커를 특이적으로 PCR증폭하도록 프라이머를 재설계해서 STS(sequence Tagged Site)화 하는 등, DNA감정용 DNA마커로서 재구축 하는 것이 필수 불가결한 것으로 생각된다.

지금까지 DNA 품종식별기술의 개발 현황을 보면, 그 대부분이 각각의 연구실에서 수행된 기술개발이며, 또한 계놈해석으로부터 얻어진 DNA마커선발에 의한 육종의 가속화가 많은 연구에서 주요 연구목적으로 이루어져 왔다. 즉 유용한 표현형질에 관한 유전자 영역을 단리하여, 이것을 DNA마커로서 선발육종에 이용하는 것이다. 이와 같은 DNA마커는 고구마의 유전적 분석은 물론 육종에 중요한 도구로 사용될 수 있다. 또한 염색체지도의 작성이나 QTL해석 등의 계놈해석에 있어서도 DNA마커가 유리하게 활용된다. 이 경우에는 제공되는 DNA마커의 대부분은 DNA 품종 식별에도 이용되는 micro-satellite, mini-satellite, RFLP, AFLP, RAPD 등의 DNA마커이다. 따라서 지금까지 DNA품종식별기술의 개발이 계놈 해석 연구의 일환으로서 수행되어 왔으며, 이와 같은 연구실에서의 기초연구적인 계놈 해석과 실제 사회에서의 실용화 기술의 개발과 적용이 주가 되는 DNA품종식별기술의 개발연구는 차이가 있을 수밖에 없다. 따라서 DNA품종식별기술의 개발연구는 실용화를 상정한 기술의 신뢰성, 재현성, 타당성을 객관적으로 보증하는 시스템과 조직이 모두 정비되어야 한다.

현재 고구마 품종의 동정은 감자와 마찬가지로 형질에 근거한 카탈로그가 기본으로 되어있으며, DNA마커는 유전자지도 작성을 위한 시도가 주를 이루고 있다. 고구마의 품종 식별에 이용하는 DNA마커는 감자와 마찬가지로 이미 존재하고 있지만, 실제의 운용을 상정한 연구개발에 제대로 대처하고 있지 못하고 있는 실정이다.

한편으로 단백질에 관련한 연구를 살펴보고자 한다. 먼저 2DE는 세포나 조직의 단백질 전체를 동시에 분석하고 동정할 수 있는 프로테오믹스의 주요한 방법 중 하나이다(Agrawal and Randeep, 2008). 약 40년 전 소개된 이후로 식물의 생물적·비생물적 스트레스의 효과, 호르몬의 역할, 식물 발달단계변화 등을 연구하는데 널리 사용되어왔다. 그러나 식물단백질의 대부분은 10^6 - 10^5 정도의 크기로 존재하는 루비스코(RuBisCO; ribulose-1,5-bisphosphate

carboxylase/oxygenase)와 다른 관리단백질(housekeeping protein, 모든 세포에 공통적으로 존재하는 단백질)같은 과발현 단백질이다 (Gupta et al 2015). 특히 루비스코는 전체 단백질의 큰 비율을 차지하여 저발현 단백질이 IPG strip에 흡수되는 것을 저해한다. 결과적으로 MS(mass spectrometry)를 이용하여 2D gel에서 저발현 단백질을 동정하는 것이 힘들다. 현재에서 한 단계 더 나아가 이미 잘 알려진 과발현 단백질보다 저발현 단백질을 타겟으로 하는 연구가 필요하다. 따라서 식물 단백질 추출법과 루비스코 제거기술을 결합하여 식물 단백질을 좀 더 깊이 알아보고자 한다.

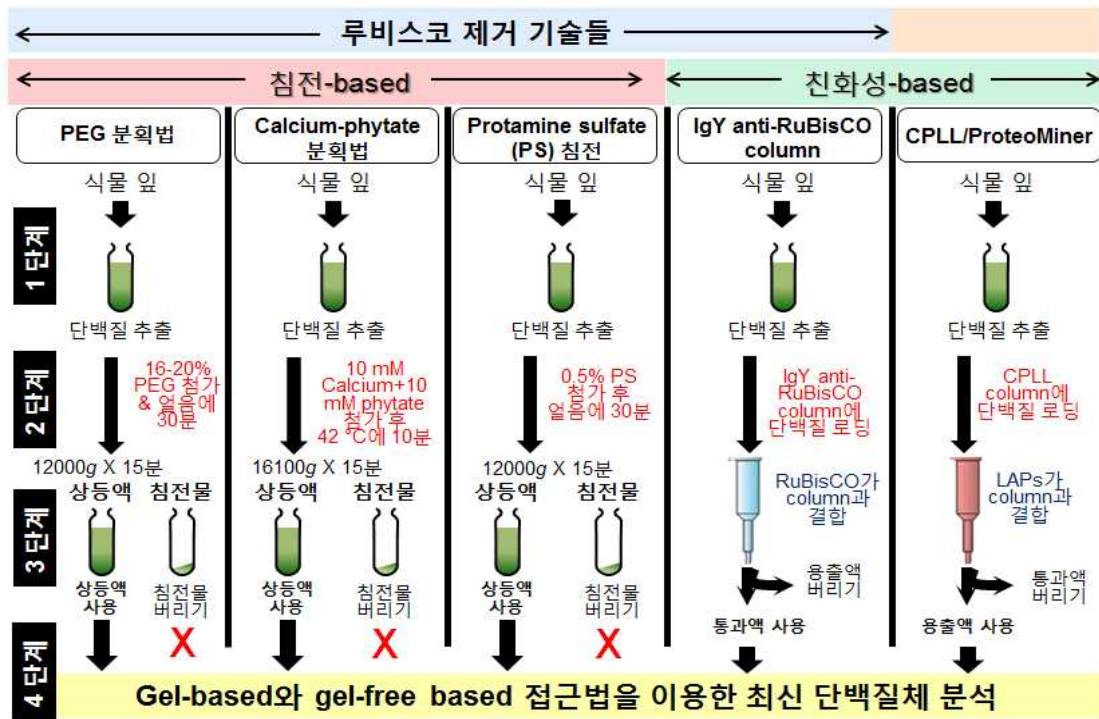


그림 1 과발현단백질 침전과 저발현단백질 농축을 위한 다양한 단백질 추출법. 침전법에 기반한 PEG 분획법, calcium-phytate 분획법, protamine sulfate 침전법과 친화성에 기반한 루비스코 항체 column 이용법, CPLL 기술법에 대한 간략한 순서도이다.

최근 20년 동안 단백질 추출과정에서 루비스코를 제거하기 위한 많은 방법들이 개발되었다. 최초로 개발된 PEG(poly-ethylene glycol)를 기반으로 한 방법은 벼의 잎에 적용되었다 (Kim et al 2001). 단백질 추출과정에서의 20% PEG의 적용은 루비스코 단백질을 꽤 많이 침전시켰고 상등액에 저발현 단백질이 농축되었다. 이 방법은 애기장대에도 적용되었으며, 16%의 PEG만으로 루비스코 단백질을 충분히 제거하였다. 이 방법은 다양한 식물에 적용될 수 있으나 힘들고 시간이 많이 소모된다. PEG 분획 접근법 이후에, calcium (Krishnam and Natarajan, 2009)과 phytate 를 이용한 새로운 방법이 소개되었다. 콩잎 추출물에 10mM calcium과 10mM phytate를 첨가하여 42°C에 10분동안 배양하여 루비스코의 86%를 침전시켰다. 이 방법에서 42°C의 높은 배양온도는 루비스코 제거에 필수적이지만 몇몇 열에 불안정한 단백질들이 변성될 수 있다. 낮은 온도에서 배양할 경우 루비스코 침전 능력이 상당히 감소되었다. 4°C에서는 오직 44%의 루비스코만이 제거되었다. 최근에 소개된 방법은 protamine sulfate를 기반으로 한 루비스코 제거 방법이다 (Kim et al. 2013). 단백질 추출단계에서 0.1%의 protamine sulfate를 첨가해 루비스코를 침전시키고 상등액의 저발현 단백질을 농축시킨다. 이 방법은 western blot

을 이용하였을 때 감지되지 않을 정도의 소량만 남기고 루비스코를 제거할 수 있다. 이 protamine sulfate 기반의 방법은 빠르고, 믿을만하며, 비용효율이 좋고, 효과적이다.

위에 언급된 침전 기술들 외에 친화성을 기반으로 한 방법들이 있다. 이 방법은 시판되고 있는 column형태의 항-루비스코 항체를 활용한다. 루비스코에 아주 특이적이라는 장점이 있지만 널리 사용되기에는 비싸다. CPLL (combinatorial peptide ligand library)기술은 루비스코를 제거하지 않고 저발현 단백질을 농축시키는 방법이다. P.G. Rigehtti 팀에 의해 개발된 이 기술은 현재 Proteominer(BioRed)라는 상품명으로 시판되고 있다. 간략히, CPLLs는 수백만 개의 펩타이드들로 구성된다. 단백질 추출물을 CPLL column에 넣어주면, column과 친화성을 가진 단백질들이 결합한다. 이 단백질의 주요한 분획들은 제한된 결합수용가능성 때문에 씻겨져 나가고 낮은 농도의 저발현 단백질 많이 결합된다. 추출물을 계속 column에 흘려줄수록 저발현 단백질이 농축된다. 이 방법은 특이적인 루비스코 제거에 기반을 둔 것이 아니라 모든 일반적 과발현 단백질을 제거하는 방법이다 (Cellar et al., 2008). 여기서 논의된 다양한 과발현 단백질 제거 방법들은 그림1에 개략적으로 나타내었다. 이와 같은 근본적인 문제가 해결되면 마커개발 등과 같은 보다 넓은 범위에서의 운용도 가능할 것으로 사료된다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 연구개발수행 내용

1. 고구마 바이러스 무병주 생산 및 대량번식 시스템 개발

구분 (연도)	연구 범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
1차 년도 (2010)	고구마 재분화 및 무병주 확보	-고구마 생장점을 이용하여, 캘러스유기를 통한 고구마 재분화 및 direct 슈트유기 -조직 배양기술을 통한 무병주 생산	-호르몬 2,4-D 및 4-FA의 캘러스 유도효율평가 -생장점에서의 direct 슈트유기 -배지조성에 따른 재분화식물체의 생육
	수경재배 시스템에서의 고구마 생육특성	수경재배 시스템에 따른 고구마 괴근의 생성패턴을 비교	고형배지 시스템 및 순수수경 시스템에서의 고구마 괴근형성 수량 평가
2차 년도 (2011)	무병주 생산에 적합한 배지 및 양액조성, 환경조건의 최적화 평가	-배지상태 및 배양온도에 따른 기내 증식 효과 조사	-생육속도가 빠른 액체배지 배양을 이용하여, 온도에 따른 생육차 조사하고, 적합한 환경 평가 -기내배양을 통한 배양체 증식 속도 평가
	대량증식을 위한 적정 재배조건 구축 및 실용화에 대한 평가	-바이오리액터 이용 대량증식 -배양체의 토양 및 수경재배 시스템 적용 -묘 생산증진을 위한 식물생장촉진 박테리아 적용	-바이오리액터를 이용한 대량증식묘의 토양재배와 수경재배(호글랜드용액, 시립대 감자배양액용액)를 통해 묘생산 효율 조사 -식물생장촉진 박테리아를 고구마 묘생산에 적용하여, 생산증진효과 및 실용가능성 검진
	무병 씨고구마 생산체계 개발	-수경재배시스템 적용	-무병 씨고구마 생산을 위해 수경재배 시스템을 적용하고 삼수묘의 차이에 의한 씨고구마 괴근형성 수량조사

3차 년도 (2012)	고형배지경을 이용한 무병묘 대량 증식 체계 개발	-코코넛코이어 고형배지경을 이용한 무병원묘의 증식 및 중순생산	-국내외 무병묘를 이용한 증식 체계 조사 및 증식체계간 차이 분석 -코코넛코이어 고형배지에 시 립대학교 감자배양액을 이용한 점적관수시스템 육묘상의 증식 속도 평가
	무병묘 보급에 의한 실증 재배 평가	-무병묘의 농가적용시험	-무병묘를 농가에 적용하여 시 험재배 - 무병묘의 농가적용까지의 보 완점 등을 파악
	무병주 대량생산 및 보급에 대한 기술적 보완 및 산업화 기술이전	-무병묘 생산체계 검토 및 생산 농가 적용	-연구기관, 영농조합법인 및 농 가를 포함한 무병주 생산 및 증식 모델 설정 -기존의 고구마 묘 생산보급체 계 파악 및 보완점 조사 -거점 농가를 통한 무병묘 대 량증식체계의 시험적용
4차 년도 (2013)	무병건전묘 대량생산 및 포장 증식 효율성 증대	-증식방법 및 발근체 처리에 따른 증식효율 조사	-무병묘 증식체계에 따른 증식 효율 조사 -생장조절제 등의 처리를 통한 묘 생존률 제고
	무병건전묘의 생산보급에 대한 기술적 보완 및 산업화 기술이전	-무병묘 생산체계 적용을 통 한 무병건전묘 생산보급	-국내보급형 무병주 생산 및 증식 모델 설정 -육묘장을 이용한 건전묘 증식 및 건전묘 증식을 통한 고구마 무병중순 생산의 산업화 시험 적용
5차 년도 (2014)	무병건전묘의 생산보급에 대한 기술적 보완 및 산업화 시연	-무병건전묘의 생산 및 보급 체계를 적용한 무병묘 생산보 급 -산업화에 따른 경제성 평가	-국내보급형 무병주 생산보급 체계의 적정성 평가 -무병묘 생산보급 사업 및 이 용 농가의 경제성 평가

2. 고구마 바이러스병 진단 시스템 개발

구분 (연도)	연구범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
1차 년도 (2010)	바이러스 진단시스템 확립	-Multiplex RT-PCR 검정법 확립	- 고구마 바이러스 4종(SPFMV, SPGV, SPLV 및 SPLCV) 동 시진단 시스템 확립
	고구마 바이러스병의 발생상황 조사	-유전자원 바이러스 검정	- 목포시험장 국내외 보유 유전 자원 452점에 대해 바이러스 검정
2차 년도 (2011)	고구마 바이러스병의 발생상황 조사	-육안검정, 생물학적 검정, 전자현미경검정, RT-PCR 검정	- 고구마 육묘상에서의 바이러 스병 발생을 및 바이러스 분 포도 조사 - 고구마 재배 지역 및 품종별 바이러스병 발생을 및 바이 러스 분포도 조사
	바이러스별 계통 분석	-RT-PCR 검정, 바이러스별 계놈분석	- 고구마 재배 지역 및 품종별 바이러스 변이 분석 - 단독 및 복합감염에 따른 바 이러스 변이 분석
3차 년도 (2012)	고구마 바이러스병의 발생상황 조사	-육안검정, 생물학적 검정, 전자현미경검정, RT-PCR 검정	- 고구마 육묘상에서의 바이러 스병 발생을 및 바이러스 분 포도 조사 - 고구마 재배 지역 및 품종별 바이러스병 발생을 및 바이 러스 분포도 조사
	바이러스별 계통 분석	-RT-PCR 검정, 바이러스별 계놈분석	- 고구마 재배 지역 및 품종별 바이러스 변이 분석 - 단독 및 복합감염에 따른 바 이러스 변이 분석
4차 년도 (2013)	고구마 바이러스병의 발생상황 조사	-육안검정, 생물학적 검정, 전자현미경 검정, RT-PCR 검정	- 고구마 육묘상에서의 바이러 스병 발생을 및 바이러스 분 포도 조사 - 고구마 재배 지역 및 품종별 바이러스병 발생을 및 바이 러스 분포도 조사
	바이러스별 계통 분석	-RT-PCR 검정, 바이러스별 계놈분석	- 고구마 재배 지역 및 품종별 바이러스 변이 분석 - 단독 및 복합감염에 따른 바 이러스 변이 분석
5차 년도 (2014)	바이러스별 계통 분석	-RT-PCR 검정, 바이러스별 계놈분석	- 8종 바이러스 (SPLCV, SPFMV, SPGV SPLV, SPVC, SPV2, SPCFV 및 SPSMV-1)의 전체염기서열 분석
	바이러스 진단시스템 확립	-RT-PCR 검정법 확립	- 미동정 고구마바이러스 진단 시스템 개발

3. 고구마 품종 판별을 위한 DNA 및 단백질 마커 개발

구분 (연도)	연구 범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
1차 년도 (2010)	고구마 판별용 단백질 분리 최적화 기술개발	-단백질 enrichment : PEG fractionation -새로운 염기성 단백질 분리 기술 개발	- 최적 단백질 enrichment : 20% PEG fractionation
	계통별 유전형 분석 및 DNA 마커 개발	-RAPD 등 분자생물학적 기 법을 이용한 계통별 유전형 분석 및 계통 특이적 marker 확보	- 8-10개의 Random Primer 를 이용하여 고구마 품종별 유연관계 분석
2차 년도 (2011)	고구마 판별용 단백질 마커 개발을 위한 단백질 분리	-계통 분석 결과를 바탕으로 고구마 샘플 선택 및 고구 마 분리 최적화 기술을 이 용한 단백질 분리 분석	- 20~30cm SDS-PAGE를 이 용하여 단백질 분리 - MALDI-TOFTOF를 이용 한 단백질 동정
	계통별 유전형 분석 및 DNA 마커 개발	-RAPD 등 분자생물학적 기 법을 이용한 계통별 유전형 분석 및 계통 특이적 marker 확보	- 100개의 Random Primer를 이용하여 고구마 품종별 유 연관계 분석 및 계통 특이 적 SCAR 마커의 개발
3차 년도 (2012)	고구마 판별용 단백질 마커 개발을 위한 단백질 분리	-계통 분석 결과를 바탕으로 고구마 샘플 선택 및 고구 마 분리 최적화 기술을 이 용한 단백질 분리 분석	- 20~30cm SDS-PAGE를 이 용하여 단백질 분리 - MALDI-TOFTOF를 이용 한 단백질 동정
	계통별 유전형 분석 및 DNA 마커 개발	-RAPD 등 분자생물학적 기 법을 이용한 계통별 유전형 분석 및 계통 특이적 marker 확보	- 100개의 Random Primer를 이용하여 고구마 품종별 유 연관계 분석 및 계통 특이 적 SCAR 마커의 개발
4차 년도 (2013)	계통별 유전형 분석 및 DNA 마커 개발	-단백질 마크와 연계된 SCAR, RAPD 등을 이용한 계통별 유전형 분석 - 분자마커 및 분자생물학 적 기법을 이용한 유망 계 통 선발 적용	- SCAR, RAPD 등의 분자생 물학적 기법을 이용한 계통 별 유전형 분석 및 계통 특 이적 marker 확보 - 단백질 마크와 비교분석
5차 년도 (2014)	계통별 유전형 분석 및 DNA 마커 개발	-단백질 마크와 연계된 SCAR, RAPD 등을 이용한 계통별 유전형 분석 -분자마커 및 분자생물학적 기법을 이용한 유망 계통 선발 적용	- SCAR, RAPD 등의 분자생 물학적 기법을 이용한 계통 별 유전형 분석 및 계통 특 이적 marker 확보 - 단백질 마크와 비교분석

4. 고구마 무병주 생산기술 재연성 검정 및 현장보급 시스템 확립

구분 (연도)	연구범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
1차 년도 (2010)	무병주 대량생산 기술 모델 설정	-바이러스 무병주 생산 및 기내증식방법 -무병주 대량생산 및 보급 모델	- 생장점 배양을 통한 무병주생산 체계 및 마디증식체계 - 무병주 자체보급 또는 무병주 유 래 씨고구마 생산 보급을 통한 모델제시
	바이러스 무병주의 실용형질 특성검정	-바이러스 무병주 및 일반 묘 재배후 특성조사	- 수원 및 무안 두 개소에서 생산 수확 후 종피 외관 당도등의 특 성조사
2차 년도 (2011)	무병주 주산지 보급 및 우수성 실증평가	-고구마 주산지 5개 지역 에 4개 품종의 실증평가를 통해 무병묘의 우수성 평가	- 고구마 무병주의 대량생산 및 보 급을 통한 주산지에서 실증평가 - 바이러스 무병묘와 일반묘 지역 별 생육 및 수량 검증 (신황미 등 4품종, 시험지역 : 수원 등 5 개 지역)
3차 년도 (2012)	주산지 고구마 작목반 중심 대단위 실증 재배 및 산업화 기술이전	-고구마 무병주 보급으로 수량성 30~40% 상품성 증가 -고구마 무병주 보급 및 증식체계확립	- 논산 작목반 무병주 실증재배 기 술보급 ·품종명 : 연황미 등 품종 ·재배면적 : 4ha ·삽식기 : 5월 하순 ·수확기 : 10월 하순
	무병주 및 일반묘의 생산량 및 품질비교 평가	-고구마 무병묘 및 일반묘 수량성 향상 및 품질 향상	- 고구마 무병주 및 일반묘와 수량 조사 ·생육조사 : 넝쿨길이, 생체중 등 ·수량조사 : 주당개수, 총생산량 등 - 고구마 무병주 및 일반묘 품질비 교평가 ·상품성, 선택 등
4차 년도 (2013)	주산지 고구마 작목반 중심 대단위 실증 재배 및 산업화 기술이전	-고구마 무병주 보급으로 수량성 30~40% 상품성 증가 -고구마 무병주 보급 및 증식체계확립	- 논산 작목반 무병주 실증재배 기 술보급 ·품종명 : 연황미 등 품종 ·재배면적 : 4ha ·삽식기 : 5월 하순 ·수확기 : 10월 하순
	무병주 및 일반묘의 생산량 및 품질비교 평가	-고구마 무병묘 및 일반묘 수량성향상 및 품질 향상	- 고구마 무병주 및 일반묘와 수량 조사 ·생육조사 : 넝쿨길이, 생체중 등 ·수량조사: 주당개수, 총생산량 등 - 고구마 무병주 및 일반묘 품질비 교평가 ·상품성, 선택 등

	무병주의 바이러스 재감염률 조사	- 바이러스 무병주 재배후 바이러스 감염률 조사	- 무병주 재배기간 4종의 바이러스 검정하여 재감염률 파악
5차 년도 (2014)	주산지 고구마 작목반 중심 대단위 실증 재배 및 산업화 기술이전	-고구마 무병주 보급으로 수량성 30~40% 상품성 증가 -고구마 무병주 보급 및 증식체계 확립	- 충남 태안, 충북 산척 작목반 무병주 실증재배 기술보급 · 품종명 : 연황미 등 품종 · 재배면적 : 지역별 2ha · 삼식기 : 5월 27~29일 · 수확기 : 9월 25일~ 28일
	무병주 및 일반묘의 생산량 및 품질비교 평가	-고구마 무병묘 및 일반묘 수량성향상 및 품질 향상	- 고구마 무병주 및 일반묘와 수량조사 · 생육조사 : 넝쿨길이, 생체중 등 · 수량조사: 주당개수, 총생산량 등 - 고구마 무병주 및 일반묘 품질 비교평가 · 상품성, 선택 등
	무병주의 바이러스 재감염률 조사	- 바이러스 무병주 재배 후 바이러스 감염률조사	- 무병주 재배기간 4종의 바이러스 검정하여 재감염률 파악

5. 고구마 무병주 대량 생산기술을 이용한 실증화 및 농가적용

구분 (연도)	연구범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
2차 년도 (2013)	고구마 생산 시스템 실증화 및 농가적용	-고구마 무병묘의 생산 우수 성 평가	- 일반 고구마묘와 무병묘의 육 묘 생육 특성 차이 평가 - 본포에 정식하였을 때 일반묘 와 무병묘의 생육 및 수량 차 이 평가
		-무병묘 대량 생산 시스템을 위해 지역별 특성 검정	- 전남과 익산의 농가 및 순하 우스에서 지역별 차이 검정
3차 년도 (2013)	고구마 생산 시스템 실증화 및 농가적용	-고구마 무병주의 시설 내 자 가증식 수량성 검정	- 고구마 무병주의 펄라이트 고 형배지경 양액재배를 통한 자 가증식 - 고구마 무병주의 자가증식 방 법에 따른 수량성 비교
4차 년도 (2013)	고구마 무병주의 자가증식 방법 개선 및 정립	-무병묘의 자가 증식효율 검 정	- 식재간격, 적심시기, 재배법에 따른 증식배수확인 - 고구마 무병주의 자가증식 방 법에 따른 채묘수 비교
	고구마 무병주의 농가 보급 및 일반묘와의 수량성 비교	-무병주와 일반묘의 고구마 생산량 평가	- 무병묘와 일반묘 재배에 따른 생산량 및 상품성 비교
5차 년도 (2014)	고구마 무병주의 자가증식 방법 개선 및 정립	-고구마 무병주의 자가증식 방법 개선 및 정립 -고구마 무병주의 농가 보급 및 일반묘와의 수량성 비교	- 자가증식 방법의 개선 및 효 율화를 통한 생산성 증진 - 무병묘 생산 및 농가적용을 통한 수량 및 경제성 평가

제 2 절 연구개발 결과

1. 고구마 바이러스 무병주 생산 및 대량번식 시스템 개발

가. 조직배양을 통한 바이러스 무병주 생산 체계구축

(1) 고구마 성장점을 이용한 재분화 체계 확립

고구마의 성장점을 이용한 재분화 체계를 확립하기 위하여, 캘러스를 경유한 식물재분화 및 성장점배양을 통한 고구마의 재분화 연구를 수행하였다, 먼저 고구마 캘러스 유도를 위해 국내주요 보급품종인 울미의 shoot tip을 사용하여 1.0mg/L~5.0mg/L의 농도로 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid)와 4FA (4-fluorophenoxyacetic acid)를 첨가하여 캘러스 발생을 조사하였다. shoot tip은 1.0mg/L~2.0mg/L이 첨가된 2,4-D배지에서는 다소 조직이 물러지면서 끈적거리는 캘러스가 형성되었고, 4.0mg/L~5.0mg/L의 높은 농도에서는 다소 단단하고 윤기 있는 캘러스가 형성되는 것을 관찰 할 수 있었다. 2,4-D를 이용하여 embryogenic 캘러스를 유도하였으며, 1.0mg/L~2.0mg/L이 첨가된 2,4-D배지에서 유래된 캘러스에서는 direct embryo가 형성되는 것을 관찰 할 수 있었으며, 4.0mg/L~5.0mg/L의 농도에서 유래된 캘러스에서도 embryogenic 캘러스를 획득할 수 있었다. 고구마 캘러스 유기에 주로 사용되는 4-FA 처리구에서는 모든 농도에서 초기 캘러스가 발생하였으나, 1.0mg/L~2.0mg/L의 농도에서 유래된 캘러스에서만 노란색의 단단하고 윤기 있는 embryogenic 캘러스가 발생하는 것을 관찰할 수 있었다. 고구마의 성장점을 이용한 식물의 재분화에서 Liu와 Cantiliffe (1984)는 2,4-D 0.5mg/L~2.0mg/L 처리가 배발생에 효과적임을 보고하였으며, 주로 NAA와 같은 옥신류 및 사이토키닌 BAP의 혼용처리가 고구마의 재분화에 효과적이라는 다수의 연구결과가 보고되었다(Eun 등, 2002; Eun과 Kim, 1999; Park, 2003). 본 연구에서는 획득된 embryogenic 캘러스를 0.1mg/L BAP가 함유된 재분화 배지 및 광조건에서 효과적으로 재분화 식물체를 획득할 수 있었다(그림 3-2-1-1).



그림 3-2-1-1. 식물호르몬을 이용한 캘러스유기 및 배배양 캘러스로부터의 고구마 재분화

고구마의 성장점을 이용한 조직배양을 통하여 빠르게 무병주를 얻을 수 있었으며, 고구마의 성장점 배양은 shoot tip부위를 이용하여 70% 에탄올 30초, 50% 유한락스 10분간 침지하여 소독하고 멸균수로 3회 수세 후, 재분화배지에 치상하였다. 재분화배지는 기존의 연구결과를 토대로 하여, 옥신과 사이토키닌의 조합을 이용하였으며, 성장조절제를 처리하지 않은 1/2MS배지와 0.05mg/L NAA+0.5mg/L BAP, 0.01mg/L NAA+0.5mg/L BAP 배지로 치상하여, 배양 60일 후에 재분화 식물체를 얻을 수 있었다(그림 3-2-1-2). 이는 고구마 재분화에 관련한 선행연구에서 밝혀진 식물성장조절제 처리농도인 0.1mg/L NAA (Eun과 Kim, 1999) 보다는 낮은 농도로 Park (2003) 과 Cheng 등 (1990)과 비슷한 보다 저농도의 옥신처리가 재분화에 효과적이라는 것을 알 수 있었다. 한편 NAA와 BAP의 혼용처리에서 뿐만 아니라 식물호르몬이 첨가되지 않은 1/2MS배지에서도 극소수의 식물체를 얻을 수 있었는데, 앞으로 본 연구에서는 기존 사용된 성장조절제 처리조합보다 캘러스가 덜 발생되면서 신초가 빠르게 발생할 수 있는 조합을 찾아야 할 것으로 사료된다.



그림 3-2-1-2. 고구마의 성장점 배양을 통한 고구마 소식물체 생산 및 액체배지와 고체배지에서의 소식물체 생육차이

(2) 기내 무병식물체 증식을 위한 배지 조성

조직배양을 통해 획득한 기내 무병식물체의 기내 대량증식을 위해 여러 가지 배지 조성을 사용하여 신초생육과 뿌리 발달양상을 조사하였다(그림 3-2-1-3). 사용된 배지로는 일반 수돗물, 양액(서울시립대 감자 배양액)과 1/2양액, MS(Murashige and Skoog)배지 및 1/2MS 배지를 사용하여 Sucrose농도에 따른 생육차를 조사하여, 경제적이고 식물생장에 양호한 배지조성을 얻고자하였다. 물을 기본 배지로 하고 sucrose 농도만을 조절하였을 때, 고구마 신초생장이나 뿌리 발생이 양호하지 못하여 기본적으로 생장에 필요한 질소, 인산, 칼리가 필수적으로 필요하다는 것을 확인하였다. 고구마의 생육 전반적으로 볼 때 칼륨, 질소, 인산 순으로 흡수량을 보인다. 그러나 고구마의 생육초기 지상부 생육을 위해 질소를 많이 흡수하고 후기에는 흡수량이 적어 잎 속의 질소 농도가 낮아짐에 따라 동화산물이 덩이뿌리에 잘 축적 되도록 하여야 한다. 그리고 인산은 생육 초기 뿌리의 신장을 좋게 하므로 초기에 흡수량이 많도록 한다. 또한 칼리는 전 생육기간을 통하여 많은 양이 흡수 되어야 고구마 비대에 좋으므로 생육후기까지 흡수가 되도록 하여야 한다. 또한 육묘중의 질소는 다소 많은 편이 좋은 묘를 생산할 수 있고 삼식후의 생육과 수량에도 좋은 결과를 가져온다. 따라서 원액

감자양액배지와 원액 MS배지는 1/2로 줄인 배지보다 신초생장이나 세근발생이 양호하였는데 이는 원액 배지가 질소와 인산이 보다 많은 양을 함유하여 보다 많은 양을 흡수할 수 있었기 때문인 것으로 사료된다. 그리고 마디에서 신초생장이나 뿌리발달이 MS배지가 감자양액배지보다 좀더 양호하다는 것을 확인할 수 있었는데 이는 MS배지가 질소와 인산 많이 함유하고 있는 이유라고 판단된다. 무엇보다도 고구마생육 초반기 지상부 생장과 세근 발달을 양호하게 한다는 재배생리와 일치하는 것으로 본 연구과제의 목적하는 바이러스 무병 고구마 묘를 기내에서 빠른 시간 안에 성장시키고 뿌리발달을 촉진하여 대량 생산하고자 한다면 질소와 인산이 많이 함유하고 있는 MS배지가 적절할 것으로 판단된다.

또한 sucrose 함량이 고구마의 마디를 이용한 배양에 미치는 영향을 조사한 결과, sucrose 농도가 증가할수록 신초의 생육이나 뿌리발달이 증가하는 것으로 나타났다. 이와 관련하여, 고구마 마디배양에서 sucrose 함량이 3%에서 1.5%나 2%로 낮아질수록 뿌리와 절간수가 줄었다는 연구보고가 있으며(Jarret 와 Gawel.1991), 또한 카네이션과 토마토의 기내 소식물체 생장에 있어서 sucrose 함량의 감소는 생장을 억제시키는 데 효과가 있었다(Schnapp 와 Preece.1986). 그리고 sucrose 농도가 6%~8%인 고체배지에서 식물체의 초장, 근장, 마디수, 엽면적, 생체중 및 건물중 등 모든 성장반응이 우수하였고 sucrose 함량이 감소 수록 성장반응이 줄어들었다는 보고와 같이 본 연구에서도 sucrose 농도가 5%에 이르러도 신초생육이나 뿌리발달이 증가하여 추가 실험을 통하여 5% 이상의 sucrose 농도에서 액체배지별 신초생육과 뿌리 발달 상태를 관찰 필요가 있다고 본다. 본 연구 결과 및 sucrose 함량이 기내 소식물체 생장에 영향을 미친다는 기존 연구를 포함하여, 경제적이며, 고구마 기내 증식에 적합한 배재조성을 구명할 추가적 실험이 필요하다고 생각된다. 한편 MS를 이용한 고체 및 액체배지를 이용한 기내 소식물체의 생장은 고체배지에 비해 액체 배지에서 월등히 높은 것으로 나타나 이후의 증식배지는 액체배양을 기반으로 하는 것이 적절하다고 판단된다(그림 3-2-1-3).

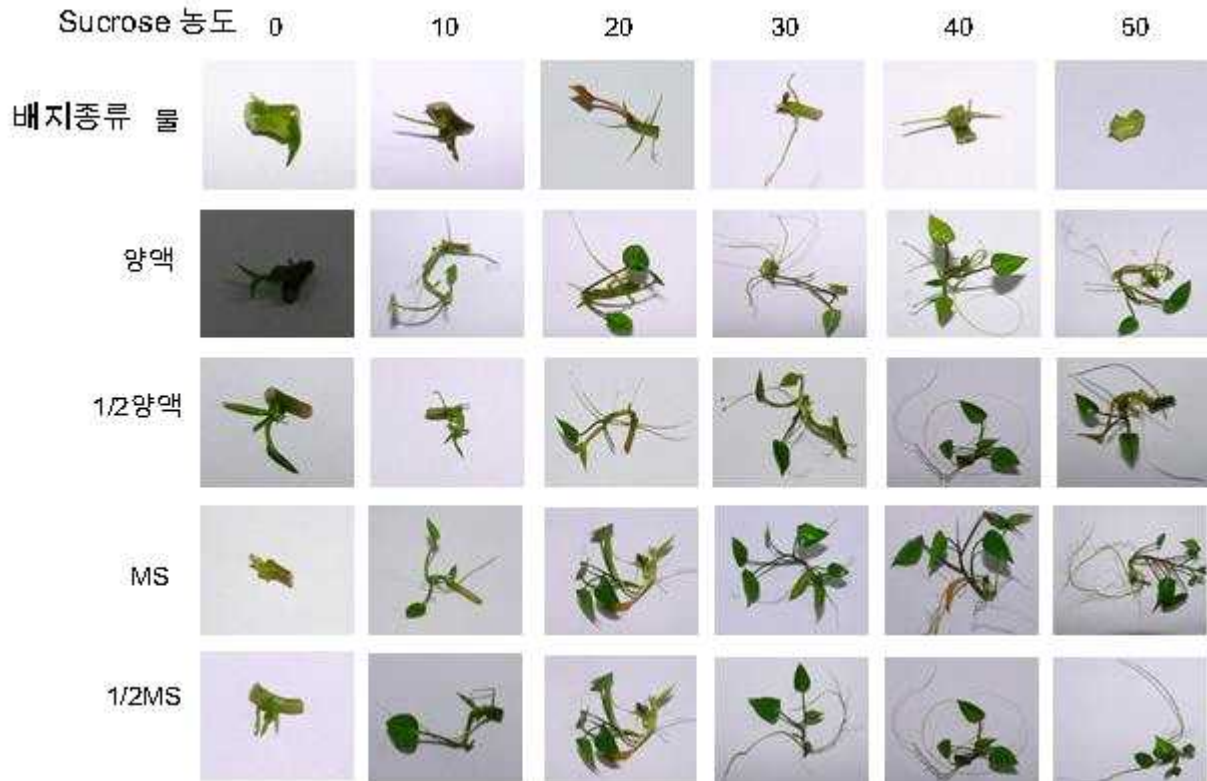
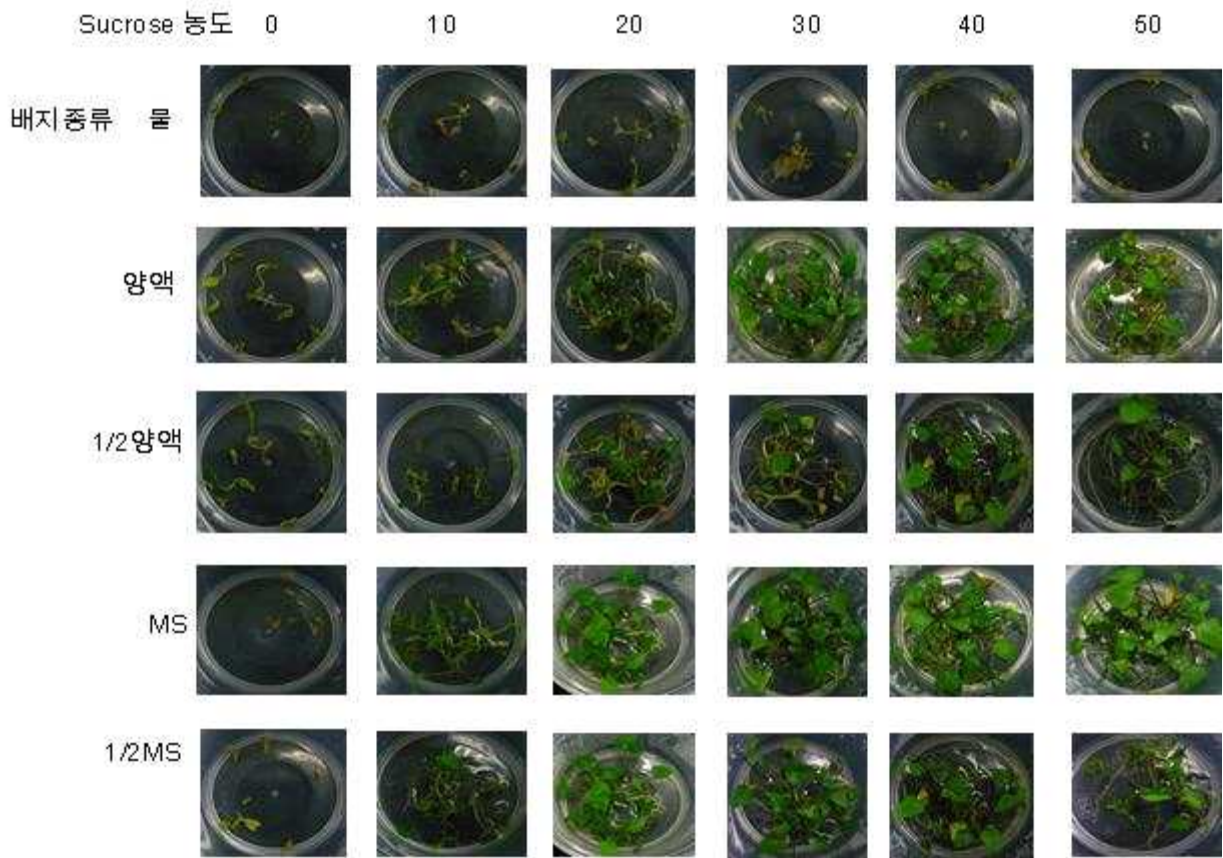


그림 3-2-1-3. 배지종류 및 sucrose 처리 농도에 따른 고구마 마디배양의 생육차이

나. 무병묘 대량증식 시스템 구축 및 수경재배 시스템을 이용한 무병 씨고구마 생산체계 개발

(1) 무병주 생산에 적합한 배지 조성 및 환경조건

선행연구의 결과, 성장점배양을 통해 획득한 기내 무병식물체의 기내 대량증식을 위해 고체배지 보다는 액체배지에서 기내증식이 유리하다는 것을 확인하였다. 이에 따라, 본 연구과제에서 기내증식은 액체배지를 이용하여 수행하였다. 한편, 식물체의 생육에는 광을 비롯한 온도 등의 환경요인이 크게 작용하고 있으며, 따라서 적절한 기내배양 온도를 찾기 위해 온도에 따른 기내배양체의 생육을 조사하였다 (그림 3-2-1-4, 3-2-1-5, 표 3-2-1-1). 기내 배양체의 증식은 잎이 달린 절편체 (한마디)를 MS액체배지에 치상하고, 25℃ 및 30℃ 챔버에서 2주간 생육시킨 후 성장량을 조사하였다.

그 결과, 25℃ 및 30℃의 생육조건에서 고구마의 마디절편을 이용한 기내증식 실험 결과, 25℃보다는 30℃의 생육조건이 지상부의 신장 및 마디형성에도 우수한 것으로 나타났으며, 지상부의 생체중도 증가한 것으로 나타났다. 일반적으로 한마디를 가지는 마디절편을 이용한 기내증식에서 고체배지를 이용하는 경우에서 약 6-7마디가 되는데 약 20일 정도가 소요된다. 그러나 액체배지를 이용하는 경우에는 표 1에 나타나듯이 약 2주에 6-7마디가 형성되는 것으로 나타나 약 30%정도의 생육촉진효과를 볼 수 있었다. 한편 액체배지에서 온도차에 따른 마디형성은 25℃에서 약 6.2마디, 30℃에서 6.84마디로 약 10%정도의 증가율을 보였다. 한편, 지상부 길이는 3.64cm에서 5.62cm으로 54%의 증가율을 보였으며, 지상부의 생체중 또한 34%의 증가율을 보여, 고구마 무병주 생산을 위해 마디절편을 이용하여 기내 증식을 하고자 하는 경우에는 30℃의 생육조건에서 수행하는 것이 적절하다고 판단된다.



그림 3-2-1-4. 생육 온도에 따른 고구마 기내 배양체의 생육변화

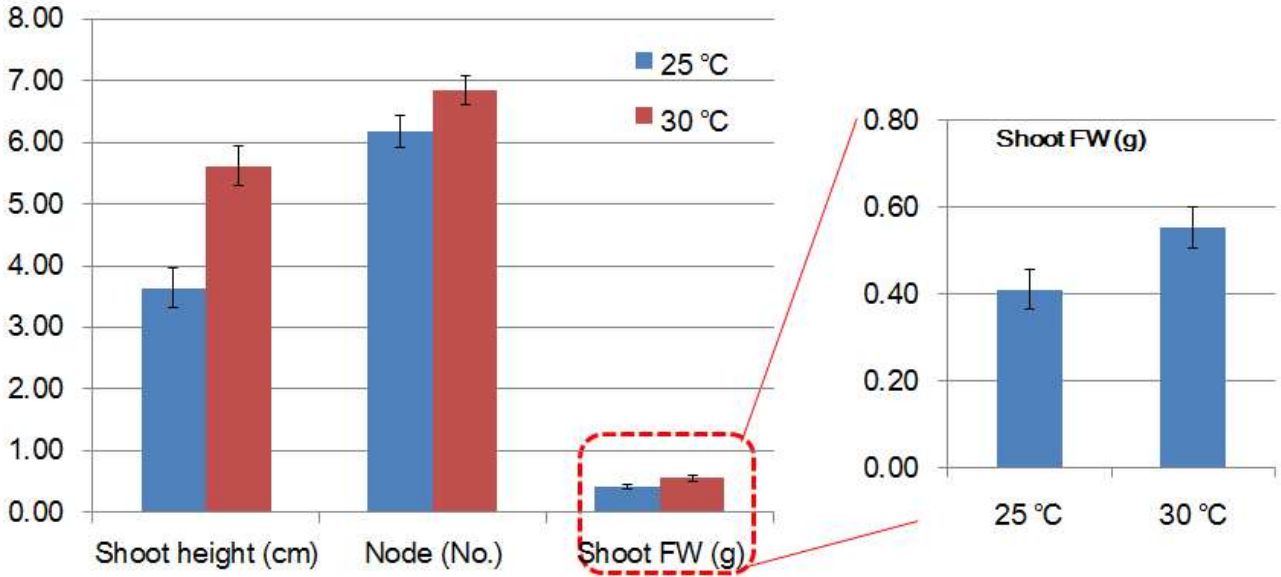


그림 3-2-1-5. 생육 온도에 따른 고구마 기내 배양체의 지상부 길이, 마디수 및 지상부 생체중

표 3-2-1-1. 고구마 기내배양체의 생육 온도에 따른 생육특성 조사

	Shoot height (cm)	Node (No.)	Shoot FW (g)
25 °C	3.64 ± 0.32	6.18 ± 0.27	0.41 ± 0.05
30 °C	5.62 ± 0.33	6.84 ± 0.23	0.55 ± 0.05

(2) 기내배양체를 이용한 무병주의 대량생산 체계

무병주의 대량생산 체계를 확립하기 위하여, 바이오리액터를 이용한 시스템을 도입하였다. 마디절편을 이용한 기내증식을 2주에 약 6-7배, 한달에는 35-50배 정도로 증식할 수 있다. 이와 같이 증식된 기내배양체는 그림 3과 같이 마디절편을 채취하여 MS배지(액체배지)가 들어 있는 바이오리액터에 치상하여 생육을 시켰다. 공기유입장치를 통한 지속적인 산소공급을 통해 호흡장해를 제어했으며, 1개월 동안의 바이오리액터에서 대량증식을 통해 성장한 소식물체는 식물육묘 트레이에 이식하여, 무병묘를 생산하였다(그림 3-2-1-6).



그림 3-2-1-6. 바이오리액터를 이용한 기내배양체의 대량증식과 무병묘 생산체계

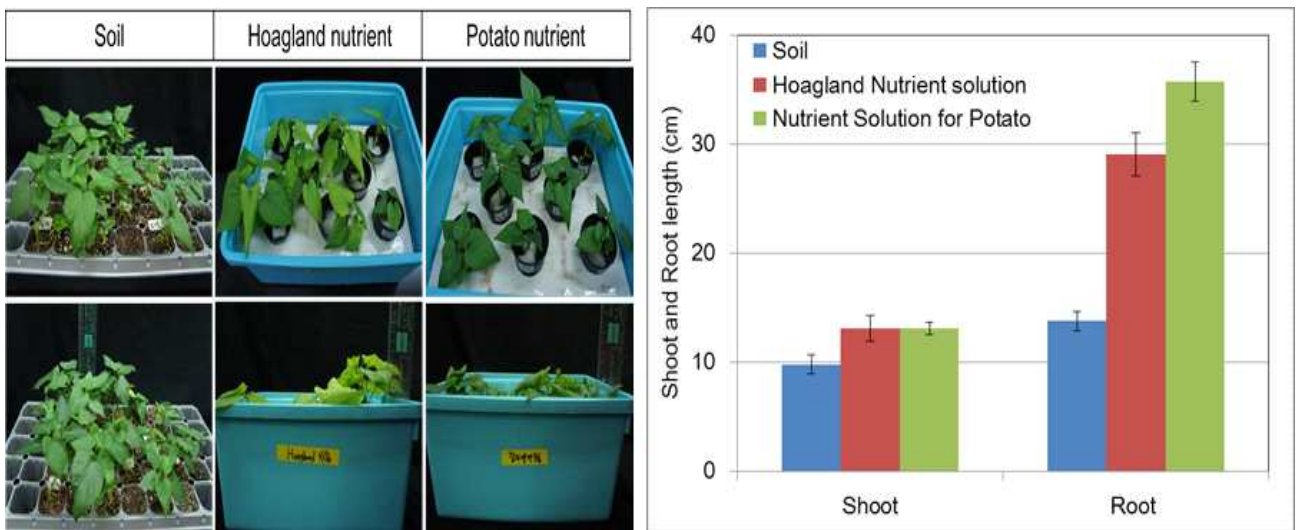


그림 3-2-1-7. 바이오리액터 생산묘의 토양재배 및 수경재배 시스템 적용이 지상부 및 뿌리의 길이에 미치는 영향

일반적으로 바이오리액터를 이용한 생산묘는 토양에 이식하여 순화 및 육묘과정을 거친다. 이때 수경재배시스템을 적용하여 무병주 생산에 보다 적합한 생산 체계를 구축하고자 하였다. 토양재배는 육묘트레이를 이용하여 장기육묘용 원예상토를 이용하여 실시하였으며, 이식 후 10일 후 부터는 2일에 한번씩 양액 관수를 하였다. 수경재배 시스템은 간이 담액수경방식을

채용하였으며, 호글랜드용액과 시립대 감자배양액을 채용하여 그 농도는 1S를 기준으로 하였으며, 5일에 한번씩 양액을 바꿔주었다 (그림 3-2-1-7). 그 결과 토양재배에 비해 수경재배 시스템을 적용한 경우가 고구마 묘의 지상부 및 뿌리의 생장에 유리한 것으로 나타났으며, 지상부 길이는 토양 재배에 비해 약 30% 정도 증가한 것으로 나타났다. 특히 뿌리의 생장은 토양재배 및 수경재배 시스템 간에 매우 큰 차이를 보였으며, 수경재배 시스템에서 2배 이상의 뿌리 생육증가를 보였다. 이와 같이 뿌리 생육의 차이는 장기간 재배에 있어서는 더 큰 생육의 차를 유도할 수 있으며, 식물 생육으로 살펴본, 묘 생산 시스템은 수경시스템의 적용이 유리할 것으로 판단된다.

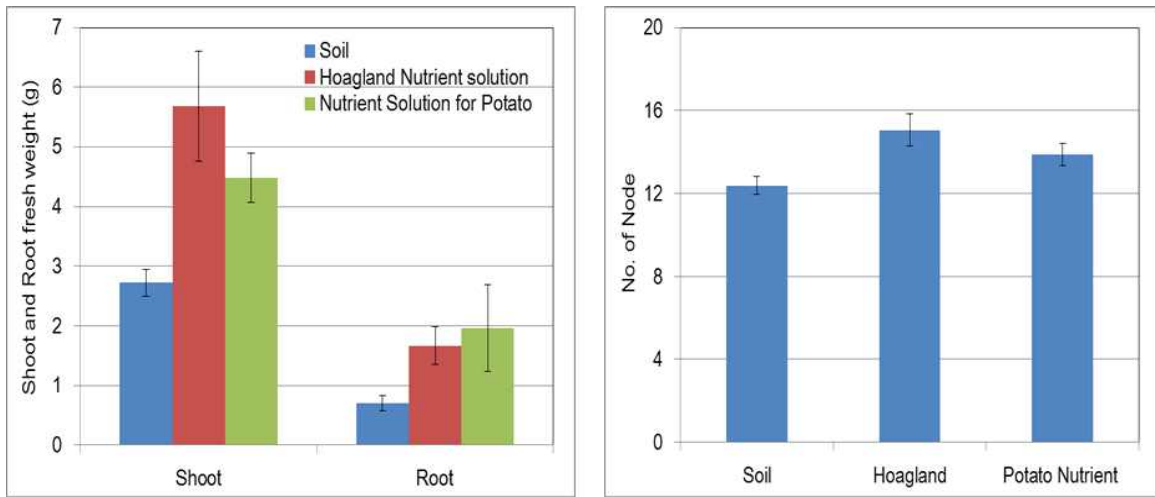


그림 3-2-1-8. 바이오리액터 생산묘의 토양재배 및 수경재배 시스템 적용이 지상부 및 뿌리의 생체중, 마디형성에 미치는 영향

토양재배 및 수경재배 시스템 적용이 바이오리액터 생산묘의 지상부 및 뿌리의 생체중, 마디형성에 미치는 영향을 조사한 결과, 지상부의 생체중은 토양재배에 비해 호글랜드용액을 이용한 수경재배에서 약 2.1배, 시립대학교 감자배양액 처리구에서 1.6배의 증가가 관찰되었다(그림 3-2-1-8). 뿌리의 생체중 역시 토양재배에 비해, 호글랜드용액을 이용한 수경재배에서 약 2.4배, 시립대학교 감자배양액 처리구에서 2.8배의 생체중 증가를 보였으며, 수경재배처리구간에는 호글랜드 용액에서는 지상부의 생육이 시립대학교 감자배양액 처리구에서는 지하부의 생육이 더 우수하였다. 처리에 따른 마디형성은 토양재배에서는 주당 12.4마디, 호글랜드용액에서는 15.1마디, 감자배양액에서는 13.9마디를 형성하여, 호글랜드 용액에서는 마디형성률이 가장 높았다. 지상부의 길이 및 마디형성에 있어서 호글랜드 용액이 시립대학교 감자배양액 처리구에 비해 약간 우수한 성과를 얻을 수 있었지만, 생육후반기에 약간의 황화현상을 동반하여, 고구마 육묘에 필요한 필수원소들의 구성비가 적합하지 않을 가능성도 나타났다. 한편 시립대학교 감자배양액에서 뿌리생장을 비롯한 지상부길이 및 생체중에서 우수하고 전반적으로 건강한 묘를 얻을 수 있어, 수경시스템을 적용하는 경우 적합한 배양액 중의 하나로 판단된다.

(3) 수경재배 시스템을 이용한 무병 씨고구마 생산 체계 및 생육특성조사

수경재배 시스템을 이용한 무병 씨고구마 생산체계를 구축하기 위해, 두 가지 수경재배

시스템을 적용하였다(그림 3-2-1-9). 고행배지경 시스템 (코코넛 코이어, 펄라이트 단용 또는 혼용 등 4 방식)과 순수수경 시스템 (담액경, 분무경, 수위조절형 NFT 등 3방식)의 7처리 재배시스템에서 수경재배를 실시하여, 정식 후 60일 및 80일 후 고구마 괴근생성을 비교하였다(그림 3-2-1-10). 정식 60일 후, 순수수경 시스템을 이용한 고구마 재배에서는 괴근 형성이 전혀 이루어지지 않았으며, 고행배지경 시스템에서는 처리에 따라 5~9개의 괴근이 형성되었다. 고행배지경에서의 괴근 생성수 및 괴근의 생중량을 비교한 결과, 펄라이트 단용보다는 코코넛 코이어 단용, 혹은 코코넛 코이어와 펄라이트의 혼합배지에서 괴근생성율과 괴근의 사이즈가 큰 것으로 나타났다(그림 3-2-1-10). 이상의 결과, 무병 씨고구마 생산을 위한 수경재배 시스템의 적용은 고구마 괴근 형성 및 괴근 생장에 적합한 코코넛 코이어 단용 또는 혼용인 고행배지가 적합한 것으로 나타났으며, 순수 수경 시스템에서 고구마 괴근 형성이 이루어지지 않아, 씨고구마 생산에는 부적합하지만 줄기 삽수 생산에는 충분히 이용가능한 것으로 나타나 추후 이에 대한 추가적인 실험이 수행되어야 할 것으로 생각된다.

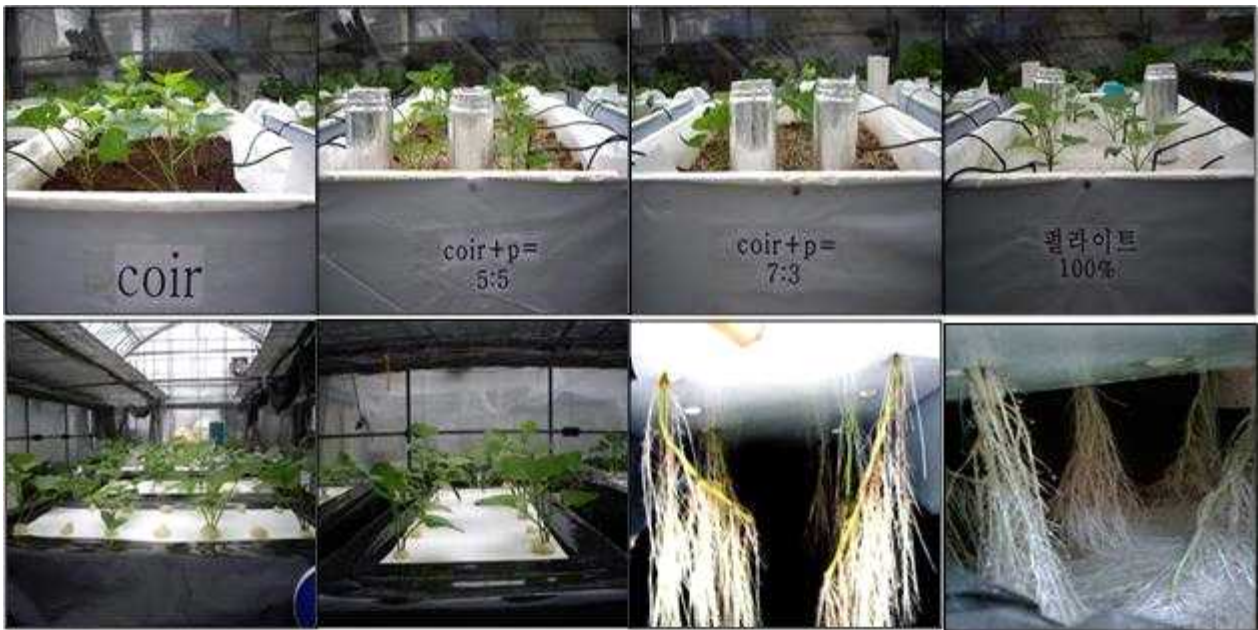


그림 3-2-1-9. 수경재배 시스템을 이용한 씨고구마 생산 체계 및 순수수경 시스템에서의 지하부 특성

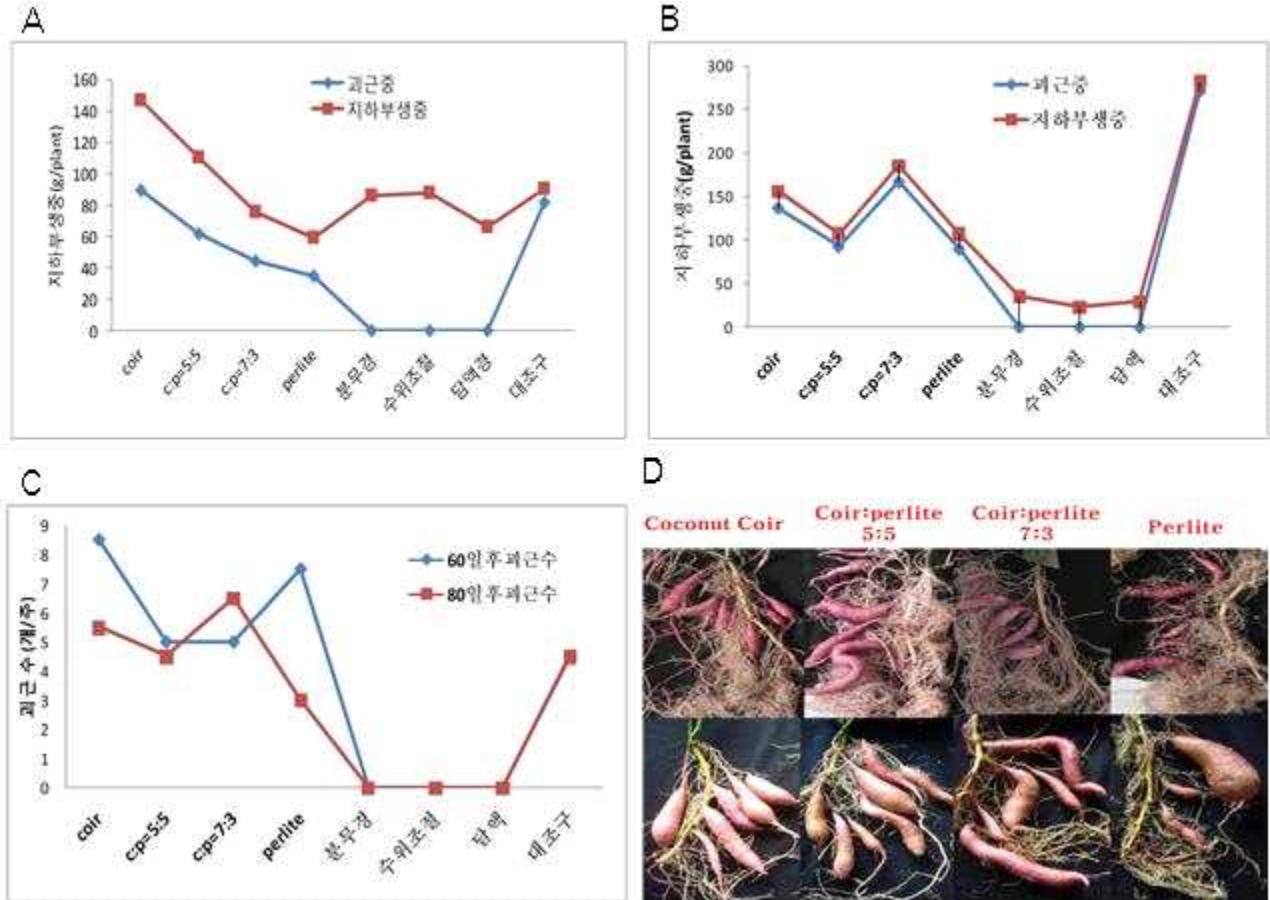


그림 3-2-1-10. 수경재배 시스템에서의 고구마 괴근의 형성. A; 정식 60일 후 지하부 생체중과 괴근중 비교, B; 정식 80일 후 지하부 생체중과 괴근중 비교, C; 정식 후 60일, 80일 후의 괴근수 비교, D; 고품배지경에서 60일, 80일 괴근의 형성 모습

한편, 수경재배 시스템을 이용한 무병 씨고구마 생산을 위해, 고품배지경 시스템(코코넛 코이어 : 펄라이트 = 7:3(v/v))을 적용하여 실험을 수행하였다(그림 3-2-1-11). 고구마 품종으로서의 진홍미를 대상으로 하였으며, 서울시립대학교 온실에서 5월말 삼수를 정식하고, 9월초 수확하여 104 일간 생육 괴근형성율을 조사하였다. 공시배양액으로는 서울시립대 감자배양액을 이용하였으며, 점적관수식 방법을 사용하였다. 고구마의 수경재배시스템에서 삼수의 문힘 마디수가 괴근 형성에 미치는 영향을 조사하여 무병씨고구마 생산체계의 최적화를 시도하였다(그림 3-2-1-11).



그림 3-2-1-11. 수경재배시스템(고형배지경)을 이용한 씨고구마 생산

정식 104일째 고구마의 괴근 형성수는 8마디 문힘 처리에서 평균 4.1개로 가장 높았고 6마디와 10마디 처리 간에는 차이가 없었다. 기부로부터 괴근 형성 위치가 6마디 문힘 처리에서는 4~6마디에 88.2%, 8마디 문힘 처리에서는 6~8마디에 88.0%, 10마디 문힘 처리에서는 8~10마디에 76.5%가 형성되어 지체부 주변 마디 부위를 중심으로 고구마 괴근 형성이 집중되는 경향을 보였다. 처리 별 주당 평균 괴근 수와 괴근 중이 6마디 처리에서는 2.5개, 200.4g(78.5~358.5g), 8마디 처리에서는 4.2개, 174.0g(78.6~308g), 10마디 처리에서는 2.3개, 207.4g(106~322.3g)로 각각 나타났다. 상저수(>50g 이상 괴근 수)비율은 6마디 처리에서는 93.3%, 8마디 처리 80.0%, 10마디 처리에서 85.7%였다(그림 3-2-1-12, 13). 이상의 결과를 종합하여 볼 때 고구마 생산을 위한 삼수 문힘에 적합한 마디 수는 8마디가 효과적일 것으로 생각된다.

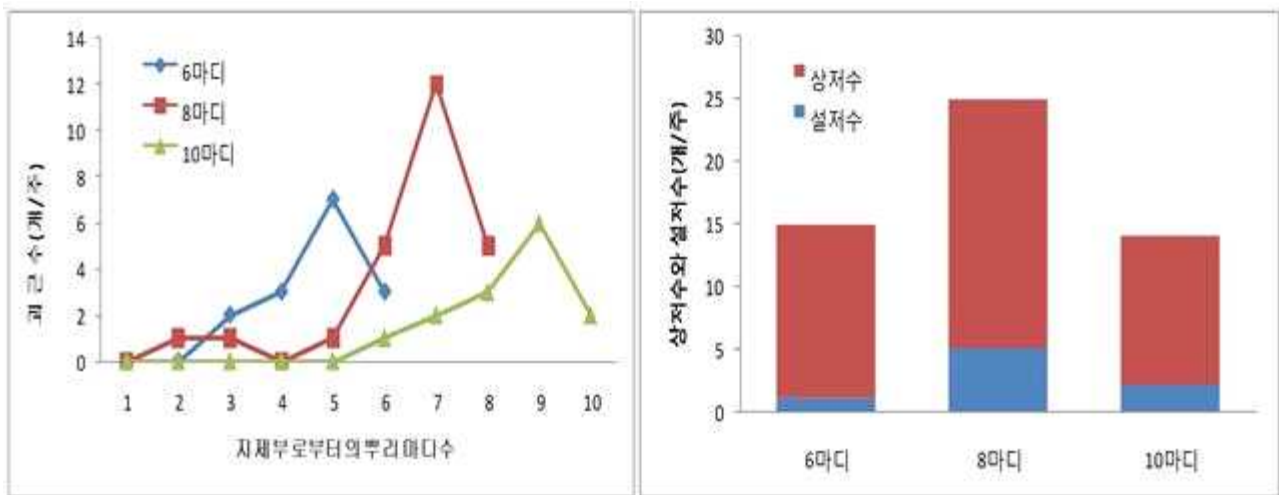


그림 3-2-1-12. 삼수 문힘 마디수에 따른 괴근형성 분포 및 상저수와 설저수의 괴근형성 현황



그림 3-2-1-13. 고행 배지경에 수확한 고구마 (문힘 마디수에 따른 괴근형성)

다. 무병주 대량증식 시스템 개발 적용과 보급체계 평가

(1) 고행배지경을 이용한 무병묘 대량 증식 체계 개발

기존의 고구마묘의 증식방법은 전년도 씨고구마를 이용한 영양번식법을 주로 이용하여 왔다. 고구마의 영양번식법은 씨고구마 형태로 수확량의 5~10%를 저장하여 다음해 2월~4월 사이 육묘하여 사용하는 방식이다. 이 방법은 씨고구마 저장을 위해 온도가 15℃ 내외로 유지하는 특수한 저장시설이 요구되고 시설비 및 유지보수 비용이 크게 소요되고, 저장한 후에는 감모율이 높아 비생산적이며, 이용시 모주에 바이러스, 진균, 세균 등에 의해 감염이 된 경우 이병율이 높기 때문에 생육 및 품질저하, 수확량 감소 등의 피해가 발생한다.

이에 따라 무병묘를 이용한 고구마 재배가 일본 및 중국에서는 일찍 실행되어 왔다. 그러나 무병묘는 조직배양기술 및 바이러스검정기술 등의 높은 기술수준을 요구함으로써 고구마 묘의 단가가 높게 형성되어, 무병묘를 모주로 하여 이를 대량 증식하는 기술이 발달해왔다. 일본에서의 무병묘 증식은 대체로 상토를 이용한 육묘상을 이용하며, 마디삼식, 측지채묘를 위주로 하여 30-50배의 증식효율을 보이고 있다고 한다(그림 3-2-1-14).



그림 3-2-1-14. 일본에서의 무병묘 증식 방법 및 폐쇄형 육묘 시스템

국내에서는 최근 무병묘에 대한 관심이 크게 증가하고 있으며, 일부 기업, 거점농가, 농협 등에서 무병원묘를 이용하여 대량증식하는 체계를 갖추고 있다(그림3-2-1-15). 국내에서의 무병묘 증식은 수경재배시스템을 이용하여 이루어지고 있으며, 담액수경(그림 3-2-1-15B), 펠라이트 고행배지경, 코코넛코이어 고행배지경 등이 이용되고 있다.

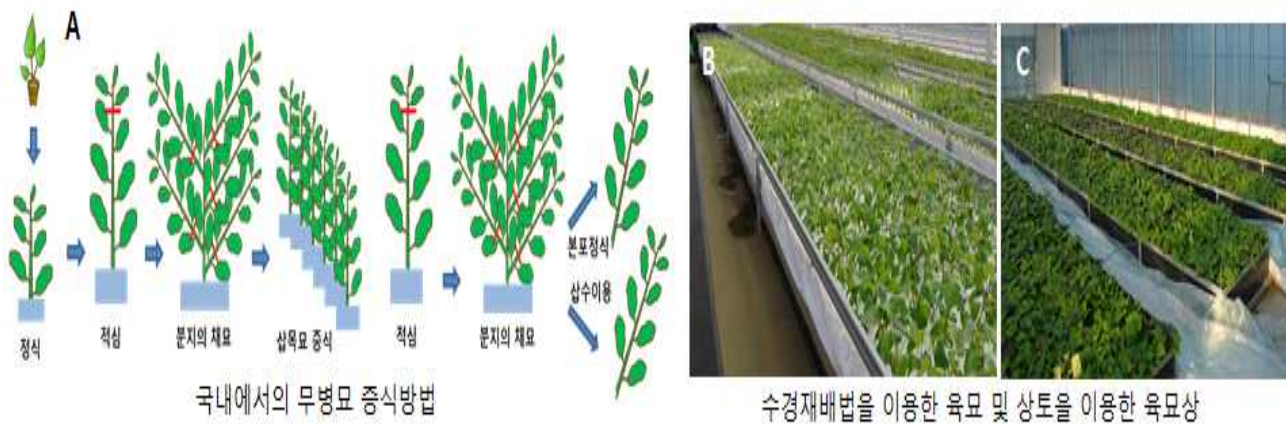


그림 3-2-1-15. 국내 무병묘 증식 방법

담액수경 증식법(그림 3-2-1-15B)은 안면도 농협을 비롯한 일부 거점농가 및 농업기술센터에서 사용하고 있는 방법으로 생육속도가 빠르고 양분조절이 매우 용이하지만, 양액 관리의 미흡으로 인한 영양, 생리장애에 매우 취약하며, 또한 양액을 통한 수매전과 병에 대해 전체 묘상 감염피해가 발생하므로 병해방제에 극히 취약한 단점을 가지고 있다.

펠라이트 고행배지경 증식법은 참다래유통사업단에서 사용하고 있는 방법으로 배수성이 뛰어난 펠라이트를 고행물로 사용함. 이 방법은 양액 관리를 기초로 하며, 배수성이 뛰어나며, 배지오염 및 전염가능성이 낮은 장점을 가지고 있으나, 배지자체의 buffer작용이 미흡하여, 사용 후 소독, 보관 등의 사후관리가 불편하다는 단점을 가지고 있다.

코코넛코이어 고행배지경 증식법은 본 연구 과제팀의 제1세부연구팀에서 적용을 검토하고 있는 방식으로 코코넛코이어의 buffer작용으로 영양, 생리장애가 최소화되며, 취급이 용이하며, 소독 및 보관 등의 사후관리가 간편하다. 또한 분리 성형된 코코넛코이어 배지 사용으로 배지오염의 피해가 최소화되며, 일부구간 오염시 오염구간의 분리제거가 쉬운 장점을 가지고

있다.

한편, 무병묘 대량증식을 위한 적정 시스템을 파악하기 위하여, 노지재배 및 여러 가지 서로 다른 수경재배시스템(코코넛코이어 단용, 코코넛코이어 : 펠라이트 = 5 : 5, 코코넛코이어 : 펠라이트 = 7 : 3, 펠라이트 단용, 담액수경)적용을 테스트한 결과, 7-8마디 삽수를 정식한 후 35일이 경과한 초기생육에서는 코코넛코이어를 적용한 처리구가 마디수 및 줄기 길이의 생장에 가장 유용한 것으로 나타났다. 코코넛코이어 단용 처리구에서의 마디수는 약 30.5개로 대조구 16.5개에 비하여 2배정도 높은 수치를 보였으며, 다른 수경재배시스템에 비하여도 통계적으로 유의하지는 않았지만 높은 마디수 형성이 관찰되었다.

줄기 길이는 순수수경과 코코넛코이어 단용구에서 140cm 이상으로, 노지재배 35cm에 비해 큰차이를 보였으며, 수경재배처리구내에서는 코코넛코이어 : 펠라이트 = 7 : 3 처리구에서 약간 낮은 줄기 길이를 보였으나, 전체적으로 큰 차이를 보이지 않았다. 정식 60일에서는 순수수경처리구에서 줄기 길이 및 생체중에서 비교적 높은 신장율을 보였으며, 코코넛코이어 단용 및 펠라이트 단용처리구에서도 노지재배에 비해 2배 이상의 수량을 보이는 것으로 나타났다.

이상의 결과를 바탕으로 수경재배시스템을 필드재배보다 우수한 것으로 나타났으며, 또한 여러시스템중에서 농가에 요구되는 부분, 즉 양액관리 및 이로 인한 영양장해, 취급의 용이성, 사후관리 등의 조건을 고려하여 코코넛코이어 고품배지경을 선택하는게 유리할 것으로 판단된다.



그림 3-2-1-16. 코코넛코이어 고품배지경 시스템의 선발과 농가시설설치 및 적용

코코넛코이어 고품배지경 증식법은 6-8마디의 무병원묘를 2월 초에 구입하여 배지에 정식하고, 10-12마디가 되면 생장점을 적심하여 측지를 신장시킨 후 채묘를 하는 방식으로 구성되어 있으며, 정식 후 약 50-60 후부터 채묘를 실시하여 5월까지 채묘하여 약 30배 정도 증식 가능하다. 묘의 증식 효율에서 육묘장의 온도관리 및 비배관리가 중요하게 대두되고 있으며, 특히 육묘장의 정식시기는 실외 온도가 매우 낮게 형성되는 시기이므로 25-30℃ 정도로 유지 관리하는 것이 중요하고, 온도가 낮은 경우에는 묘의 생장속도가 매우 느리게 되어 실제 증식효율보다 크게 낮아지고, 묘의 마디 길이가 매우 짧아지기 때문에 환경조절부분에도 많은 신경을 써야한다.

(2) 무병건전묘 생산을 위한 식물생장촉진 박테리아 적용

최근 근권에서 식물의 생장을 촉진하는 많은 유익한 박테리아들이 보고되고 있으며 (Gutierrez-Manero 등, 2001, Loper 와 Schroth 1986; Vessey 2003), 이들 박테리아의 생장촉진효과로서는 질소와 인, 황, 철과 같은 영양소들의 이용효율을 증가시킨다(Boddey 등, 2001; Chabot 등, 1996; Richardson, 2001; Scher 와 Baker 1982; Sevilla 등, 2001; Stamford

등, 2008; Wang 등, 1993). 또한 식물생장호르몬인 옥신, 지베렐린, 사이토키닌과 같은 호르몬을 생성분비 하거나 여러 가지 환경스트레스 내성증가를 통한 식물의 성장촉진효과를 나타낸다(Guo 등, 2004; Jetiyanon 과 Kloepper, 2002; Raj 등, 2003, Van der Ent 등. 2009). 이와 같은 식물생장촉진 박테리아의 장점을 이용하여 다양한 작물에 대한 적용시험이 이어지고 있다. 본 연구에서도 고구마 무병주 생산에 있어서 건강한 묘 생산을 위해 시립대학교에서 분리 동정한 식물생장촉진 박테리아 *Bacillus subtilis* strain JS를 종저에 처리하여 종순의 생육을 비교시험 하였다(그림 3-2-1-17). *Bacillus subtilis* strain JS균주를 108 농도로 배양하여 종저가 파종된 육묘장(13일)에 각각 100, 500배 희석액을 2주간에 걸쳐 두차례 분무하였다. *Bacillus subtilis* strain JS균주의 처리는 전반적으로 종순의 생육을 증진시키는 것으로 나타났다 (그림 3-2-1-17, 18).



그림 3-2-1-17. 식물생장촉진 박테리아 *Bacillus subtilis* strain JS가 고구마 종순생산에 미치는 영향

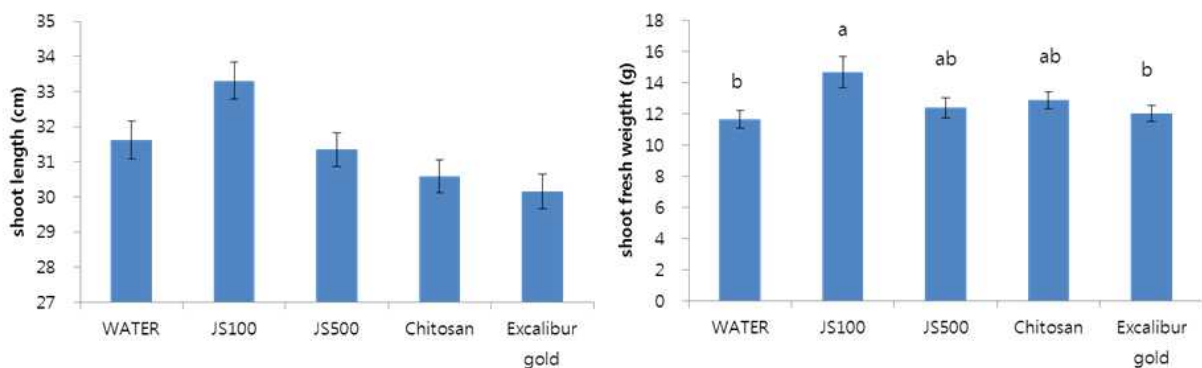


그림 3-2-1-18. 식물생장촉진 박테리아 *Bacillus subtilis* strain JS가 고구마 종순의 지상부 길이 및 생체중에 미치는 영향

식물생장촉진 박테리아 *Bacillus subtilis* strain JS의 처리는 지상부의 길이 및 지상부 생체중을 증가시키는 것으로 나타났다. 다른 성장조절물질인 키토산, 엑스칼리버 골드와 비교하면 500배 희석액 처리에서는 유의한 차를 보이지 않았지만, 100배 희석액의 처리에서 다른 처리구에 비해 지상부의 생육 촉진효과를 볼수 있었다. 이와 같은 생육촉진 효과는 지상부의 생체중에서도 나타나며, 무처리구에 비해 25%이상 증량된 것을 확인할 수 있었다(그림 3-2-1-19).

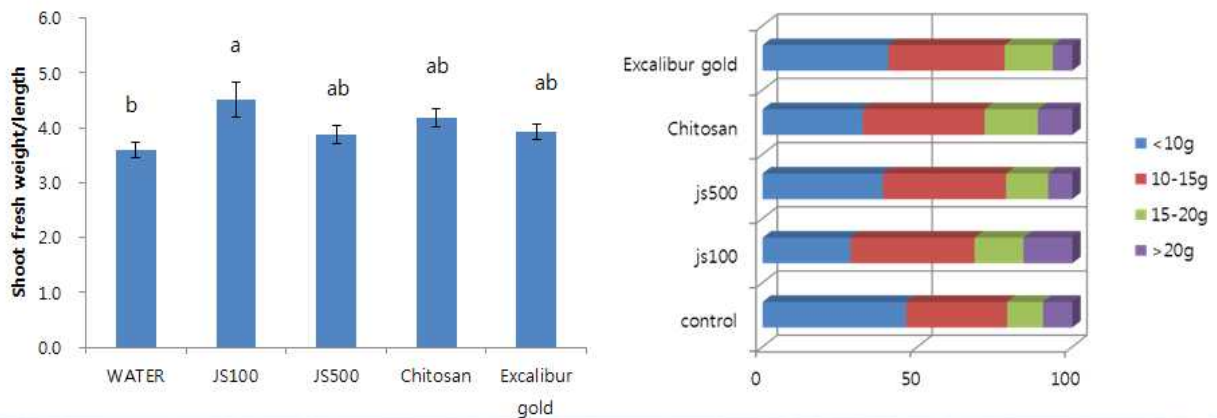


그림 3-2-1-19. 식물생장촉진 박테리아 *Bacillus subtilis* strain JS가 고구마 종순생산에 미치는 영향

Bacillus subtilis strain JS의 처리는 전반적으로 종순(묘)의 성장을 촉진하는 모습을 사진에서 관찰할 수 있었으며, 지상부의 길이에 대한 생체중의 비율을 봐도 높게 나타나는 것으로 보아 다른 처리구에 비해 건강하고 우량묘 생산에 효과적임을 알 수 있었다(그림 3-2-1-19). 구체적으로 각 처리구에서 생산한 묘를 생체중에 따라 10g이하, 10-15g, 15-20g, 20g 이상으로 나누어 보았을 때, 무처리구에서는 10g이하의 작고 약한 묘가 약 46%를 차지하고 있으며, 10-15g의 묘는 33%, 15g 이상의 묘는 21%로 나타났다. 이에 비해 식물생장촉진 박테리아 *B. subtilis* strain JS 100희석액 처리구에서 10g이하의 작은 묘가 28%로 나타나 처리구 중에서 가장 낮은 비율을 보였으며, 10-15g의 묘는 40%, 15g 이상의 묘는 32%로 우량묘의 생산이 월등히 증가한 것으로 나타났다.

한편 참다래 유통사업단에서 운영하고 있는 무병묘 증식시설에서 무병묘를 이용한 정식용 순 증식시 *B. subtilis* strain JS의 처리가 고구마 순 생산에 미치는 영향을 조사하였다. 각 처리구의 면적은 37m², *B. subtilis* strain JS를 1주일에 1회 처리하였으며, 해당 미생물을 제외한 관수, 시비, 살균살충제 및 기타 자재의 처리는 모두 동일하였다. 그 결과 미생물을 사용하지 않은 대조구에 비해 미생물 1/100배 희석 처리구 및 1/50희석 처리구 모두 시간이

지날수록 보다 많은 생산량을 보였다(표 3-2-1-2, 그림 3-2-1-20. 누적생산량을 살펴본 결과, 같은 기간 대조구에 비해 1/100S 및 1/50S 처리구에서 각각 12, 22단 (50본/단)이 증가해, 37m² 당 600~1100본 정도 수량이 증가하는 것으로 나타났다. 뿐만 아니라 고구마 순 1단의 중량 역시 대조구의 1087g에서 1163g 과 1251g으로 증가하여(그림 3-2-1-21), 생산량은 물론 보다 강건한 고구마 순 생산이 가능하였다.

이와 같이 고구마 무병주 생산에 있어서 건강한 묘 생산을 위해 본 연구팀이 개발한 *B. subtilis* strain JS 처리는 지상부 길이 및 생체중의 증가, 지상부 길이당 무게비의 증가, 우량묘 생산비율이 월등이 증가한 것으로 나타나 고구마 종순을 이용한 묘 생산에 있어서 식물생장촉진 박테리아 *Bacillus subtilis* strain JS의 적극적인 활용이 필요하다고 판단된다.

표 3-2-1-2. *Bacillus subtilis* JS. 처리가 고구마 순 생산에 미치는 영향

처리에 따른 채묘량(50본/단, 단위: 단)				
JS처리	1/100 S	Control	1/50 S	
채묘일				
04월 13일	18.5±4.9	20	17.5±4.9	
04월 16일	10.5±2.1	13	13±5.7	
04월 22일	12±2.8	14	14±1.4	
04월 27일	26±2.8	14	30±4.2	
05월 05일	33.5±3.5	27	36±0.0	
합 계	100.5±10.6	88	110.5±4.9	

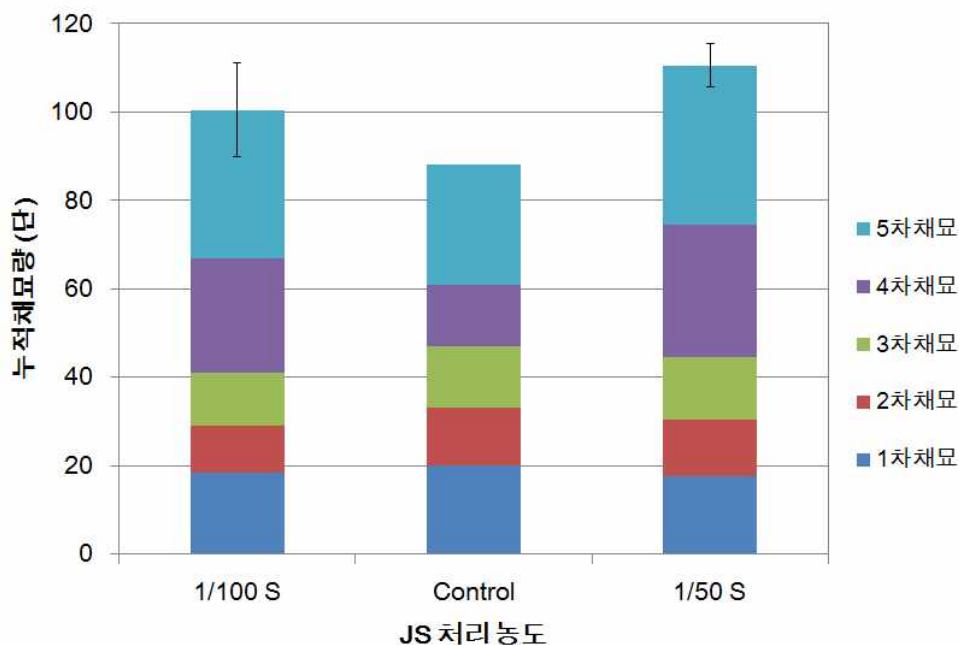


그림3-2-1-20. *Bacillus subtilis* JS. 처리가 고구마 순 생산에 미치는 영향(누적채묘량)

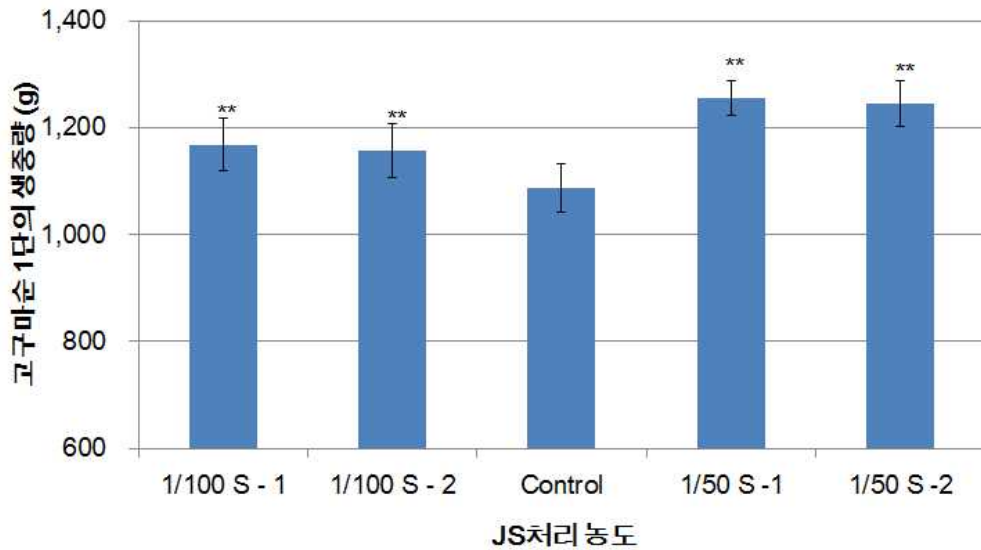


그림 3-2-1-21. Bacillus subtilis JS. 처리가 고구마순 생중량에 미치는 영향

(3) 무병묘 보급을 위한 농가 시험적용

무병묘를 이용하여 농가에 시험적용하고, 무병묘의 농가적용에 보완점 등을 파악하였다. 먼저 성장점배양을 통한 조직배양묘의 잎 등을 이용하여 바이러스 검정을 통해 무병묘로 판단된 기내 배양체를 본 연구결과에서 기술한 바와 같이 액체배지를 이용한 계대배양을 통해 증식시켰다. 증식시킨 무병묘를 그림 3-2-1-22와 같이 트레이묘판에 정식하여 생육시킨 후 약 8마디 정도가 되면 채묘하여 본밭에 정식하여 재배하였다. 전북 정읍시 포장 50평에 무병묘는 1000주를 시험재배하여 조사한 결과, 무병주 이용의 경우 고구마 괴근의 피색이 선명하고, 표면이 보다 깨끗하게 나타났다. 한편 전체적으로 시장에서 요구하는 것 보다 괴근의 크기가 크게 형성되는 것으로 관찰되었다. 무병묘를 이용하여 생산한 무병종서를 이용하여 종순을 생산하여 재배시험한 경우 고구마 피색, 표면, 모양, 크기 등에서 기존의 일반종서에서 생산한 종순을 이용하는 것보다 월등히 뛰어났다. 그러나 이런 차이는 2년차묘에서부터 점점 줄어들어 3년차 묘에서는 거의 차이가 없는 것으로 나타나, 무병묘를 이용하여 무병씨고구마를 생산하고 이를 사용한 종순을 이용하는 것이 현실적으로 활용가치가 높으며, 갱신은 2년 주기로 하는 것이 좋을 것으로 판단되었다.



그림 3-2-1-22. 무병묘 및 무병종서를 이용한 농가 시험재배 (전북 정읍시 포장의 일부 사용)

무병묘를 농가에 적용하는데 있어서 몇가지 문제점이 도출되었으며, 이에 대한 보완책이 필요하다고 판단되었다. 먼저 농가에서 생각하는 무병묘의 적정가격과 실제 생산되는 무병묘 가격의 차이가 크게 나기 때문에 이에 대한 대책이 필요하다. 농가에서는 무병묘의 실효성에 대해서는 의심하지 않지만, 실제 무병묘의 가격이 매우 높게 책정되어(2012년말 - 2013년초 조직배양묘 1주당 약 850원 이상으로 책정됨), 현실적 이용의 어려움이 있다는 의견이 다수를 차지하고 있다. 육묘시설은 갖춘 일부 농협, 대농가 등에서 무병묘를 다시 한번 증식하여 이용하지만, 극히 일부에 한정되고 있다.

두 번째는 고가의 무병주를 구매하여도 실제 무병묘인지 아닌지를 쉽게 확인할 수가 없다는 문제점이 있다. 지금까지 생산된 국내의 무병주는 생장점배양을 통한 조직배양묘로서 실제로 바이러스 검정은 거의 이루어지고 있지 않기 때문에 농가에서 구입한 묘에는 바이러스 감염묘도 포함되어 있으며, 따라서 현장에서 바이러스를 검정할 수 있는 방법체계가 필요하다고 생각된다. 예를 들어, 그림 3-2-1-23의 결과는 실제 익산 C사가 구입한 무병묘중에서 일부 샘플을 채취하여 4종의 바이러스에 대한 감염여부를 조사한 것으로 실제 24개의 샘플중에서 4개에서 바이러스가 검출되는 것으로 나타나 이에 대한 보완이 필요할 것으로 생각된다.

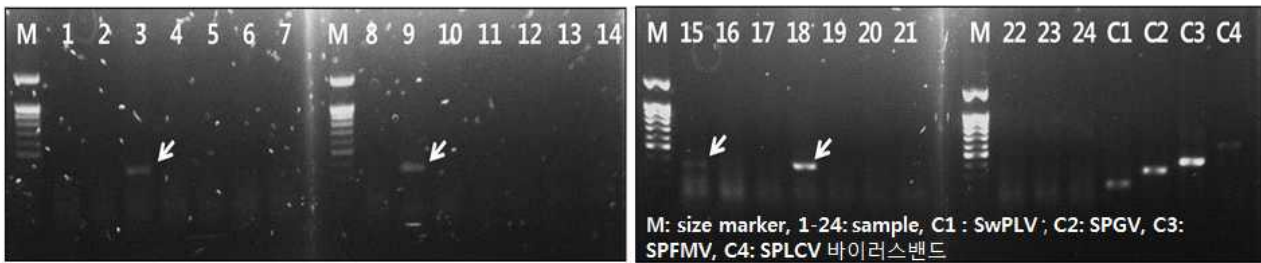


그림 3-2-1-23. 구입한 무병묘 샘플을 이용한 바이러스 검정 (약 17%에서 바이러스 검출됨)



그림 3-2-1-24 건전묘 육성을 위한 미생물제제(바실러스 서브틸리스 JS) 사용과 효과

또한 농가에서는 무병묘가 매우 연약하여 본밭정식 후 재이식율이 높고, 보다 많은 관리가 필요하다고 판단하고 있다. 이 때문에 무병묘를 건전묘로 육성할 필요성이 있으며, 생육환경관리 및 처리제 개발 등을 통해 무병건전묘를 육성하여 보급하여야 한다고 판단된다.

이에 따라 건전묘 육성을 위해 고구마 묘상에 미생물제제(바실러스 서브틸리스 JS)를 처리하여 묘에 미치는 영향을 살펴보았다(김제 동명고구마영농법인 농가 5곳, 정읍 휘밀리영농조합, 무안 해양농장 등). 미생물제제의 사용은 전체적으로 묘상의 고구마 생육을

균일하게 하여(그림 3-2-1-24), 무처리구에서 보이는 바와 같이 묘상 중간중간의 생육저해 및 잎마름 증상이 현저히 줄어들었으며, 특히 채묘후에 나타나는 잎마름 증상이 크게 감소한 것으로 나타났다. 또한 채묘한 묘를 본밭에 정식하였을시 뿌리의 활착율이 우수한 것으로 나타나 실제로 적용한 농가에서는 건전묘 육성에서의 미생물제제 사용에 대한 기대치가 높게 나타났다.

(4) 무병주 대량생산 및 보급에 대한 기술적 보완

국내 고구마의 보급체계에서 고구마는 국립종자원에서 관리하는 보급종에 포함되어 있지 않으며, 일반적으로 농촌진흥청에서 시군농업기술센터, 거점농가, 생산자에 직접보급을 하거나 농촌진흥청에서 보급된 고구마를 시군농업기술센터나 거점농가가 생산자에 보급하는 체제로 되어있어 품종관리 등에 취약한 구조로 되어 있다(그림. 3-2-1-25).

또한 국내에서의 무병주의 공급은 시군농업기술센터에서 생산한 조직배양묘를 소량 다수의 농가에 보급하고 있으며, 무병묘를 이용하는 일부 거점농가는 조직배양회사에 필요한 고구마 건네주고 성장점배양을 통한 조직배양묘를 공급받고 있다. 이 때 바이러스 검정은 거의 이뤄지고 있지 않고 있으며, 또한 품종의 혼재화가 이루어질 가능성이 매우 높다.

일본에서는 현 농림종합연구센터에서 고구마품종의 현지시험과 우량계통선발, 그리고 바이러스 무병묘를 생산하고, JA농가에서 바이러스 무병건전묘를 대량 증식하고, 농협에서는 대량 증식한 JA생산 무병건전묘의 수매하여 생산자에 보급하는 체제로 되어 있다(그림. 3-2-1-25).

본 연구팀에서는 국내 무병묘의 생산보급 체계로서 그림 3-2-1-26과 같은 모델을 제시하고자 한다. 무병묘의 생산 및 1차 증식은 조직배양 기술 및 바이러스 검정기술을 갖춘 전문기관(대학, 농진청 등)에서 생산하여 바이러스 검정을 실시한 후, 기내배양묘를 1차 증식함. 무병묘(기내배양묘)는 조직배양기술을 가진 지역거점 농가 등에서 대량으로 증식 후 보급하는 체제를 갖추어야 한다고 판단된다.

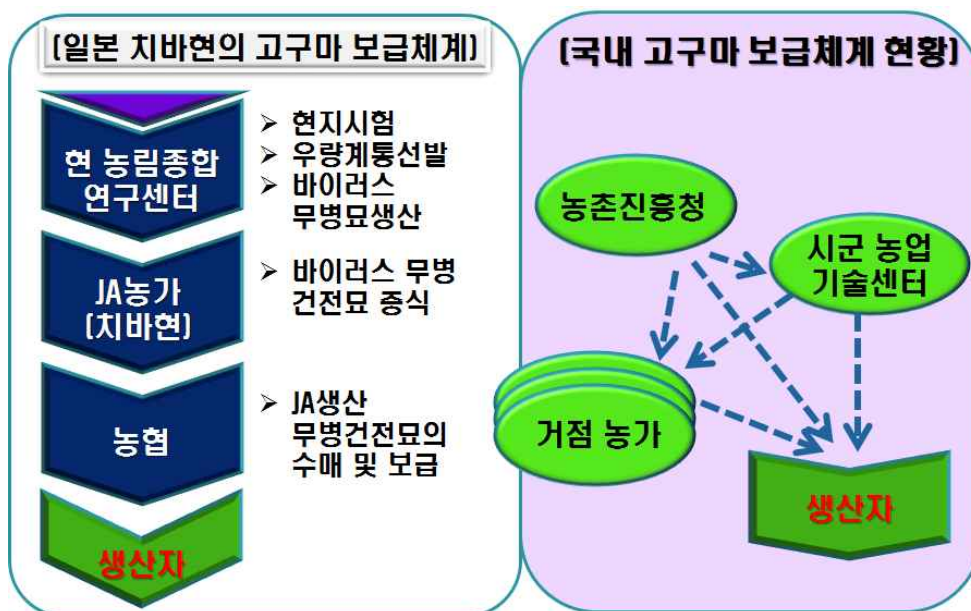


그림 3-2-1-25. 일본과 국내의 고구마 묘 보급체계

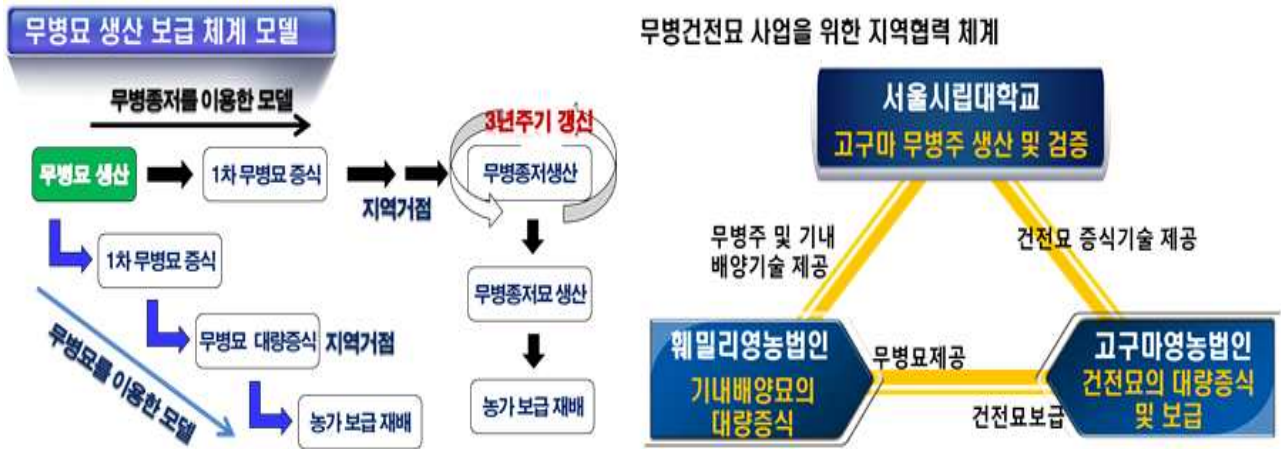


그림 3-2-1-26. 제1세부연구팀의 무병묘 생산보급 체계의 제안 모델 및 무병건전묘 생산보급을 위한 지역협력체계

또한 무병종저를 이용하는 방식 또한 1차 기관에서 무병묘의 생산 및 1차 증식하고, 전문육묘기술을 갖춘 각 지역거점농가에서 건전묘로의 육성증식과 무병종저를 생산하고 이를 이용해서 1차 무병종순을 생산하여 보급하고, 보급은 각 지역의 고구마연구회 등을 통해 지속적인 관리 및 협력체계를 갖추어야 한다. 이런 무병묘의 생산 보급을 위해서는 정부주도가 아닌 민간주도에 의해서 이뤄져야하며, 무병묘를 생산하고 검정하는 1차기관, 거점농가 또는 영농법인을 주축으로 하는 생산농가 등의 상호협력체계를 형성하는 것이 매우 중요하다. 따라서 본 연구팀은 무병건전묘 생산 및 검증 기술을 가진 서울시립대학교와 조직배양 및 순화시설을 갖춘 정읍 웨밀리영농법인, 코코넛코이어 고품배지경을 이용한 육묘시설 및 고구마 재배생산의 전문기술을 갖춘 영농법인과 협력의 협력을 통해 무병건전묘의 생산, 검증, 증식 및 보급의 적용 및 산업화 가능성을 타진하고 있다.

한편 무병묘가 고가로 거래되고 있기 때문에 기존의 육묘시설을 이용한 농가의 자가증식에 대한 연구도 필요하다고 판단된다. 이에 따라 무병묘를 이용한 마디삽식 증식법에 대한 연구를 수행하였다(그림 3-2-1-27). 마디삽식 증식법은 구입한 무병묘를 8-9마디정도까지 생육시킨 후, 적심을 하여 측지를 성장시키고, 성장한 측지를 1마디씩 절단하여 1마디 삽식을 하여 증식하는 체제이다. 이는 마디삽식효율이 매우 중요하여 아래 그림과 같이 채취한 묘에 미스트 처리, 젖은 모래, 발근제 미스트 처리, 무처리 경화, 바로삽식 등의 처리를 통하여, 마디 삽식후 생존율 및 뿌리발달까지의 시기를 조사하였다.

그 결과, 묘에서 발근은 젖은 모래, 발근제 처리, 미스트 처리 순으로 뿌리발달이 빨랐지만, 처리상의 큰 차이를 보이지 않았다(3-2-1-27). 일본의 실험결과에서는 2주 정도에 온전한 식물체로 성장하였으나, 실제 처리에서는 마디삽식 후 30일 이상 소요되었으며, 처리간의 차이보다는 온실에서의 관리 상태에 따른 차가 더 크게 났다. 마디삽식 후 삽식 성공률을 높이고 온전한 묘를 얻는 시간을 단축시키기 위해서는 광, 온도, 습도의 관리가 매우 중요하여 이에 대한 추가 실험이 필요하다고 생각된다.



그림 3-2-1-27. 마디삽목을 통한 농가 자가 증식체계 및 적용 시험

라. 무병건전묘 증식시스템을 통한 무병주의 대량보급 및 보급체계 평가

(1) 무병건전묘 대량생산 및 포장 증식 효율성 증대

현재 고구마 시장에서 조직배양을 통한 기내증식묘의 가격은 주당 1000~1200원 수준으로 농가에서 직접 이용하기에는 무리가 있다고 생각된다. 또한 조직배양묘는 적절한 순화 및 경화를 거쳐야하며, 이에 따른 시간적 경제적 손실이 발생할 수 있다. 따라서 조직배양묘를 대상으로 본발에 정식하기 위해, 높은 수준의 자가증식 및 건전묘 육성 프로그램이 필요하다고 판단되며, 그에 따른 일환으로 몇몇 증식 방법의 적용 가능성을 조사하였다.

공식식물의 국내 대표적인 보급종인 울미로 하였으며, 자연광환경의 유리온실에서 직경 11.5cm pot에 이식한 후, 주 3회 호글랜드 용액으로 비배관리를 하면서 각 방법에 따른 증식효율을 조사하였음(표 3-2-1-3).

표 3-2-1-3. 포장 증식방법에 따른 증식효율 조사

증식방법	2차 측지법	1차 측지법	삽식 + 1차 측지법	마디삽식법
채묘수/주	5.6±0.8	10.2±0.2	6.6±0.8	(10.8±0.5)
추가 채묘 가능묘/주			11±0.8	50.8±2.5

그 결과, 2차 측지법은 1차 적심후 발생하는 측지를 다시 적심한 후 발생하는 2차 측지를 이용하는 방법으로 1차적심 후 약 2달간 5.6배의 증식효율을 보였다((표 3-2-1-3). 1차 측지법은 2차년도 참다래유통사업단에서 이용하던 방식으로 1차 적심후 발생하는 측지를 채묘하여 본밭에 정식하는 방법으로 10.2배의 증식효율을 보여, 2차 측지법보다 높은 효율을 보였다. 일반적으로 일본의 농가에서는 세 번째의 삽식 + 1차측지법을 이용하는데, 1차 측지법에서 추가적으로 적심한 끝순 부분을 다시 묘상에 이식하여 증식하는 방법으로 채묘는 6.6배로 1차 증식법보다 낮았으나, 채묘가능한 묘(정식에 이용하는데 시간이 보다 필요한 어린묘)수가 11주에 달해, 전체로 보면 17배 정도의 효율을 보였다.

이에 비해 한 마디 삽식법을 이용한 경우 채묘한 10.8주를 모두 증식용으로 사용하였기 때문에 채묘 가능한 묘수만 약 50주로 나타나 효율적인 측면에서는 가장 높게 나타났다. 그러나 마디삽식의 경우에는 증식효율이 다른 방식보다 매우 높지만 마디 삽식 후 고사율이 높아, 생존율 제고를 위한 방안 필요하다고 판단되었다. 이에 따라 채묘 후 마디 삽식전에 몇 가지 처리를 통하여 생존율을 높이고자 하였다. 처리는 채묘 후 다른 처리 없이 바로 삽식하는 방법과, 4일간 미스트, 발근제+미스트, 젖은 모래, 경화 처리 후 마디 삽식하는 경우의 생존율을 조사하였다(그림3-2-1-28, 표 3-2-1-4).

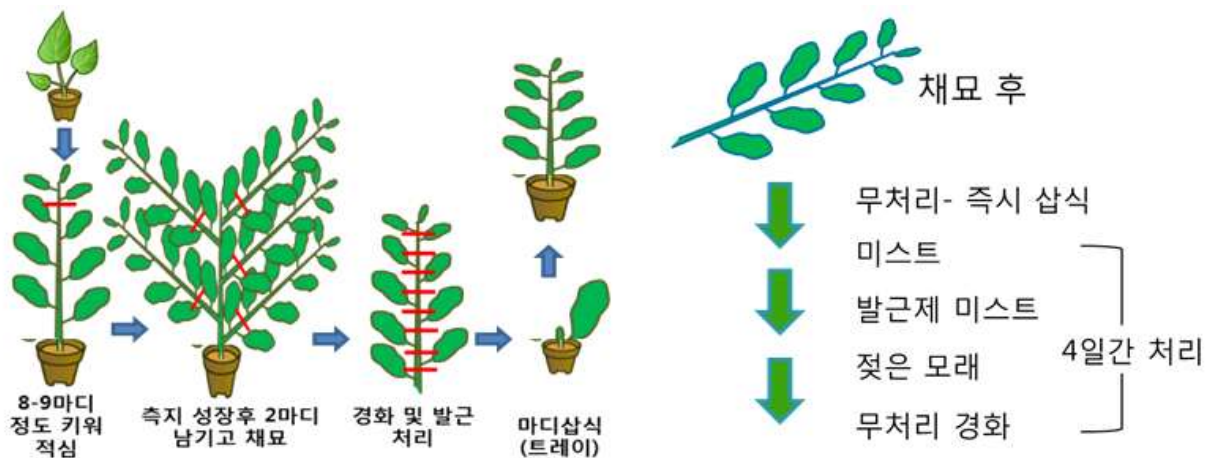


그림 3-2-1-28. 채묘 후 마디삽식의 전처리 방법

처리방식에 따른 생존율은 채묘후 다른 처리 없이 바로 삽식하는 즉시삽식에 의한 방식이 90%이상으로 가장 높은 효율을 보였으며, 반대로 여러 처리는 생존율의 감소로 나타났다(표 3-2-1-4). 한편 마디삽식을 하는 경우에 토양의 면적이 생존율에 미치는 영향이 매우 큰 것으로 나타났다. 즉 pot에 이식한 경우가 트레이에 삽식하는 것보다 높은 생존율을 보였는데, 이는 삽식 후 토양의 부피가 큰 pot에서 뿌리가 발생하고 정상적인 뿌리활동을 하기 까지 토양환경의 변화폭이 적으며, 반대로 72공 트레이 육묘판에서는 토양온습도 등의 변화의 폭이 매우 커 효율적인 관리가 이루어지지 않으면 생존율이 크게 감소하는 것으로 나타났다. 이와는 비슷한 결과로, 무병공정묘 생산을 위한 연구에서 128공 트레이묘판에 삽식하는 것에 비해 72공의 트레이묘판에 삽식하는 것이 초장, 마디수, 직경, 생체중을 조사한 결과 월등한 것으로 나타나(정, 2008), 토양의 부피가 공정묘의 생육에 크게 영향을 미치는 것으로 나타났다.

표 3-2-1-4. 삽식묘의 전처리 방식에 따른 생존율

전처리방식	생존묘/처리수	생존율(%)
즉시 삽식	33/36	91.7
미스트	21/27	77.8
발근제미스트	20/28	71.4
젖은 모래	32/56	57.1
무처리 경화	19/24	79.2

한편 이와 같은 마디삽식에서의 생존율은 토양환경관리가 매우 중요하지만, 뿌리발달을 조절함으로써 생존율에 영향을 미칠 수도 있다고 판단되어, 뿌리의 발근을 촉진시키기 위해 발근제로 루톤 및 IBA처리를 통해 초기의 생육촉진효과를 살펴보았다(그림 3-2-1-29, 표 3-2-1-5). 잎을 제거하고 순수하게 마디만 삽식한 경우에는 처리와 상관없이 생존율이 0에 가깝게 나타났으며, 잎과 마디가 같이 있는 경우에는 정상적으로 발근 후 마디에서 신초가 발생하였다.

마디삽식 2주 후에 처리에 따른 신초발생율을 조사한 결과 무처리 16.7%, 루톤처리 33.3%, IBA처리 62.5%로 IBA처리가 발근 후 지상부의 생육촉진에 가장 효과적인 것으로 나타났다. 일반적으로 1마디 삽식의 경우에 증식효율적인 면으로는 가장 효율적이라고 생각할 수 있으나, 환경관리에 대해 보다 철저히 할 필요가 있으며, 2마디 삽식에 비해 새로운 신초가 발생하고 성장하는데 많은 시간이 소요된다. 이를 고려하면 발근제의 효율적인 적용을 통해 마디삽식의 효율을 높이고 성장속도를 높일 필요가 있다고 판단되었다.

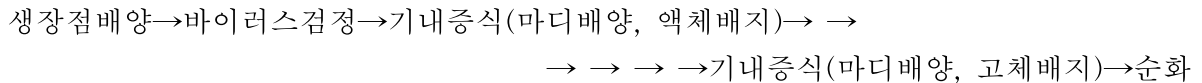


그림 3-2-1-30. 마디삽식 방법 및 식물생장조절제 처리가 고구마 묘 성장에 미치는 영향

표 3-2-1-5. 마디삽식에서 식물생장조절제 처리가 고구마 묘 성장에 미치는 영향

처리	신초발생률(%)
무처리	16.7
루톤	33.3
IBA	62.5

지금까지의 결과들을 종합해보면, 무병묘의 대량생산은 크게 기내증식과 기외증식으로 나눠 각각 적합한 방법을 취할 필요가 있다. 먼저 기내증식에서는, 성장점배양 및 바이러스 검정 후 무병묘로 확인된 식물체를 마디배양을 통해 증식할 수 있으며, 증식에는 액체배지가 보다 빠른 증식에 적합한 것을 알 수 있었다. 또한 온도역시 증식속도에 많은 영향을 미치며, 25℃ 보다는 보다 높은 온도에서 증식속도를 높일 수 있다. 그러나 최종적으로 기내증식 후 균일한 묘 상태로 묘 순화과정에 들어갈 때는 고체배지가 묘의 균일성을 유지하기에는 유리하며, 이상의 내용을 간단히 도식화하면 다음과 같다.



한편, 기내 식물체를 순화 후에는 묘를 성장시켜 본밭에 바로 정식하기 보다는 증식을 통해 고구마순의 비용을 낮추는 것이 필요하다. 2013~2014년 무병묘(기내식물체를 순화한 트레이묘)의 시중가격은 1000~1200원 수준으로 농가에서 이용할 수 있는 수준으로 가격을 낮춰야 하며, 필히 증식과정을 필요로 한다. 다양한 기외증식방법을 통해 증식효율을 조사한 결과, 1마디 삽식이 증식 효율 면에서 계산상 가장 좋은 결과를 보였으나, 관리적인 측면이나 안정적인 증식효율 면을 고려하면 삽식+1차 측지법을 이용하는 방법이 농가 또는 육묘장에서 이용하기에 효율적인 방법으로 판단된다. 또한 증식효율 및 건전묘 육성을 위한 발근제, 미생물제제 및 식물환경조절 부분의 추가적인 적용이 필요하다.

또한, 고구마는 묘의 증식 및 본밭에서의 정식 모두 지상부를 채묘하여 삽식하는 방식을 채용하고 있기 때문에, 삽식 후 초기 뿌리의 발달은 고구마 묘의 생존은 물론 묘 생육에 큰 영향을 미치는 것으로 나타난다. 식물의 뿌리발달과 관련해서 옥신이 주도적인 역할을 한다는 것은 많은 연구결과에서 보여졌으며, 주근뿐만이 아닌 측근, 뿌리털의 발달에도 큰 영향을 미친다(Benfey 등, 2010; Casimiro 등, 2003; Lewis 등, 2011; Osmont 등, 2007; Overvoorde 등, 2010). 또한 Metaxas 등(2004)은 딸기나무 삼목시험을 통해서 옥신류에서도 뿌리발근에 미치는 영향에서 차이를 보이며, K-IBA가 가장 효율이 높다는 연구결과를 제출하였다. 이에 따라 일부 발근제로 이용되는 물질을 처리하여 뿌리의 생육상태를 관찰하였다 (그림 3-2-1-31~33). 일반적으로 농가에서 정식하기 전 고구마순을 채취하여, 경화 또는 항균제 처리 후 경화 후 정식을 하고 있으며, 항균제의 종류 및 처리시간 등은 농가에 따라 차이를 보임. 따라서 본 연구팀은 발근제를 이용한 뿌리 발달 정도를 5분 처리(육묘장 및 짧은 처리를 하는 농가적용, 그림 3-2-1-31) 및 20분 처리 (긴 시간 처리를 하는 농가적용, 그림 3-2-1-32, 33)으로 나눠서 시험하였다.

먼저 짧은 처리의 경우에는 NAA농도를 2, 4, 10, 20ppm으로 처리하였으며, 처리NAA단독과 NAA흡수를 촉진하는 삼투물질을 공동처리 그 차이를 비교하였다(그림 3-2-1-31). 그 결과, NAA 4~10ppm의 농도에서 삼투물질을 공동 처리하는 것이 뿌리의 수 및 길이 가장 좋은 것으로 나타났다. 두 번째로 농가에서 항균제 등과 함께 20분정도의 침지를 하는 방식으로는 4종류의 옥신(NAA, K-NAA, IBA, K-IBA)을 0.4, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mg/L로 처리하여, 삽식 후, 1~5일간 매일 뿌리수와 뿌리 길이를 조사하였다(그림 3-2-1-32, 33).

각 처리가 발근된 뿌리의 수에 미치는 영향을 살펴보면, NAA처리의 경우, 1~2일차에서는 3~4mg/L의 농도에서 발근이 촉진되는 것을 확인할 수 있었으며, 전체적으로는 4mg/L의

농도에서 뿌리수가 많은 것으로 나타났다(그림 3-2-1-32 A). K-NAA처리의 경우 1~2일차에서는 0.4mg/L에서 발근이 촉진되는 경향을 보였으나, 시간이 경과하면서 처리간의 차이를 볼 수 없었다(그림 3-2-1-32 B). IBA처리에서는 처리 2일째는 2mg/L에서, 처리 3일째는 3mg/L에서 발근수가 많았으며, 처리 전체 기간 중 2~3mg/L에서 좋은 성과를 보였다(그림 3-2-1-32 C). K-IBA 처리구에서는 1~2일차는 0.4, 1mg/L의 농도에서, 전체적으로 2mg/L 농도에서 발근 촉진됨을 확인할 수 있었다(그림 3-2-1-32 D).

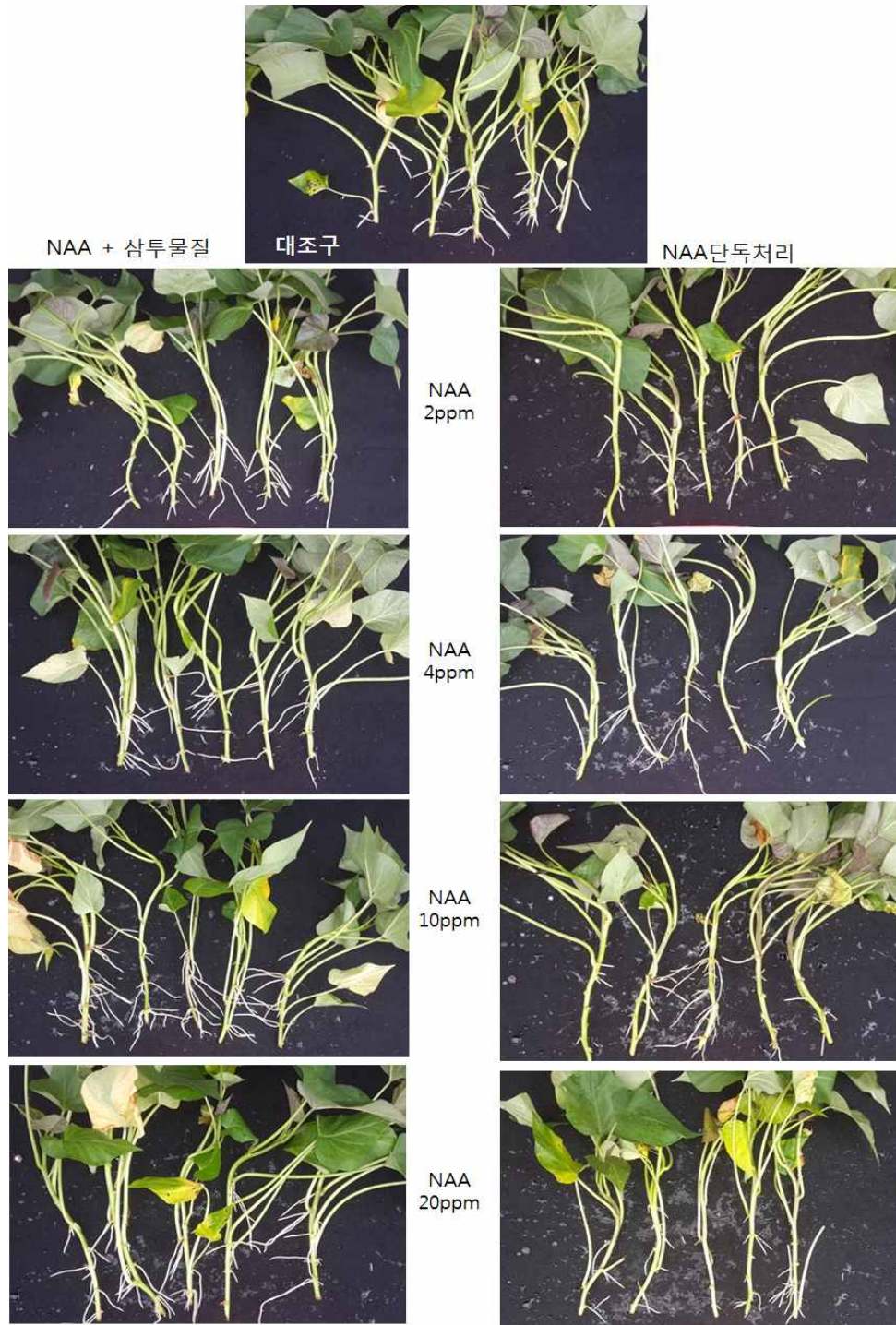


그림 3-2-1-31. NAA단독처리 및 삼투물질 공동 처리에 의한 삼식후 뿌리 발달의 차이

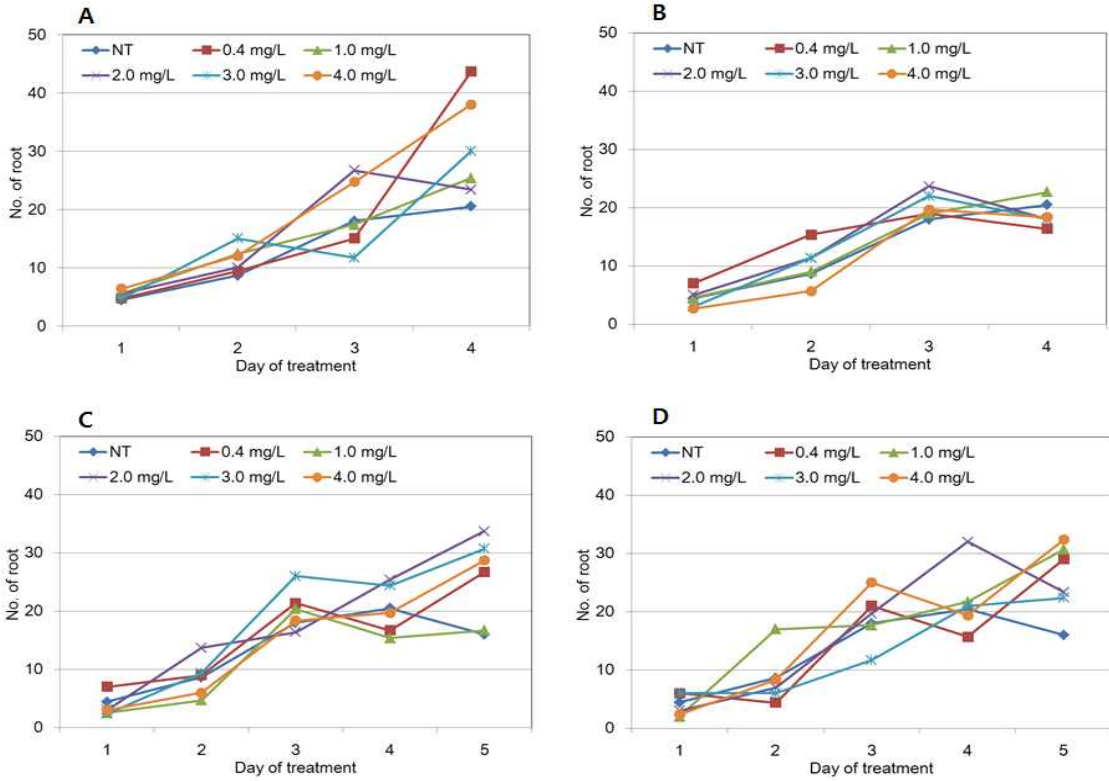


그림 3-2-1-32. 발근제의 종류 및 처리농도가 삽식한 고구마 순의 뿌리 수에 미치는 영향 (A: NAA처리, B: K-NAA처리, C: IBA처리, D: K-IBA처리)

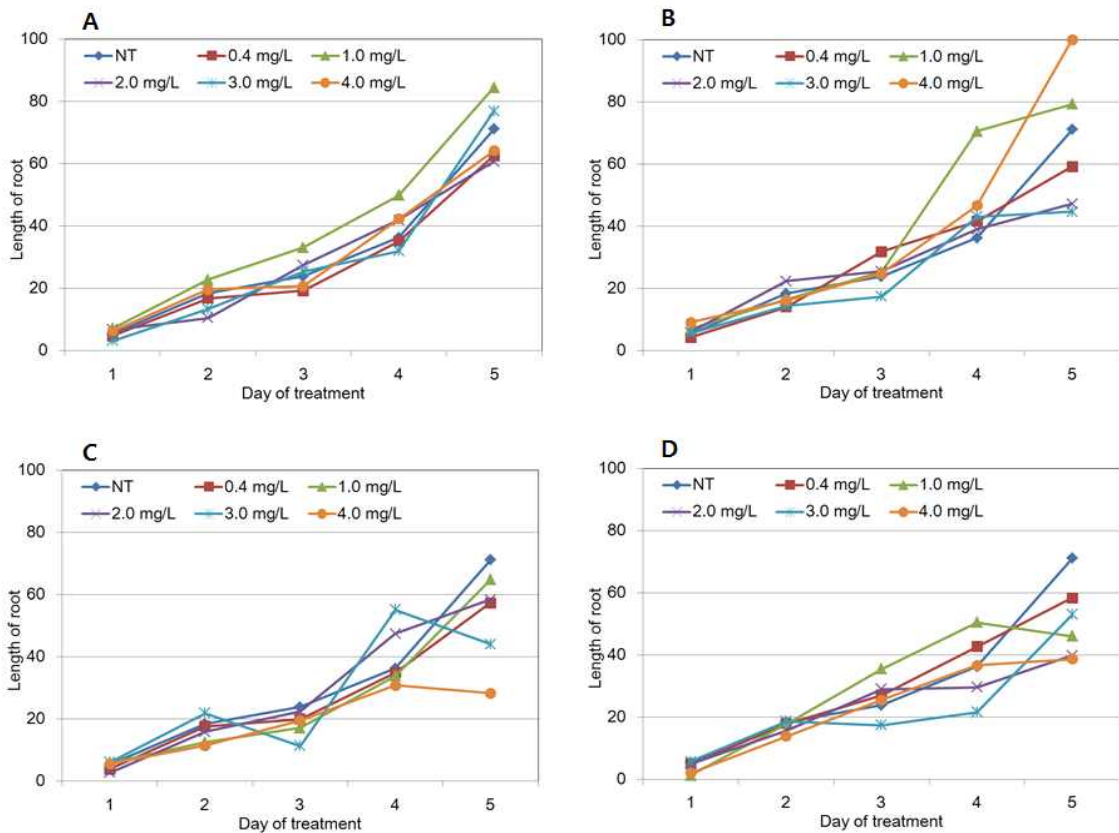


그림 3-2-1-33. 발근제의 종류 및 처리농도가 삽식한 고구마 순의 뿌리 길이에 미치는 영향 (A: NAA처리, B: K-NAA처리, C: IBA처리, D: K-IBA처리)

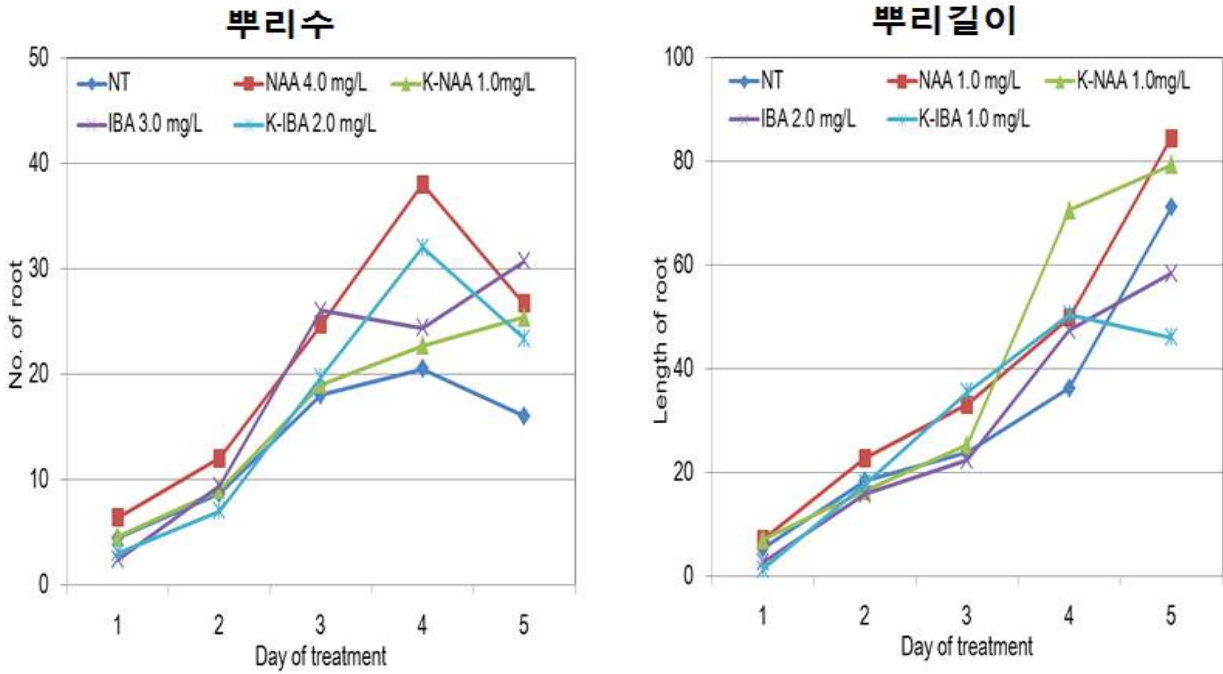


그림 3-2-1-34. 발근제의 종류 및 처리농도에 따른 고구마 순의 뿌리 발달 (종합결과)

한편 각 처리가 뿌리길이에 미치는 영향을 분석해보면, NAA 1 mg/L 처리구에서 처리 2 일차부터 전반적으로 뿌리의 길이가 증가한 것으로 나타났다(그림 3-2-1-33 A). K-NAA 처리구에서는 초기 1-3일째에서는 차이를 보이지 않았으나, 4일과 5일째에는 각각 1mg/L, 4mg/L에서 뿌리길이가 증가한 것으로 나타났다(그림 3-2-1-33 B). IBA 처리구에서는 처리 간에 큰 차이를 보이지 않았으나 전반적으로 2mg/L 처리에서 양호한 경향을 보였다(그림 3-2-1-33 C). K-IBA 처리구에서는 전체적으로 0.4mg/L, 1.0mg/L 처리구에서 뿌리길이가 증가하는 경향으로 나타났다(그림 3-2-1-33 D).

이상의 결과를 정리하여 각 옥신 처리구 당 발근수 및 뿌리길이에 효과적인 농도를 종합한 결과를 그림 3-2-1-34에 제시하였다. 뿌리의 발달은 K-IBA, IBA, IAA, NAA 순으로 나타났던 Metaxas 등(2004)의 결과와는 다르게, NAA 처리구에서 타 처리구에 비해 양호한 것으로 나타났으며, 뿌리 수에는 상대적으로 높은 옥신농도에서 효과적이었으며, 그중에서 NAA 4mg/L에서 가장 효과적이었다. 한편 뿌리길이의 경우에는 옥신의 농도가 낮은 쪽에서 높은 수치를 보였으며, 특히 NAA 0.1mg/L에서 가장 효과적이었다. 그러나 농가에서 이용하는 항균제 및 전착체를 공용했을 때의 영향에 대해서는 아직 추가적인 실험이 필요하다고 판단된다.

(2) 무병건전묘의 생산보급에 대한 기술적 보완 및 산업화 기술이전

본 연구팀에서는 국내에 적합한 무병묘 생산보급체계로서, 무병묘의 생산 및 1차 증식은 조직배양 기술 및 바이러스 검정기술을 갖춘 전문기관(대학, 농진청 등)에서 생산하여 바이러스 검정을 실시한 후, 기내배양묘를 1차 증식하고, 무병묘(기내배양묘)는 조직배양기술을 가진 지역거점 농가 등에서 대량으로 증식 후 보급하는 체제를 갖추어야 한다고 판단하였다. 그러나 지역의 주요 농가 등을 조사한 결과, 실제 조직배양묘의 기내증식을 담당할 수 있는

지역거점은 거의 존재하지 않았으며, 고구마 묘의 포장증식을 위한 전문 육묘기술 및 시설을 갖춘 거점농가도 찾아보기 힘들었다. 일부 대규모 농가에서 겨울철 가온이 가능한 육묘시설을 갖추고 있으나, 대부분 영세한 수준으로 타농가에 보급 및 사업화를 하기에는 타당하지 않다고 판단되었다. 이에 대한 해결책으로 전문육묘장이 적합한 대안으로 판단된다. 전문육묘장에서는 충분한 육묘기술을 바탕으로 연중 가동이 가능한 대규모 시설을 갖추고 있으며, 시장판매망과 운송수단을 포함하고 있어 충분한 사업화 가능성을 가지고 있다고 생각된다. 현재 고구마 무병건전묘 생산보급의 산업화에 적합하다고 생각되는 체계를 그림 3-2-1-35에 제시하였다. 바이러스무병묘의 생산 및 기내증식은 4~9월에 조직배양 기술과 바이러스 검정기술을 보유한 전문기관에서 수행하고, 이후 조직배양묘의 순화 및 포장증식과 건전묘를 생산하는 기관은 전문 육묘기술 및 시설을 보유한 곳에서 실시하며, 이때는 전술한 증식방법의 적용이나 재배환경조절 등이 고려되어야 한다.

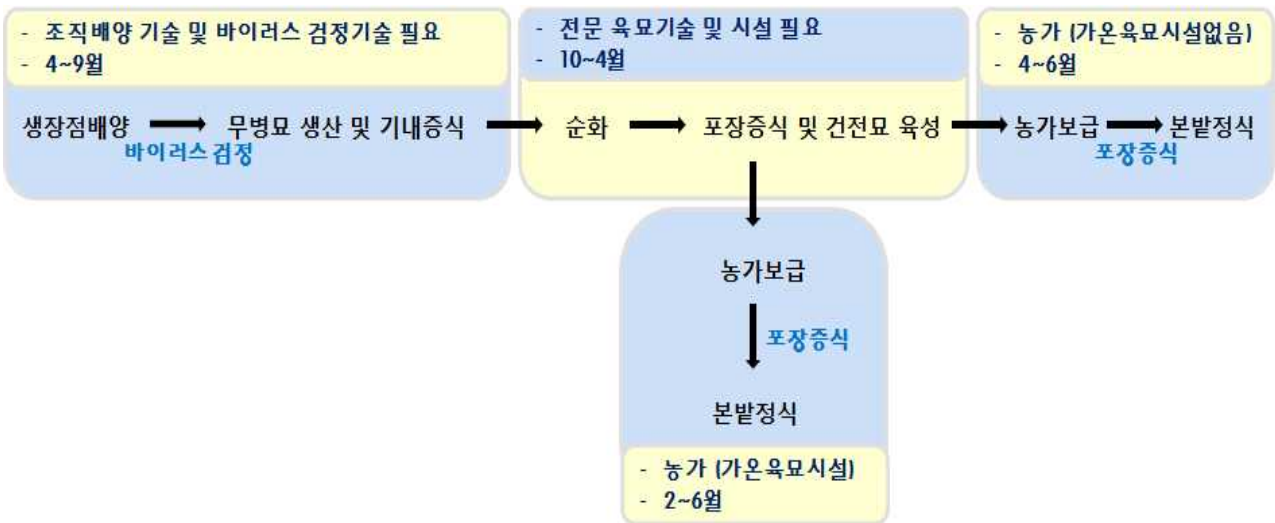


그림 3-2-1-25. 국내실정 및 산업화를 고려한 국내형 무병건전묘 생산보급 체계 제안 모델

한편 전문 육묘장에서 증식한 건전묘는 농가에서 두가지 방법으로 이용이 가능하다. 첫째는 겨울철에 충분한 가온육묘시설을 갖춘 농가(현재는 일부 대농을 중심으로 이런 시설이 갖추어져 있음. 그러나 많은 시설비와 시설가용비로 인해 일반 농가에서는 가용하기 힘들며, 대부분이 국가의 지원사업을 통해 얻은 시설임)는 1월말 또는 2월경에 고구마 묘를 공급받아 자체적으로 증식 후, 본밭에 정식하는 방식이다. 이 경우에는 포장증식에 들어가는 시설 가용비용이 많이 들지만, 농가가 가진 묘 증식 기술로 고구마 순의 생산이나 품종 섞임 등을 조절할 수 있다. 두 번째는 가온육묘시설이 없는 농가의 경우로 가온시설이 필요 없는 3월말이나 4월초에 건전묘를 공급받아 자체증식하여 정식하는 방식으로 기존의 일반 비닐하우스를 이용가능하며, 상대적으로 손쉬운 묘관리 및 시설의 이용기간을 단축시킬 수 있다.

이와 같은 결과 및 모델체계를 바탕으로, 본 연구 과제팀은 육묘장을 이용한 건전묘 증식과 건전묘 증식을 통한 고구마 무병종순 생산의 산업화 가능성을 시험하였다(그림 3-2-1-36~39). 바이러스 무병묘 생산 및 기내증식을 본 연구팀(서울시립대)에서 수행하였으며, 약 5,000주의 기내배양묘를 11월말에서 12월에 A육묘장에 공급하였다. A육묘장은 고구마 육묘 및 증식을

위한 충분한 기술 및 시설을 보유하고 있으며, 1월부터 삼식+1차 측지법(표 3-2-1-6참조)의 포장증식 방법을 적용하였다. 약 2.5~3개월의 증식을 통해 160,000~200,000정도의 건전묘를 얻을 수 있어, 육묘장에서 2.5~3개월간 약 30~40배의 증식을 보였다. 이때 건전묘 육성을 위해, 야간온도조절은 물론, 본연구팀이 개발하고 특허등록한 식물 성장촉진 미생물(PGPR)을 적용하였으며, 출하 전 일주일간 LED광 처리를 실시하여, 웃자라지 않고 강건한 묘를 생산하였다. 이때 농가에 보급한 무병건전묘의 생산 단가는 주당 약 400원정도의 수준으로 순화를 거친 조직배양묘의 가격이 1000~1200원인 것에 비해, 충분한 가격경쟁력을 보이는 것으로 나타났다. 한편, 온도관리, 미생물제제, 광처리 등을 거친 무병건전묘는 농가보급 후 활착이 뛰어나며, 높은 성장속도를 보여, 시장에서 높은 평가를 보였다.



그림 3-2-1-36. 무병건전묘 생산 사업화를 위한 육묘장에서의 증식 및 건전묘 육성



그림 3-2-1-37. 건전묘 육성을 위한 LDE광처리 광경

실례로 B농가에서는 본연구팀의 무병건전묘를 4월초에 보급받아 이중 비닐하우스에 20x20cm의 간격으로 정식 후, 약 1.5개월간 4~5차례의 고구마순 생산이 가능하였다. 이와 반대로 대조구로 이용하였던, 순화직후의 조직배양묘의 경우 같은 기간 동안 한차례의 순 생산도 할 수 없었다. 순화직후의 조직배양묘는 성장속도가 매우 완만히 증가하는 면도 고려해야 하지만, 이와 같이 육묘 및 증식 기간 중의 적합한 식물관리는 농가보급 후 정식용 고구마 순생산에도 크게 영향을 미치는 것으로 나타났다.



그림 3-2-1-38. A농가에서의 무병건전묘를 이용한 포장증식과 중순생산 (충분한 시설면적보유하고 있어 삼식+1차측지법 적용)



그림 3-2-1-39. B농가에서의 무병건전묘를 이용한 포장증식과 중순생산 (한정된 시설면적보유 -->1차측지법 적용)

바이러스 무병묘를 전문 육묘기관에서 증식하였을 경우, 위와 같이 무병건전묘의 생산단가를 낮출 수 있으며, 이런 무병건전묘를 농가에서 자체 증식함으로써 무병종순의 생산단가(A육묘장 및 B농가의 생산단가 추정치)는 주당 약 120~150원으로 낮출 수 있다고 판단된다. 이와 같은 생산단가는 일반 고구마종순의 가격이 약 100원(시기에 따라 편차가 큼)인데 비해 상대적으로 높지만, 무병묘를 직접 증식하는 것에 비해 생산단가를 크게 낮출 수 있으며(참조, '13년도 참다래유통사업단 무병종순 생산단가 217원), 또한 무병종저용으로 이용하는 경우에는 농가에 큰 부담이 되지 않는 것으로 판단되어 산업화를 가능성이 높은 것으로 생각된다. 이에 따라 2014~2015년도에서 본 과제팀이 지금까지 연구한 무병주 생산체계를 기본으로하여, 정읍훼밀리 영농조합에 품종당 각 1000주씩 무병원묘(조직배양묘)를 공급하여, 자체시설에서 기내증식 및 기외증식을 하여 무병건전묘의 생산단가를 산출하였다(표 3-2-1-6). 그 결과 4월에 출하되는 고구마 무병건전묘(50공 트레이묘로 출하)의 생산 단가는 217.8원으로 판매가 400~500원을 감안하면 충분한 사업성을 보였다. 각각의 항목별로 보면, 생산단가에서 인건비의 항목이 가장 높았으며, 그 외 배양실 운영관리에서 높게 나타났다. 참고로 이 시설에서 생산한 무병종순은 2015년도에 100주 1단에 14,000으로 판매가 되었으며, 매우 높은 호응도를 보였다(판매량 20만주 추정). 일반 종순이 가장 가격이 높았을 때가 12,000원에 이르렀다는 것을 감안하면 무병묘 생산 사업의 산업화에 대한 충분한 가능성을 보였다.

표3-2-1-6. 고구마 바이러스 무병건전묘 생산단가 산출

구 분		사 용 량	금 액	비 고
포 트(50구)		1구	6.8원	
상 토(20리터)		40g	6.9원	
전기료(농업용)		50kwt	13원 (30일기준)	난방형하우스
인 건 비		6명 ×2회	60원	접목, 이식, 순화, 하우스이동
하우스이식, 채묘인건비			30원	(이식17원, 채묘13원)
하우스관리비			25원	양액, 거름, 물주기
운 영 자 금	배양실운영비		30원	배양실운영비비례산출
	식물영양제	주 1회	10원	
	관리비		25원	
	유통비용			
	기 타	식대, 간식비용	12원	
합 계			218.7원	



그림 3-2-1-40. 무병건전묘의 생산 및 증식과 재배현장 적용(A:무병건전묘의 생산, B: 정식용 고구마순 생산, C: 바이러스무병주(좌) 및 일반고구마순(우), D: 무안 H 농가의 무병주 재배포장, E: 논산 K 농가의 무병주 재배포장)

한편 본 연구팀의 고구마 무병묘 대량 증식 체계를 이용해 재배현장에 적용한 결과(그림 3-2-1-40), 일반묘에 비해 정식용 고구마순의 품질이 월등히 높아지는 걸 확인했다(그림 3-2-1-40 C). 또한 자체적으로 무가온온실을 보유하고 있는 무안 H 농가와 논산의 K농가는 2014년에 5,000주(주당 단가 450원)의 무병건전묘를 구입하여 자체 증식하여 고구마 재배에 이용하였으며, 2015년도에는 30,000 및 35,000주의 무병건전묘를 각각 구입하여 무병건전묘의 사용에 적극적으로 대응했다. 이들 농가에서 무병건전묘의 장점으로는 착근율이 매우 높아 초기생존율이 매우 높으며 이로써 추가적인 보식이 불필요하며, 초기 생장율이 매우 우수한 것으로 나타났다. 뿐만 아니라 두 농가의 경제성 평가(표3-2-1-7)에서 나타듯이, 일반묘 사용에 비해생산량의 증대는 물론 상품성 가치가 있는 고구마의 증대와 비품의 감소 등을 들 수 있으며, 경제성으로는 무안 H 농가에서 평당 3,000 원, 논산 K 농가에서는 평당 1,000원~ 1,500원의 수익이 증가하는 것으로 보고하였다. 이와 같이 무병건전묘를 이용함으로써 농가수익이 증대되는 것으로 인해 2014년도에 비해 2015년도에 무병묘 이용이 크게 증가한 것으로 판단된다. 이와 같은 결과들을 종합해보면, 현재 본 연구팀이 제시한 고구마 무병건전묘 대량 증식 및 보급체계를 이용함으로써 고구마 재배농가는 물론 무병건전묘 생산 농가에서도 만족할 만한 경제적 성과를 얻을 수 있으며, 이를 근거로 산업화 적용 모델로 충분한 가치가 있다고 판단된다.

표3-2-1-7. 고구마 무병건전묘를 사용한 농가의 경제성 평가(2014년 기준)

	무안 H 농가			논산 K 농가		
	일반묘	건전묘	비고	일반묘	건전묘	비고
생산량	5~6kg	10kg	30~40% 증가	n	n	30%~50% 증가
상품성 (비품발생)	15%이상	10%미만	비품발생	n	n	20%~30% 증가
판매액	n	3,000원/1평	증가	n	n	1,000원~ 1,500원 / 1평

n: 무응답

2. 고구마 바이러스병 진단 시스템 개발

가. 고구마 바이러스 진단법 확립

세계적으로 고구마에 발생하는 바이러스는 SPFMV, SPCSV, SPLCV, SPVC 등 30여종 이상으로, 주로 고구마에 문제가 되고 있으며, 명확하게 구명된 바이러스는 17종으로 표 3-2-2-1과 같다.

표 3-2-2-1. 고구마 주요 바이러스 (17종)

No.	바이러스명	약어	그룹	전염	국내보고
1	<i>Sweet potato feathery mottle virus</i>	SPFMV	<i>Potyviridae(Potyvirus)</i>	진딧물 (비영속)	기보고 (4종 다중진단 시스템 확립)
2	<i>Sweet potato G virus</i>	SPGV	<i>Potyviridae(Potyvirus)</i>	진딧물 (비영속)	
3	<i>Sweet potato latent virus</i>	SwPLV	<i>Potyviridae(Potyvirus)</i>	진딧물 (비영속)	
4	<i>Sweet potato leaf curl virus</i> ^a	SPLCV	<i>Geminiviridae(Begomovirus)</i>	담배가루이 (영속)	
5	<i>Sweet potato mild speckling virus</i>	SPMSV	<i>Potyviridae(Potyvirus)</i>	진딧물 (비영속)	미보고 (진단시스템 확립)
6	<i>Sweet potato mild mottle virus</i>	SPMMV	<i>Potyviridae(Ipovirus)</i>	담배가루이 (영속)	
7	<i>Sweet potato chlorotic stunt virus</i>	SPCSV	<i>Closteroviridae(Crinivirus)</i>	담배가루이 (반영속)	
8	<i>Sweet potato collusive virus</i>	SPCV	<i>Caulimoviridae(Cavemovirus)</i>	*	
9	<i>Sweet potato virus 2</i>	SPV2	<i>Potyviridae(Potyvirus)</i>	진딧물 (비영속)	2013 신규보고 (4종 다중진단 시스템 확립)
10	<i>Sweet potato virus C</i>	SPVC	<i>Potyviridae(Potyvirus)</i>	진딧물 (비영속)	
11	<i>Sweet potato symptomless virus 1</i>	SPSMV-1	<i>Geminiviridae(Mastrevirus)</i>	*	
12	<i>Sweet potato chlorotic fleck virus</i>	SPCFV	<i>Betallexiviridae(Carlavirus)</i>	*	
13	<i>Sweet potato vein clearing virus</i>	SPVCV	<i>Caulimoviridae(Solendovirus)</i>	*	미보고 (진단시스템 확립)
14	<i>Sweet potato pakakuy virus</i>	SPPV	<i>Caulimoviridae(Badnavirus)</i>	*	
15	<i>Sweet potato C6 virus</i>	SPC6V	<i>Betallexiviridae(Carlavirus)</i>	*	
16	<i>Sweet potato leaf speckling virus</i>	SPLSV	<i>Luteoviridae(Polerovirus)</i>	*	
17	<i>Cucumber mosaic virus</i>	CMV	<i>Bromoviridae(Cucumovirus)</i>	진딧물 (비영속)	

a Sweet potato leaf curl virus has been classified into seven species: Sweet potato leaf curl virus (SPLCV), Ipomoea yellow vein virus (IYVV), Sweet potato leaf curl Georgia virus (SPLCGoV), Sweet potato leaf curl China (SPLCV-CN), Sweet potato leaf curl Lanzarote virus (SPLCLaV), Sweet potato leaf curl Canary virus (SPLCCaV), and Sweet potato leaf curl Spain virus (SPLCESV) by ICTV.

* Not reported.

국내에서의 고구마 바이러스병은 2010년까지 SPFMV, SPLV, SPGV 및 SPLCV 등 4종이 보고되어 왔다. 이들 4종 바이러스에 대해서 특이적인 프라이머를 선발하여(표 3-2-2-2),

동시에 4종을 진단할 수 있는 multiplex RT-PCR 진단법을 확립하였다 (그림 3-2-2-1).

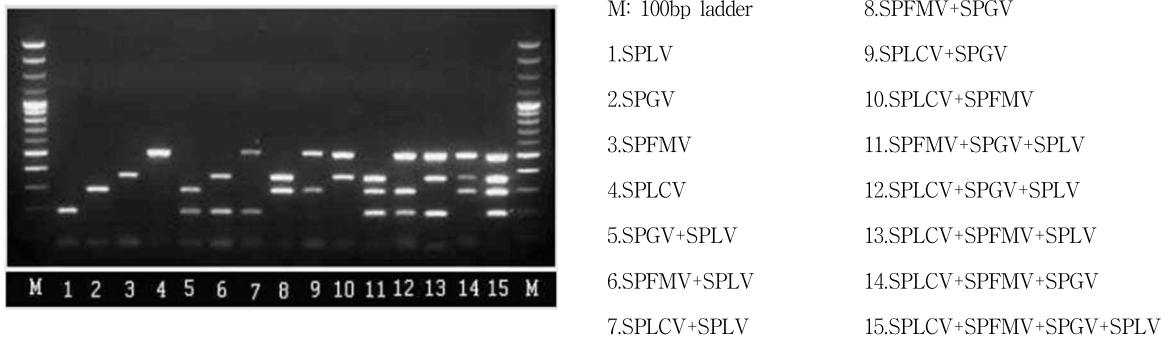


그림 3-2-2-1. 고구마 바이러스 4종(SPLCV, SPFMV, SPGV, SPLV)의 multiplex RT-PCR 전기영동 사진

이후 추가로 4종의 바이러스, SPVC, SPV2, SPSMV-1 및 SPCFV가 새로 검정이 되어, 이들 바이러스에 대한 특이 진단용 프라이머를 선별하여(표 3-2-2-2), 한번의 RT-PCR로 4종의 바이러스를 동시에 진단할 수 있는 multiplex RT-PCR 방법을 확립하였다(그림 3-2-2-2).

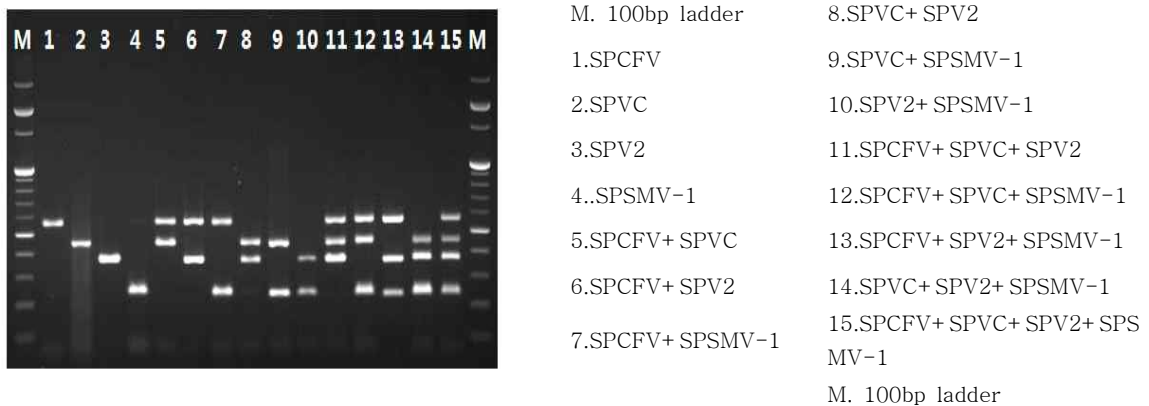


그림 3-2-2-2. 고구마 바이러스 4종(SPCFV, SPVC, SPV2, SPSMV-1)의 Multiplex RT-PCR 전기영동 사진

위의 국내에 보고된 8종 바이러스 외에 나머지 9종 바이러스 (SPCSV, SPMSV, SPMMV, SPCV, SPVCV, SPPV, SPC6V, SPLSV, 및 CMV)에 대해서도 RT-PCR 진단법을 확립하였다 (표 3-2-2-2)

표 3-2-2-2. 고구마 주요 바이러스의 진단용 프라이머

Virus	Primer ^a	Sequence (5'→3')	Loci	Size (nt)
<u>Multiplex RT-PCR primer set 1</u>				
SPLCV	SPLC-u1	TCTGCCGTCGATCTGGAAGCTC	2315 - 2335	507
	SPLC-d1	GTGCCCCGCTTTGGTGGAC	2821 - 2803	
SPFMV	SPFMV 1-F	TACACACTGCTAAAAGTAGG	9073 - 9092	356
	SPFMV 1-R	AGTTCATCATAACCCCATGA	9428 - 9409	
SPVG	SPG 3-F	CAATGCCAAATGGAAGAATAG	9945 - 9965	286
	SPG 3-R	GCATGATCCAATAGAGGTTTTA	10230 - 10209	
SPLV	SPLV 1-F	GGAGTCAGTTCAATCAATGGTA	9340 - 9361	184
	SPLV 1-R	AGTGGCTTTATTGGGTATGAT'	9523 - 9503	
<u>Multiplex RT-PCR primer set 2</u>				
SPCFV	SPCFV 2F	AGCTGCTCAAACAAGCAAGAGG	8526 - 8547	579
	SPCFV 2R	GCTCAAAGTACTTTAAAACATGC	9104 - 9081	
SPVC	SPVC-F	ATTCTTGAATGGGATAGATCACATG	9353 - 9377	447
	SPVC-R	AGCTTCACGAAGCGCAGC	9799 - 9782	
SPV2	SPV2-F1	ATGTGTTGAACCATCAGCTGAA	9414 - 9435	369
	SPV2-R1	GTAACCTTGCCTTGGGCTACG	9782 - 9763	
SPSMV-1	SPSMV-1 F1	ACCGTGTATTTGATGACGATGTAC	352 - 375	230
	SPSMV-1 R	GGGAAGTTCTGGTAGAACGTATC	581 - 559	
<u>Single RT-PCR primers ^b</u>				
SPMMV	SPMMV 3-F	CCGCGCCAACAA AGGAACTA	9842 - 9861	298
	SPMMV 3-R	TTGATGGGGTAATAAAGCACT	10140 - 10120	
SPCSV	SPCSV-uni-f1	GGGAAGAMGAGAYATGGAGTTAA	4484 - 4506	583
	SPCSV-uni-r1	CCTTGTTACAAAGAGCGTTCCT	5066 - 5045	
SPMSV	SPMSV 1-F	GCCAAAACCAACAAGCATCA	105 - 124	275
	SPMSV 1-R	ATTCGCATTTCCATCATCT	380 - 360	
SPCV	SPCV F	AGGAAATCCCAGTATTATTCAAC	4267 - 4289	922
	SPCV R	ATTTCTAATTTGGTTTACTAATCC	5188 - 5165	
SPVCV	SPVCV-F	ATCCATTGCCAAATAAGATATTAAGA	5844 - 5870	308
	SPVCV-R	CTTCTTAAGCAATGTTTCATGCTC	6151 - 6128	
SPPV	SPPV-F	ATGAGGAGAA(C)CAGGGGCC	1486 - 1503	722
	SPPV-R	CCAACG(A)TTTGGAGTGTGGAT	2207 - 2187	
SPC6V	SPC6V-F1	AAAAGCTTGTGGCAATTTGTG	6804 - 6825	590
	SPC6V-R1	TTGGCATTTCGATTGTCCC	7393 - 7376	
SPLSV	SPLSV-F	ATGAGTACGGTCGTGGTTAGAAAC	1-24	612
	SPLSV-R	CTACCTATTTGGGTCTGGAAGG	612 - 590	
CMV	CMV-DP ^u	CGTCGTGGTTCCCGCTCCG	1309 - 1327	474
	CMV-DP ^{d2}	AGCGGCATCGCCGAAAGAT	1782 - 1763	

a Primers were designed based on the nucleotide sequences of sweet potato viruses registered in Genbank.

b RT-PCR conditions are as follows ; 30 min at 42°C, 5 min at 94°C, and 35 cycles consisting of 20 s at 94°C, 30 s at 55°C, 60s at 72°C, and 5min at 72°C.

나. 고구마 바이러스병의 발생상황 조사

(1) 고구마 유전자원의 바이러스 발생 조사 (2010년)

2010년 식량과학원 바이오에너지작물센터에서 보유하고 있는 고구마 유전자원 452점에 대해 고구마 바이러스의 분포를 조사하기 위하여 진단시스템이 확립된 4종(SPFMV, SPGV, SwPLV 및 SPLCV) 바이러스에 대해 multiplex RT-PCR 방법으로 진단하였다. 그 결과 유전자원의 83.8%가 1종 이상의 바이러스에 감염되어 있었으며, 바이러스 감염이 없는 개체는 16.2%이었다. 이 중 3종이상의 바이러스에 의해 복합감염율이 50%가 넘었으며, 특히 SPLCV의 단독 및 복합 감염은 기존에 조사 보고된 것보다 훨씬 더 심각한 양상을 보였다 (표 3-2-2-3).

표 3-2-2-3. 고구마 유전자원의 바이러스 검정 결과 (2010년, 바이오에너지센터)

복합감염여부	검정 바이러스	검정수	감염율(%)
4종 복합감염	SPLCV+SPFMV+SPGV+SPLV	91	20.1
3종 복합감염	SPLCV+SPFMV+SPGV	111	24.6
	SPLCV+SPFMV+SPLV	10	2.2
	SPLCV+SPGV+SPLV	0	0
	SPFMV+SPGV+SPLV	27	5.9
2종 복합감염	SPLCV+SPFMV	25	5.5
	SPLCV+SPGV	17	3.8
	SPLCV+SPLV	1	0.2
	SPFMV+SPGV	45	10
	SPFMV+SPLV	2	0.4
	SPGV+SPLV	3	0.7
1종 단독감염	SPLCV	14	3.1
	SPFMV	12	2.7
	SPGV	20	4.4
	SPLV	1	0.2
무감염		73	16.2
계		452	100

(2) 전국 고구마 재배묘상의 바이러스병 발생상황 조사

2011년부터 2013년까지 전국 주요 고구마 재배지를 중심으로 고구마 바이러스 발생조사를 하였다. 2011년 옥지도 등 7개 포장에서 채집한 고구마 126점을 결과, 농가 시료의 73.8%가 2종 이상의 바이러스에 감염되어 있었다. 단독감염된 바이러스는 SPFMV, SPLCV, SPGV 순으로 우점을 보인 반면 특이하게도 SwPLV에 의한 단독 감염주는 찾을 수 없었다. 2종 복합감염은 32.6%, 3종 복합감염은 33.3%, 4종 복합감염은 7.9%로 2~3종의 바이러스에 의한 복합감염율이 65%가 넘었으며, 특히 SPLCV의 단독 및 복합 감염은 기존에 조사 보고된 것보다 훨씬 더 심각한 양상을 보였다. 2011년 지역별로 채집된 시료와 2003년 검정된 결과를 분석한 결과, 2003년에는 SPFMV 단독감염이 39.7%, SPFMV+SPGV 10.6%로 우점을 차지한 반면, 2011년에는 SPFMV+SPGV 27.0%, SPFMV+SPGV+SwPLV 23.0%로 단독감염에서

2~3종의 복합감염으로 바뀌는 경향을 보이고 있다. 더 나아가 SPLCV+SPFMV+SPGV+SwPLV에 의한 4종 복합감염이 1.1%에서 7.9%로 급격하게 증가를 하였는데, 이는 SPLCV의 증가와 밀접한 관계가 있어 앞으로 바이러스병으로 인한 피해가 더욱 더 심해질 것으로 사료된다. 또한 포장 결과와 유전자원포에서 검정한 결과와도 차이를 보여 유전자원에서 가장 큰 문제가 된 SPLCV+SPFMV+SPGV는 24.6%, SPLCV+SPFMV+SPGV+SwPLV는 20.1%로 우점인 반면, 2011년 포장에서는 SPFMV+SPGV가 27.0%, SPFMV+SPGV+SwPLV가 23.0%로 우점되고 있음을 확인할 수 있었다(표 3-2-2-4).

표 3-2-2-4. 고구마 재배묘상에서의 주요 4종 바이러스 감염율 조사(2011년~2013년)

복합감 염여부	검정 바이러스	2003-2005		2011		2012		2013	
		감염주	감염율 (%)	감염주	감염율 (%)	감염주	감염율 (%)	감염주	감염율 (%)
4종	SPLCV+SPFMV+S PVG+SwPLV	2	1.1	10	7.9	91	20.1	10	1.8
	SPLCV+SPFMV+S PVG	6	3.4	12	9.5	111	24.6	47	8.6
3종	SPLCV+SPFMV+S wPLV	0	0	1	0.8	10	2.2	0	0
	SPLCV+SPVG+Sw PLV	0	0	0	0	0	0	6	1.1
	SPFMV+SPVG+S wPLV	2	1.1	29	23	27	5.9	1	0.2
	SPLCV+SPFMV	1	0.6	2	1.6	25	5.5	68	12.4
2종	SPLCV+SPVG	0	0	1	0.8	17	3.8	18	3.3
	SPLCV+SwPLV	0	0	0	0	1	0.2	0	0
	SPFMV+SPVG	19	10.6	34	27	45	10.0	32	5.8
	SPFMV+SwPLV	1	0.6	4	3.2	2	0.4	3	0.5
	SPVG+SwPLV	0	0	0	0	3	0.7	0	0
1종	SPLCV	0	0	2	1.6	14	3.1	60	10.9
	SPFMV	71	39.7	14	11.1	12	2.7	58	10.6
	SPVG	29	16.2	2	1.6	20	4.4	38	6.9
	SwPLV	0	0	0	0	1	0.2	0	0
미감염		48	26.8	15	11.9	8	4.7	71	46.1
총계		179		126		170		154	

2012년 고구마 170점에 대한 바이러스 검정한 결과, 95.3% 바이러스 감염되어 있었다. SPFMV 등 단독감염은 25.3% 2종 이상의 바이러스 감염은 34.7%, 3~4종 복합감염은 35.3%의 바이러스에 감염되어 있었다. SPFMV는 단독감염 18.2%으로 우점을 나타냈다. (표 3-2-2-4).

지역적으로 2003년, 2011-2012년 채집된 시료의 바이러스 검정 결과를 분석한 결과, 2012년에는 SPFMV 단독감염 다음으로 SPLCV 감염이 5.3%로 높았다. 2종 복합의 경우에도 2003년 SPLCV+SPFMV 감염이 0.6%에서 2011년 1.6%, 2012년 14.7%으로 증가한 것을 확인하였다. 3종의 복합감염의 경우 SPFMV+SPGV+SwPLV 우점에서 2012년

SPLCV+SPFMV+SPGV 복합감염으로 바뀌는 경향을 보이고 있다. 이것은 SPLCV의 증가에 따른 결과로 생각된다. 또한 SPLCV 증가는 2012년 여주지역 포장의 품종별 묘상 바이러스 검정결과와도 일치되는 결과이다. 과거 발생하지 않았거나, 약하게 발생했던 고구마 바이러스 발생이 바뀌는 경향이 있기 때문에 지속적으로 지역별/품종별 육묘/포장 조사가 계속 되어야 할 것으로 사료된다.

(3) 여주지역 고구마 품종별 묘상의 바이러스 조사 (2012년)

2012년 여주지역의 고구마 묘상포장에서 채집한 고구마 70 품종 551점에 대한 바이러스 검정결과, 4품종을 제외한 66품종에서 바이러스 감염을 확인하였다. 단독 감염된 바이러스는 28%로 SPLCV, SPFMV, SPGV 순으로 우점을 보였고, SPLCV의 발생이 많은 것을 확인하였다. 2중 복합감염은 22%, 3중 복합감염은 9.9%, 4중 복합감염은 1.8%로 나타났다. (표 3-2-2-5).

표 3-2-2-5. 여주지역 고구마 품종별 묘상 바이러스 감염율

복합감염여부	검정 바이러스	여주지역 고구마 품종별 묘상 바이러스 감염율 조사	
		감염주	감염율(%)
4중	SPLCV+SPFMV+SPVG+SwPLV	10	1.8
	SPLCV+SPFMV+SPVG	47	8.6
3중	SPLCV+SPFMV+SwPLV	0	0
	SPLCV+SPVG+SwPLV	6	1.1
	SPFMV+SPVG+SwPLV	1	0.2
2중	SPLCV+SPFMV	68	12.4
	SPLCV+SPVG	18	3.3
	SPLCV+SwPLV	0	0
	SPFMV+SPVG	32	5.8
	SPFMV+SwPLV	3	0.5
	SPVG+SwPLV	0	0
1중	SPLCV	60	10.9
	SPFMV	58	10.6
	SPVG	38	6.9
	SwPLV	0	0
	Not infected	208	37.9
	Total	549	

(4) 2013년 묘상 고구마 바이러스 8종의 감염율 조사

2013년 수집된 지역별 묘상 고구마 시료 중 154점을 표 3-2-2-1의 17종 바이러스에 대해

검정한 결과, 기존 4종 바이러스 (SPLCV, SPFMV, SPVG, SPLV)를 포함한 새로운 바이러스 4종(SPVC, SPV2, SPCFV, SPSMV-1)이 추가 검정되었다. 8종 바이러스 중 SPFMV와 SPVC가 87%와 85%로 가장 높은 감염률을 보여주었고, SPSMV-1, SPVG, SPLCV, SPV2, SPCFV와 SPLV는 각각 67%, 58%, 47%, 41%, 31%, 20%의 감염률을 보여주었다(표 5). 또한 2종 이상의 복합감염률이 95.5%이고, 단독감염률은 3.9%로 대부분의 바이러스가 복합감염되었는 것을 확인하였고, 이중 5종 복합감염률이 32.5%로 가장 높았다 (표 3-2-2-6).

표 3-2-2-6. 2013년 지역별 묘상 고구마 바이러스 발생률

지역	시료 수	No. of virus detections by RT-PCR ^a								
		SPFMV	SPVC	SPVG	SPV2	SPLV	SPCFV	SPLCV	SPSMV-1	
전남	해남	40	40	40	17	17	8	17	20	29
	영암	10	10	10	7	8	2	1	3	10
	무안	37	25	27	13	3	2	12	22	34
전북	익산	16	13	7	10	7	1	1	6	6
	김제	14	10	11	8	4	6	3	7	11
경남	산청	13	13	13	12	8	6	9	4	0
	사천	4	4	4	4	2	3	2	2	1
경북	청원	7	7	6	6	4	1	2	5	5
충남	논산	3	3	3	3	2	1	0	1	2
	보령	10	9	10	9	8	0	0	3	5
Total	10	154	134	131	89	63	30	47	73	103
(%)			87	85	58	41	20	31	47	67

a 단독 및 복합감염 포함.

* 미검출 바이러스: SPCSV, SPMSV, SPMMV, SPCV, SPVCV, SPPV, SPC6V, SPLSV, and CMV

표 3-2-2-7. 2013년 지역별 묘상 고구마 바이러스 복합감염률

Mixed infection type	Detected viruses								Sub-total	Total (%)
	SPFMV	SPVC	SPVG	SPV2	SPLV	SPCFV	SPLCV	SPSMV-1		
Octuple	+	+	+	+	+	+	+	+	1	1 (0.6)
Septuple	+	+	+	+	+	+	+	-	1	2 (1.3)
	+	+	+	-	+	+	+	+	1	
Sextuple	+	+	+	+	+	+	-	-	4	30 (19.5)
	+	+	+	+	+	-	+	-	6	
	+	+	+	+	+	-	-	+	3	
	+	+	+	+	-	+	+	-	1	
	+	+	+	+	-	-	+	+	6	
	+	+	+	-	+	+	+	-	2	
	+	+	+	-	+	-	+	+	3	
	+	+	+	-	-	+	+	+	1	
	+	+	-	+	-	+	+	+	2	
	+	+	-	-	+	+	+	+	2	
Quintuple	+	+	+	+	+	-	+	-	4	50 (32.5)
	+	+	+	+	-	+	-	-	3	
	+	+	+	+	-	-	+	-	6	
	+	+	+	+	-	-	-	+	12	
	+	+	+	-	+	+	-	-	1	
	+	+	+	-	-	+	+	-	1	
	+	+	+	-	-	-	+	+	8	
	+	+	-	+	-	+	-	+	2	
	+	+	-	-	-	+	+	+	13	

Quadruple	+	+	+	+	-	-	-	-	6	32 (20.8)
	+	+	+	-	-	+	-	-	1	
	+	+	+	-	-	-	+	-	2	
	+	+	+	-	-	-	-	+	7	
	+	+	-	+	-	-	+	-	1	
	+	+	-	+	-	-	-	+	2	
	+	+	-	-	-	+	-	+	7	
	+	+	-	-	-	-	+	+	2	
	+	-	+	+	-	-	-	+	1	
	+	-	+	-	+	-	+	-	1	
-	+	-	-	-	+	+	+	1	19 (12.3)	
Triple	+	+	+	-	-	-	-	-		2
	+	+	-	+	-	-	-	-		2
	+	+	-	-	-	-	+	-		1
	+	+	-	-	-	-	-	+		7
	+	-	-	-	-	-	+	+		1
	-	+	-	-	-	-	+	+		4
	-	+	+	-	-	-	-	+	1	
-	-	-	-	-	+	+	+	1	13 (8.4)	
Double	+	-	+	-	-	-	-	-		1
	+	-	-	-	-	-	+	-		1
	+	-	-	-	-	-	-	+		4
	-	+	-	-	-	-	-	+		2
	-	-	+	-	-	-	-	+		2
	-	-	-	-	-	+	-	+	1	
-	-	-	-	-	-	+	+	2	6 (3.9)	
Single	+	-	-	-	-	-	-	-		1
	-	-	-	-	-	-	+	-		1
	-	-	-	-	-	-	-	+	4	
No detection	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1 (0.6)
Total										154

다. 고구마 바이러스별 외피단백질의 염기서열을 이용한 계통 분석

SPFMV, SPGV 및 SPLV의 염기서열 분석을 위하여, 기존에 선발된 프라이머를 사용하였으며, RT-PCR 결과 얻어진 산물은 QIAquick Gel Extraction kit(Qiagen)로 분리하여 pGEM-T vector(Promega)에 클로닝시켰다. Automated sequencer를 사용하여 sequencing하였으며, GenBank. BLAST program등의 방법을 사용하여 염기서열 분석을 하였다.

(1) SPFMV 외피단백질 염기서열 분석 결과

국내에서 분리된 SPFMV 감염주 31개의 외피단백질 (coat protein, CP) 유전자의 염기서열을 확보하여 계통수를 그려 유연관계를 분석하였다. SPFMV는 일반적으로 4개의 계통으로 분리되며 (Kreuze 등. 2000), 국내에는 이 중 RC계통과 O계통 2가지 계통의 SPFMV가 분포하고 있음을 확인하였다 (그림 3-2-2-3). 이전의 조사와 분석을 통해 국내에 분포하는 SPFMV가 3개의 그룹으로 구분지어짐을 확인하였었으며 (Kwak 등. 2007) 이번 결과를 통해서도 3개의 그룹으로 구분되는 SPFMV가 국내에 분포함을 알 수 있었다. 특히, SPFMV-RC 계통내의 소그룹 중 하나는 2011년도에 채집된 고구마들에서 확인된 분리주들로만 이루어져 있었으며, 이는 이전 결과(Kwak 등. 2007)에서 구분되었던 그룹의 295

분리주로부터의 분화를 보이는 결과이며, SPFMV-EA 계통에 가까운 분지에 위치한 GE353 분리주와 GE19 분리주의 존재 또한 두 계통 사이에 있는 변이주들의 출현을 의미하기에 이전과 다른 유형의 SPFMV-RC 계통이 유입되었는지 혹은 이전의 SPFMV-RC 계통들이 변이를 통한 유전자 진화를 이룬 것인지에 대한 추가 연구가 필요하다.

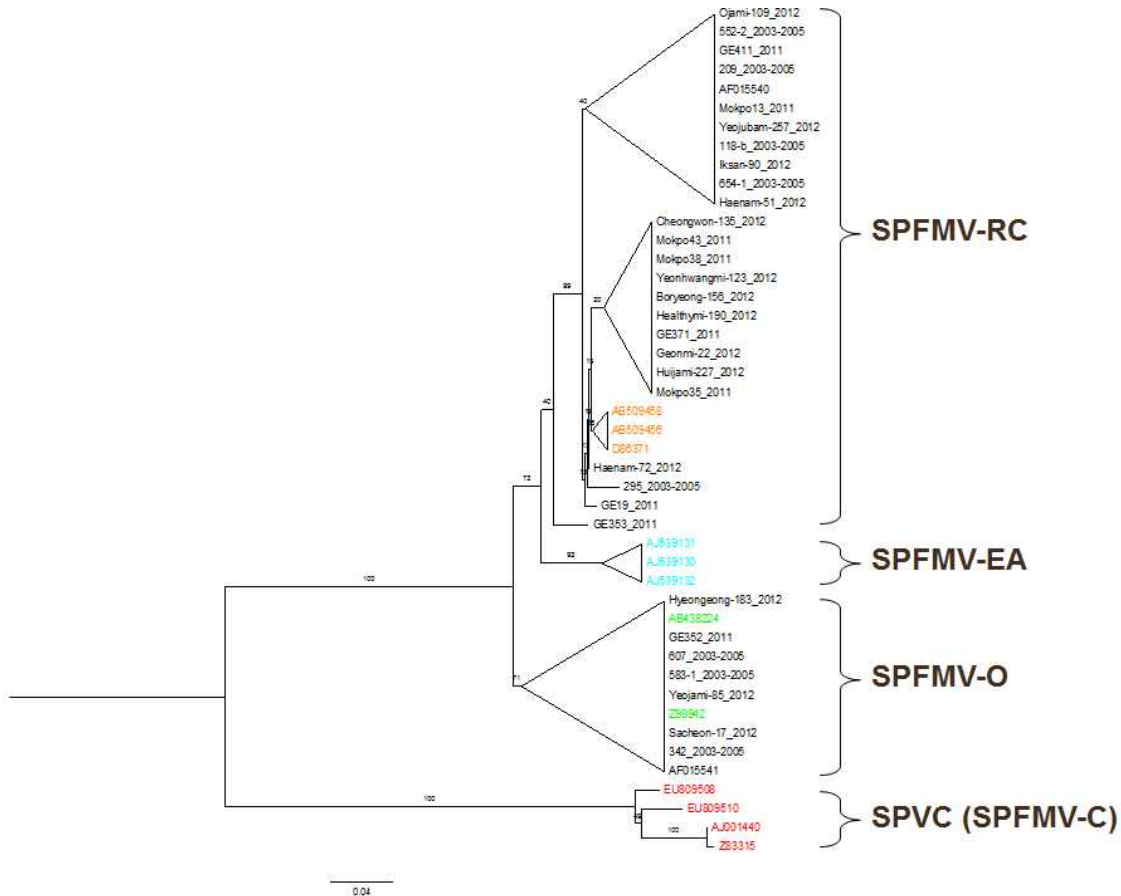


그림 3-2-2-3 SPFMV 국내 분리주들의 외피단백질 염기서열 계통 분석

(2) SPVG 외피단백질 염기서열 분석 결과

SPVG 감염주 42개 분리주의 외피 단백질 유전자의 염기서열을 확보하여 계통수를 그려 유연관계를 분석하였다. 기존의 문헌에 의하면 현재까지 SPVG는 외피 단백질 유전자를 기준으로 크게 2개의 계통으로 구분 지어진다 (Rännäli 등. 2008; Untiveros, Fuentes, and Kreuze 2008; Deng 등. 2014). 우리나라의 분리주의 대다수는 전세계 각지에서 보고된 SPVG와 같은 계통(CH) (Deng 등. 2014) - Group III 에 연관을 보였다 (그림 3-2-2-4). 이 계통에 속한 분리주들간의 계통 분화는 계통 분지의 신뢰도가 0%로 계통 내의 분리주들 간의 유의미한 분화가 없었다. 조사대상 중의 한 개 분리주 (665_1)는 중국에서 보고된 CH2 분리주 계통(Deng 등. 2014)과 가까운 유연관계 (Group I) 를 보였다. GR336, GR365 및 89 분리주를 포함한 7개의 분리주는 Group I 과 Group III의 중간에 위치하였으며 계통수 분지의 신뢰도에서도 각각 95%, 96% 및 100%를 나타내어 다른 두 계통과 구별되는 계통(Group II)을 형성하였다.

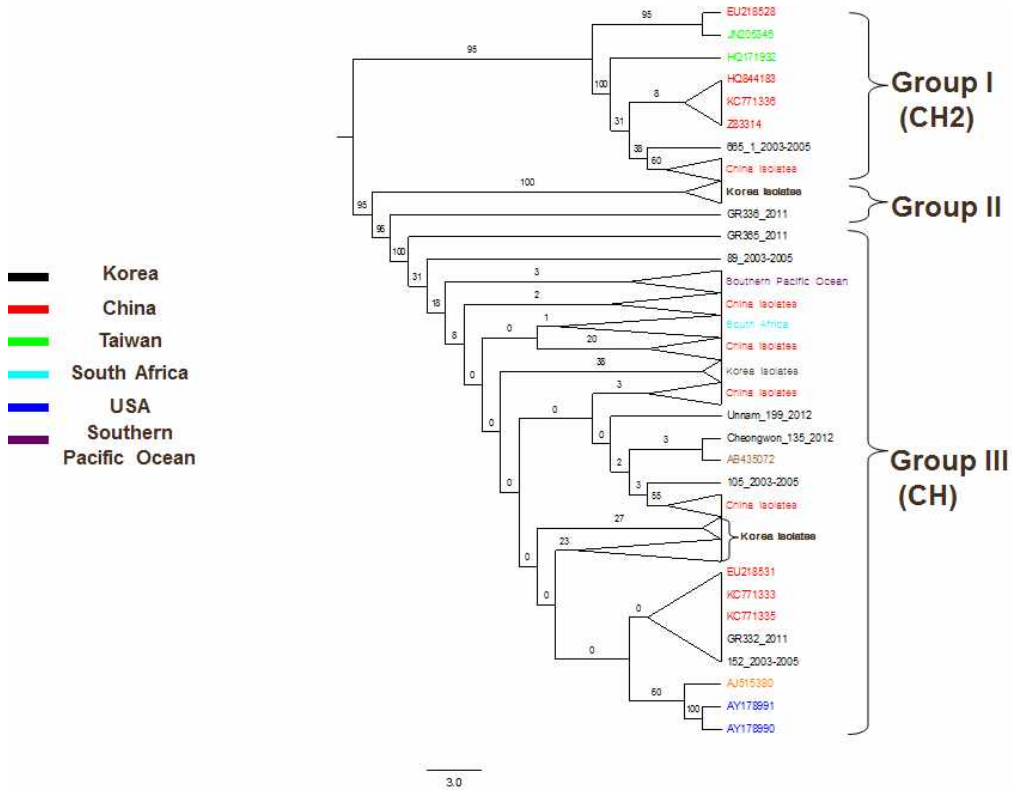


그림 3-2-2-4 국내 SPGV 분리주들의 외피단백질 염기서열 계통 분석

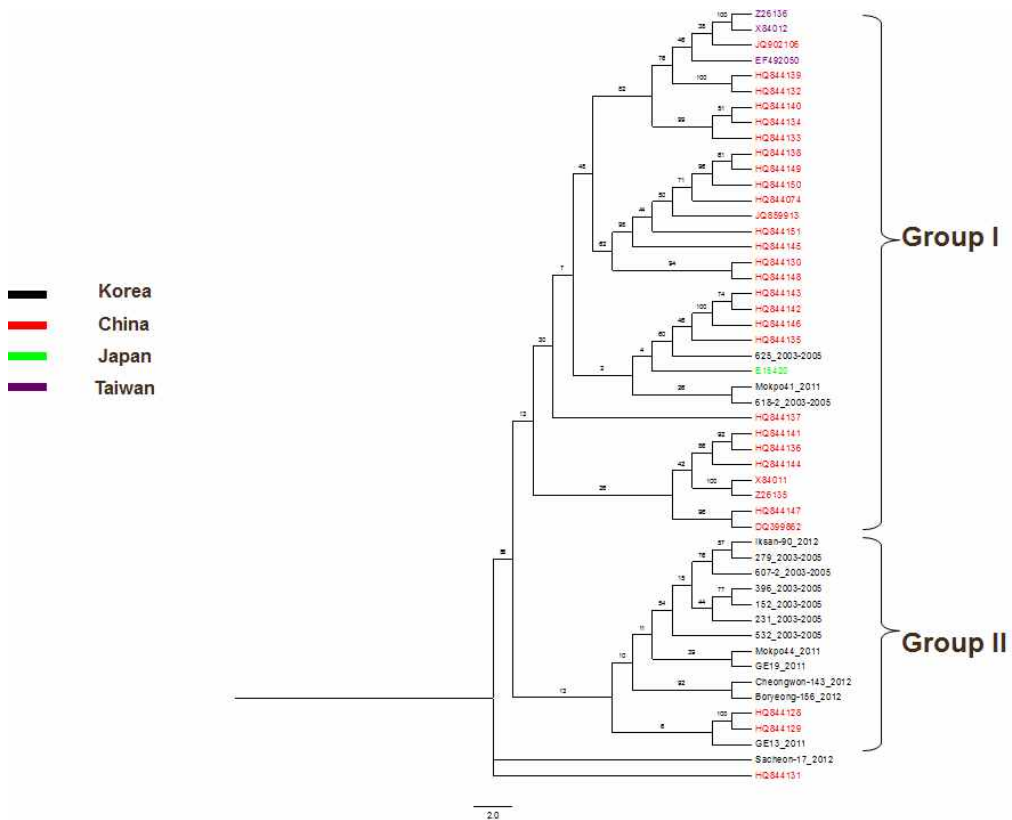


그림 3-2-2-5 국내 SPLV 분리주들의 외피단백질 염기서열 계통 분석

(3) SPLV 염기서열 분석 결과

SPLV 감염주 16개로부터 외피 단백질 유전자의 염기서열을 확보하여, GenBank에 등록된 SPLV의 외피 단백질 유전자의 염기서열과 비교하여 계통수 작성을 수행하였다. 우리나라의 SPLV 분리주들은 크게 2계통으로 구분되었으며, 3개 분리주는 기존에 보고된 중국과 대만의 SPLV(Wang 등, 2013)와 유사한 계통 (Group I)으로 분류되었다. 이 외의 13개 분리주는 58%의 분지 신뢰도를 보이며 분화된 계통 (Group II)으로 분류되었으며, 이 중에서도 Sacheon_17 분리주는 완전히 분리된 계통 분화를 나타내었다 (그림 3-2-2-5)

라. 고구마 바이러스 유전자 전체 염기서열 분석을 이용한 계통 분석

(1) 고구마 포티바이러스 유전자 전체 염기서열 분석

고구마 감염 바이러스 중 포티바이러스 속에 속하는 바이러스는 총 6종 (SPFMV, SPVC, SPVG, SPV2, SPLV, SPMSV)으로, 국내에서는 SPMSV를 제외한 5종이 검출되었고, 95%이상의 감염률을 보였다. 이들 바이러스의 계통분석을 위하여 2012년도 수집된 시료 중에서 SPFMV 3 분리주, SPVC 3 분리주, SPVG 3 분리주, SPV2 5 분리주, SPLV 4 분리주에 대해 전체 염기서열을 결정하고 (표 3-2-2-8), 기존에 NCBI에 보고된 분리주 (표 3-2-2-9)와 비교 분석하였다. 전체 염기서열은 poly-A tail을 제외한 10081 ~ 10830 뉴클레오티드로 구성되었고, 3247 ~ 3493 아미노산의 폴리프로테인으로 10개의 단백질로 절단되는 포티바이러스의 전형적인 계놈 구조를 가지고 있다 (그림 3-2-2-6). 특히 P3 단백질내에 포티바이러스의 공통적인 부분인 PIPO ORF가 모든 분리주에서 확인되었다. 또한 고구마 포티바이러스의 특징으로 P1 단백질에 존재하는 PISPO ORF도 SPLV를 제외한 4종의 바이러스의 모든 분리주에서 확인되었다.

표 3-2-2-8. 고구마 포티바이러스 국내 분리주

Virus	Isolate	Area	Genome size		NCBI accession no.
			nt	aa	
SPFMV	IS90	Iksan	10,810	3,490	KP115610
	CW137	Cheongwon	10,819	3,493	KP115608
	GJ122	Gimjae	10,819	3,493	KP115609
SPVC	HN52	Haenam	10,830	3,481	KP115621
	UN202	Muan	10,829	3,481	KP115622
	CW135	Cheongwon	10,829	3,481	KP115620
SPVG	SC11	Sancheong	10,800	3,488	KP115623
	IS103	Iksan	10,800	3,488	KM014815
	HG167	Muan	10,800	3,488	KM014814
SPV2	SC6	Sancheong	10,731	3,466	KP115618
	SCN20	Sacheon	10,730	3,466	KP115619
	HN77	Haenam	10,732	3,466	KP115617
	GJ118	Gimjae	10,731	3,466	KP115616
	CW142	Cheongwon	10,731	3,466	KP115615
SPLV	SC5	Sancheong	10,081	3,247	KP115613
	HN76	Haenam	10,081	3,247	KP115612
	HG181	Muan	10,081	3,247	KP115611
	UN202	Muan	10,081	3,247	KP115614

표 3-2-2-9 고구마 포티바이러스 분리주 유전자 Database

Virus	Strain	Isolate	Origin	Genome size		NCBI accession No.
				nt	aa	
SPFMV	RC	S	Japan	10,820	3,493	D86371
	O	O	Japan	10,895	3,518	AB465608
	O	10-O	Japan	10,820	3,493	AB439206
	EA	Piu3	Peru	11,004	3,553	FJ155666
SPVC		Bungo	Japan	10,830	3,481	AB509453
		C1	Peru	10,820	3,481	GU207957
		IL	Israel	10,853	3,481	JX489166
SPVG		GWB-G	USA	10,800	3,488	JN613805
		Jesus Maria	Argentina	10,798	3,488	JQ824374
		Z01001	Korea	10,800	3,488	JN613806
SPV2		GWB-2	USA	10,731	3,466	JN613807
SPLV		TW	Taiwan	10,081	3,247	KC443039

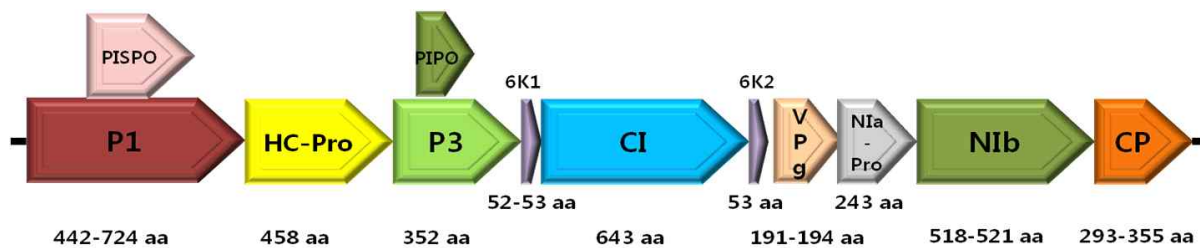


그림 3-2-2-6 고구마 바이러스 SPFMV 그룹의 유전자 구조

전체 염기서열 분석결과(그림 3-2-2-7, 8), SPFMV 국내 분리주는 RC 와 O 계통에 속하고, EA 계통은 검출되지 않았다. SPVC 국내 분리주는 일본 분리주 SPVC-Bungo와 98% 이상의 높은 상동성을 보였다. SPVG는 외피단백질의 염기서열을 바탕으로 크게 중국 분리주와 다른 지역 분리주로 나뉘는데, SPVG 국내 분리주는 아르헨티나와 미국 계통과 98%이상의 상동성을 보였으며, 중국 계통과는 차이가 있었다. SPV2 국내 분리주는 미국에서 분리된 SPV2 GWB-2와 높은 상동성을 보였고, 고구마 포티바이러스 중 SPVG와 더 가까운 계통임을 알 수 있었다. SPLV의 경우에, 국내 분리주는 중국 계통과 상동성이 높고, 타이완에서 분리된 계통과는 상대적으로 낮은 88% 정도의 상동성을 보였다. 또한 각각의 단백질의 아미노산 서열 분석결과 (표 3-2-2-10), P1 단백질의 바이러스간, 분리주간 상동성이 다른 단백질에 비해 매우 낮게 나타났다.

표 3-2-2-10. SPFMV-GJ122분리주와 다른 포티바이러스와의 전체 염기서열 및 아미노산 상동성 비교

Virus isolate	Full genome		5'-UTR (nt)	P1 (aa)	HC-Pro (aa)	P3 (aa)	6K1 (aa)	CI (aa)	6K2 (aa)	VPg (aa)	NIa-Pro (aa)	NIb (aa)	CP (aa)	3'-UTR (nt)
	nt	aa												
SPFMV-IS90	89.4	94.6	97.4	90.5	93.9	96.6	98.1	97.5	98.1	94.3	94.2	94.6	96.5	99.1
SPFMV-CW137	89.3	94.7	97.4	89.3	93.7	96	98.1	97.5	98.1	97.4	96.3	94.4	96.5	98.6
SPFMV-S	89.5	94.8	98.3	90.5	93.7	96.3	98.1	97.5	96.2	96.4	96.3	94.2	95.9	98.6
SPFMV-O	96.4	96.7	81	87.8	99.6	98.3	98.1	98.9	100	99.5	99.6	98.1	99	99.1
SPFMV-10-O	98.3	98.7	99.1	96.8	99.8	98.3	98.1	99.1	100	99.5	100	98.8	99	98.6
SPFMV-Piu3	91.6	94.2	78.8	81.2	98.7	98.3	100	99.1	100	98.4	95.5	95.4	95.9	98.6
SPVC-HN52	71.3	76.9	56.9	53.2	83.8	69.3	80.8	84.6	71.7	83.3	89.3	86.6	81.6	80.7
SPVC-CW135	71.5	76.9	56.1	53.8	83.4	67.9	80.8	84.8	75.5	83.3	89.3	86.4	81.6	82.1
SPVC-UN202	71.4	76.8	56.1	53	83.4	68.2	80.8	84.4	75.5	83.9	89.7	86.4	82.5	81.6
SPVC-Bungo	71.5	76.8	56.1	52.9	83.8	67.6	80.8	84.6	75.5	83.3	89.7	86.6	81.9	82.1
SPVC-IL	71.3	76.6	56.6	52.6	83.6	67.9	78.8	84.6	73.6	83.3	89.7	86	82.2	80.7
SPVC-C1	71.2	76.7	54	52.7	83.8	67.9	78.8	85.5	71.7	83.9	88.9	86.6	80.6	81.6
SPVG-SC11	63	64.3	46.6	39.7	73.6	49.4	66	75.9	60.4	72.4	77.4	74.5	64.4	71.1
SPVG-IS103	63	64.4	46.6	39.8	73.6	49.1	66	76	60.4	73.4	77.4	74.3	64.4	72.9
SPVG-HG167	63	64.4	44.8	40.5	73.1	49.4	66	76	60.4	72.9	77.4	74.3	64.7	72.9
SPVG-Z01001	63	64.3	44.8	39.8	73.6	49.4	66	75.9	60.4	73.4	77.4	74.1	64.4	72.5
SPVG-GWB-G	63	64.3	44.8	39.8	73.6	49.4	66	75.9	60.4	73.4	77.4	74.1	64.4	72.5
SPVG-Jesus Maria	63	64.4	42.5	39.7	74.5	48.9	66	76	60.4	73.4	77.4	74.3	64.4	70.5
SPV2-SC6	63.7	65.6	50.4	41.7	71.2	50.3	69.2	76.7	62.3	73.7	77.4	75.8	71.6	70.9
SPV2-SCN20	63.4	65.7	50.4	42.6	71	50.9	69.2	76.5	60.4	72.7	77.4	75.4	72.2	70
SPV2-HN77	63.6	65.8	50.4	42.4	70.7	50.9	69.2	76.7	62.3	72.7	77.4	75.8	72.5	70.5
SPV2-GJ118	63.6	65.8	49.6	42	71	50.9	69.2	76.8	62.3	73.2	77.4	75.6	72.5	70.5
SPV2-CW142	63.6	65.8	51.3	42.3	71	51.4	69.2	76.8	60.4	73.7	77.4	75.6	71.6	70
SPV2-GWB-2	63.5	65.3	52.9	42.3	71.2	50.3	69.2	76	58.5	73.2	77.8	75.6	69.2	70
SPLV-SC5	54.3	48.2	52.9	15.3	58.1	27.6	53.8	61.3	50.9	59.1	63	63.5	55	48.7
SPLV-HN76	54.2	48.2	52.1	15.1	58.3	27.6	53.8	61.4	50.9	59.1	63	63.5	55	48.7
SPLV-HG181	54.1	48.2	52.9	15.4	58.3	27.6	53.8	61.1	50.9	59.1	63	63.7	54.6	47.7
SPLV-UN202	54.4	48.1	52.9	15.7	58.5	26.4	53.8	60.8	50.9	59.1	63	63.9	54.6	49.2
SPLV-TW	54.5	48	56.3	15.6	57.9	27	53.8	60.8	50.9	58.5	63	63.7	54.3	48.2
SPMMV(Z73124)	39.5	21.8	43.4	19.4	17.7	10.4	21.6	27.5	24.5	19.8	23.6	37.5	19	40.4

(2) 고구마에 감염하는 베고모바이러스의 새로운 계통의 국내 분포 확인

고구마에 감염하는 Geminiviridae과 Begomovirus는 Sweepovirus로 명명하여 구분하고 있으며, 본 연구수행 기간 동안에 채집한 시료 중 고구마 잎말림바이러스 (SPLCV)의 감염이 확인된 고구마로부터 바이러스의 전체 게놈을 확보하여 염기서열 분석을 수행하였다. 제미니바이러스의 전체 게놈을 확보하기 위한 방법인 RCA 방법을 적용하여 확보한 1-mer의 전체 게놈을 클로닝 벡터에 접합하여 E.coli에 형질전환 후 염기서열을 분석하였다.

이상의 방법으로 확보한 분리주들의 전체 게놈 염기서열을 NCBI에 등록된 Sweepovirus 전체 게놈 염기서열 103개 분리주들과 함께 계통분석을 수행하였다(그림 3-2-2-9). 분석결과 고구마 잎말림바이러스 (SPLCV)는 브라질에서 보고된 분리주들과 유연관계가 가까운 2828nt의 게놈 크기를 갖는 계통 (그룹 I)과 중국에서 보고된 2788nt의 게놈 크기를 갖는 계통과 유연관계가 가까운 계통 (그룹 II)이 주요하게 분포하고 있음을 확인하였다(그림 3-2-2-10). 이외에도 2828nt의 게놈 크기를 갖는 중국 계통과 가까운 2개의 분리주와 2840nt의 게놈 크기를 갖는 계통과 가까운 1개의 분리주가 분포하고 있음을 확인하였다. 또한 브라질에서 보고된 새로운 고구마 베고모바이러스인 Sweet potato golden vein associated virus (SPGVaV)의 분포 또한 확인하여 보고하였으며, 이를 통해 우리나라에 2005년 이전에 확인할 수 없었던 바이러스의 계통들이 도입되었음을 확인할 수 있었다 .

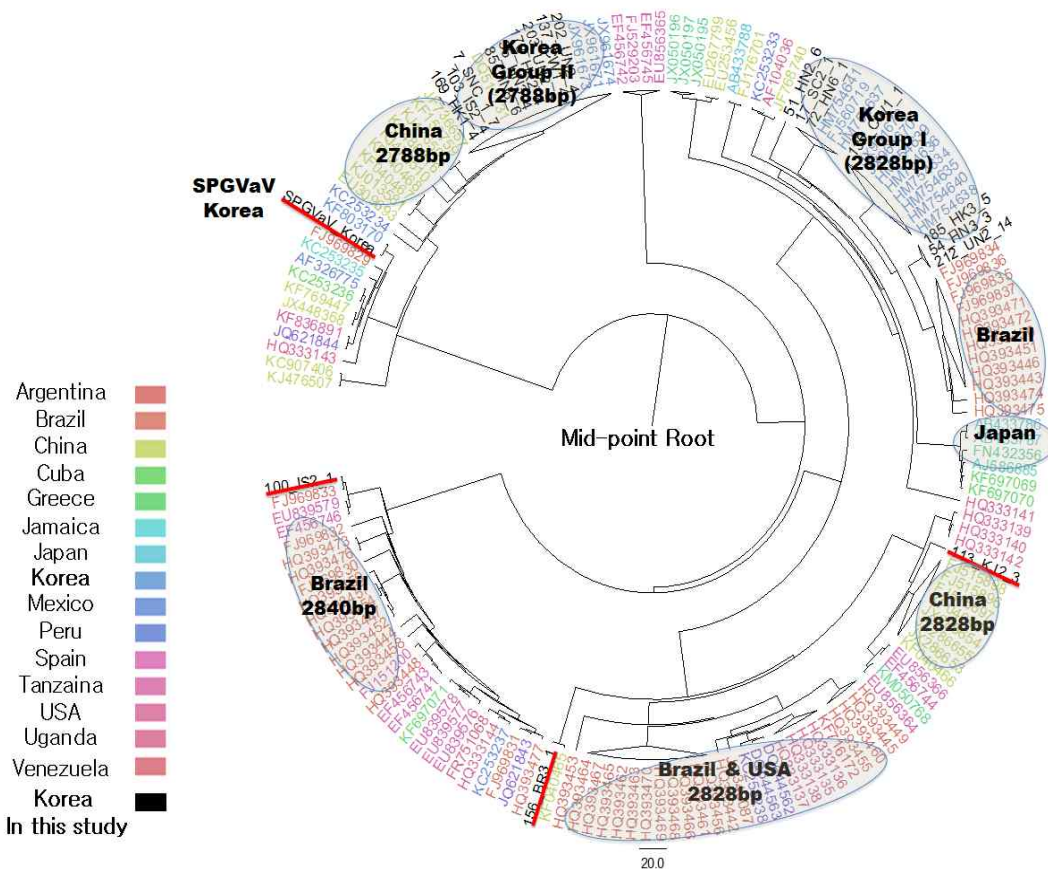


그림 3-2-2-9. 국내 Sweepovirus 분리주들의 전체 게놈 계통 분석

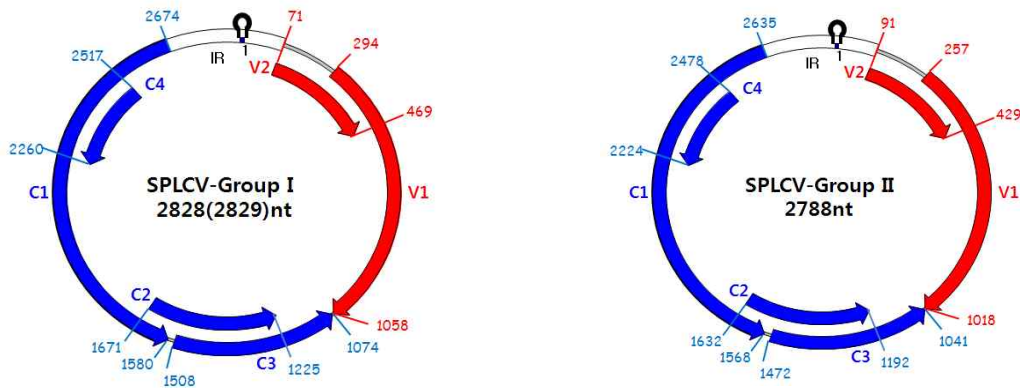


그림 3-2-2-19. SPLCV 계통별 게놈 모식도

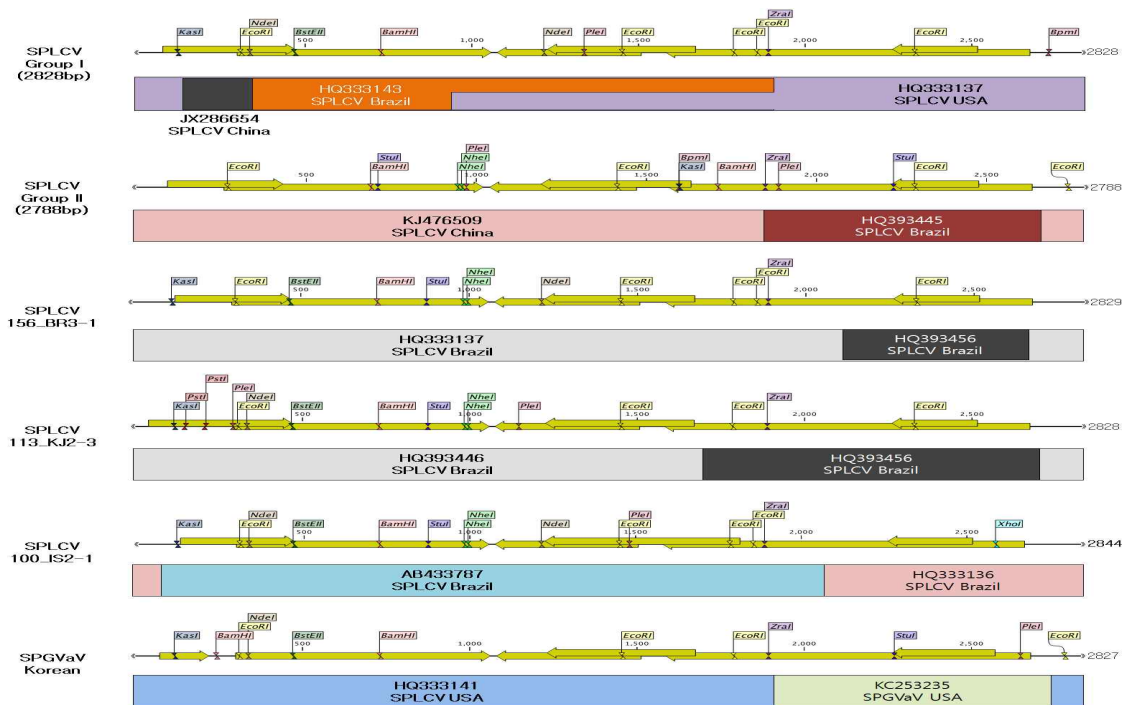


그림 3-2-2-11. 국내 Sweepovirus의 유전자 재조합 예측 결과

새로이 분리된 고구마 벼고모바이러스들의 유래를 추정하기 위해 유전자 재조합 양상을 분석해본 결과 국내 보고된 SPLCV들 중 2828nt 크기의 그룹 I 분리주들은 미국 분리주 (HQ333137)과 브라질 분리주 HQ333143) 및 중국의 2828nt 크기를 갖는 분리주 JX286654의 재조합으로 유래한 게놈으로 예측되었으며 2788nt 크기의 그룹 II 분리주들은 중국의 2788nt 크기의 분리주 KJ479509 와 브라질 분리주 HQ393445 사이의 재조합 유전자로 예측되었다.

이외의 SPLCV 분리주 3개는 브라질의 분리주들 사이의 재조합체로 예측되었으며, 이상을 통해 우리나라에 분포하는 고구마 잎말림바이러스 (SPLCV)는 바이러스 유전자의 구성형태를 근거로 볼 때 브라질과 미국 및 중국에서 도입되었을 가능성을 확인하였다. 또한, 새로이 보고된 SPGVaV의 유전자 재조합 분석 결과는 미국의 SPLCV와 SPGVaV의 재조합체로 예측되어 이 바이러스 계통이 처음 보고된 브라질 계통이 아닌 미국 계통이 유입되었을 가능성을 확인하였다 (그림 3-2-2-11).

또한, 국내에 분포하고 있는 SPLCV는 표 3-2-2-11과 같이 그룹 II 계통에 속한 분리주는 모두 그룹 I 과 복합감염이 되어 있음을 확인하였는데, 이는 최근 발생하고 있는 SPLCV의 병원성과도 밀접한 관계가 있을 것으로 추정할 수 있었다. 즉, 최근 심각한 잎말림과 위축 병징은 그룹 II 계통에 의한 것인지 아니면 복합감염에 의한 것인지는 명확하지 않지만, 그룹 II 계통의 새로운 출현에 의한 것은 분명한 것으로 확인할 수 있었다. 앞으로는 그룹 I 및 II 계통의 병원성 차이 및 병원성 관여 유전자를 명확하게 밝혀 내야 할 것으로 사료된다.

표 3-2-2-11 채집년도 및 지역별 SPLCV 계통분석 결과

채집년도	분리주명	분리기주	분리지역	SPLCV 계통	분리기주의 바이러스 복합양상	
2011	GE 21	<i>Ipomoea batatas</i> (sweetpotato)	무안	I+II	SPLCV+SPFMV+SPGV	
	GE 22			I+II	SPLCV+SPGV	
	GE 25			I+II	SPLCV	
	GE 26			I+II	SPLCV+SPFMV+SPGV+SPLV	
	GE 31			I+II	SPLCV+SPFMV	
	GE 59			I+II	SPLCV+SPFMV+SPLV	
	GE 277			I	SPLCV+SPLV	
	Jido 17			진도	I	SPLCV+SPFMV+SPGV
	Jido 20				I	SPLCV+SPFMV+SPGV
	Gogumdo 21			고금도	I+II	SPLCV+SPFMV+SPGV+SPLV
	Gogumdo 25	I+II	SPLCV+SPFMV+SPGV+SPLV			
	Yaksando 34	약산도	I	SPLCV+SPFMV+SPGV		
	Yokjido 12	육지도	I	SPLCV+SPFMV+SPGV+SPLV		
	BT 12	<i>Bemisia tabaci</i> (whitefly)	대구	I+II	SPLCV+TYLCV	
	BT 20			I	SPLCV+TYLCV	
BT 22	I+II			SPLCV+TYLCV		
BT 23	I+II			SPLCV+TYLCV		
2003	Chungju 263	<i>Ipomoea batatas</i> (sweetpotato)	충주	I	SPLCV+SPFMV+SPGV	
	Yeosu 388		여수	I	SPLCV+SPFMV+SPGV	
	Nonsan 445		논산	I	SPLCV+SPFMV+SPGV	
	Yeosu 507		여수	I	SPLCV+SPFMV+SPGV	
	Yeosu 508		여수	I	SPLCV+SPFMV+SPGV	
	Haenam 519		해남	I	SPLCV+SPFMV+SPGV	
	Haenam 532		해남	I	SPLCV+SPFMV+SPGV+SPLV	
	Haenam 583		해남	I	SPLCV+SPFMV	
	Haenam 618		해남	I	SPLCV+SPFMV+SPGV+SPLV	

(3) 고구마 칼라바이러스 유전자 전체 염기서열 분석

고구마클로로틱플렉바이러스 (SPCFV)는 Flexiviridae과 Carlavirus속에 속하는 바이러스로 2012년에 수집된 바이러스 증상을 나타내는 고구마 154개 시료 중 47개 시료에서 다른 바이러스와 복합감염 돼 있는 것을 확인하였고, 이중 지역별로 4개의 분리주에 대해 전체 염기서열 분석을 하였다(표 3-2-2-12). 전체 염기서열은 poly-A tail을 제외한 9,104~9,108

뉴클레오티드로 구성되어있고, 6개의 단백질로 구성되어있는 Carlavirus속의 전형적인 게놈 구조를 가지고 있다 (그림 3-2-2-12).

표 3-2-2-12. SPCFV 분리주 유전자 database

Virus	Isolate	Origin	Genome size (nt)	GenBank accession no.
SPCFV	SC20	Sacheon, Korea	9,104	This study
	UN210	Muan, Korea	9,104	This study
	HN83	Haenam, Korea	9,104	This study
	HG176	Muan, Korea	9,108	This study
	Hoima 4	Uganda	9,104	AY461421
	KBL38	Uganda		EU375903
	94-15	Kenay		EU375900
	KY5	Kenay		EU375904
	CIP	Peru		EU375899
	Tar	Tanzania		AJ781296
	Gwangzhu1	China		EU375901
	B-Guangdong-11-5	China		KC130184
	B-Jiangxi-11-4	China		KC130185
	AusCan	Australia		EF990647
	TN340	Taiwan		EU375898
	AusCan	Australia		EF990647
MYaV	MB-10	Brazil		AY373028

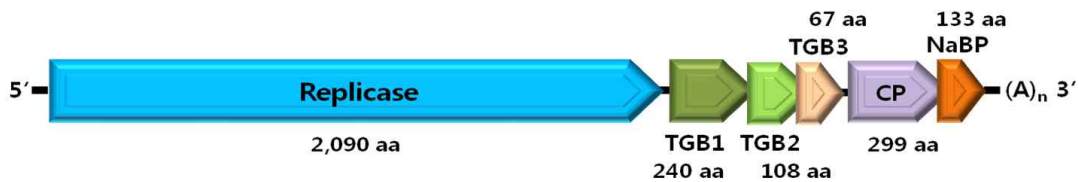


그림 3-2-2-12 고구마 바이러스 SPCFV 유전자 구조

기존에 보고된 분리주와 계통 분석한 결과, SPCFV 국내분리주는 중국, 타이완, 호주등의 아시아계통에 속하고, 아시아계통내에서도 2계통으로 분류되었다 (그림 3-2-2-13). 2 계통간의 전체유전자 상동성은 78%로 낮은 상동성을 보였고, 각각의 단백질의 아미노산 상동성은 외피단백질(CP)에서 91~93%로 가장 높았고, TGB3에서 가장 낮은 68%의 상동성을 보였다 (표 3-2-2-13).

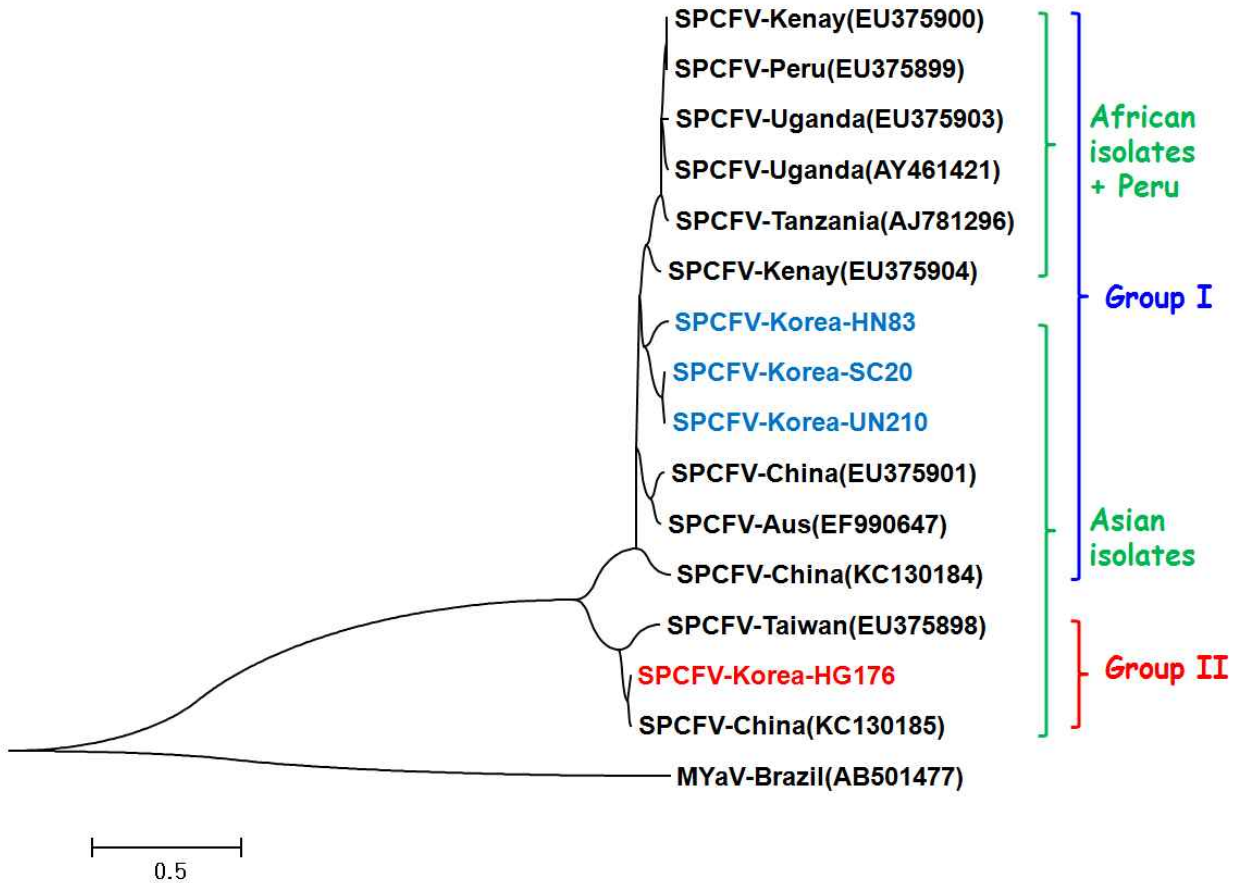


그림 3-2-2-12. 국내 SPCFV 분리주들의 유전자 전체 염기서열 계통 분석

표 3-2-2-13. SPCFV-SC20 분리주와 다른 SPCFV 분리주와의 전체 염기서열 및 아미노산 상동성 비교

Virus isolate	Genome (nt)	5'UTR (nt)	Rep (aa)	TGB1 (aa)	TGB2 (aa)	TGB3 (aa)	CP (aa)	NaBP (aa)	3'UTR (nt)
SPCFV-Korea-UN210	98.4	100	98.7	100	100	97	99.7	99.2	100
SPCFV-Korea-HN83	88.5	93.8	93.1	91.3	97.2	92.5	97.7	94	98.1
SPCFV-Uganda(AY461421)	88.4	96.8	92.9	91.3	96.3	86.6	96	93.2	98.1
SPCFV-Uganda(EU375903)	88.4	-	-	-	-	-	95.7	88.7	96.2
SPCFV-Kenay(EU375900)	88.7	-	-	-	-	-	95.7	91.7	98.1
SPCFV-Tanzania(AJ781296)	88.7	-	-	-	-	-	95.3	92.5	98.1
SPCFV-Peru(EU375899)	88.7	-	-	-	-	-	95.7	91.7	98.1
SPCFV-Kenay(EU375904)	89.5	-	-	-	-	-	96.7	91	94.2
SPCFV-China(EU375901)	88.5	-	-	-	-	-	96.3	90.3	98.1
SPCFV-Aus(EF990647)	86.3	-	-	-	-	-	95.7	-	-
SPCFV-China(KC130184)	85.9	-	-	-	-	-	95.7	-	-
SPCFV-Korea-HG176	73.2	90.8	78.4	77.6	89.8	68.7	93.3	77.4	96.2
SPCFV-China(KC130185)	76.5	-	-	-	-	-	92.6	-	-
SPCFV-Taiwan(EU375898)	77.6	-	-	-	-	-	91.3	78.9	98.1
MYaV-Brazil(AB501477)	61.3	-	-	52.6	69.7	24.6	61.9	46.7	69.1

3. 고구마 품종 판별을 위한 DNA 및 단백질 마커 개발

가. 고구마 품종 판별을 위한 DNA

(1) RAPD 결과

28개 고구마 품종에 대하여 총 80개의 primer를 이용하여 분석하였고, 상기 그림은 대표그림 몇 장을 보여주고 있음. B14, G01, H14, AA03, AA08, AB08 등 위의 6가지 primer는 polymorphic 하게 나타났고 AB06, AB07 등 2가지 primer는 monomorphic 하게 나타났다 (Lee et al., 2013) (그림 3-2-3-1, 표 3-2-3-2). 대부분의 primer가 polymorphic band를 생산했고, 증폭된 밴드 중 82.5%가 다형성을 나타내었음. 다형성이 높은 56개의 primer를 선발하여 분석한 결과 총 435개의 증폭된 밴드를 얻음. 각 primer에 의해 증폭된 밴드의 수는 1~18개로 다양하게 나타났으며 primer 한 개당 평균 7.8개의 DNA밴드가 증폭됨. 총 435개의 밴드 중 다형성을 보이는 밴드의 수는 365개(82.5%)로 매우 높은 다형성을 보였다.

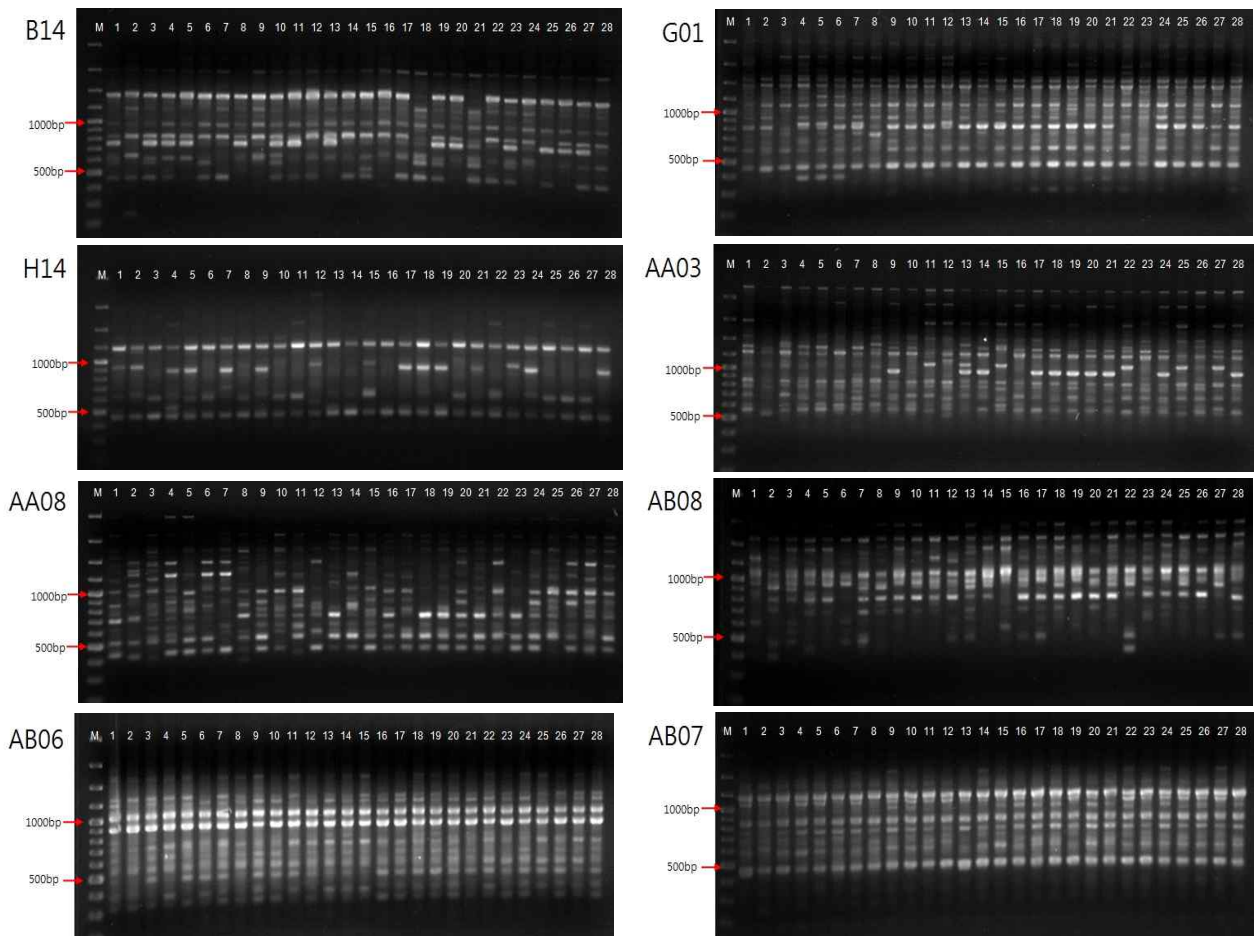


그림 3-2-3-1. 28개 고구마 품종에 대한 RAPD결과

(2) Bioinformatics Analysis

SCAR 마커로 개발 가능성이 있을 것이라고 판단되는 밴드를 sequencing을 하였다. 그리고 표3-2-3-1은 database search를 한 결과를 나타낸 것이다.

표 3-2-3-1. SCAR 마커로 개발 가능성 있는 유전자 정보

sequencing name	Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
>G03_27_1000(a) 975	AAX36074.1	non-intrinsic ABC protein [Nicotiana benthamiana]	568	568	93%	4.00E-160	89%
>G03_27_1000(b) 981	AAX36074.1	non-intrinsic ABC protein [Nicotiana benthamiana]	571	571	98%	5.00E-161	85%
>3B(B11_10_1150) 604	XP_002519116.1	conserved hypothetical protein [Ricinus communis]	42.4	42.4	36%	0.082	25%
>4B(A08_08_1100) 1034	XP_002265887.1	PREDICTED: hypothetical protein [Vitis vinifera]	167	167	68%	2.00E-39	42%
>5B(D01_21_1100) 858	CAN62917.1	hypothetical protein VITISV_029734 [Vitis vinifera]	40.8	73.2	41%	0.24	29%
>6D(B03_02_950) 724	EFO61772.1	Serine/Threonine-protein kinase pkwA, putative [Giardia lamblia P15]	35	35	16%	13	41%
>7B(B04_06_900) 754	XP_002333747.1	predicted protein [Populus trichocarpa]	100	144	52%	5.00E-26	73%
>7C(B04_06_900) 868	vXP_002266347.1	PREDICTED: hypothetical protein [Vitis vinifera]	74.3	140	57%	6.00E-25	74%
>7D(B04_06_900) 825	XP_003118256.1	hypothetical protein CRE_00888 [Caenorhabditis remanei]	50.4	50.4	60%	3.00E-04	26%
>8D(A07_11_850) 825	AAF89959.1	NADPH-dependent cytochrome P450 oxidoreductase [Cunninghamella echinulata]	35.8	35.8	17%	9.3	33%
>17A(A03_16_600) 554	XP_002280577.1	PREDICTED: hypothetical protein [Vitis vinifera]	226	226	99%	3.00E-57	63%
>17B(A03_16_600) 475	ZP_08119671.1	nad-dependent epimerase/dehydratase [Pseudonocardia sp. P1]	32.7	32.7	28%	65	33%
>17C(A03_16_600) 584	XP_002141425.1	hypothetical protein [Cryptosporidium muris RN66]	35	35	41%	13	29%
>17D(A03_16_600) 610	AAB34987.1	calmodulin-binding heat-shock protein [Nicotiana tabacum]	307	307	97%	1.00E-81	71%
>18A(A07_08_500) 525	XP_001021039.1	hypothetical protein THERM_00307650 [Tetrahymena thermophila]	38.9	38.9	41%	0.91	33%

표 3-2-3-2. 고구마 28개 품종에 대하여 RAPD 분석

No	Primer	No. of fragment amplified	No. of polymorphic fragment scored	poly-morphism (%)	No	Primer	No. of fragment amplified	No. of polymorphic fragment scored	poly-morphism (%)
1	A01	2	1	50	29	AA-01	5	5	100
2	A02	2	2	100	30	AA-02	9	8	89
3	A03	3	3	100	31	AA-03	9	9	100
4	A04	8	6	75	32	AA-04	1	1	100
5	A07	12	8	67	33	AA-07	8	7	88
6	A08	11	7	64	34	AA-08	15	15	100
7	A14	11	11	100	35	AA-10	6	5	83
8	B03	11	8	73	36	AB-01	7	5	71
9	B04	6	3	50	37	AB-02	4	3	75
10	B11	7	6	86	38	AB-04	8	7	88
11	B13	9	9	100	39	AB-05	3	1	33
12	B14	5	5	100	40	AB-06	6	4	67
13	B15	7	4	57	41	AB-07	6	3	50
14	B18	3	2	67	42	AB-08	9	8	89
15	C05	2	2	100	43	AB-09	5	4	80
16	C15	4	4	100	44	AC-01	11	10	91
17	C16	15	9	60	45	AC-02	10	9	90
18	C20	2	2	100	46	AC-05	2	2	100
19	D01	5	4	80	47	AD-01	16	15	94
20	D03	6	6	100	48	AD-02	18	16	89
21	D04	3	1	33	49	AD-03	10	10	100
22	D05	7	5	71	50	AD-04	16	13	81
23	D08	5	4	80	51	AD-05	13	13	100
24	D12	5	5	100	52	AD-06	11	11	100
25	E03	6	3	50	53	AD-07	13	13	100
26	G03	7	5	71	54	AD-08	13	13	100
27	H14	7	5	71	55	AD-09	12	9	75
28	I15	6	4	67	56	AD-10	12	12	100
소계		177	134	78	소계		258	231	87
Total 56, PCR fragment 435, polymorphic fragment 365, polymorphism 82.5%									

(3) 고구마 Dendrogram 분석

고구마 품종 특이적 마커 개발을 위한 유전체 분석은 RAPD를 수행. 100개의 random primer 중 밴드가 분명하고 다형성이 높은 75개의 primer를 선발하여 분석한 결과 총 706개의 증폭된 밴드를 얻었는데 각 primer에 의해 증폭된 밴드의 수는 1~18개로 다양하게 나타났으며 primer 한 개당 평균 9.4개의 DNA밴드가 증폭되었다. 총 706 개의 밴드 중 다형성을 보이는 밴드의 수는 605개(82.5%)로 매우 높은 다형성을 나타냄. DICE 유사계수에 기초한 비가중 평균 결합법(UPGMA)의 집괴 분석 결과 품종간 가장 높은 유사도 값(0.9237)을 나타낸 것은 신울미와 중미였고, 가장 낮은 유사도 값 (0.6876)을 나타낸 것은 화이트스타였다. 전체 고구마는 하얀색, 담황색, 보라 색 등 3개의 cluster로 분리되는 경향을 보였다 (그림 3-2-3-2)(Lee et al., 2013).

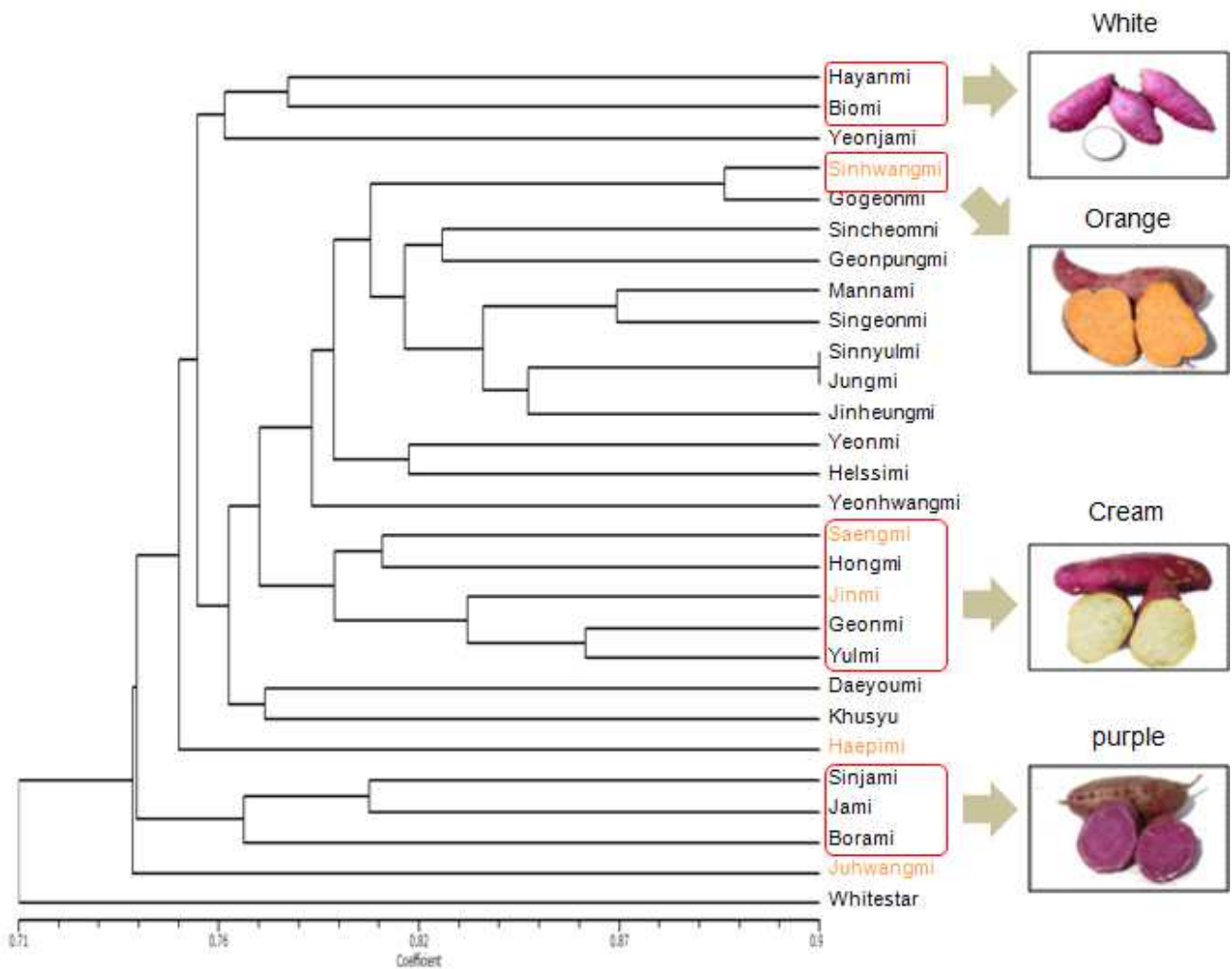


그림 3-2-3-2. RAPD분석으로 얻은 다형성을 바탕으로 한 Dendrogram

(4) SCAR Primer 결과

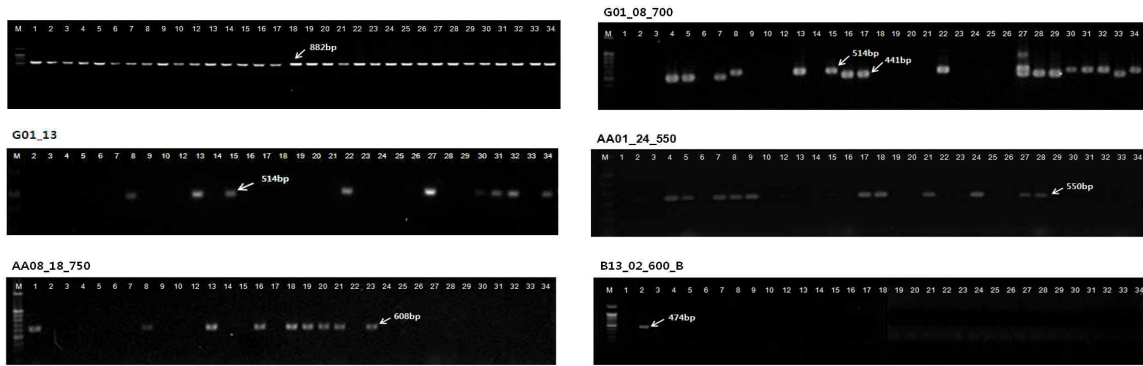


그림 3-2-3-3. 대표적인 SCAR 마크에 대한 DNA 전기영동 사진

RAPD 밴드의 단점을 보완하고자, SCAR Primer로 전환. 그 결과 40개의 SCAR Primer가 디자인 되었으나 Primer 검정 결과, 대부분의 SCAR primer는 왼쪽 첫 번째 그림과 같이 모든 품종 에서 동일한 크기의 band가 나타나 SCAR marker로써 활용이 어려움. 이러한 결과는 고구마의 높은 게놈 사이즈 때문에 품종 특이적인 DNA fragment가 다른 품종에서도 존재하는 반복염기서열일 가능성이 큰 것으로 생각되며, 그 결과 각 품종에 특이적인 품종 판별 마커가 생성될 것으로 예상했던 것과는 다르게 다른 품종에서도 DNA 단편이 생성된 것으로 추정된다. 우선적인 결과는, 왼쪽 첫 번째 그림을 제외한 나머지 그림 3-2-3-3에서 보는 바와 같이 4쌍의 SCAR primer를 조합하여 품종판별 SCAR 마커로써 활용이 가능할 것으로 보임. 이는 낮은 확률이지만 높은 배수체를 가진 작물에서도 유전자 마커가 가능하다는 것을 시사한다.

(5) 참다래 고구마 6개 품종에 대한 RAPD & ISSR로 알아본 유연관계

참다래 유통사업단에서 재배되어진 고구마 6품종의 유연관계를 밝히고, 품종간의 상이하게 나타나는 밴드 차이를 이용해 품종판별 마커를 개발하기 위해 RAPD primer 134개와 ISSR primer 15개를 이용하여 PCR을 수행하였다. 결과적으로 고구마 괴근의 육질색은 육안으로도 뚜렷한 차이를 확인할 만큼 달랐지만, RAPD와 ISSR 결과 line3, 4(수고구마와 일반하계) line5, 6(호박고구마 와 흰 고구마)간의 차이는 볼 수 없었다(그림 3-2-3-4). 이와 같은 결과는 고구마의 높은 게놈 사이즈(6배체 작물) 때문에 품종 특이적인 DNA fragment가 다른 품종에서도 존재하는 반복염기서열일 가능성이 큰 것으로 생각된다. 이러한 어려움이 있지만, 더 많은 primer를 이용하여 PCR을 하고, multiplex PCR(2가지 이상의 primer를 섞어서 PCR)을 몇 차례 더 시도하면 낮은 확률이지만 특이 밴드를 찾아 SCAR primer로의 전환이 가능할 것으로 기대 된다.

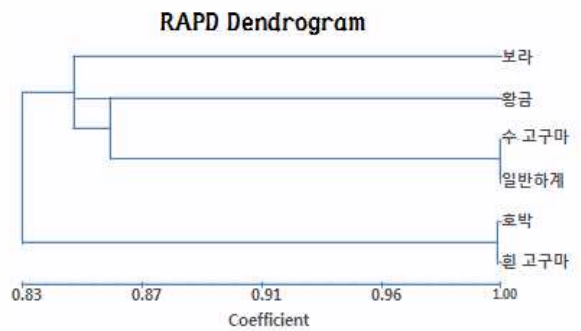
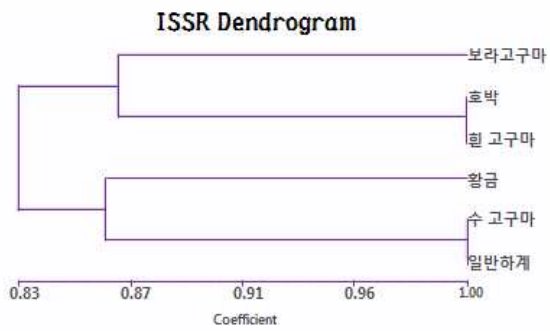
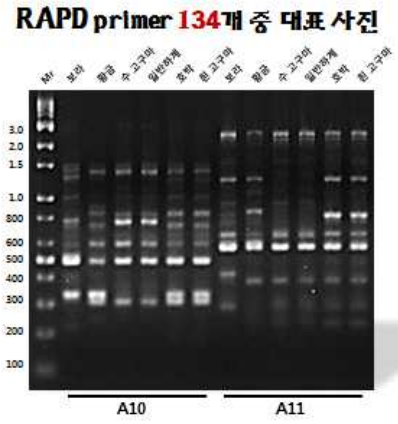
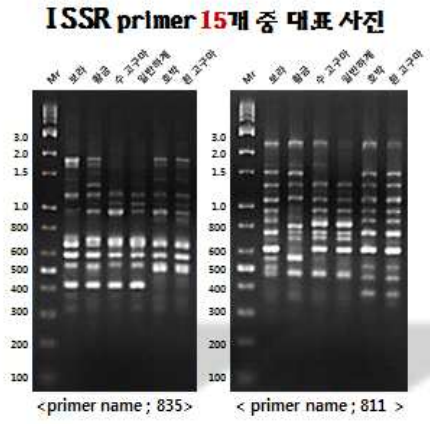


그림 3-2-3-4. 참다래 고구마 6개 품종에 대한 RAPD & ISSR 분석

표 3-2-3-3. SCAR 프라이머 정보

No	primer name	sequence(5'→3')	size(bp)	No	primer name	sequence(5'→3')	size(bp)
1	G03_27_35 1	F GGCACACCTAGCTTCTCAAAGT R GAGCCCTCCACTTCAAACGA	351	21	AA10_20_6 09	F GGTGCGGGTGTCCCTTAGAAA R GGTTTCATGCCGGTTCTTCTT	609
2	A07_11_24 1	F GAAACGGGTGATGTATCCGAC R CACCCCACTCCTGATCTACAA	241	22	B11_13_61 0	F TGTTCGGTTGCACAAGACT R CGCACCAATGAGTGAAT	610
3	B04_06_56 6	F GGGGAAGGAAAAGAGAGTGAAC R GGAGCTGAAGTTGTCAGGATGT	566	23	AA08_04_7 09	F TGCAAGCTGTTTTACCTGGC R GCTGGCAATGCTGGAATTA	709
4	B04_06_44 6	F GGAAGTGGAGTTGTTGCAGATGA R GAGGAAATACCCACGGTCTAGTG	446	24	AA08_26_8 82	F TGGGAATCCACGTACAGTT R CCGCAGTAGCAAGCACCTTA	882
5	B04_06_20 7	F GCCACAAGTGAAGAGGAGAAAAG R GAGTCCATAGTTGGGCACAGTT	207	25	B13_02_47 4	F AATCTGCCCTGTGCGTTAT R GCTTTAGGGAGAGCCGATGT	474
6	A07_08_15 7	F CTCTTCTCCTCCTGGCCTGAT R CTAGTGGGAGCGGATACTTT	157	26	G01_04_10 3	F CGGAGGATATTTACATGCGG R GGTGCCTGCTTGAGACCATA	103
7	B03_02_26 6	F GTGTCGCTACCACTTCACCAC R CCTCTCTCCGTCATCCTATTG	266	27	G01_08_51 4	F ACGGAGGAAAAGGGAGGATTT R CGTCGTATATGTCGTAGGCT	514
8	A03_16_18 7	F GTTCATCCCACTAGAAAGTAGC R GTACGACAAGCATCCACTGAAG	187	28	G03_27_88 8	F TCGGGTACTTCCAGGAATAG R GCAAAGGAGTCTATCTCTTGAG	888
9	A03_16_30 5	F GGTTGGACATAACTAGCCAGCTC R TCTGAACAGGTGCTGAGTAAGG	305	29	A07_11_81 1	F GTGATGTATCCGACAAGTCTTC R CTGAAACAACCCGATTCAC	811
10	A03_16_52 2	F CGATACCAACCTCACCAATG R ACCGACAAAAGACCACAAGGAG	522	30	B04_06_74 2	F GAGGGAGCTCTTGACTGTAA R GCAAATTAGTGAACCTCAGTCC	742
11	A03_16_46 6	F ATCGGCGTACTTAACAGCCAAG R CTACGGCCTAAACCCTAACTCC	466	31	B04_06_84 6	F CTGGAGTTGTTGCAGATGAT R AGGAAAGTAAATTGGGGTCC	846
12	D01_21_49 1	F ACGGCAAAGTGAAGTAACTAGC R GTCTCCTCTACCCGTCTCTCC	491	32	A07_08_51 9	F CGGGTGGTGTAAATTCC R TAAAGTGTGGCACCCGTT	519
13	A08_08_38 4	F CGCACACGTACAAAACTCAGG R GTGACGTAGGACCCATGAATGT	384	33	B03_02_71 4	F CCCCTGCTAAAAATGAAC R AGTGAGAGGTTGGCGACA	714
14	B11_10_41 6	F GGTGAACAGAGGATTCTGACG R GCAACCTCTTGTGGAATGTG	416	34	A03_16_51 0	F CATAGAGAGGGATACCTTTG R CGTTATTCCGAACACTACGT	510
15	AA01_24_5 50	F CTCCTTGCATCCAGGCTTTC R GCATAAGGATATCATCGGCG	550	35	A03_16_45 3	F CTACCAAACTCACGGGATAA R CTGAATATGTGCTGTCTGCTAG	453
16	AA08_10_6 65	F GGGGATCTTCTTAGCAGCCT R TGAGATGAACACGGAGGGAA	665	36	A03_16_40 0	F GGAAGCGACTTATTGGTCTT R ATTTATCCAGTGTGCACCCCT	400
17	AA08_18_6 08	F TCCGCAGTAGGCAAGTCATA R TGCAAGTGCATATCCACTCTA	608	37	A03_16_60 0	F CACTAACCTGCAGCACAAT R ATTCCTCGACGGTGGCTG	600
18	AA08_27_8 82	F TGGGCAATCCACGTACAGTT R CCGCAGTAGCAAGCACCTTA	882	38	D01_21_82 1	F ACCGCGAAGGCACACTCTAT R GAACACTACGACAGAAGACTAGG	821
19	AA10_04_6 74	F TGGTCGGGTGTAAGTGGGTA R CACATATTTCCACCCTCCA	674	39	A08_08_82 8	F TTTTATCTCTCGTATCTAAGTCTC R CCAAATGAAAAGTAGATGGTACTAT	828
20	AA10_13_7 23	F GAACGAAAGGGTGTCCAGT R CAAAACCAAGTCAAGGCAAA	723	40	B11_10_55 5	F GATTCTGACGTTGTTTGGTT R ATGATCCCTTAGTCTCTACAC	555

(6) 국내 고구마 27종의 SCAR marker 개발

No	Primer Name	Primer sequence 5'-3'	DNA base Quantity(μmer) (50mM NaCl)	Tm	Fragment Size (bp)
1	A11-4	Forward: CTTGGCTCAAATGCTTTCC Reverse: AATGCGCGTTGTTCTCTGA	20	52.6	806
2	A16-4	Forward: AACTGAAGCTCAGCGACGA Reverse: CCGAGGAAGTATAAATGATACGA	20	56.8	415
3	E05-1	Forward: GGGAGGTGATCTAACAGCAAA Reverse: TCAGGGAGGTAAGTACCAT	22	54.9	550
4	E17-6	Forward: CTGCCGTATACATTGTTAATAGCC Reverse: CCGTTGGTATGGAGATGGAG	20	54.9	574
5	E17-7	Forward: TCGACATGATATTGTAGCTGTGT Reverse: CGCTCCAACAACCTAATGC	23	53.8	520
6	E17-8	Forward: CTGCCGTATATACAAAGAAAAGAG Reverse: AGATCGACCTCGGATAGCAA	25	53.6	555
7	F17-4	Forward: CCGGGAAATTAATATGGA Reverse: CCGGGAATCGGAAATCAT	20	49.8	455
8	F19-1-7	Forward: GGAGCGGATGCAAGAGAT Reverse: TCTAGACCTCAAGTAACCCAAAA	19	56.7	408
9	G01-06-700	Forward: ACGGAGGAAAGGGAGGATTT Reverse: AGCTCAGCAGCATAACGACG	20	55.3	514 & 441
10	G01-13	Forward: ACGGAGGAAAGGGAGGATTT Reverse: GTGAACCAATCCTAGGCTTG	20	55.3	473
11	AA08-18-750	Forward: TCCGCAGTAGGCAAGTCATA Reverse: TAGAGTGGGATATGCACTTGCA	20	56.1	703
12	B13-02-600B	Forward: AATCTGGCCCTGCTGCTTAT Reverse: ACATCGGCTCCTCAAAGC	20	55	582
13	AA01-24-700	Forward: CTCCTTGATCCAGGCTTTC Reverse: CGCCGATGATATCTTATGC	20	54.4	587

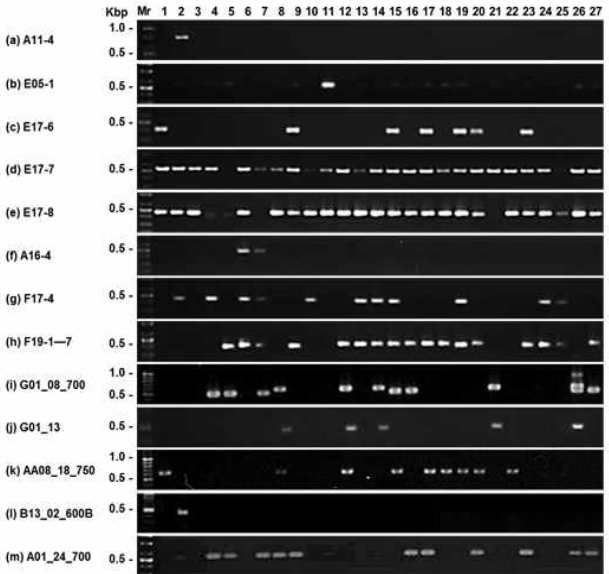


그림 3-2-3-5. 대표적인 SCAR 프라이머와 DNA 전기영동 사진

200개의 RAPD 프라이머를 이용하여 유전체 분석을 수행하였고, 그 중 polymorphism이 뛰어난 148개의 프라이머들 중 59개의 프라이머에서 뚜렷한 품종 특이 RAPD 밴드가 증폭되었다. 이들 밴드를 이용하여 SCAR 프라이머를 디자인한 결과, 위 table의 13개 프라이머만이 재현성 검증을 통과하였다 (Lee et al., 2015a). 이 SCAR 프라이머를 이용하여 품종간의 구별이 되는 것을 전기영동을 통해 확인할 수 있다.(그림 3-2-3-5)

개발된 SCAR 프라이머 중 G01_08_700 프라이머에서 73bp가 InDel 되는 부분을 발견하였고, 이를 이용하여 614bp와 441bp의 두 개의 각각 다른 사이즈의 특이적 밴드를 얻을 수 있었다.(그림 3-2-3-6)

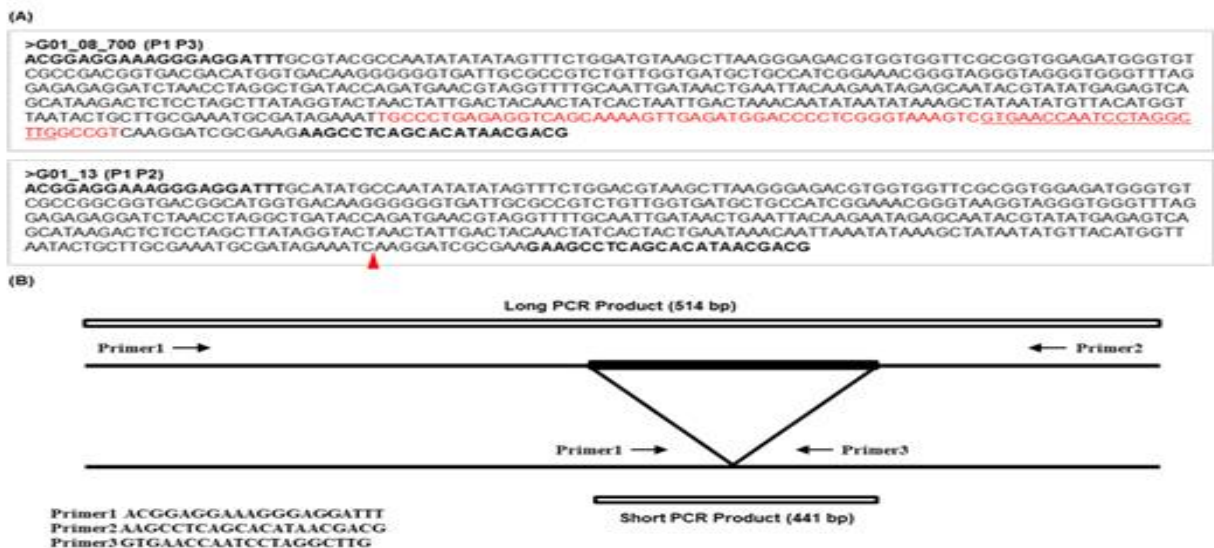


그림 3-2-3-6. In del 염기 서열과 SCAR 마크

연구 수행 결과 1번의 전기영동 결과를 바탕으로 NTSYS 2.1을 이용하여 비가중

평균결합법(UPGMA)의 집괴 분석을 하였다.(그림 3-2-3-7) 그 결과 Dice 유사도 값의 전체 범위는 0.222~0.909이었으며, 평균 유사도 값은 0.573이었다. 품종 간 가장 높은 유사도(0.909)를 나타내는 품종은 신허미와 신희미, 신허미와 중미, 주황미와 울미, 신희미와 고건미로 확인 되었고, 가장 낮은 유사도(0.22)를 보이는 품종은 자미와 건풍미, 보라미와 헬씨미, 신허미와 연미임을 알 수 있었다.

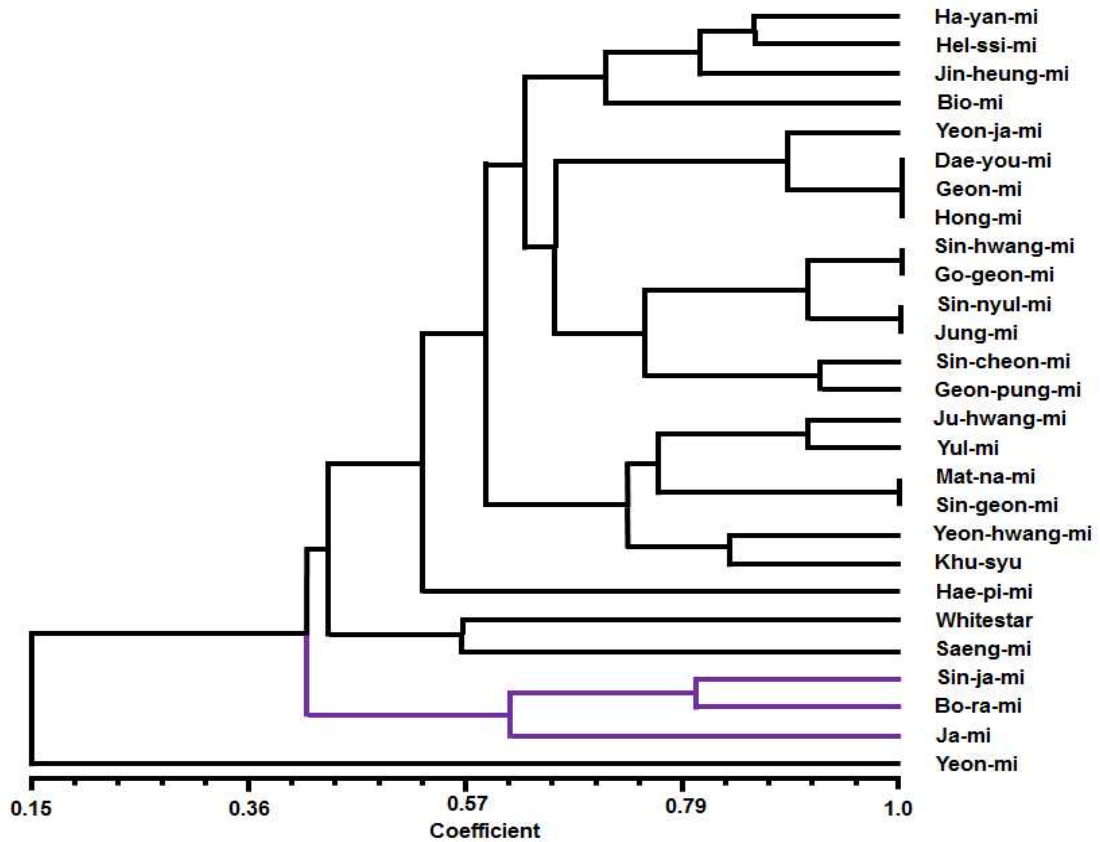


그림 3-2-3-7. SCAR 마크를 이용한 품종간 근연관계를 보여주 Dendrogram

나. 고구마 품종 판별을 위한 단백질 마커 개발

(1) 2-DE 분리 분석 조건 확립

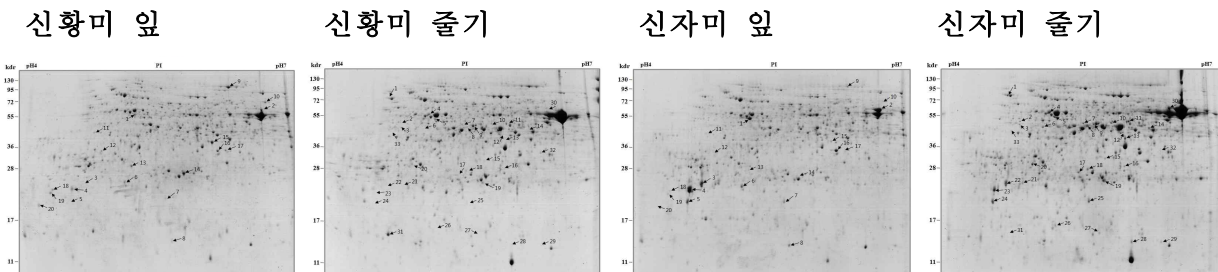


그림 3-2-3-8. 최적화된 단백질 분리 기술에 의한 최적화된 단백질 2-DE 결과

실험결과는 고구마 28개 품종 중 육색이 황색을 띠는 신허미와 자색을 띠는 신자미의 잎과

줄기를 2-DE 분석 한 것임. 분석 결과, 줄기보다 잎에서 더 많은 spot들이 분리되었고, 신자미보다 신황미에서 더 많은 단백질이 발견됨. 잎의 경우, 19번, 20번, 25번에서 신자미에서는 볼 수 없었지만 신황미에서는 확연하게 단백질 양이 많아진 것을 볼 수 있으며, 줄기의 경우, 3번, 4번은 신황미에서 많았고, 9번, 14번은 신자미에서 양이 많은 것을 볼 수 있음. 이런 점으로 미루어 보아 단백질 수준에서의 품종 판별 마커 개발도 의미가 있을 것으로 기대된다.

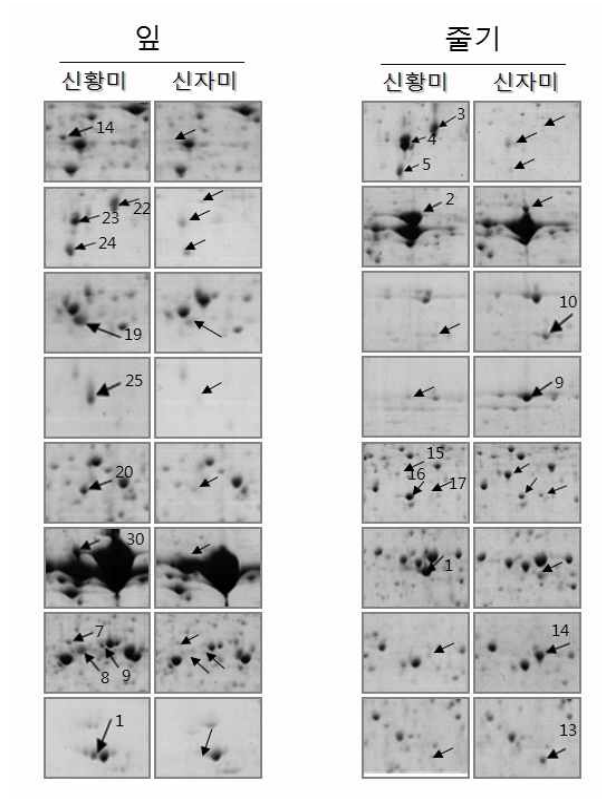


그림 3-2-3-9. 잎 및 줄기 단백질체 분석에서 품종간 차이를 보이는 대표적인 겔 사진

(2) 2-DE 분리 분석 및 MALDI-TOF/TOF mass 분석 동정

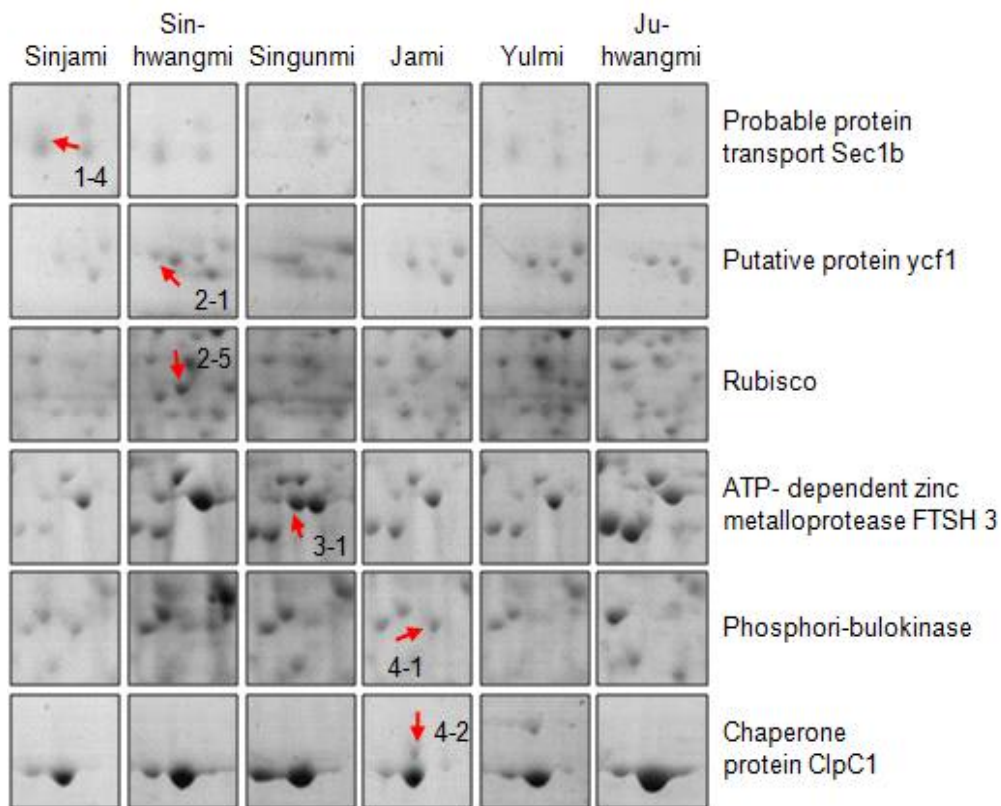
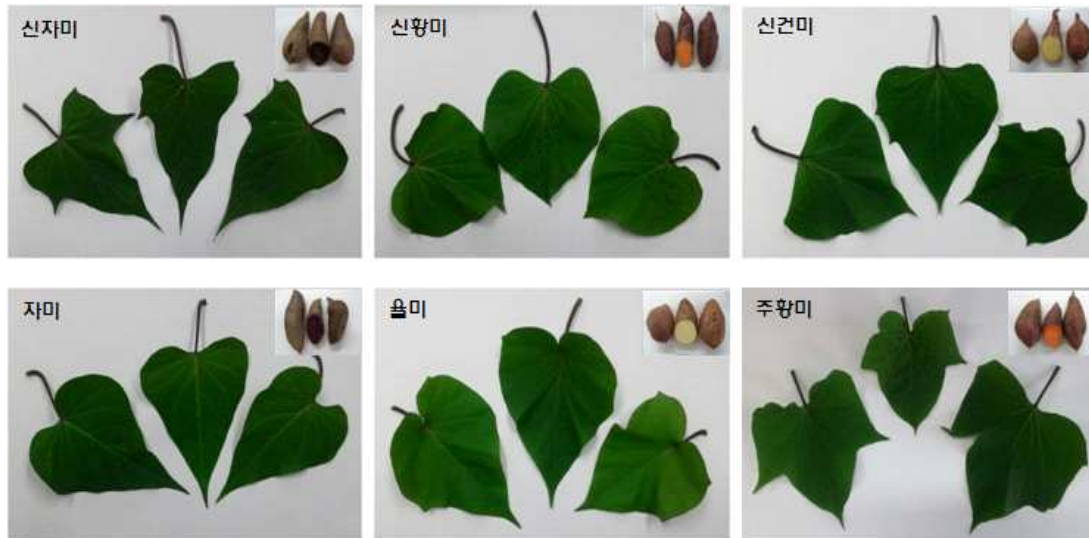


그림 3-2-3-10. 고구마 품종 6개의 잎 모양 및 단백질체 분석 결과

고구마의 육질의 색에 따른 대표 고구마를 선택하여 2-DGE 분석을 실시함. 주황색 고구마는 주황미, 신황미를 이용하였으며, 보라색 고구마는 자미, 신자미, 담황색 고구마는 율미, 신건미를 이용함. 분석에 이용된 고구마의 단백질체는 각 품종의 어린 잎에서 추출. 각각의 단백질체는 2-DGE (pH 4-7)에서 분리되었고, CBB로 염색. 그 결과 평균 500개의 단백질을 분리하였고, 그 중 신자미 4개, 신황미 7개, 신건미 3개, 자미 4개, 율미 8개, 주황미 6개 등 총 32개의 품종 특이적으로 발현하는 spot을 확인함. 확인 된 spot은 MALDI-TOFTOF MS로 분석하였고, 그 중 9개의 spot이 동정됨. 그 결과, Spot 1-4는 probable protein transport Sec1b, spot 2-1은

putative protein ycf1, spot 2-5는 Ribulose biphosphate carboxylase large chain(Fragment), 3-1은 ATP-dependent zinc metalloprotease FtsH3, spot 4-1은 Phosphoribulokinase, spot 4-2는 chaperone protein ClpC1, spot 5-4, 5-5, 5-6은 Ribulose biphosphate carboxylase large chain으로 동정되었다 (Lee et al., 2013).

표 3-2-3-4. MALDI-TOFTOF로 동정된 단백질 정보

Spot No.	AC	Protein name	Score	Expect	Mr/pI	Matched peptide sequence (Ion score)	SC	Source
1-4	Q5VNU3	Probable protein transport Sec1b	60	0.036	75081/7.58	K.KFNDTISTMATR.I (13)	24%	Oryza sativa
2-1	Q85WU2	Putative protein ycf1	57	0.071	238765/9.16	K.SIQNDEELMGR.D (9)	15%	Pinus koraiensis
2-5	Q32040	Ribulose biphosphate carboxylase large chain (Fragment)	136	8.00E-10	51993/6	K.DTDILAAFR.V (13) K.NHGMHFR.V (4) R.EITLGFVDLLR.D (15) R.FLEYLDKDR.V (44) K.KVDLFENGITIAIVEAISPELGNR.V (34) K.AKENAPCIVFVDEIDAVGR.Q (25) K.ENAPCIVFVDEIDAVGR.Q (47) R.EQTLNQLLTEMDFEGNTGIIVAAATNR.A (36) R.ADILDSALLRPGR.F (9) R.TPGFSGADLANLLNEAAILAGR.R (75) K.ANDFDLMYEQVKA (7) K.ILVIEGLHPMYDAR.V (39) R.KPDFDAYIDPQK.Q (19) R.GSGFVAVEIPFPR.A (23) R.GELQCIGATTLDYRKH (12) K.ALAAYYFGSEEMIR.L (21) K.LIGSPPGYVGYTEGGQLTEAVR.R (20)	36%	Cornus obliqua
3-1	Q655S1	ATP-dependent zinc metalloprotease FTSH 3, chloroplastic	356	8.00E-32	72607/5.54	K.KFNDTISTMATR.I (13) K.NHGMHFR.V (4) R.EITLGFVDLLR.D (15) R.FLEYLDKDR.V (44) K.KVDLFENGITIAIVEAISPELGNR.V (34) K.AKENAPCIVFVDEIDAVGR.Q (25) K.ENAPCIVFVDEIDAVGR.Q (47) R.EQTLNQLLTEMDFEGNTGIIVAAATNR.A (36) R.ADILDSALLRPGR.F (9) R.TPGFSGADLANLLNEAAILAGR.R (75) K.ANDFDLMYEQVKA (7) K.ILVIEGLHPMYDAR.V (39) R.KPDFDAYIDPQK.Q (19) R.GSGFVAVEIPFPR.A (23) R.GELQCIGATTLDYRKH (12) K.ALAAYYFGSEEMIR.L (21) K.LIGSPPGYVGYTEGGQLTEAVR.R (20)	34%	Oryza sativa
4-1	P09559	Phosphoribulokinase, chloroplastic	115	1e-007	45321/5.82	K.KFNDTISTMATR.I (13) K.NHGMHFR.V (4) R.EITLGFVDLLR.D (15) R.FLEYLDKDR.V (44) K.KVDLFENGITIAIVEAISPELGNR.V (34) K.AKENAPCIVFVDEIDAVGR.Q (25) K.ENAPCIVFVDEIDAVGR.Q (47) R.EQTLNQLLTEMDFEGNTGIIVAAATNR.A (36) R.ADILDSALLRPGR.F (9) R.TPGFSGADLANLLNEAAILAGR.R (75) K.ANDFDLMYEQVKA (7) K.ILVIEGLHPMYDAR.V (39) R.KPDFDAYIDPQK.Q (19) R.GSGFVAVEIPFPR.A (23) R.GELQCIGATTLDYRKH (12) K.ALAAYYFGSEEMIR.L (21) K.LIGSPPGYVGYTEGGQLTEAVR.R (20)	22%	Spinacia oleracea
4-2	Q7F911	Chaperone protein ClpC1, chloroplastic	225	1e-018	101853/6.14	K.KFNDTISTMATR.I (13) K.NHGMHFR.V (4) R.EITLGFVDLLR.D (15) R.FLEYLDKDR.V (44) K.KVDLFENGITIAIVEAISPELGNR.V (34) K.AKENAPCIVFVDEIDAVGR.Q (25) K.ENAPCIVFVDEIDAVGR.Q (47) R.EQTLNQLLTEMDFEGNTGIIVAAATNR.A (36) R.ADILDSALLRPGR.F (9) R.TPGFSGADLANLLNEAAILAGR.R (75) K.ANDFDLMYEQVKA (7) K.ILVIEGLHPMYDAR.V (39) R.KPDFDAYIDPQK.Q (19) R.GSGFVAVEIPFPR.A (23) R.GELQCIGATTLDYRKH (12) K.ALAAYYFGSEEMIR.L (21) K.LIGSPPGYVGYTEGGQLTEAVR.R (20)	34%	Oryza sativa
5-4	P28381	Ribulose biphosphate carboxylase large chain	75	0.00098	53243/6.29	R.EITLGFVDLLR.D (21)	26%	Barnadesia caryophylla
5-5	P05698	Ribulose biphosphate carboxylase large chain	58	0.053	53672/6.22	R.EMTLGFVDLLR.D (13)	22%	Hordeum vulgare
5-6	P28459	Ribulose biphosphate carboxylase large chain	86	7.3e-005	53094/6.41	R.EITLGFVDLLR.D (23)	24%	Viburnum acerifolium

AC; accession number, Mr; Molecular weight, SC; sequence coverage

(3) 고구마(Sinjami, Sin-hwangmi, Sungunmi, Jami, Yulmi) 잎과 줄기 western blot

고구마 육질 색에 따른 대표고구마 5개(주황미 제외됨)에 대한 베타 유래 ROS관련 항체를 이용한 Western blot 실시하였다. 뚜렷한 차이를 보이는 결과를 얻지 못했지만 G10은 자미와 울미에서 보이는 band를 확인했고, G6는 신건미와 울미에서만 보이는 band를 확인하였다. 또한 고구마 잎으로부터 2-DE분석한 결과에서 ClpC와 FtsH3을 동정했는데 각 항체를 이용한 Western blot분석에서는 FtsH3는 모든 품종에서 검출이 되었지만 ClpC의 경우는 신건미에서 과 발현 되는 것을 확인하였다 (그림 3-2-3-11). 그러나 품종에 특이적인 band를 보이는 단백질은 아직 찾지 못했다.

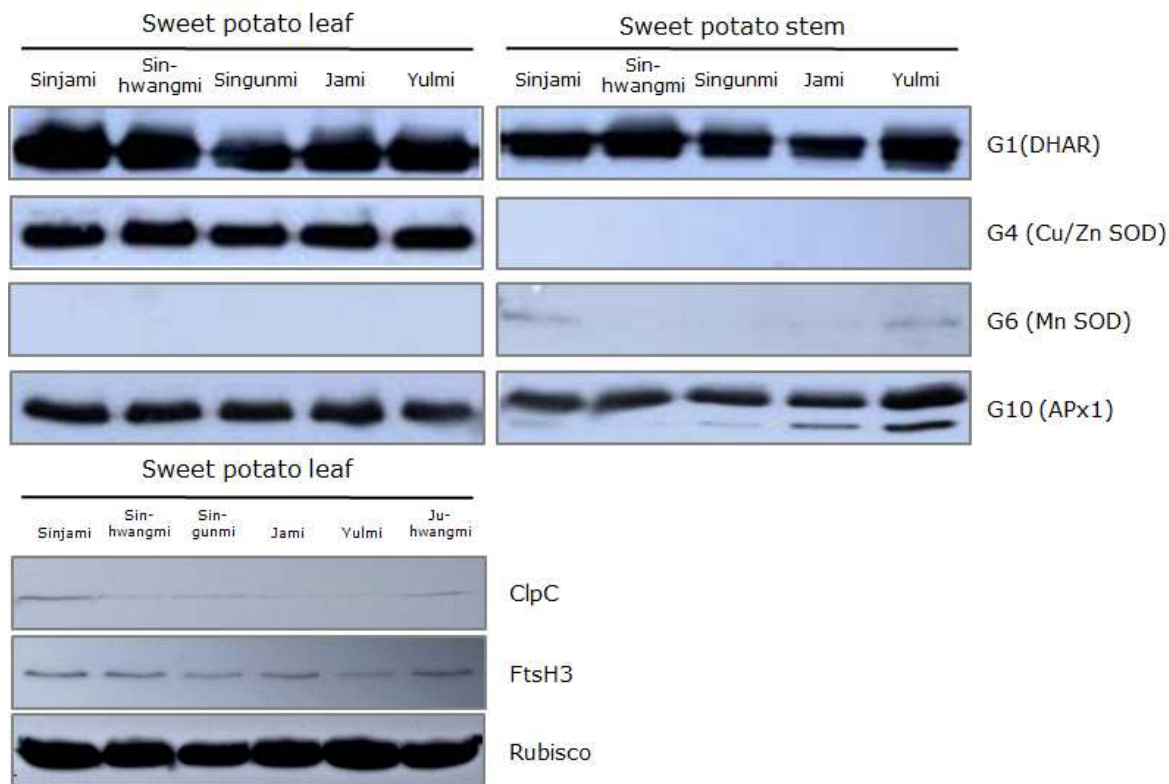


그림 3-2-3-11. 대표적인 단백질 마크에 대한 웨스턴 블랏 결과

(4) 5품종 고구마 괴근의 phenotype과 단백질 발현 비교

참다래 유통 사업단에서 받은 고구마 괴근 5품종의 단면사진이다. 확연한 괴근의 육질 색 차이를 볼 수 있다. 선행 연구되어진 6품종(5품종에 흰고구마 포함)의 DNA 마커를 찾기에 어려움이 있어 Genomics적 접근뿐만 아니라 Proteomics적 접근으로 2DE를 병행하였다. 품종 간의 단백질 차이를 보이는 판별용 단백질 마커개발을 위한 단백질 분리 작업에 들어갔다. 고구마 괴근의 전체 단백질을 보기 위한 실험이다. 고구마 괴근은 참다래 유통 사업단에서 받은 보라고구마, 황금고구마, 수고구마, 일반하계, 호박고구마를 분석에 이용하였고, 2DE의 각각 단백질은 pH4-7에서 분리하고, CBB로 염색하였다. SDS-PAGE와 2DE 그림에서 빨간색 네모로 표시한 호박에 특이적으로 나타나는 밴드와 spot을 elution하여 MALDI-TOF MS분석을 이용하여 동정하였다. 그 결과, **SporaminB**로 확인되었다. 이는 sporamin B단백질이 품종에 따라서 변형이 일어나는 것으로 예상된다.

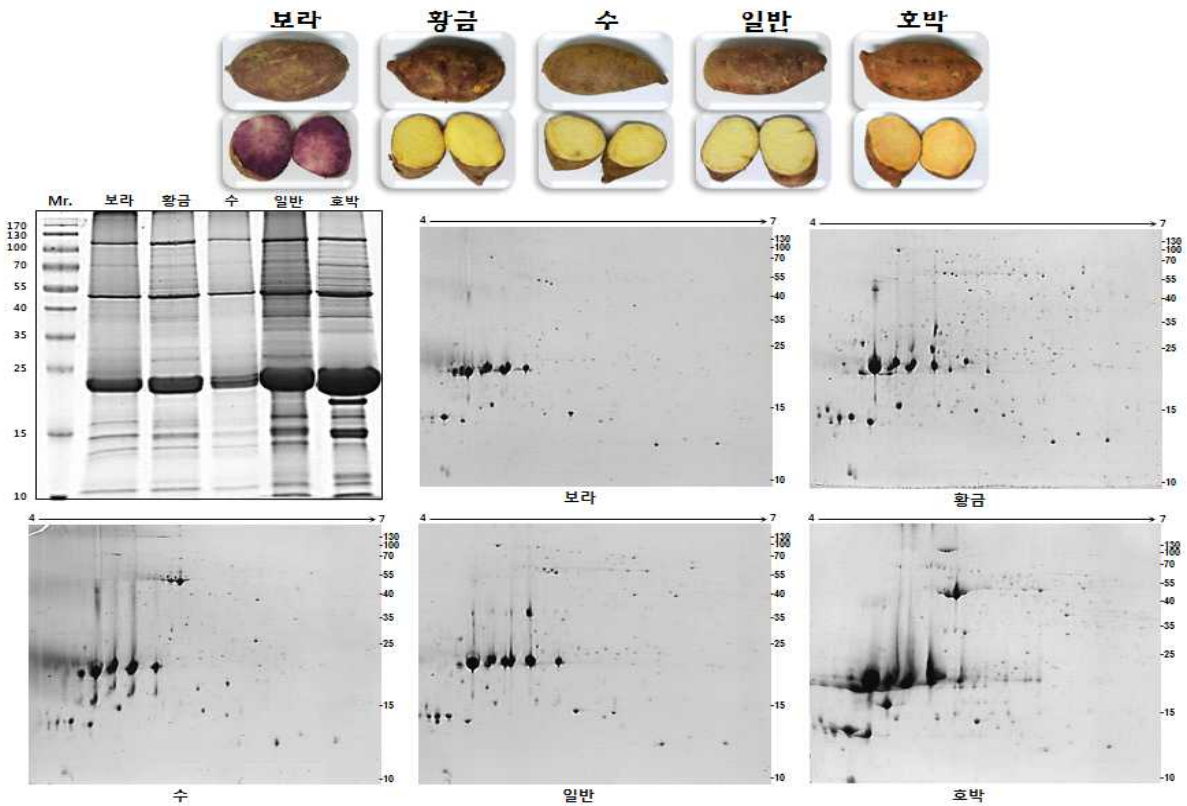


그림 3-2-3-12 고구마 품종 6개의 괴근 모양 및 단백질체 분석 결과

(5) Database program을 개발

2-DE map database 구축을 위한 자체 홈페이지를 제작하였다. 단백질체 연구자들이 좀 더 쉽게 이용할 수 있는 기반을 마련하고자 이러한 홈페이지를 제작하였고 현재는 콩 단백질에 관한 모든 2DE내용을 게재한 상태이며, 앞으로 고구마 단백질의 분리 분석이 정립되고 난 후 게재할 예정이다. (<http://pfg.proteomics.pusan.ac.kr>)

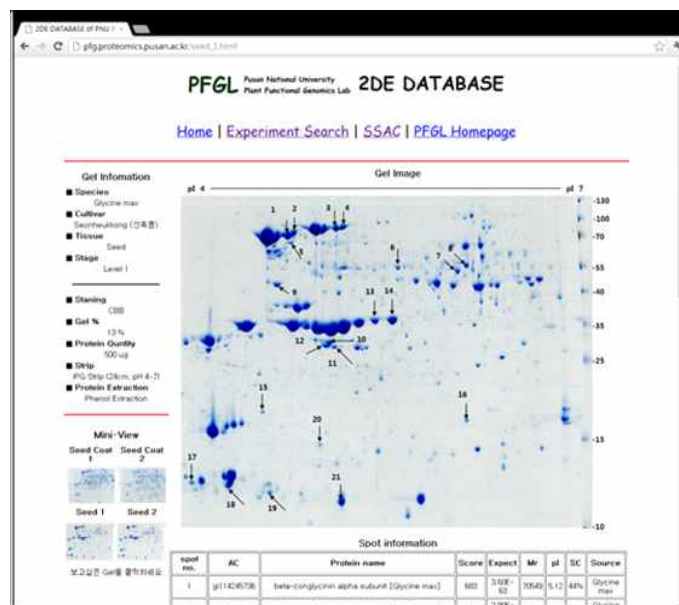


그림 3-2-3-13. 단백질체 자료 업로드를 위한 Website구축

다. 고구마 괴근의 효과적이고 새로운 과발현 단백질 제거기술 개발

지난 년차에서 total 단백질을 괴근으로 부터 분리시 sporamin의 과량존재로 인한 고해상력의 2-DE 겔을 얻을 수 없었다. 따라서 과발현 단백질의 효과적인 제거 기술 개발의 필요성이 요구되어 고구마 괴근에 가장 많이 존재하는 Sporamin(23kb)을 효과적이고 간단하게 분리하는 기술을 apolar solvent을 이용하여 최초로 개발하였다(Lee et al., 2015b)(그림 3-2-3-14). 상등액과 펠렛의 분리된 spot 양상을 비교 분석하여 품종간의 차이나는 spot을 찾아 단백질 마커로 이용할 수 있는 테크닉을 개발하여 이 기술을 정립하는 단계이다. 이번 년차에 apolar을 이용한 고구마 과발현 단백질을 제거하는 방법을 반복 실험을 통하여 확립하였다. Tris-Mg/NP-40 추출 용액에 최종 농도 50%의 apolar을 이용하면 Sporamin A와 B(고구마 과발현단백질)가 apolar-상등액 분획으로 분리된다. 이는 안전하며, 절차가 간단하고, 소요 시간이 적어 경제적이고 재현성을 가진다는 장점을 가진 방법으로 특허로 낼 예정에 있다.

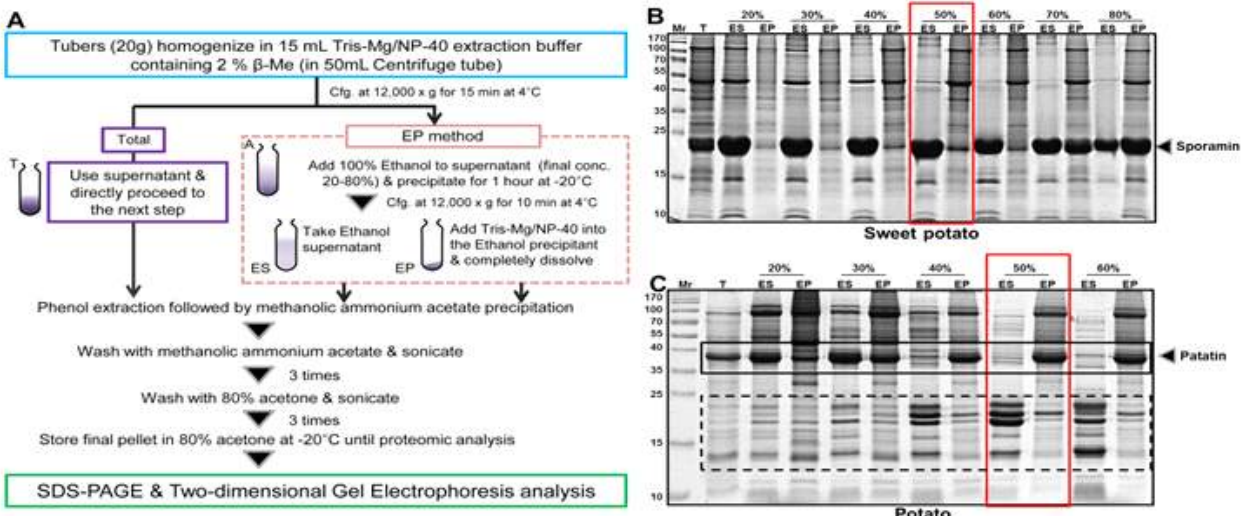


그림 3-2-3-14. 괴근 단백질 분리 최적화 체계도 (A) 및 분리능에 대한 SDS-PAGE 사진

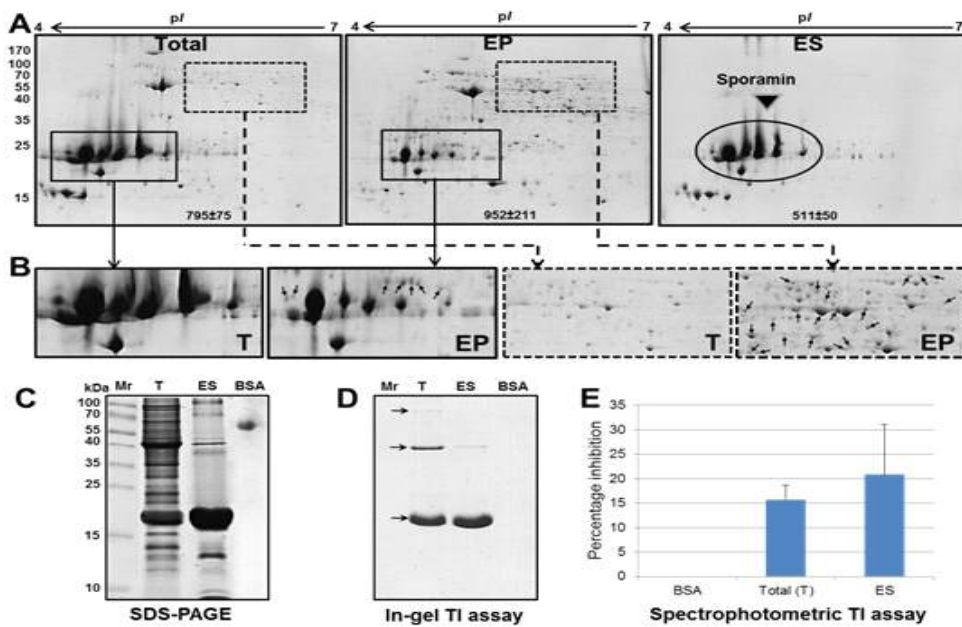


그림 3-2-3-15. 고구마 괴근 2-DE 분석 및 분리된 sporamin 단백질의 효소 활성 평가

특이적 밴드를 보인 호박고구마의 Total, Supernatant, Pellet 2DE 그림이다(그림 3-2-3-15). SDS-PAGE 뿐만 아니라 2DE상에서도 Sporamin의 분리를 보이는 것을 확인할 수 있다. Total단백질에서 분리된 spot수는 261개였고, 과량 존재 단백질인 Sporamin이 상등액 (spot수 68개) 부분으로 제거 된 후 pellet 부분에서 분리된 spot수는 625개였다. 새로운 Apolar solvent 기술은 고구마 괴근에 과량 존재하던 Sporamin 단백질을 상등액 fraction으로 분리하여 이 과량 단백질에 가려 보이지 않던 미량 단백질을 다량 확인할 수 있는 최초의 기술이다. 그 스포라민의 효소 활성이 trypsin 저해제로 잘 알려져 있는데 본 연구에서 분리된 스포라민도 생리활성이 그대로 존재하는 것을 확인하였다.

개발한 Method를 적용하여 호박 고구마와 황금 고구마에서 단백질을 추출하였고, 이들의 품종간 차이나는 단백질을 찾고자 에탄올 침전 분획의 단백질을 이용하여 2DE를 실시하였다(그림 3-2-3-16). 2DE Gel상에서 확연히 차이나는 특이 단백질 spot들을 MALDI TOFTOF MS 분석을 이용하여 동정하였다. 동정결과 5개는 동정되지 않았지만, 15개는 동정되었다. 동정결과 이러한 15개 후보 단백질들은 품종간의 양적 차이나 有無로 인해 관별마커로 사용될 수 있을 것으로 예상된다(표 3-2-3-4, 5).

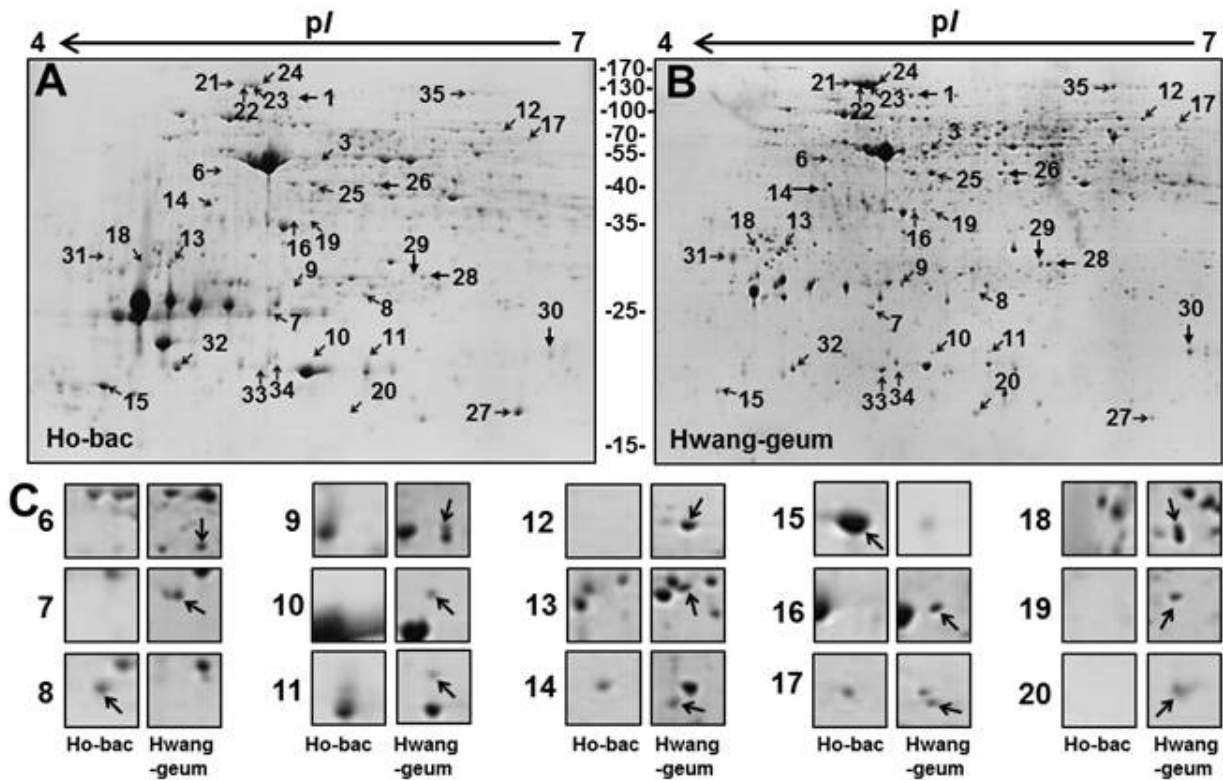


그림 3-2-3-16. 대표적인 고구마 괴근의 단백질체 마크

표 3-2-3-5. MALDI-TOFTOF MS에 의해서 동정된 단백질 정보

Spot No.	Accession No.	Protein name	OS	Mr/pI(T)	SC(%)	Queries matched	Score	Expect
1	D4P4U1	Phospholipase D	Gossypiumhirsutum	91975/5.44	12	2	86	2.30E-02
2	B4FQL5	T-complex protein 1 subunit epsilon	Zea mays	59604/5.59	19	2	75	2.50E-01
3	Q40465	Eukaryotic initiation factor 4A-11	Nicotianatabacum	47157/5.38	32	3	196	2.20E-13
4	Q9LVI8	Glutamine synthetase cytosolic isozyme 1-3	Arabidopsis thaliana	38798/5.72	19	2	57	1.60E+01
6	Q9SEI2	26S protease regulatory subunit 6A homolog A	Arabidopsis thaliana	47735/4.91	41	6	295	2.80E-23
7	Q4D5Q6	ARP2/3 complex subunit, putative	Trypanosomacruzi	37073/9.20	31	0	75	3.00E-01
8	M0ZVJ6	Proteasome subunit beta type	Solanumtuberosum	24944/5.94	25	2	102	5.50E-04
9	J9TAX6	Sporamin A	Ipomoea batatas	24187/5.81	30	2	62	6.10E+00
10	Q4CQ61	Retrotransposon hot spot (RHS) protein, putative (Fragment)	Trypanosomacruzi	76303/5.98	25	1	82	5.70E-03
11	I1GTK4	Uncharacterized protein	Brachypodiumdistachyon	49867/7.69	30	0	75	3.00E-01
12	B9SP64	Phosphoglucosyltransferase, putative	Ricinuscommunis	63500/5.53	16	2	16	6.80E-02
13	G9I3S8	14-3-3 protein b	Ipomoea batatas	29764/4.8	47	3	214	3.50E-15
14	Q93X44	Protein tyrosine phosphatase	Solanumlycopersicum	42014/5.25	11	2	89	1.20E-02
16	I3NMJ8	60S acidic ribosomal protein P0A	Heveabrasiliensis	34171/5.14	20	1	70	8.60E-01
18	P93784	14-3-3-like protein 16R	Solanumtuberosum	29032/4.74	37	3	203	4.40E-14

표 3-2-3-6. MALDI-TOFTOF MS에 의해서 동정된 단백질 생물학적 정보

Spot No.	Accession No.	The two highest-scoring peptides (ion score)	MSMS/PMF
1	D4P4U1	R.YDTPFHSLFR.T (Ions score 38) / R.EPWHDHLSRL (Ions score 24)	2/11
2	B4FQL5	R.AVTIFIR.G (Ions score 23) / K.AVLAVADLER.K (Ions score 18)	2/13
3	Q40465	K.MFVLDEADEMLSR.G (Ions score 67) / R.VLITTDLLAR.G (Ions score 29)	3/21
4	Q9LVI8	K.EHIAAYGEGNER.R (Ions score 18) / K.IIAEYIWIWGGSGMDIR.S (Ions score 10)	2/9
6	Q9SEI2	K.IEFPHPTTEEAR.A (Ions score 51) / R.KIEFPHPTTEEAR.A (Ions score 49)	6/25
7	Q4D5Q6	-	0/14
8	M0ZVJ6	R.MSTGYNILTR.D (Ions score 29) / K.GCVFTYDAVGSYER.V (Ions score 27)	2/14
9	J9TAX6	R.LALSNSPFVFIKPTDV.- (Ions score 17) / R.FHDHMSR.T (Ions score 14)	2/10
10	Q4CQ61	K.IKELRPPGR.G (Ions score 5)	2/21
11	I1GTK4	-	0/15
12	B9SP64	R.YLFEDGSRL (Ions score 32) / K.MQEFTGR.S (Ions score 11)	2/12
13	G9I3S8	K.TVDVDELTVTEER.N (Ions score 56) / K.SAQDIALGELAPTHPIRL (Ions score 37)	3/19
14	Q93X44	R.DFADFRL.L (Ions score 55) / R.AEIRDFADFRL.L (Ions score 19)	2/8
16	I3NMJ8	K.GTVEIITPVELIK.K (Ions score 46)	1/7
18	P93784	K.VVAAAADGAEELTVTEER.N (Ions score 59) / K.DSTLIMQLLR.D (Ions score 43)	3/15

4. 고구마 무병주 생산기술 재연성 검증 및 현장보급 시스템 확립

가. 무병주 대량생산 기술모델 구축 및 실용형질 특성 검증

(1) 고구마 바이러스 무병주 생산을 위한 성장점 배양

고온, 건조한 조건에서 자란 고구마 끝 부분을 1~2cm크기로 채취하여 시험재료로 사용하였다. 포장에서 자란 묘는 세균 등의 감염이 높아, 실내에서 35~40℃의 고온조건에서 급속히 자란 고구마 끝순 이용해야 바이러스 농도가 낮다(그림 3-2-4-6참조). 소독은 멸균된 50ml tube 또는 250ml 삼각플라스크 이용하였다. 무균상내에서 멸균된 철사망을 이용하여 효율적으로 소독작업을 수행 하였고, 70% EtOH 10~20초간 침지 후 멸균수로 3회 세척하였다. 1% NaOCl 2900ml 용액에서 15분간 침지하여 멸균수로 2~3회 세척하였다. 살균이 끝난 신초는 멸균된 여과지로 옮겨 무균상에서 현미경을 이용하여 0.2mm 크기로 경정을 절취하여 배양하였다. 신초유도 및 증식은 다음과 같다.

- 성장점 배지 : MS + A0.5 + NAA0.05mg/L, 조건 : 27℃, 3000Lux, 16/8jr.
- 30일 후 (3~5mm 정도 크기) 중형 배양병(지름 7, 높이 9cm)에 계대배양
 - 배지 : LS + NAA 0.1 mg/L 이용
- 30일 후(2~3mm 정도 크기) 배양병(지름 7, 높이 13cm)에 1마디 13개씩 배양
 - 배지 : LS + NAA 0.1 mg/L 이용

(2) 성장점 유래 무병묘 기내 계대배양 증식배율

성장점 적출부터 3마디가 생성되기까지는 약 60일이 소요되었다. 그 이후 40일간 배양했을 때 약 6마디가 출현되었다. 품종에 따라 차이가 있지만 40일 마다 약 5배수로 증식 할 수 있었다. 6마디를 40일 배양할 경우 30개체가 되며, 40일을 더 배양하였을 때 150개체로 늘어났다.

(3). 고구마 바이러스 무병주대량생산 기술모델

고구마 바이러스 무병주 및 무병주 유래 씨고구마 보급체계를 보면 그림 3-2-4-1과 같다. 개발품종의 기본식물은 농촌진흥청 바이오에너지 작물센터로부터 공급을 받아 원원종급(원종급)은 농업기술실용화재단에서 양성하여 보급종으로 공급하였다. 보급종은 시군농업기술센터, 농협 또는 주산지 작목반 등을 중심으로 대량 증식하여 농가에 공급하는 체계를 확립하였다

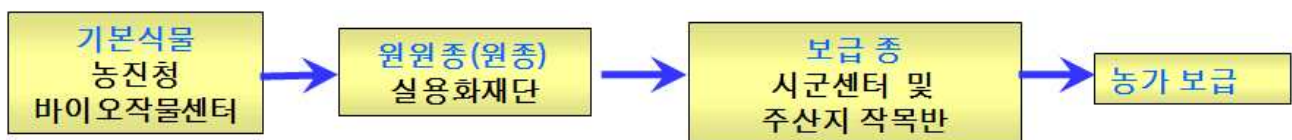


그림 3-2-4-1고구마 바이러스 무병주 대량생산 체계

고구마 바이러스 무병주 대량생산 기술 모델을 보면 그림 3-2-4-2, 3-2-4-3과 같다. 모델 <1> (그림 3-2-4-2)은 성장점 배양을 통해 망실 또는 유리온실에서 약 4개월간 증식한

다음 양액재배 또는 토경재배방법으로 무병주를 생산하여 격리포장에서 무병주 유래 씨고구마를 생산한 후 저온저장고에 저장하여 이듬 해 농가에 분양하는 방법이다. 여기서 생산된 씨고구마는 3년간 재배한 이후에는 바이러스 발생율이 높아지기 때문에 3년 주기로 씨고구마를 갱신하면 된다.

고구마 바이러스 무병주 대량생산 기술 모델(1)

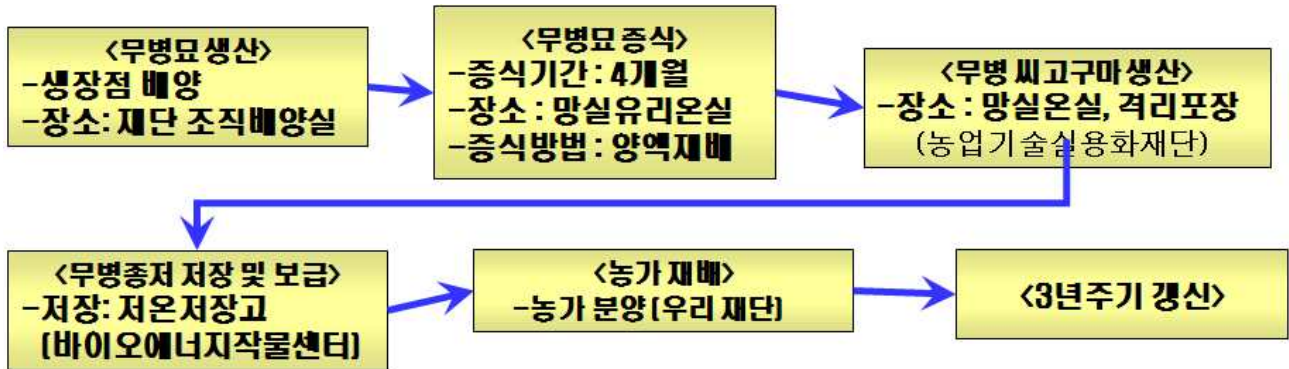


그림 3-2-4-2 무병주 유래 씨고구마 대량생산 모델

한편 무병주를 통한 대량생산 기술을 보면 그림 3-2-4-3에서와 같이 성장점 배양부터 순화묘를 생산하는 방법은 모델 <1> 과 같다. 무병 순화묘 및 순화묘 유래 종순을 시군농업기술센터, 농협 또는 주산지 거점농가(작목반중심) 등에서 2차로 대량증식하여 농가에 분양하는 체계라 할 수 있다. 여기에는 증식에 필요한 온실, 비닐하우스 등 시설이 필수적이다.

고구마 바이러스 무병주 대량생산 기술 모델(2)

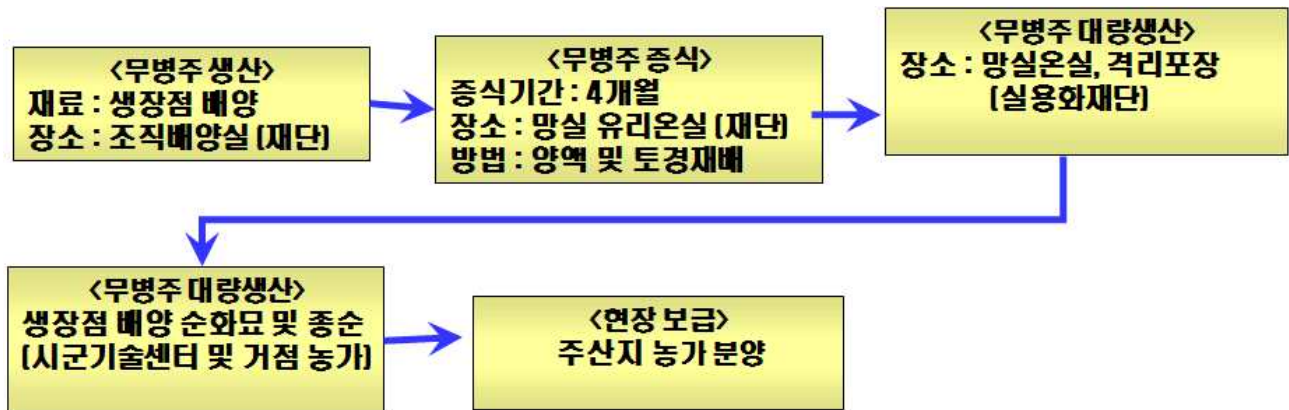


그림 3-2-4-3. 고구마 무병주 대량생산 모델



그림 3-2-4-4. 성장점 채취용 재배

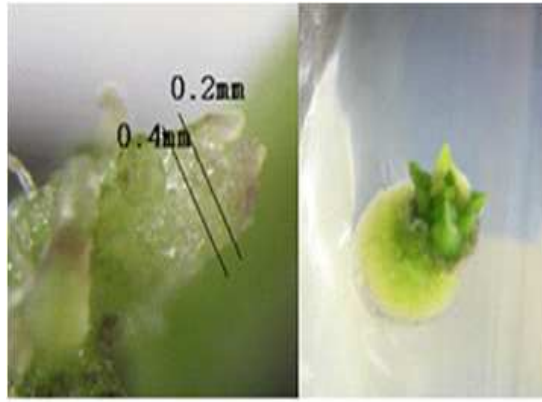


그림 3-2-4-5. 성장점 채취



그림 3-2-4-6. 고구마 바이러스 무병주 생산 과정

(4). 고구마 바이러스 무병주 주요특성 검정

고구마 바이러스 무병주의 주요특성과 우수성을 검정하기 위해 수원 및 무안 등 2개소에서 시험을 수행을 하였다. 2개소의 삼식기는 2010년 5월 6일. 수확기는 10월 16일이였다. 재식밀도는 70cm×20cm로 하고 비닐피복 하였으며, 시비량 및 기타처리는 농촌진흥청 표준재배법에 준하였다.

표 3-2-4-1고구마 바이러스 무병주 지역간 주요특성 비교 (수원)

품종명	구분	넙쿨 무게 (kg/10a)	넙쿨 길이 (cm)	상 품 괴근수량 (kg/10a)	수량 지수	주 당 괴근수 (개/주)	괴 근 평균중 (g/개)	총괴근 수 량 (kg/10a)
신황미	일반묘	3,100	240	1,622	100	2.2	120	1,795
	무병주	2,550	238	2,210	136	2.5	132	2,300
주황미	일반묘	3,050	147	2,700	100	2.7	144	2,900
	무병주	3,460	150	3,536	131	3.0	180	3,650
신자미	일반묘	2,210	120	1,804	100	1.8	151	1,870
	무병주	2,120	124	2,052	114	2.0	186	2,080
연황미	일반묘	1,618	137	2,140	100	2.5	110	2,420
	무병주	1,730	123	2,450	114	2.9	150	2,574
신건미	일반묘	2,516	146	2,100	100	2.1	141	2,285
	무병주	3,250	128	2,500	119	2.3	180	2,576

수원지역에서는 무병주가 일반묘에 비해, 넙쿨무게는 주황미와 신건미에서 약간 증가하였으며, 넙쿨길이는 연황미, 신황미. 신건미에서 짧았고 주황미는 비슷하였다. 상품 괴근수량은 연황미, 주황미, 신자미에서 일반묘에 비해 114~133% 높았으며, 주당 괴근수는 비슷하여 0.2~0.6개 많았다. 또한, 괴근 평균무게 는일반묘에 비해 연황미 40g, 신건미 39g, 주황미 36g, 신자미 35g이 높은 수치를 보였다(표 3-2-4-1).

표3-2-4-2 고구마 바이러스 무병주 지역간 주요특성 비교

(무안)

품종명	구분	넙쿨 무게 (kg/10a)	넙쿨 길이 (cm)	상 품 괴근수량 (kg/10a)	수량 지수	주 당 괴근수 (개/주)	괴 근 평균중 (g/개)	총괴근 수 량 (kg/10a)
신황미	일반묘	3,472	299	2,270	100	1.4	243	2,330
	무병주	2,972	288	3,603	159	2.3	235	3,702
주황미	일반묘	2,333	152	3,393	100	3.1	163	3,537
	무병주	3,028	176	4,568	135	3.5	199	4,690
신자미	일반묘	2,722	155	3,173	100	2.2	214	3,238
	무병주	3,112	163	3,392	107	2.6	198	3,507
연황미	일반묘	1,583	164	2,153	100	1.9	168	2,278
	무병주	1,583	129	2,508	116	2.2	173	2,662
신건미	일반묘	3,612	135	2,358	100	1.9	189	2,503
	무병주	2,888	1222	3,462	147	2.8	189	3,583

무안지역에서 무병주를 정식한 경우 일반묘에 비해, 넙쿨무게는 주황미와 신자미에서 약간 많았으며, 산황미, 신건미에서는 낮은 경향 이었고, 넙쿨길이는 신황미, 연황미, 신건미에서는 짧았고 신자미는 비슷하였다. 상품 괴근수량은 연황미, 주황미, 신건미, 신황미에서 116~159% 높았으며, 괴근 평균무게는 일반묘에 비해 주황미 36g, 연황미에서 5g, 정도 많았으며, 신황미는 8g, 신자미는 16g정도 적은 수량이었다.

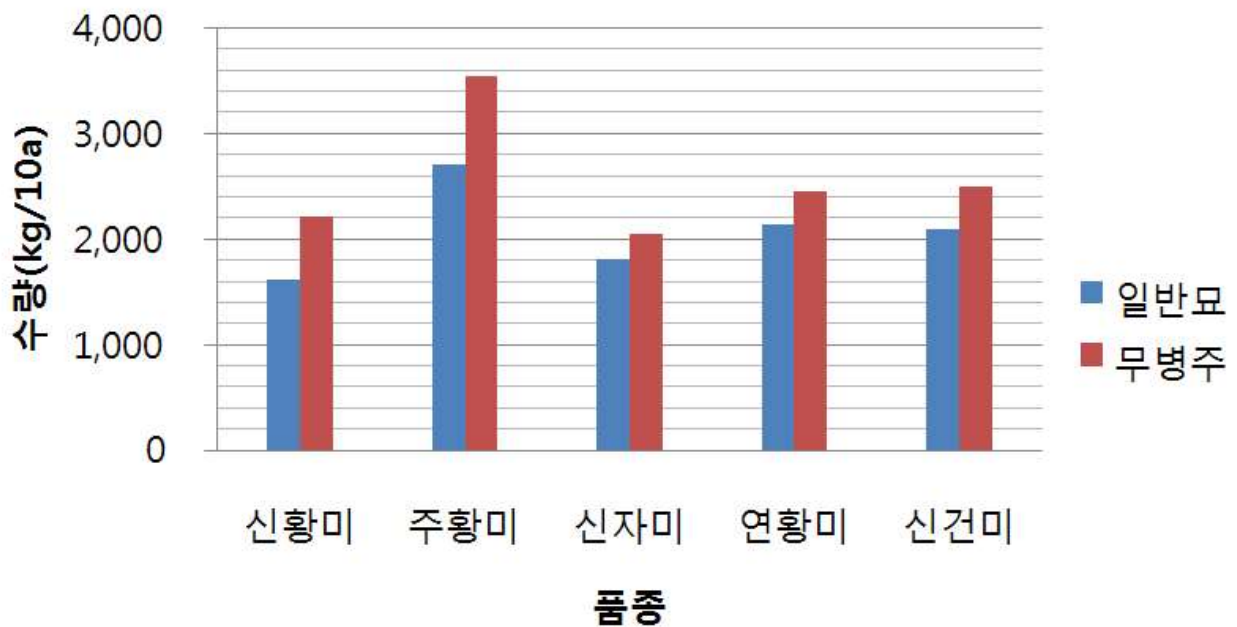




그림3-2-4-7 생육 중 모습



그림 3-2-4-8 생육조사



그림 3-2-4-9 고구마 수확



일반묘 (연황미)



무병주 (연황미)



일반묘 (신황미)



무병주 (신황미)



표 3-2-4-3 고구마 “신황미” 품종의 일반묘와 무병주에 대한 수량 및 품질특성바이러스

구 분	수 량 (kg/10a)	지 수	바이러스 재감염율 (%)	종피색*	외관품질** (1-9)	전당도 (Brix' %)
일반묘	1,622	100	100	20.5	5	18.9
무병주	2,210	136	5	26.1	9	23.1

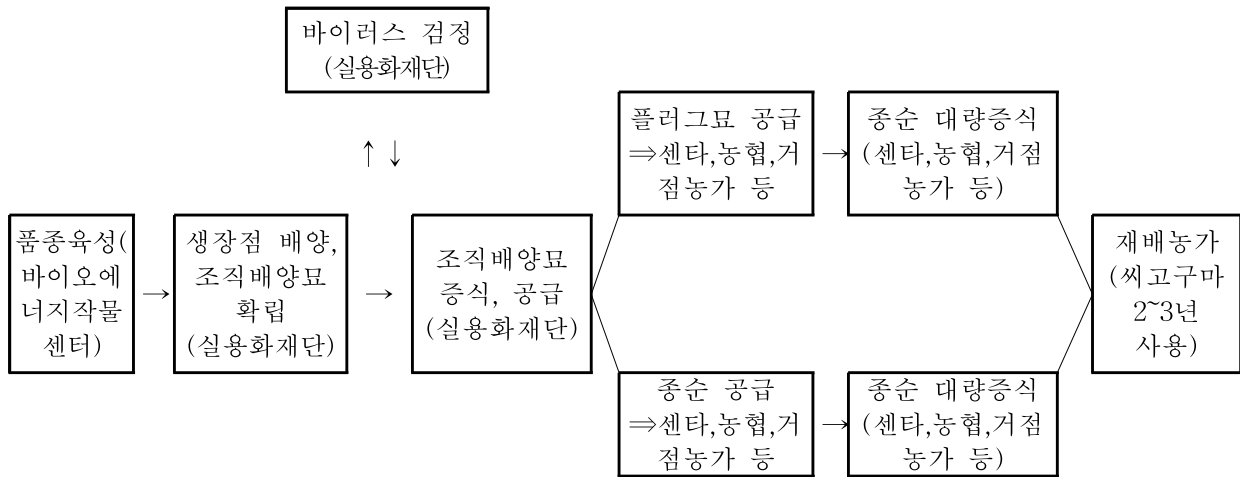
* 종피색 : 색차계 a 값(적색도)

** 외관품질 : 9(상), 중(5), 1(하)

신황미 품종을 재배하여 일반묘와 무병주의 수량 및 품질 특성을 살펴본 결과, 일반묘에 비해 무병주의 10a당 수량은 2,210kg 36% 증수되었고, 바이러스 감염율은 5%로 미미하였으며, 종피색도 26.1로 좋았고 전당도(Brix')는 23.1%로 일반묘에 비해 높은 당도를 보였다(표 3-2-4-3).

나. 무병 주산지 보급 및 우수성 실증 평가

(1) 고구마 무병주 주산지 보급 체계



고구마 바이러스 무병주 보급체계에서는 바이오에너지 작물센터에서 품종을 육성하면 농업기술실용화재단에서 성장점배양, 조직배양묘 확보 후 실용화재단에서 바이러스 검정 후 조직 배양묘 증식하여 바이러스 프리 플러그묘를 농업기술센터, 농협, 작목반 등에 공급한다. 이를 이용하여 중순을 대량 증식하여 재배 농가에 공급하는 한편 실용화재단에서 바이러스 무병묘를 증식하여 농업기술센터, 농협, 작목반 등에 공급하여 재배 농가 공급하여 씨고구마 생산 후 2~3년간 사용한다.

(2) 고구마 무병 주산지 보급 및 우수성 실증 평가

고구마 바이러스 무병주의 주요특성과 우수성을 검정하기 위해 수원 등 5개소에서 시험을 수행하였다. 5개소의 삽식기는 2011년 5월 상순. 수확기는 10월 중순이었다. 재식밀도는 70cm×20cm로 하고 비닐피복 하였으며, 시비량 및 기타 처리는 농촌진흥청 표준재배법에

준하였다.

표 3-2-4-4 고구마 바이러스 무병주와 일반묘 생육 및 수량성 비교

(수원)

품종명	구분	넙쿨 무게 (kg/10a)	넙쿨 길이 (cm)	상 품 괴근수량 (kg/10a)	수량 지수	주 당 괴근수 (개/주)	괴 근 평균중 (g/개)	총괴근 수 량 (kg/10a)
신 황미	일반묘	2,800	230	1,500	100	2.0	120	1,700
	무병주	2,650	240	2,100	140	2.2	130	2,350
주 황미	일반묘	2,710	150	2,500	100	2.5	140	2,700
	무병주	3,020	165	2,800	112	2.8	170	3,060
신자미	일반묘	2,510	150	2,183	100	1.6	140	2,230
	무병주	2,730	160	2,460	113	2.2	175	2,600
연 황미	일반묘	1,600	160	2,050	100	2.1	115	2,150
	무병주	1,710	130	2,250	110	2.3	140	2,410

일반묘 및 무병주를 재배한 결과, 무병주 재배는 일반묘에 비해 넙쿨무게는 주황미와 신자미는 약간 많았으며, 넙쿨길이는 비슷하였고 상품 괴근수량은 연황미, 주황미, 신자미에서 약 10~13% 약간 높았으며, 신황미는 40% 많았고 주당 괴근수는 비슷하여 0.2~0.6개 많았으며 괴근 평균무게는 연황미 140g 125%, 주황미 170g 30%, 신자미 175g 135% 높았으며, 기호성이 높은 수량이었다.

표 3-2-4-5 고구마 바이러스 무병주와 일반묘 생육 및 수량성 비교

(무안)

품종명	구분	넙쿨 무게 (kg/10a)	넙쿨 길이 (cm)	상 품 괴근수량 (kg/10a)	수량 지수	주 당 괴근수 (개/주)	괴 근 평균중 (g/개)	총괴근 수 량 (kg/10a)
신 황미	일반묘	3,472	299	2,270	100	1.4	243	2,330
	무병주	2,972	288	3,603	159	2.3	235	3,702
주 황미	일반묘	2,333	152	3,393	100	3.1	163	3,537
	무병주	3,028	176	4,568	135	3.5	199	4,690
신자미	일반묘	2,722	155	3,173	100	2.2	214	3,238
	무병주	3,112	163	3,392	107	2.6	198	3,507
연 황미	일반묘	1,583	164	2,153	100	1.9	168	2,278
	무병주	1,583	129	2,508	116	2.2	173	2,662

무병주재배는 일반묘에 비해, 넙쿨무게는 주황미와 신자미에서 약간 많았으며, 넙쿨길이는 비슷하였고 상품 괴근수량은 연황미, 주황미, 신자미에서 10~13% 약간 높았으며, 신황미에서 증가량이 40%로 가장 많았고, 주당 괴근수는 비슷하여 0.2~0.6개 많았으며, 괴근 평균무게는

연황미 140g 125%, 주황미 170g 30%, 신자미 175g 135% 증가하였으며, 기호성이 높은 수량이었다.

표 3-2-4-6 고구마 바이러스 무병주와 일반묘 생육 및 수량성 비교 (논산)

품종명	구분	넙쿨무게 (kg/10a)	넙쿨길이 (cm)	상품 괴근수량 (kg/10a)	수량지수	주당 괴근수 (개/주)	괴근평균중 (g/개)	총괴근수량 (kg/10a)
신황미	일반묘	3,000	242	1,620	100	2.1	119	1,790
	무병주	2,500	241	2,193	135	2.5	132	2,323
주황미	일반묘	3,055	149	2,733	100	2.8	145	2,903
	무병주	3,500	151	3,547	130	3.0	179	3,672
신자미	일반묘	2,278	128	1,835	100	1.8	155	1,893
	무병주	2,000	125	2,060	112	1.6	199	2,082
연황미	일반묘	1,667	165	2,153	100	2.9	113	2,440
	무병주	1,833	115	2,452	114	2.4	153	2,596

무병주 재배는 일반묘에 비해, 넙쿨무게는 신자미에서 278kg 많았고 신황미에서는 500kg이 적었다. 넙쿨길이는 비슷하였고 상품 괴근 수량지수는 주황미와 신황미에서 130~135, 연황미와 신자미에서 12~14 정도 약간 높았으며, 괴근 평균무게는 신자미 40g, 연황미 40g, 주황미 34g, 신황미 113g으로 괴근 평균수량 높은 경향 이었다.

표 3-2-4-7 고구마 바이러스 무병주와 일반묘 생육 및 수량성 비교 (익산)

품종명	구분	넙쿨무게 (kg/10a)	넙쿨길이 (cm)	상품 괴근수량 (kg/10a)	수량지수	주당 괴근수 (개/주)	괴근평균중 (g/개)	총괴근수량 (kg/10a)
신황미	일반묘	5,167	436	1,452	100	1.2	181	1,577
	무병주	4,792	437	1,718	118	1.7	152	1,833
주황미	일반묘	2,750	215	1,973	100	1.9	158	2,145
	무병주	4,583	250	3,120	158	3.3	144	3,332
신자미	일반묘	4,500	231	1,272	100	1.4	141	1,328
	무병주	3,667	225	2,135	168	2.1	156	2,207
연황미	일반묘	2,083	282	1,517	100	2.1	108	1,702
	무병주	2,750	391	2,105	139	2.6	121	2,307

무병주재배는 일반묘에 비해, 넙쿨무게는 주황미에서 1,833kg, 연황미에서 667kg 많았고 신황미에서는 375kg 신자미에서는 833kg 적었다. 넙쿨길이는 지역간에 가장 길었으나 비슷하였고 상품 괴근 수량지수는 주황미가 1,147kg 158%, 신자미가 863kg 168%로 가장 높았고, 연황미가 588kg 139%, 신황미가 266kg 18%, 정도 높았으며 괴근 평균무게는 신자미 15g, 신황미 13g으로 무거웠으며, 주황미 29g, 주황미 29g 정도가 낮았으며 괴근 평균수량

높은 경향 이었다.

표 3-2-4-8 고구마 바이러스 무병주와 일반묘 생육 및 수량성 비교

(보령)

품종명	구분	넙쿨 무게 (kg/10a)	넙쿨 길이 (cm)	상 품 괴근수량 (kg/10a)	수량 지수	주 당 괴근수 (개/주)	괴 근 평균중 (g/개)	총괴근 수 량 (kg/10a)
신 황미	일반묘	4,950	374	1,668	100	1.3	120	1,807
	무병주	4,500	303	1,913	115	2.2	160	2,255
주 황미	일반묘	3,117	152	2,020	100	2.2	156	2,167
	무병주	4,528	190	3,160	156	2.7	173	3,402
신자미	일반묘	3,445	158	2,155	100	1.9	161	2,293
	무병주	3,362	142	2,470	115	2.0	164	2,618
연 황미	일반묘	2,445	134	2,162	100	2.2	155	2,412
	무병주	3,583	279	2,705	125	2.8	170	3,053

무병주는 일반묘에 비해 넙쿨무게에서 주황미 1,411kg, 연황미 1,138kg, 신황미 450kg, 많았고 신자미 83kg 적었음. 넙쿨길이는 일반묘와 비슷하였고 상품 괴근 수량지수는 주황미 156, 연황미 125으로 가장 높았고, 신자미, 신황미는 각 각 15%정도 수량이 높았으며 괴근 평균무게는 신황미 40g, 주황미 17g, 연황미 15g 정도 무거운 경향 이었다.

표 3-2-4-9 고구마 바이러스 무병주와 일반묘 생육 및 수량성 비교(종합) (수원 등 5개지역)

품종명	구분	넙쿨 무게 (kg/10a)	넙쿨 길이 (cm)	상 품 괴근수량 (kg/10a)	수량 지수	주 당 괴근수 (개/주)	괴 근 평균중 (g/개)	총괴근 수 량 (kg/10a)
신 황미	일반묘	3,877	316	1,702	100	1.6	157	1,841
	무병주	3,483	302	2,305	135	2.2	162	2,493
주 황미	일반묘	2,793	164	2,524	100	2.5	152	2,690
	무병주	3,732	186	3,439	136	3.1	173	3,631
신자미	일반묘	3,091	164	2,124	100	1.8	162	2,196
	무병주	2,974	163	2,503	118	2.1	178	2,603
연 황미	일반묘	1,876	181	2,007	100	2.2	132	2,196
	무병주	2,292	209	2,404	120	2.5	151	2,605

수원 등 5개지역을 종합적으로 일반묘에 비해 무병주는 품종별로 10a당 넙쿨무게가 주황미에서 939kg, 연황미에서 416kg 무거웠고, 신황미에서는 일반묘에 비해 450kg, 신자미에서는 83kg으로 적었다. 넙쿨길이는 비슷하였고, 10a당 상품 괴근 수량지수는 주황미와 신황미에서 135~136, 연황미, 신자미는 118~120정도 수량이 높았으며 괴근 평균중은 주황미 21g, 연황미 19g, 신자미 16g, 신황미 5g정도 각 각 일반묘구보다 개당 무게가 무거워

상품수량이 높은 경향 이었다.

다. 무병주 주산지 대단위 산업화

(1). 주산지 고구마 작목반 대단위 실증재배 및 상업화 기술 이전

표 3-2-4-10. 년도별 무병 씨고구마 공급현황

(단위 : kg)

품종명	년도별			계	품종명	년도별			계
	'11	'12	'13			'11	'12	'13	
대유미	605	3,640	3,420	7,665	건풍미	275	-	-	275
신건미	3,480	2,055	1,600	7,135	울 미	80	-	-	80
신황미	1,108	778	-	1,886	고건미	779	-	-	779
연자미	720	500	-	1,220	신자미	4,089	-	-	4,089
연황미	2,541	8,440	4,947	15,928	서둔2호	160	720	-	880
주황미	1,385	715	1,040	3,140	서둔1호	617	250	-	867
진홍미	1,166	1,320	800	3,286	강화수집종	-	1,120	500	1,620
신울미	180	-	-	180	청원수집종	40	100	120	260
계	11,185	17,448	11,807	40,440	계	6,040	2,190	620	8,850

전년도에 바이러스 무병묘를 사용하여 대유미 등 16품종을 3년간에 총 49,290kg을 분양하였으며 연황미 15,928kg을 가장 많이 분양하였고, 지역수집종의 특성이 양호한 지역 재래종 1,880kg 분양 하였다

표 3-2-4-11. 고구마 바이러스 플러그묘 공급 현황

(단위 : 주)

품종명	공 급 연 도 별					계
	2011	2012	2013	2014	2015	
대유미	10,530	35,680	5,800	10,000	11,000	73,010
신건미	8,694	-	6,600	30,000	-	45,294
신황미	4,543	600	7,800	100	-	13,043
연황미	49,760	50,690	12,700	10,000	3,750	126,900
주황미	5,860	-	-	2,500	-	8,360
진홍미	4,470	12,890	1,000	100	-	18,460
고건미	-	-	10,900	-	1,411	12,311
신울미	-	-	4,200	10,000	3,600	17,800
신자미	-	1,400	-	2,000	-	3,400
연자미	9,580	-	3,200	-	-	12,780
서둔 1호	5,260	15,390	-	-	-	20,650
서둔 3호	5,000	42,960	21,400	67,200	5,000	141,560
강화수집종	3,520	13,620	2,300	35,000	1,262	55,702
논산수집종	1,650	28,330	31,000	-	-	60,980
해남수집종	4,830	9,000	-	-	-	13,830
안면수집종	-	19,730	13,600	100	2,000	35,430
안노베니	-	-	1,800	250	1,000	3,050
안노이모	-	-	21,200	26,300	12,238	59,738
베니사쯔마	-	-	9,400	-	-	9,400
소 계	113,697	230,290	152,900	193,550	41,261	731,698

고구마 바이러스 플러그묘 공급은 연황미 126,900주, 서둔3호 141,560주를 생산 공급하였고 '11년도부터 '15년도까지의 공급현황은 2012년도 대유미 등 11품종 230,290주를 가장 많이 공급 하였으며 5년 기간에 총 19품종 763,828주를 생산하여 지역의 농업기술센터 및 농협, 주산단지, 지역 작목반에 공급하였다.

표3-2-4-12. 고구마 바이러스 무병종순 공급 현황

(단위 : 주)

품종명	공 급 연 도 별					계
	2011	2012	2013	2014	2015	
대유미	28,532	125,303	165,000	22,935	12,600	354,370
신건미	30,053	37,000	35,000	30,936	-	132,989
신황미	57,592	18,520	100	100	-	76,312
연황미	91,897	156,932	60,500	13,850	14,600	337,779
주황미	21,441	38,300	-	-	-	59,741
진홍미	21,780	112,537	16,025	2,300	2,000	154,642
신올미	-	-	5,000	37,050	50,000	92,050
신자미	3,000	40	50	1,500	-	4,590
연자미	25,237	-	-	-	-	25,237
서둔 1호	6,228	45,737	-	-	-	51,965
서둔 2호	10,430	131,458	43,500	43,527	-	228,915
서둔 3호	-	-	-	-	104,100	104,100
강화수집종	33,617	17,277	-	102,194	4,200	157,288
논산수집종	4,340	2,459	16,120	-	-	22,919
안면수집종	875	22,459	-	-	-	23,334
안노베니	-	-	-	-	33,485	33,485
안노이모	-	-	-	35,900	86,500	122,400
베니사쯔마	-	1,500	-	3,400	3,200	8,100
소 계	335,022	709,522	341,295	293,692	310,685	1,990,216

고구마 바이러스 무병종순 공급은 2012년도에 13품종 709,522주 생산 공급, 가장 많이 공급한 품종은 대유미 (354,370주), 연황미 (337,779주) 등 이었고 18품종 1,990,216주를 생산하여 지역의 농업기술센터 및 농협, 주산단지, 지역 작목반에 공급하였다

(2) 무병주 및 일반 고구마묘의 생산량 및 품질 비교평가

고구마 바이러스 무병주 및 일반 고구마묘의 생산량 및 품질 비교 평가하기위해 충남 논산시 노성면에서 시험을 수행을 하였다. 삼식기는 2012년 5월 23일. 수확기는 9월 27일이였다.

재식밀도는 70cm×20cm로 하고 비닐피복 하였으며, 시비량 및 기타처리는 농촌진흥청 표준재배법에 준하였다.

표 3-2-4-13 고구마 생육 및 수량조사

(논산)

품 종	구 분	넙쿨무게 (kg/10a)	넙쿨길이 (cm)	상 품 괴근수량 (kg/10a)	수 량 지 수	주 당 괴근수 (개/주)	괴 근 평균중 (g/개)	총 괴 근수량 (kg/10a)
연 황미	일반묘	1,459	159	2,311	100	2.9	105	2,432
	무병묘	1,695	163	2,750	119	3.2	141	2,915
주 황미	일반묘	2,983	137	2,672	100	2.8	139	2,932
	무병묘	3,296	146	3,420	128	3.0	162	3,554
대유미	일반묘	2,950	185	2,409	100	2.6	142	2,746
	무병묘	2,911	179	3,084	128	2.9	168	3,392
신 황미	일반묘	3,095	216	1,750	100	2.4	129	1,934
	무병묘	2,820	225	2,273	130	2.7	137	2,296
신건미	일반묘	2,971	191	2,133	100	2.5	181	2,432
	무병묘	2,989	198	2,474	116	2.8	194	2,647

넙쿨무게는 무병묘를 일반묘에 대비하면, 10a당 넙쿨무게는 주황미, 연황미가 236~313kg생체량이 많았고 대유미, 신건미는 일반묘구와 비슷하였고 넙쿨길이는 연황미 등 4품종은 일반묘보다 4~9cm 정도 길었으며 상품괴근수량 지수는 116~130정도 수량이 높았으며, 괴근 평균중은 일반묘 대비 연황미 36g, 대유미 26g, 주황미 23g, 신건미 13g, 신황미 8g 순이었고 총괴근 10a당 수량은 주황미 3,554kg, 대유미 3,392kg, 연황미 2,915kg, 신황미 2,296kg으로 수량이 높아 일반묘 보다 무병묘 수량이 현저히 높았다.

표 3-2-4-14 식미 및 당도특성

품 종 명	구 분	식미 (1-9)	찢고구마 당도 (Brix %)	전분가 (%)	전분수량 (kg)
연 황미	일반묘	5	31.0	22.4	567
	무병묘	5	31.2	22.5	569
대유미	일반묘	5	25.0	26.7	688
	무병묘	5	25.0	26.9	689

일반묘 대비 무병묘의 식미는 비슷하였으며 찢고구마 당도, 전분가, 전분 수량은 일반묘와 무병묘와 차이를 보이지 않았으나 당도는 연황미가 높았고 전분가와 전분 수량은 대유미가 높았다. 경도는 원하는 변형에 필요한 힘(생고구마 : 2mm probe, 찢고구마 : 36mm probe 사용) 표현하며, 점착성은 샘플과 probe가 떨어지는데 필요한 힘을 표현하고 검성은 반고체 상태의 샘플을 삼킬 수 있는 상태로 만드는 성질을 말하며 씹힘성은 고체 상태의 샘플을 삼킬 수 있는 상태로 만드는 성질을 표현한다. 생고구마 경도는 일반묘와 무병묘 차이는 없었으며 찢고구마의 경도, 점착성, 검성, 씹힘성 등은 일반묘구와 무병묘구에서는 차이는 없었다.

표 3-2-4-15 물리적 특성

품 종 명	구분	생고구마		찢고구마		
		경도(kg)*	경도(kg)*	점착성**	검성***	씹힘성****
연황미	일반묘	2,214	1,522	-179.1	150.0	36.5
	무병묘	2,207	1,530	-181.1	151.1	35.9
대유미	일반묘	3,316	5,919	-49.2	1022.1	298.7
	무병묘	3,321	5,911	-49.0	1026.4	298.1

표 3-2-4-16 고구마 전분의 호화 특성

품 종 명	구 분	최고점도 (A)	최저점도 (B)	최종점도 (C)	강하점도 (A-B)	응집점도 (C-B)	호화개시점 (°C)
연황미	일반묘	288.0	104.5	170.8	183.5	66.3	75.7
	무병묘	288.1	104.4	170.6	183.7	66.2	75.7
대유미	일반묘	315.1	122.3	184.7	192.8	62.4	78.1
	무병묘	315.6	122.5	185.3	193.1	62.8	78.0

전분의 호화성은 최고 점도, 최저점도, 최종점도, 강하점도, 응집점도, 호화개시점도 일반묘구와 무병묘구에서 대비하면 차이점이 없었으나 연황미와 대유미 품종간에는 대유미가 최고, 최저, 최종점도, 강하점도가 높았다.

라. 주산지 고구마 작목반 대단위 실증재배 및 산업화 기술 이전

고구마 바이러스 플러그묘를 약 30만주를 생산하여, 농업기술센터 8개기관, 5개지역 작목반에 10만주를 보급하였으며, 나머지 약 20만주를 증식하여 현재 287천주 바이러스 무병종순을 생산하여 농업기술센터 11개기관, 24개 지역작목반에 공급하였으며. 경기도 여주시 작목반 등 8개지역에 바이러스 플러그묘 종순 대량증식 방법 및 기술보급으로 종순 대량생산 기술 이전하였다.

(1) 무병주 및 일반생산 고구마묘의 생산량 및 품질 비교 평가

고구마 바이러스 무병주 및 일반 고구마묘의 생산량 및 품질 비교 평가하기위해 충남 태안군, 충북 산척면에서 시험을 수행을 하였다. 2013~14년 2년간 연황미 등 5품종 공시하였으며, 삽식기 5월 23~29일. 수확기 9월 25~28일이였다. 재식밀도는 70cm×20cm로 하고 비닐피복 하였으며, 시비량 및 기타처리는 농촌진흥청 표준재배법에 준하였다

표 3-2-4-17 고구마 무병묘와 일반묘의 생육 및 수량조사 (태안, 산척)

(2013년도)

품 종	구 분	넙 클 무 게 (kg/10a)	넙 클 길 이 (cm)	상 품 괴 근 수 량 (kg/10a)	수 량 지 수	주 당 상 저 수 (개/주)	괴 근 평 균 중 (g/개)	총 괴 근 수 량 (kg/10a)
연 황 미	일반묘	1,410	138	2,153	100	3.2	98	2,094
	무병묘	1,529	147	2,703	126	3.8	135	2,311
주 황 미	일반묘	1,905	141	2,529	100	2.9	132	2,741
	무병묘	2,118	148	2,867	114	3.2	159	2,993
대 유 미	일반묘	1,709	173	2,241	100	3.2	131	2,396
	무병묘	2,381	189	2,947	132	4.1	148	3,115
신 황 미	일반묘	2,005	227	1,950	100	2.8	118	2,396
	무병묘	2,495	245	2,515	129	3.1	149	2,620
신 건 미	일반묘	1,975	141	2,047	100	3.1	157	2,205
	무병묘	2,090	162	2,395	117	3.6	183	2,553

10a당 넙클무게는 일반묘구보다 무병묘구에서 대유미 672kg, 신황미 490kg, 주황미 213kg으로 많았으며 상품괴근 10a 수량은 대유미 2,947kg, 신황미 2,515kg, 연황미 2,703kg으로 수량지수 126~132정도 높았고 괴근 1개 평균중은 연황미 37g, 신황미 31g, 주황미 27g, 신건미 26g으로 무병묘구에서 현저히 높았으며, 총괴근수량은 일반묘보다 무병묘구 10a당 수량이 대유미 719kg, 신건미 348kg, 주황미 252kg, 신황미 224kg, 연황미 217kg으로 무병묘구에서 현저히 높았다.

표 3-2-4-18. 고구마 무병묘와 일반묘의 생육 및 수량조사 (태안, 산척)

(2014년도)

품 종	구 분	넙 클 무 게 (kg/10a)	넙 클 길 이 (cm)	상 품 괴 근 수 량 (kg/10a)	수 량 지 수	주 당 상 저 수 (개/주)	괴 근 평 균 중 (g/개)	총 괴 근 수 량 (kg/10a)
연 황 미	일반묘	1,109	98	1,913	100	2.6	120	2,116
	무병묘	1,452	132	2,421	127	3.5	141	2,637
주 황 미	일반묘	1,753	120	2,115	100	2.7	122	2,347
	무병묘	1,926	138	2,581	122	3.0	139	2,793
대 유 미	일반묘	1,647	112	2,073	100	3.2	141	2,301
	무병묘	1,839	153	2,839	137	3.8	145	3,029
신 황 미	일반묘	1,720	151	2,150	100	2.7	119	2,285
	무병묘	1,905	177	2,614	122	3.4	138	2,920
신 건 미	일반묘	1,810	149	1,983	100	2.6	132	2,189
	무병묘	1,959	157	2,137	108	3.5	139	2,335

넝쿨무게는 일반묘구 보다 무병묘구에서 10a당 연황미 343kg, 대유미 192kg, 신황미 185kg, 주황미 173kg,으로 많았으며, 상품괴근 수량지수는 대유미 137(2,839kg), 연황미 127(2,421kg) 주황미122(2,581kg), 신황미 122(2,614kg) 수량지수와 괴근 수량이 높았고 괴근 평균중 연황미 141g 일반묘 대비 21g으로 가장 높았으며 총 괴근수량은 10a당 대유미 3,029kg으로 일반묘 대비 728kg 가장 높았고, 신건미 2,335kg으로 일반묘 대비 146kg으로 가장 낮았다.

표 3-2-4-19 고구마 무병묘와 일반묘의 생육 및 수량조사 (종합)

품 종	구 분	넝쿨무게 (kg/10a)	넝쿨길이 (cm)	상 품 괴근수량 (kg/10a)	수 량 수 지 수	주 당 상저수 (개/주)	괴 근 평균중 (g/개)	총 괴근수량 (kg/10a)
연 황미	일반묘	1,300	118	2,033	100	2.9	109	2,105
	무병묘	1,491	140	2,562	126	3.7	138	2,474
주 황미	일반묘	1,829	131	2,322	100	2.8	127	2,544
	무병묘	2,022	143	2,724	117	3.1	149	2,893
대 유미	일반묘	1,678	143	2,157	100	3.2	136	2,349
	무병묘	2,110	171	2,893	134	4.0	147	3,072
신 황미	일반묘	1,863	119	2,050	100	2.8	119	2,341
	무병묘	1,200	211	2,565	125	3.3	144	2,770
신 건미	일반묘	1,893	145	2,015	100	2.9	145	2,197
	무병묘	2,025	160	2,266	112	3.6	161	2,444

2년간 종합성적은 10a당 일반묘 대비 무병묘 넝쿨무게는 대유미 432kg으로 가장 무거웠고 주황미 193kg, 연황미 191kg 정도 무거웠으나, 신황미는 일반묘에 비해 663kg 정도 낮았고, 상품 괴근 수량지수는 대유미 134(2,893kg), 연황미 126(2,562kg), 신황미 125(2,565kg)순으로 높았으며, 괴근 평균중은 일반묘구보다 25g, 주황미 22g, 연황미 19g 순으로 무거웠으며, 총 괴근수량은 일반묘 보다 대유미 723kg, 신황미 429kg, 연황미 369kg, 주황미 349kg, 신건미 247kg이 각 각 높았다.

표 3-2-4-20 지역별고구마 바이러스 RT-PCR 검정 결과

조사지역	품종명	구분	검정주수	SPFMV	SPGV	SPLCV	SWPLV
충남 태안	연황미	일반묘	45	14	0	3	0
		무병묘	45	14	0	0	0
충북 산척	대유미	일반묘	45	14	0	0	0
		무병묘	45	0	0	0	0
합 계 (감염율 : %)		-	180 (100)	42 (23.3)	0 (0)	3 (1.7)	0 (0)

DNA 추출은 FACT "CTAB Extraction method" 이용하였으며, RNA 추출은 Intron "easy - BLUE Total RNA Extraction kit" 이용하였고 바이러스검정 : PLUTUS 바이러스정키트 이용 RT-PCR 분석하였으며, 조사시기는 생육중기 (9월 .24일)에 조사 하였다.

태안지역 단지에서 연황미 품종에서 SPFMV 일반묘, 무병묘구에서 14개체에서 감염되었으나 SPLCV 연황미 일반묘구에서 3개체 발병, SPGV, SWPLV은 감염되지 않았다.

표 3-2-4-21 지역별 고구마 바이러스 RT-PCR 검정 결과 (조사일 : 2014년도)

조사지역	품종명	구분	조사 시기 (월.일)	SPFMV	SPGV	SPLCV	SWPLV
충남 태안	연황미	일반묘	5. 26	0	0	0	0
			8. 21	40.0	0	0	0
			10. 12	2.2	0	0	0
		무병묘	5. 26	0	0	0	0
			8. 21	0	0	0	0
			10. 12	0	0	0	0
충북 산척	대유미	일반묘	5. 25	0	0	0	0
			8. 22	15.5	0	0	0
			10. 13	4.4	0	0	0
		무병묘	5. 25	0	0	0	0
			8. 22	0	0	0	0
			10. 13	0	0	0	0

삽식 시기에는 바이러스가 감염되지 않았고 생육중기에 태안지역에서 연황미 SPFMV 40% 감염되었고 산척지역 대유미 SPFMV 15.5% 감염되었고 수확기 태안지역 연황미 일반묘 SPFMV 2.2%, 산척지역 대유미 일반묘 4.4% 감염되었으나 SPGV, SPLCV, SWPLV는 감염되지 않았고 태안 연황미 무병묘, 산척 대유미에서도 감염이 되지않았다.

표 3-2-4-22 식미 및 당도특성 (2013년도)

품종명	구분	식미 (1-9)	찢고구마 당도 (Brix %)	전분가 (%)	전분수량 (kg)
연황미	일반묘	5	30.7	23.8	593
	무병묘	5	31.2	22.5	569
대유미	일반묘	5	24.8	27.7	619
	무병묘	5	25.0	26.9	689

식미는 일반묘와 무병묘구에서 차이가 없었으며.. 찢고구마 당도는 연황미 무병묘에서 0.5% 높았고, 대유미는 24.8%로 비슷하였으며 전분가는 연황미 일반묘에서 1.3%, 대유미 일반묘구에서 0.8% 정도 높았고 전분수량은 연황미 일반묘에서 24kg, 대유미에서 무병묘구에서 70kg 정도 높았다.

표 3-2-4-23 식미 및 당도특성

(2014년도)

품 종 명	구 분	찐고구마 당도 (Brix %)	전분가 (%)	전분수량 (kg)
연황미	일반묘	31.1	24.9	484
	무병묘	31.5	24.7	491
대유미	일반묘	30.3	25.3	491
	무병묘	30.9	25.5	505

찐고구마 당도는 일반묘와 무병묘구차이는 비슷하였지만 전분수량은 연황미 무병묘구가 7kg, 대유미품종은 일반묘보다 무병묘구에서 14kg이 많았다

표 3-2-4-24 식미 및 당도특성 (종합)

(2013~2014년도)

품 종 명	구 분	찐고구마 당도 (Brix %)	전분가 (%)	전분수량 (kg)
연황미	일반묘	30.9	24.4	539
	무병묘	31.4	23.6	530
대유미	일반묘	27.6	26.5	555
	무병묘	28.0	26.2	597

찐고구마 당도는 연황미 무병묘구에서 31.4%로 일반묘구보다 0.5% 높았고, 대유미 품종에서도 무병묘구에서 0.4%정도 비슷하였고 전분가는 연황미 일반묘구 0.8%, 대유미 0.3%로 비슷하였으며 전분수량은 연황미 일반묘에 9kg, 대유미 무병구에서 42kg이 많았다

표 3-2-4-25 품종별 생고구마 경도 및 색차

(2013년도)

품 종 명	구 분	생고구마 경도 (g)	색차경도부위	색차값		
				L(명도)	a(적색도)	b(황색도)
연황미	일반묘	2,294	표피	43.20	16.21	8.86
			육질	83.53	6.11	40.49
	무병묘	2,305	표피	41.35	18.63	9.52
			육질	83.92	6.75	40.82
대유미	일반묘	2,359	표피	48.28	14.71	11.35
			육질	88.21	-0.19	23.94
	무병묘	2,392	표피	49.62	16.89	14.27
			육질	88.98	-0.04	24.86

* Means with the same letter are not significantly different at 0.05 prodadilty level according to Duncan's Multiple Test.

생고구마 경도는 연황미 무병구에서 11g, 대유미 무병묘구에서 33g 강하였으며, 색차값 명도는 표피에는 연황미 일반묘구에서 1.85, 대유미 일반묘보다 무병구에서 1.34정도 높았고, 적색도는 연황미 표피는 일반묘보다 무병묘구에서 2.42, 육질 무병묘구 0.64정도 나타났으며, 대유

미는 무병구에서 2.18정도 높았으며, 황색도는 연황미 무병묘구에서 표피 0.66, 육질은 0.33정도 높았고 대유미 무병묘구 표피 2.92, 육질 0.92로 높았다

표 3-2-4-26 품종별 생고구마 경도 및 색차 (2014년도)

품종명	구분	생고구마 경도 (g)	색차경도부위	색차값		
				L(명도)	a(적색도)	b(황색도)
연황미	일반묘	1,368	표피	47.37	16.02	10.39
			육질	84.81	5.43	42.22
	무병묘	1,395	표피	49.29	19.05	11.94
			육질	84.75	5.91	43.95
대유미	일반묘	2,253	표피	46.77	16.27	10.71
			육질	87.66	-0.64	27.55
	무병묘	2,271	표피	48.71	18.19	13.05
			육질	88.75	-0.60	29.51

* Means with the same letter are not significantly different at 0.05 probability level according to Duncan's Multiple Test.

생고구마 경도는 연황미 무병묘구가 27g, 대유미 무병구에서 18g정도 강하였고, 색차값은 명도의 표피는 연황미 무병묘구에서 1.92, 육질은 비슷하였고, 대유미 무병묘구 1.94, 육질 1.09로 높았으며 적색도는 연황미 무병묘구에서 표피 3.03, 육질 무병묘구 0.48 높았고 대유미 일반묘보가 무병묘구에서 1.92정도 높았으며, 황색도는 연황미 무병묘구에서 표피 1.55, 육질 1.73정도 높았고, 대유미 무병묘구에서 표피는 2.34, 육질은 1.96 정도 높았다

표 3-2-4-27 품종별 생고구마 경도 및 색차 (종합) (2013~2014년도)

품종명	구분	생고구마 경도 (g)	색차경도부위	색차값		
				L(명도)	a(적색도)	b(황색도)
연황미	일반묘	1,831	표피	45.29	16.12	9.63
			육질	84.17	5.77	41.36
	무병묘	1,850	표피	45.32	18.84	10.73
			육질	84.34	6.33	42.39
대유미	일반묘	2,306	표피	47.28	15.49	11.03
			육질	87.94	-0.42	25.75
	무병묘	2,332	표피	49.17	17.54	13.66
			육질	88.87	-0.32	27.19

* Means with the same letter are not significantly different at 0.0

생고구마 경도는 연황미 무병묘 19g, 대유미 무병묘구에서 26g정도 이었으며, 색차값의 명도는 표피는 연황미 일반묘와 무병묘는 비슷하였고, 육질은 무병묘구 0.17높았고, 대유미

무병묘구 표피는 1.89, 육질은 무병묘구 0.93정도 높았고 적색도는 연황미 무병묘구에서 표피 2.72, 육질 0.56, 대유미 표피는 무병묘구에서 2.05, 황색도는 표피는 연황미 무병묘구에서 1.10, 대유미 무병묘구에서 2.63, 육질은 연황미 무병묘구에서 1.03, 대유미 무병묘구에서 1.44로 높았다.

표 3-2-4-28 품종별 찢고구마 당도 및 유리당 함량 (2013년도)

품종명	구분	찢고구마 당도 (Brix %)	총 유리당 함량 (g/100g D.W)	유리당 함량(g/100g D.W)			
				Fructose	Fructose	Sucrose	Maltose
연황미	일반묘	29.7	15.28	0.65	0.51	1.43	12.79
	무병묘	29.5	15.31	0.62	0.53	1.44	12.88
대유미	일반묘	27.9	11.83	0.19	0.35	1.70	9.38
	무병묘	28.3	11.82	0.23	0.34	1.73	9.40

* Means with the same letter are not significantly different at 0.05 prodadilty level according to Duncan's Multiple Test.

찢고구마의 당도와 총유리당 함량은 연황미, 대유미품종의 무병묘, 일반묘와 비슷하며, 유리당 함량의 Fructose, Fructose, Sucrose, Maltose은 연황미와 대유미는 무병묘와 일반묘 비슷하였고 품종간의 차이는 연황미가 약간 높았다.

표 3-2-4-28 품종별 찢고구마 당도 및 유리당 함량 (2014년도)

품종명	구분	찢고구마 당도 (Brix %)	총 유리당 함량 (g/100g D.W)	유리당 함량(g/100g D.W)			
				Fructose	Glucose	Sucrose	Maltose
연황미	일반묘	31.1	24.01	0.53	0.38	1.41	21.50
	무병묘	31.7	24.29	0.55	0.39	1.43	21.90
대유미	일반묘	29.4	11.62	0.28	0.53	1.49	22.60
	무병묘	29.9	11.70	0.27	0.52	1.53	22.61

* Means with the same letter are not significantly different at 0.05 prodadilty level according to Duncan's Multiple Test.

찢고구마의 당도과 총유리당 함량은 연황미, 대유미품종의 무병묘, 일반묘와 비슷하며, 유리당 함량의 Fructose, Fructose, Sucrose, Maltose은 연황미와 대유미는 무병묘와 일반묘 비슷하였고 품종간의 차이는 연황미가 높았다.

표 3-2-4-29 품종별 찢고구마 당도 및 유리당 함량(종합)

(2013~2014년도)

품종명	구분	찢고구마 당도 (Brix %)	총 유리당 함량 (g/100g D.W)	유리당 함량(g/100g D.W)			
				Fructose	Glucose	Sucrose	Maltose
연황미	일반묘	30.4	19.65	0.59	0.45	1.42	17.15
	무병묘	30.6	19.80	0.59	0.46	1.44	17.39
대유미	일반묘	28.7	11.73	0.24	0.44	1.60	15.99
	무병묘	29.1	11.76	0.25	0.43	1.63	16.01

* Means with the same letter are not significantly different at 0.05 probability level according to Duncan's Multiple Test.

품종별 찢고구마의 당도와 총유리당 함량은 연황미, 대유미품종의 무병묘, 일반묘와 비슷하며, 품종별 차이는 연황미가 당도와 총유리당 함량이 높았으며 Fructose, Fructose, Sucrose, Maltose은 연황미와 대유미는 무병묘와 일반묘 비슷하였고 품종간의 차이는 연황미가 약간 높았다

이상의 결과들을 요약하면 다음과 같다.

가. 무병주 대량생산 기술모델 구축 및 실용형질 특성 검정

(1). 고구마 바이러스 무병주 생산을 위한 성장점 배양은 성장점 배양에 적합한 배지는 MS + BA 0.5mg/L + NAA 0.05 mg/L로 구명 되었다..

(2). 성장점 유래 무병묘 기내 계대배양 증식배율 마디배양에 의한 증식 배지는 LS + NAA 0.1mg/L 이었으며. 마디배양에 따라 차이는 있었지만 40일마다 5배의 증식률을 보였다

(3). 고구마 바이러스 무병주대량생산 기술모델은 씨고구마는 3년간 재배한 이후에는 바이러스 발생율이 높아지기 때문에 3년 주기로 씨고구마를 갱신하면 된다.

(4). 고구마 바이러스 무병주 주요특성 검정

무병주의 주요특성과 우수성을 검정하기 위해 수원 및 무안 등 2개소에서 시험 한 결과 무병주는 상품 괴근 수량이 일반묘에 비하여 7~59% 증가 되었다, “신황미“ 품종에 대한 품질 특성은 무병주에서 종괴색이 26.1로 일반묘 20.5보다 높았고, 외관품질 및 찢당도 (Brix') 23.1%가 일반묘보다 우수하였다

나. 무병주산지 보급 및 우수성 실증 평가

(1) 익산지역에서 재배한 무병주 신자미 품종으로 일반묘에 비하여 68% 증수되었다. 고구마 주산지 5개 지역 고구마 바이러스 무병주를 재배한 경우 일반묘 재배에 비해서 상품괴근 수량이 18~36% 증가되어 농가소득에 기여도가 크기 때문에 금후 대단위 실증재배 및 주산지에 기술이전을 통한 산업화가 절실한 시점이라고 여겨진다.

(2). 고구마 무병 주산지 보급 및 우수성 실증 평가

상품가치가 있는 괴근 최고수량은 전남 무안지역의 무병 주황미 품종(,568kg/10a)이었으며, 익산지역에서 재배한 무병주 신자미 품종으로 일반묘에 비하여 68% 증수 되었고. 고구마

바이러스 무병주를 재배한 경우 일반묘 재배에 비해서 상품피저 수량이 18~36% 증가되어 농가소득에 기여도가 높았다.

다. 무병주 주산지 대단위 산업화

(1) 주산지 고구마 작목반 대단위 실증재배 및 산업화 기술이전

고구마 바이러스 무병묘를 사용 대유미 등 16품종 3년간에 분양 씨고구마 49,290kg 분양하였으며 바이러스 플러그묘 공급은 19품종 763,828주, 바이러스 무병종순 18품종 1,990천주를 생산하여 각 지역의 농업기술센터, 농협, 주산단지, 지역 작목반에 분양하였다.

(2) 무병주 및 일반고구마 생산량 및 품질비교 평가

논산지역 재배된 연황미 등 5품종 중 상품피근수량이 많은 품종은 주황미 3,084kg으로 일반묘보다 128%, 신황미 2,273kg, 130%증수되었으며 식미는 연황미와 대유미는 5정도 비슷하였고 찢고구마 당도, 전분가, 전분수량은 일반묘와 무병묘와 차이는 없었으나 당도는 연황미가 높았고 전분가와 전분 수량은 대유미가 높았다.

라. 주산지 고구마 작목반 대단위 실증재배 및 산업화 기술이전

(1) 무병주 및 일반생산 고구마묘의 생산량 및 품질 비교 평가는 일반묘 대비 무병묘구의 넝쿨무게는 대유미가 432kg 가장 많았고 주황미 193kg, 연황미 191kg 정도 무거웠으나 신황미는 663kg 정도 적었다. 상품피근 수량 지수는 대유미134(2,893kg), 연황미 126(2,562kg), 신황미 125(2,565kg)순으로 높았으며, 피근 평균중은 일반묘구보다 25g, 주황미 22g, 연황미 19g 순으로 무거웠으며, 총피근수량 일반묘보다 대유미 723kg, 신황미 429kg, 연황미 369kg, 주황미 349kg, 신건미 247kg으로 높았다.

(2) 지역별 고구마 바이러스 RT-PCR검정은 '13년도에는 태안지역 생육중기 연황미 품종에서 SPFMV 일반묘, 무병구에서 14개체 감염 되었으나 SPLCV 연황미 일반묘구에서 3개체 감염되었고, 삽식기에는 감염이 되지않았고 생육중기에 태안지역 연황미 SPFMV 40% 감염, 산척지역 대유미 15.5%감염 되었으나 수확기태안지역 연황미 일반묘 SPFMV 2.2%, 산척지역 대유미 일반묘 4.4%감염되었고 SPGV, SPLCV, SWPLV는 감염되지 않았다.

(3) 식미 및 당도 특성은 연황미 무병묘구에서 31.4%로 일반묘구보다 0.5% 높았고, 대유미 품종에서도 무병묘구에서 0.4%정도 비슷하였고 전분가는 연황미 일반묘구 0.8%, 대유미 0.3%로 비슷하였으며 전분수량은 연황미 일반묘에 9kg, 대유미 무병구에서 42kg이 많았다.

(4) 생고구마 경도는 연황미 무병묘 19g, 대유미 무병묘구에서 26g정도 이었으며, 색차값의 명도는 표피는 연황미 일반묘와 무병묘는 비슷하였고, 육질은 무병묘구 0.17높았고, 대유미 무병묘구 표피는 1.89, 육질은 무병묘구 0.93정도 높았고 적색도는 연황미 무병묘구에서 표피 2.72, 육질 0.56, 대유미 표피는 무병묘구에서 2.05, 황색도는 표피는 연황미 무병구에서 1.10, 대유미 무병구에서 2.63, 육질은 연황미 무병묘구에서 1.03, 대유미 무병묘구에서 1.44로 높았다.

(5) 품종별 찢고구마의 당도와 총유리당 함량은 연황미, 대유미품종의 무병묘, 일반묘와 비슷하며, 품종별 차이는 연황미가 당도와 총유리당 함량이 높았으며 Fructose, Fructose, Sucrose, Maltose은 연황미와 대유미는 무병묘와 일반묘에서 비슷하였고 품종간의 차이는 연황미가 약간 높았다.

5. 고구마 무병주 대량 생산기술을 이용한 실증화 및 농가적용

가. 고구마 무병묘 대량 생산기술 실증화

2012년 한국참다래유통사업단 익산지소에 위치한 온실을 이용하여 펠라이트 배지를 이용한 양액재배 시설을 설치하였다. 무병묘는 익산시농업기술센터를 통해 분양 받았다. 2012년도에는 1월 하순 식재 진행 하였으며, 모본이 11 ± 1 마디로 생육하였을 때 적심 하여 측지 분화를 촉진하였다. 2013년도 이후에는 1월 하순~2월 상순에 식재 하여 모본이 11 ± 1 마디로 생육하였을 때 적심과 동시에 모본을 바닥이 높혀 고정편으로 고정하는 방법으로 휘문이를 진행 하여 측지 분화와 동시에 발근을 유도 하였다(Kwon 등, 2005; Oh 등, 2001)(그림 3-2-5-1~3). 이러한 방법으로 발생한 측지는 성장 속도에 따라 6~7마디 성장하였을 때 계속적으로 적심/휘문이를 하는 방법으로 모주를 포함하여 5~6개의 줄기가 바닥면에 묻힐 수 있도록 재배 작업이 진행 되었다.

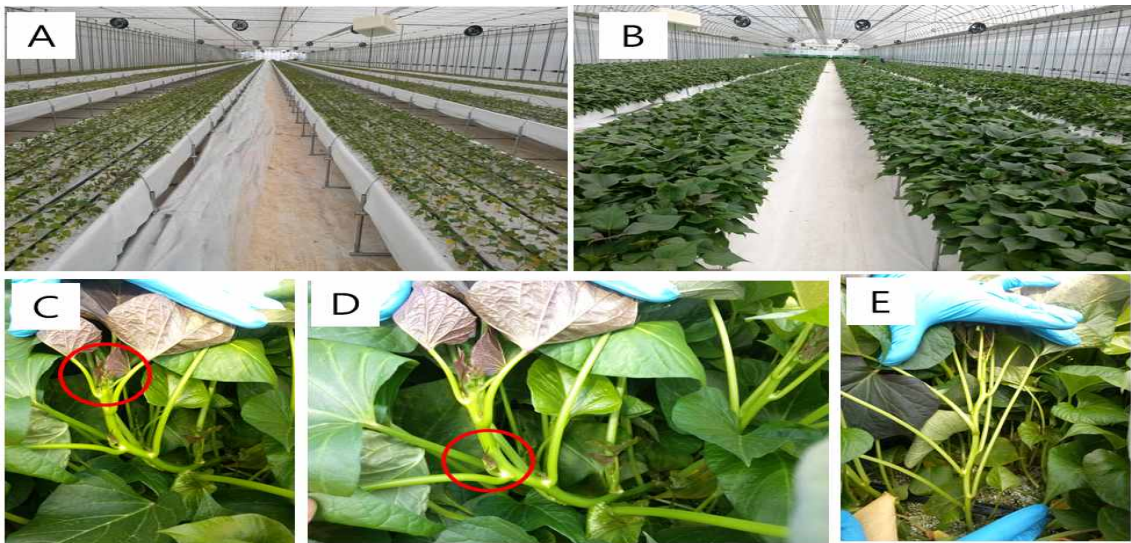


그림 3-2-5-1. 무병묘 증식 시설 및 무병묘 생육상태. A, B-무병묘 증식 시설, C-적심부위(빨간원 안), D-모주로 부터의 출아(빨간원 안), E-정식용 종순 생산

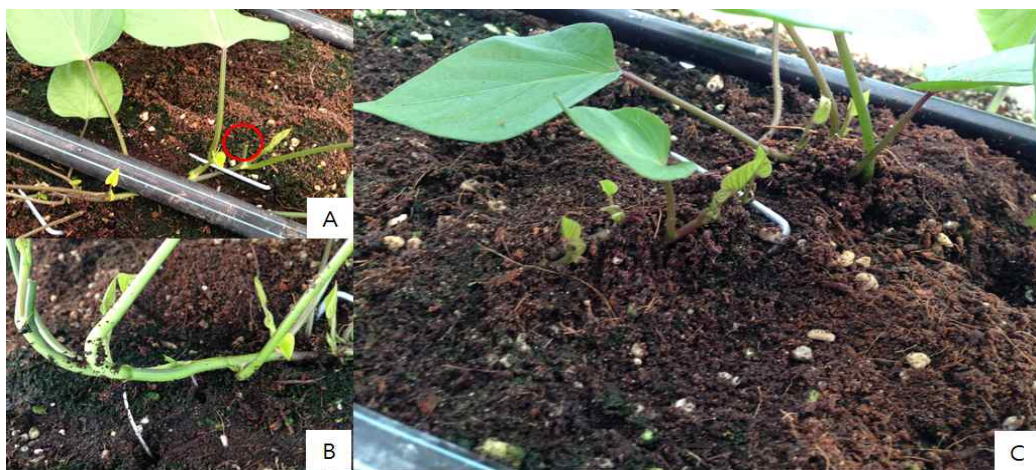


그림3-2-5-2. 고구마 무병묘 식재 후 적심, 휘문이. A-적심부위(빨간원안), B-발근상태, C-분화된 측지

구분	1월			2월			3월			4월			5월			6월		
	상	중	하	상	중	하	상	중	하	상	중	하	상	중	하	상	중	하
식재			↔															
적심					↔↔↔	↔↔↔	↔↔↔	↔↔↔										
휘묻이					↔↔↔	↔↔↔	↔↔↔	↔↔↔										
채묘										↔↔↔↔↔↔↔↔↔↔	↔↔↔↔↔↔↔↔↔↔	↔↔↔↔↔↔↔↔↔↔	↔↔↔↔↔↔↔↔↔↔	↔↔↔↔↔↔↔↔↔↔	↔↔↔↔↔↔↔↔↔↔	↔↔↔↔↔↔↔↔↔↔	↔↔↔↔↔↔↔↔↔↔	
능가분양										↔↔↔↔↔↔↔↔↔↔	↔↔↔↔↔↔↔↔↔↔	↔↔↔↔↔↔↔↔↔↔	↔↔↔↔↔↔↔↔↔↔	↔↔↔↔↔↔↔↔↔↔	↔↔↔↔↔↔↔↔↔↔	↔↔↔↔↔↔↔↔↔↔	↔↔↔↔↔↔↔↔↔↔	

그림3-2-5-3. 고구마 무병묘 대량증식 실증화 재배스케줄

13년도는 한국참다래통사업단의 고구마 무병묘 대량생산 실증화 원년으로 약 모본수 대비 약 6.5배 생산하였으며, 휘묻이 방법 도입과 적정재식간격도입을 진행한 14년도에는 약 29.8배, 15년도는 약 26.5배(모본수 대비) 생산이 가능하였다. 휘묻이 방법과 적정재식간격으로 모본은 13년 대비 20% 수준으로 절감으로 인하여 총 생산량은 유지하며 생산비를 절감 할 수 있었다.

나. 고구마 무병묘 대량 생산 기술 농가적용

도경재배에서 무병묘 자가증식(그림3-2-5-4)은 마디묘를 제조 하여 삼식하는 방법으로 단계는 많고 넓은 면적을 필요로 하는 단점이 있었다. 그러나 위에서 진행된 적심/휘묻이 방법(그림3-2-5-5)을 도입하여 적정모본을 도입하고 단위면적 당 줄기묘 생산 가능 마디를 확보 하여 생산성 향상을 도모 하였다.그리하여 14년도는 329주/평을 생산 하였으나, 15년도에는 427주/평으로 약 30% 생산량을 증가 시킬 수 있었다.



그림3-2-5-4. 고구마 무병묘의 자가증식 방법 비교



그림 3-2-5-5. 토경재배 적심/휘묻이 적용 사례

다. 고구마 무병묘와 일반묘의 고구마 생산량 평가



그림 3-2-5-6. 본 포장에 정식 및 포장재배 전경. A-본포정식, B-발근 후 삼수꺼내기 C-포장재배, D,E-재배생육전경, F-본포에서의 괴근형성

고구마 무병묘 대량생산기술 실증화를 위해 한국참다래유통사업단 익산지소 内の 온실에서 생산된 무병묘와 일반묘의 줄기묘를 채집하여 약115일간 재배 하여 수확량을 조사 하였다. 시험품종은 익산시 농업기술센터로부터 분양 받은 호박고구마로 한국참다래유통사업단에서 직접 재배한 품종을 사용하였다. 정식용 묘는 5월말에 본포에 정식 하였으며 재배지는 해남에서 진행 하였다(그림3-2-5-6).

표3-2-5-1. 2013년, 2014년 무병묘와 일반묘의 상저수량 비교(kg/10a)

구분	2013년	2014년
무병묘	2,620	2,601
일반묘	2,070	1,845

2013년에 무병묘로부터 생산된 고구마의 상저수량은 2,620kg/10a이고 일반묘에서의 상저수량은 2,070kg/10a로 나타났다. 2014년의 상저수량은 무병묘에서 2,601kg/10a, 일반묘에서 1,845kg/10a로 나타나 무병묘로 재배하였을 때가 일반묘를 재배하였을 때 보다 약 30% 가량 생산량이 증가하는 것을 확인 할 수 있었다.(Chung 등, 2005; Yoo 등 2013) 또한 2013년도 수확 시 한국참다래유통사업단의 기준으로 진행한 중량기준에 따른 등급을 확인 하면 무병묘에서 상품성이 우수한 특/상등급의 비율이 10%이상 더 높게 나타났고, 상품성이 떨어지는 비품의 비율은 약 50%낮게 나타난 것을 볼 때 경제적 가치가 더 뛰어난 것으로 판단된다.

표3-2-5-2. 고구마 무병묘와 일반묘의 선별비율(%)

구분	왕대	대	특	상	중	비품
무병묘	8.7	3.4	23.4	31.6	11.1	21.8
일반묘	11.6	0.9	17.3	24.8	4.8	40.6

라. 고구마 무병묘 대량 생산기술 실증화에 따른 경제성 분석

위에서 언급된 2014년 수확량 기준으로 무병묘와 일반묘로 10ha 씩 재배한다고 한다고 할 때 생산량이 무병묘에서는 약260ton, 일반묘에서는 184.5ton이 되며 주산물가액은 임의로 1,000원/kg을 경영비는 한국참다래유통사업단에서 직접 재배 시 소모된 평균 경영비를 적용하여 계산해 보았다.

이때 무병묘가 일반묘에 보다 7,560만 수익을 얻을 수 있을 것으로 추산 되며 이를 극대화 하기 위해서는 무병묘 단위 모본당 생산량 향상으로 재배 면적 확대와 생산단가 인하에 있을 것으로 사료 된다.

표3-2-5-3. 고구마 무병묘와 일반묘의 생산량 경제성 분석(kg, 원)

구분	생산량	주산물가액 ㉠	경영비 ㉡	㉠-㉡
무병묘	260,100	260,100,000	33,819,500	226,280,500
일반묘	184,500	184,500,000		150,680,500

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1 절 연구 목표 달성도

1. 고구마 바이러스 무병주 생산 및 대량번식 시스템 개발

구분(연도)	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차년도 (2010)	조직배양을 통한 바이러스 무병주 생산 체계구축	100	<ul style="list-style-type: none"> - 주요 보급종의 재분화율 향상을 위한 배지 및 성장조절제의 영향 평가 - 성장점 배양을 통한 바이러스 무병주 확보 - 수경재배 시스템을 이용한 고구마 생육 특성조사
2차년도 (2011)	수경재배 시스템을 이용한 무병 씨고구마 생산체계 개발 및 대량증식을 시스템 구축	100	<ul style="list-style-type: none"> - 무병주 생산에 적합한 배지 및 양액 조성, 환경조건의 최적화 평가 - 대량증식을 위한 적정 재배조건 구축 및 실용화에 대한 평가 - 무병 씨고구마 생산체계 개발
3차년도 (2012)	무병주 대량증식 시스템을 통한 무병주의 대량보급 및 보급체계 평가	100	<ul style="list-style-type: none"> - 고품배지경을 이용한 무병묘 대량 증식 체계 개발 - 무병묘 보급에 의한 실증 재배 평가 - 무병주 대량생산 및 보급에 대한 기술적 보완 및 산업화 기술이전
4차년도 (2013)	무병주 대량증식 시스템을 통한 무병주의 대량보급 및 보급체계 평가	100	<ul style="list-style-type: none"> - 무병건전묘 대량생산 및 포장 증식 효율성 증대 - 무병건전묘의 생산보급에 대한 기술적 보완 및 산업화
5차년도 (2014)	무병주 대량증식 시스템을 통한 무병주의 대량보급 및 보급체계 평가	95	<ul style="list-style-type: none"> - 무병건전묘의 생산 및 보급체계를 적용한 무병묘 생산보급 - 산업화에 따른 무병묘 생산보급 사업 및 이용 농가의 경제성 평가

2. 고구마 바이러스병 진단 시스템 개발

구분(연도)	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차년도 (2010)	고구마 바이러스병의 발생상황 조사	100	<ul style="list-style-type: none"> - 고구마 4종 바이러스 진단시스템 개발 : SPFMV, SPGV, SPLV 및 SPLCV 등 4종 고구마 바이러스 동시 진단 시스템 확립 - 목포시험장 국내외 보유 고구마 유전자원 452점 바이러스 발생 양상 조사
2차년도 (2011)	고구마 바이러스병의 발생상황 조사 및 바이러스별 계통 분석	100	<ul style="list-style-type: none"> - 고구마 바이러스병의 발생상황 조사 : 신안군 옥지도 등의 7개 포장에서 채집한 126점의 고구마 바이러스 발병 상황을 조사 - 바이러스별 계통 분석 : 4종의 바이러스에 대한 외피 단백질 유전자 서열에 대한 계통분석
3차년도 (2012)	고구마 바이러스별 계통 분석	100	<ul style="list-style-type: none"> - 바이러스별 계통 분석 : 여주지역 묘상 재배중인 551점의 고구마 품종별 바이러스 감염 현황 조사 : 5개도 11개지역에서 채집한 170점의 고구마 바이러스 감염 현황 조사 : SPLCV의 전체 유전자 서열을 결정하고 계통분석한 결과 2개의 계통이 분포하고 있음을 확인하였음
4차년도 (2013)	고구마 바이러스별 계통분석 미동정 고구마 바이러스 진단시스템 개발	100	<ul style="list-style-type: none"> - 미동정 고구마 바이러스 진단시스템 확립 : SPVC, SPV2, SPSMV-1, SPCFV에 대한 동시 진단 시스템 확립 - 바이러스 종별 (SPLCV, SPFMV, SPGV 및 SPLV) 전체염기서열분석 및 계통 분석
5차년도 (2014)	고구마 바이러스병 진단시스템 개발 및 확립:	100	<ul style="list-style-type: none"> - 미동정 고구마 바이러스 진단시스템 개발 : SPMMV, SPCSV 및 SPMSV 등에 대한 진단법 확립 - 고구마 바이러스 (SPLCV, SPFMV, SPGV SPLV, SPVC, SPV2, SPCFV 및 SPSMV-1)의 전체염기서열 분석 및 계통 분석

3. 고구마 품종 판별을 위한 DNA 및 단백질 마커 개발

구분(연도)	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차년도 (2010)	고구마 판별용 단백질 마커 개발을 위한 단백질 분리 최적화 기술개발	100	-단백질 enrichment : PEG fractionation -새로운 염기성 단백질
2차년도 (2011)	고구마 품종 간 단백질 2차원 전기영동 분리	100	-선행 연구에서 개발한 20% PEG fractionation에 의한 단백질을 enrichment 후 IPG strip을 이용한 더욱더 좁은 범위의 3.5~4.5, 4~5, 4.5~5.5, 5.0~6.0, 5.5~6.7, 6~9를 사용함으로써 많은 종류의 단백질 spot을 분리 -SDS-PAGE gel format을 30~20cm으로 확장, 많은 spot을 분리할 것으로 판단 -상기 미량 분석 방법으로 서로 다른 protein spot이 확인 -Edman degradation이나 LC MSMS Mass에 의해서 동정
3차년도 (2012)	단백질 마크 항체 생산 및 2-DE map 구축	100	-단백질을 켈로부터 직접 항체 생산, Western blot으로 확인 -Edman/MALDI-TOF/Q-TOF 방법으로 동정하여 단백질들을 2-DE 표준 Map을 구축 -database(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ , http://www.expasy.ch/)에 바로 link 시킬 수 있는 program을 개발 -분리, 동정과정중의 방법을 표준화하여 pI, Mw 분석방법을 체계화함 -Scatter plot분석
4차년도 (2013)	단백질 마크와 연계된 CAPS, RAPD 등을 이용한 계통별 유전형 분석, 분자마커 및 분자생물학적 기법을 이용한 유망 계통 선발 적용	100	- CAPS, RAPD, AFLP등의 분자생물학적 기법을 이용한 계통별 유전형 분석 및 계통 특이적 marker 확보 - 단백질 마크와 비교분석 - 수량성, 성분분석, 표현형 등의 계통별 특성과 연계하여 DB 구축 및 목적성에 따른 분류작업 특히 바이오에탄올 생산 다수성 및 고아밀로스 함량 계통 검정 및 선발
5차년도 (2014)	단백질 마크와 연계된 CAPS, RAPD 등을 이용한 계통별 유전형 분석, 분자마커 및 분자생물학적 기법을 이용한 유망 계통 선발 적용	70	- CAPS, RAPD, AFLP등의 분자생물학적 기법을 이용한 계통별 유전형 분석 및 계통 특이적 marker 확보 - 단백질 마크와 비교분석 - 수량성, 성분분석, 표현형 등의 계통별 특성과 연계하여 DB 구축 및 목적성에 따른 분류작업 특히 바이오에탄올 생산 다수성 및 고아밀로스 함량 계통 검정 및 선발

4. 고구마 무병주 생산기술 재연성 검정 및 현장보급 시스템 확립

구분(연도)	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차년도 (2010)	무병주 대량생산 기술모델 구축 및 실용형질 특성 검정	100	- 무병주 대량생산 기술 모델 설정 - 무병주 바이러스 및 실용형질 특성검정
2차년도 (2011)	무병주 주산지 보급 및 우수성 실증평가	100	- 바이러스 무병주 현장 보급 및 평가 - 무병 씨고구마 생산체계 개발
3차년도 (2012)	고구마 무병주 주산지 대단위 산업화	100	- 주산지 고구마 작목반 중심 대단위 실증 재배 및 산업화 기술이전 - 무병주 및 일반묘의 생산량 및 품질 비교 평가
4차년도 (2013)	고구마 무병주 주산지 대단위 산업화	100	- 주산지 고구마 작목반 중심 대단위 실증 재배 및 산업화 기술이전 - 무병주 및 일반묘의 생산량 및 품질 비교 평가 - 바이러스 무병묘의 재감염율 조사
5차년도 (2014)	고구마 무병주 주산지 대단위 산업화	100	- 주산지 고구마 작목반 중심 대단위 실증 재배 및 산업화 기술이전 - 무병주 및 일반묘의 생산량 및 품질 비교 평가 - 바이러스 무병묘의 재감염율 조사 - 무병주 및 일반묘의 품질 비교 평가

5. 고구마 무병주 대량 생산기술을 이용한 실증화 및 농가적용

구분(연도)	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
2차년도 (2011)	고구마 생산시스템 실증화 및 농가적용	100	- 고구마 무병묘의 생산성 평가 - 고구마 무병묘 생산시스템의 농가 적용을 위한 지역별 생산 특성 평가
3차년도 (2012)	고구마 생산시스템 실증화 및 농가적용	100	- 고구마 무병주 대량 생산기술을 이용한 실증화 및 농가 적용 - 고구마 무병주의 시설 내 자가증식 실증화
4차년도 (2013)	고구마 무병주의 자가증식 방법 개선 및 정립	100	- 고구마 무병주의 자가증식 방법 개선 및 정립 - 고구마 무병주의 농가 보급 및 일반묘와의 수량성 비교
5차년도 (2014)	고구마 무병주의 자가증식 방법 개선 및 정립	95	- 자가증식 방법의 개선 및 효율화를 통한 생산성 증진 - 무병묘 생산 및 농가적용을 통한 수량 및 경제성 평가

제 2 절 관련 분야에의 기여도

1. 고구마 바이러스 무병주 생산 및 대량번식 시스템 개발

- 고구마의 생장점 배양을 통한 바이러스 무병주의 확보 및 기내증식을 위한 적합한 배지, 양액조성, 환경조건에 대한 최적화를 통해, 국내 무병주 생산사업의 효율적인 생산 체계 확립에 기여하였다.
- 본 연구 과제를 수행하기 이전에 비해 고구마 무병주 사업의 효율성이 많은 농가들에 인정되어 현재 많은 농업기술센터 및 농협, 농가에서 무병주를 생산하고 이용하게 되었으며, 이와 같은 고구마 무병주 사업에 합리적 근거를 제시하는데 크게 기여하였다.
- 단순 조직배양묘가 아닌 PGPR을 이용한 건전묘 개념을 도입하여, 농가의 무병묘 이용에 대한 호응도를 높였으며, 자가육묘시설을 최대한 활용할 수 있는 시설별 무병묘 증식방법을 제시·지도함으로써 농가에서 효율적으로 무병묘를 활용할 수 있게 하였다.
- 무병주의 기내증식의 효율성 이외에 대량생산을 위한 포장 증식법 4종의 효율성 평가를 통해 안정적이고 지속적인 방법을 대량 증식, 번식 시스템에 적용하여 농가 참여를 통한 실증평가를 실시하고, 경제성이 충분하다는 것을 입증함으로써 앞으로의 고구마 육묘산업발달에 기여하였다.

2. 고구마 바이러스병 진단 시스템 개발

- 고구마 바이러스 병 진단 시스템 확립
: 고구마에 감염하는 17종의 바이러스에 대한 진단법을 확립하였으며 이를 통해 국내 재배 고구마에 발생하는 바이러스 병에 대한 현황 파악 및 바이러스 감염으로 인한 영향조사에 기여할 수 있을 것으로 기대하고 있다. 또한 생산 무병묘에 대한 검정 수단으로 활용하여 양질의 바이러스 무병 고구마의 공급에 기여할 것으로 기대하고 있다.
- 고구마 바이러스의 계통 분석
: 국내에서 검출된 바이러스들의 계통 분석을 통해 각 바이러스의 종별 계통별 병리학적 특성을 구명할 수 있을 것으로 기대하고 있으며, 이를 통해 바이러스 병의 방제 체계를 수립함으로써 양질의 고구마 생산에 기여할 수 있을 것으로 기대하고 있다.

3. 고구마 품종 판별을 위한 DNA 및 단백질 마커 개발

- 국내 생산중인 6개의 대표 브랜드 고구마에 대한 13개의 SCAR 마커 개발 및 단백질 마커 개발은 고품질 고생산 고구마 생산 시스템과 단백질/DNA 마커를 개발하여 우리나라 고구마 생산환경 개선 및 고구마 품종보호에 기여할 것이다
- 관련 연구 결과는 3편의 SCI논문에 게재하여 관련 연구자들에게 정보제공에 기여하였다.
- 고구마의 향암효과가 있는 뿌리 과발현 단백질인 스포라민의 고효율 단백질 분석 기술은 향후 새로운 단백질 마커 개발에 활용 및 과발현 스포라민 분리 최적화 기술을 이용한 대량 스포라민 분리는 기술의 특허 출원하여 기술의 지적 재산권 확보 및 이르 이용한 대량 생산하여 저가의 식품 유래 향암 단백질을 대량 생산하여 제품화에 기여할 것이다.

4. 고구마 무병주 생산기술 재연성 검정 및 현장보급 시스템 확립

- 고구마 바이러스 무병주의 현장보급을 위해, 지난 3년간 씨고구마 49,290kg를 분양하였으며, 바이러스 플러그묘 공급은 19품종 763,828주, 바이러스 무병종순 18품종 1,990천주를 생산하여 각 지역의 농업기술센터, 농협, 주산단지, 지역 작목반에 분양하여, 고구마 바이러스 무병주의 우수성을 홍보하였으며, 이로 인해 무병주의 보급화에 기여하였다.

5. 고구마 무병주 대량 생산기술을 이용한 실증화 및 농가적용

- 2014년에 한국참다래유통사업단에서 펠라이트배지 양액재배에서 진행한 재배 방법인 적심/회분이 방법을 2015년에 토경재배에 적용하여 329주/평에서 427주/평 생산량을 증가하였으며 상기와 같은 방법을 인근 농가에 보급 할 계획이다.
- 상기의 기술이 농가에 보급 될 경우 관행으로 진행 된 삼목 방식 대비 약 30%가량 향상시킬 수 있을 것으로 추정 한다.

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제 1 절 연구개발성과

1. 논문게재: 12건

게재연도	논문명	저자			학술지명	Vol.(No.)	국내외 구분	SCI구분
		주저자	교신저자	공동저자				
2011	A Comparative Proteomics Survey of Proteins Responsive to Phosphorous Starvation in Roots of Hydroponically-grown Rice Seedlings	김상곤	김선태	왕일명 외 9인	J. Korean Soc. Appl Biol. Chem	Vol. 54 No. 5	국내	SCIE
2011	Physiological and proteomic analysis of young rice leaves grown under nitrogen-starvation conditions	김상곤	김선태	왕일명 외 2인	Plant Biotechnol Rep	Vol. 5 No. 4	국내	SCIE
2011	Korean plant proteomics: pioneers in plant stress physiology	이영우	김선태	배서연 외 5인	J Plant Biotechnol	Vol. 32 No. 2	국내	비 SCI
2012	작물 단백질체 분석을 위한 이차원 전기영동 사용법	김유지	김선태	정화진 외 1인	J Plant Biotechnol	Vol. 39	국내	비 SCI
2013	Development of biomarkers for discrimination of Korean sweet potato cultivars using Omics	이수지	김선태	김용철 외 4인	J Horticultura l science&bio technology	In-press	국외	SCI
2013	Molecular characterization and Variation of the Broad bean wilt virus 2 Isolates Based on Analyses of Complete Genome Sequences	곽혜련	최홍수	김미경 외 5인	The Plant Pathology J.	29(4)	국내	SCI

2014	The current incidence of viral disease in Korean sweet potatoes and development of multiplex RT-PCR assays for simultaneous detection of eight sweet potato viruses	곽해련	최홍수	김미경 외 5인	The Plant Pathology J.	30(4)	국내	SCI
2014	First Report of Sweet potato golden vein associated virus Infecting Sweet Potato in Korea	길의준	이석찬	최홍수 외 5인	Plant Disease	98(8)	국외	SCI
2015	Abundant storage protein depletion from tuber proteins using ethanol precipitation method: Suitability to proteomics study	이혜민	김선태	라비굽타 외 4인	Proteomics	15(10)	국외	SCI
2015	Direct sequencing of RAPD products provides a set of SCAR markers for discrimination of sweet potato cultivars	이혜민	김선태	박영훈 외 8인	Plant omics journal	8(3)	국외	SCI
2015	Activation of PR Genes by the Rhizobacteria, <i>Bacillus</i> sp. JS, Which Induces Systemic Resistance in Tobacco Plants	김지성	김선형	이정은 외 4인	Plant Pathology journal	31(2)	국내	SCIE
2015	Seed transmission of Sweet potato leaf curl virus in sweet potato (<i>Ipomoea batatas</i>)	김재덕	이석찬	최홍수 외 10인	Plant pathology	Doi: 10.1111/p pa.12366	국외	SCI

2. 논문 발표: 16건

발표연도	발표제목	저자			학술대회명	페이지	국내외 구분	발표장소
		주저자	교신저자	공동저자				
2010	Analysis for genetic variation of sweet potatoes cultivated in Korea using RAPDs	이수지	김선태	허현혜, 외 5명	제5회 한국식물과 학협의회	P87	국내	서울교육 문화회관
2011	Development of Biomarkers for cultivar discrimination of sweet potatoes cultivated in Korea using combination of RAPD-proteome analysis	이수지	김선태	김진영 외 7명	국제응용생명화학회	PBC-128	국제	제주ICC
2011	Application of RAPD and Proteomics Analysis for Discrimination of Sweet Potato Cultivars in Korea	이수지	김선태	김진영 외 5명	한국식물생명공학회	149	국내	충남대학교 정심화국제문화회관
2011	Korean Plant Proteomics: Pioneers in Plant Stress Physiology	권순재	김선태		한국환경농학회	418	국내	제주국제컨벤션센터
2011	Occurrence of Virus Diseases on Sweet potato in Korea	곽해련	최홍수	김미경 외 8인	한국식물병리학회		국내	무주
2012	Molecular characterization of Sweet potato leaf curl virus (SPLCV) isolates detected in sweet potato in Korea.	곽해련	최홍수	김미경 외 8인	한국식물병리학회		국제	일본
2012	Sweet potato leaf curl virus transmission via seeds	김재덕	이석찬	최홍수 외 10인	한국식물병리학회		국내	서울대학교
2012	고구마 무병주 생산 및 재배기술	서재환	서재환		농업 심포지엄	31-74	국내	충북 농업기술원

2013	Incidence of Eight Viruses Infecting Sweet potatoes in Korea	곽혜련	최홍수	김미경 외 5인	한국식물병리학회		국내	순천대학교
2013	A novel prefractionation method for enrichment of low-abundant proteins in sweet potato tubers	이혜민	김선태	김진영	한국식물생명공학회	P2-16	국내	충남대학교 정심화학 제문서관
2013	Development of DNA and protein marker for discrimination of sweet potato (<i>Ipomoea batatas</i> L. Lam) cultivars in Korea	이혜민	김선태	김유지 외 3인	한국식물생명공학회	P2-16	국내	서울시립대학교
2013	고구마 무병묘 생산기술 현황	한봉희	서재환		종자사업 효율성 제고를 위한 심포지엄	79	국내	전북부안대명리조트
2014	Complete genome sequences of Sweet potato chlorotic fleck virus isolates from Korea	곽혜련	최홍수	김미경 외 7인	한국식물병리학회		국내	부경대학교
2014	Seed transmission of Sweet potato leaf curl virus in sweet potato (<i>Ipomoea batatas</i>)	김재덕	이석찬	길의준 외 13명	한국식물병리학회		국내	부경대학교
2014	Molecular characterization of five potyviruses infecting Korean sweet potatoes based on analyses of complete genome sequences	곽혜련	최홍수	김미경 외 8인	한국식물병리학회		국내	안동대학교
2015	Genome diversity of Sweepovirus in Korea	김재덕	최홍수	곽혜련 외 11인	한국식물병리학회		국내	충북대학교

3. 특허 출원 및 등록: 9건, 상표출원: 1건

출원된 특허의 경우					등록된 특허의 경우				
출원 연도	특허명	출원인	출원국	출원번호	등록 연도	특허명	등록인	등록국	등록번호
2011	고구마잎말림바이러스를 검출하기 위한 등온증폭 반응용 프라이머 조성물, 및 이의 이용	최홍수	대한민국	10-2011-0114826	2014	고구마잎말림바이러스를 검출하기 위한 등온증폭 반응용 프라이머 조성물, 및 이의 이용	최홍수	대한민국	10-1425725
2012	고구마 바이러스 진단용 프라이머 쌍 및 이를 이용한 진단방법	최홍수	대한민국	10-2012-0033948	2014	고구마 바이러스 진단용 프라이머 쌍 및 이를 이용한 진단방법	최홍수	대한민국	10-14596160000
2012	바실러스 서브틸리스 JS 균주를 유효성분으로 함유하는 토양 병원균 방제용 조성물	김선형	대한민국	10-2012-0095842	2015	바실러스 서브틸리스 JS 균주를 유효성분으로 함유하는 토양 병원균 방제용 조성물	김선형	대한민국	10-1533972
2013	SPV2, SPVC, SPSMV-1 및 SPCFV 다중 진단용 프라이머 세트 및 이를 이용한 진단 방법	최홍수	대한민국	10-2013-0140570					
2013	중합효소 연쇄 반응 및 제한효소 절편길이 다형성을 이용하여 고구마 감염 제미니바이러스 종을 검출 및 구별하는 방법	최홍수	대한민국	10-2013-0167988					
2015	에탄올을 이용한 고구마 과발현 스포라민 단백질 대량 분리 및 고효율 저발현 단백질 검출 방법	김선태	대한민국	10-2015-0089281					
2014 상표출원	하나구마	한국참다래유통사업단	대한민국	40-2014-0071322					

4. 기술료 징수: 1건

기 징수액	당해년도 징수액	향후 징수액	합계
2,027,980원 (2012)			

- 특히 출원한 “고구마 바이러스 진단용 프라이머 쌍 및 이를 이용한 진단방법”의 수의 계약((주)엠비파트너스; 사업자등록번호: 114-86-16843)을 포함.

5. 사업화 현황

사업화 명	제품명	업체명	사업화 형태	당해년도 매출액
단일품종 고구마 '하나구마' 출시	하나구마	한국참다래유통사업 단	상품화	7,544,700,000원

6. 인력양성: 6인

지원 총인원	지원 대상 (학위별, 취득자)				성별		지역별		
	박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	대전	기타지역
6	1	5			2	4	2		4

7. 경제사회 파급효과: 18건

산업지원 성과 (단위 : 건)				고용창출 성과 (단위 : 명)		
기술지도	기술이전	기술평가	합계	창업	사업체 확장	합계
15	3	-	18			

제 2 절 연구개발 성과 활용

구분		기술실시(이전)	상품화	정책자료	교육지도	언론홍보	기타
활용건수	목표	8	0	0	6	3	0
	달성	1	1	0	13	9	27

1. 기술이전: 1건

○ 고구마 바이러스 진단용 프라이머쌍 및 이를 이용한 진단방법 (2012. 04. 20, 유상실시)

2. 상품화: 1건

- “하나구마” 고구마 브랜드 개발 및 판매(홈플러스)

3. 교육지도: 13건

- 한국 고구마 산업의 문제점과 개선방향 ('13년 3월 19일 정읍시농업기술센터)
- 고품질 고구마 생산기술 및 고구마 산업의 문제점과 개선방안 ('13. 4. 9. 김제시 농업기술센터)
- 고구마 명품 만들기 교육 1차- 한국 고구마 산업의 문제점과 개선방향 ('13. 4. 11. 안면도농협)
- 고구마 명품 만들기 교육 1차- 한국 고구마 산업의 문제점과 개선방향 ('13. 4. 11. 음암농협)
- 농촌진흥공무원 “고구마 과정” 교육 ('12.5.12 ~ 5.018, 전남 무안 바이오에너지작물센터)
- 고구마 바이러스 무병묘 재배 기술('12. 9. 18, 강화도 농업기술센터)
- 고구마산업 3대 혁신계획 ('14. 2. 14. 전북 익산 한국참다래유통사업단)
- 고구마 계열화 사업 워크샵('15. 2. 12. 전북 익산 한국참다래유통사업단)
- 2012 강화속노랑고구마 생산기술 평가 및 현장교육('12. 9. 26. 강화군농업기술센터)
- 고구마 무병묘 및 종순 생산 재배기술 교육('13. 4. 15. 강화군 농업기술센터)
- 고구마무병묘 생산현황과 산업화('14. 4. 25. 충북 충주시 산척면사무소)
- 2014년 지역기후 서비스사업 최종보고회 및 사후방안 토론회 - 강화지역 고구마 생산성 향상을 위한 기후정보 서비스 고도화('14. 10. 31. 인천기상대)
- 고구마 무병묘 생산 현장 교육('14. 11. 13. 강원도 원주시 농업기술센터)

4. 홍보: 9건

- 바이러스에 감염되지 않은 품질좋은 고구마 무병 종순 공급('13. 5. 14. 농민신문)
- 고구마 무병 종순 공급 ('13. 5. 20. 한국영농신문)
- 재배면적 약 30% 확보 가능한 고구마 무병 종순 공급('13. 5. 20. 농축유통신문)
- 실용화재단, 고품질 고구마 무병 종순 공급('13. 5. 21. 전업농신문)
- 바이러스 무병 고구마 종순 공급, 확대('13. 5. 21. 한국농업신문)
- FACT, 고구마 무병 종순 공급('13. 5. 22. 월예산업신문)
- 충주 고구마, 바이러스 무병 종순으로 ‘날개’('13. 7. 22. 농촌여성신문)
- 고구마 무병묘 45만주 유상 공급('14. 4. 11. 농민신문)
- “하나구마” 홍보영상 제작 및 게시(<https://youtu.be/EuZEts9GRFE>)

5. 기타 : 27건

- 가. 영농활용: 국내 고구마에서 발생하는 8종의 바이러스 특성 및 예방 (2013년)
- 나. 생명자원등록: NCBI GenBank 등록 26건

제 3 절 연구개발 성과 활용 계획

1. 고구마 바이러스 무병주 생산 및 대량번식 시스템 개발

- 고구마 바이러스 무병주 대량생산에 적합한 기내 증식 기술의 무상이전 및 교육자료로 활용
- 민간업체 및 영농조합과 연계하여 무병주 대량생산체계에 성장촉진 박테리아, 환경조절 기법이 첨가된 우량 무병건전묘 생산과 산업화에 활용
- 각지역 농업기술센터의 교육지도 및 고구마무병주 확산을 위한 홍보자료로 활용

2. 고구마 바이러스병 진단 시스템 개발

- 고구마 바이러스 검정을 위한 Multiplex RT-PCR 방법을 고구마 주산지 농촌진흥기관에 보급하여 고구마 바이러스 감염주 조기 정밀 진단에 활용
- 바이러스 감염 현황에 대한 정보를 제공하여 고구마 재배 현장에서 바이러스 무병묘 및 건전주 재배의 중요성 홍보
- 바이러스 유전자 계통 분석을 통해 새로운 계통의 바이러스 병에 대한 조기 대응책 마련

3. 고구마 품종 판별을 위한 DNA 및 단백질 마커 개발

- 본 연구에서는 DNA 마커 개발 연구부분에서는 보유한 고구마 유전자원에 대한 SCAR 및 RAPD를 수행하여 품종 간 특이적인 마커를 13개를 선별하였고, 단백질 마커 개발 연구부분에서는 보유한 고구마 유전자원에 대한 2-DE 및 LC MSMS등을 이용하여 품종 간 특이성을 보이는 단백질을 동정하고 품종 간 단백질을 분리하여 SDS-PAGE로 분리하여 항체를 이용한 특이성을 재검정하여, 분석된 DNA 및 proteome결과로부터 얻은 항체 마커에 대해서 국내 특허 출원 및 등록에 활용할 계획임. 본 과제로부터 개발한 연구결과는 논문에 투고하였고. 농업 실용화재단과 협의하여 산업화 및 현장으로 기술에 적용할 예정이다.

4. 고구마 무병주 생산기술 재연성 검정 및 현장보급 시스템 확립

- 고구마 바이러스 무병주 대량생산 기술모델은 생장점 유래 마디배양으로 40일마다 5배수 증가에 활용
- 고구마 바이러스 무병주를 재배한 경우 상품괴근 수량 18~36% 증가로 농가 및 대단위 주산지에 기술이전으로 산업화
- 고구마 주산단지 및 작목반. 민간업체에 무병주 생산기술 보급을 시스템화하여 활용보급 전개
- 고구마 바이러스 무병주 및 씨고구마 묘 생산으로 상품수량 증가로 농가 소득증대 향상

5. 고구마 무병주 대량 생산기술을 이용한 실증화 및 농가적용

- 재배방법 및 환경을 개선 발전하여 단위면적 당 생산량 증가
- 농가에 해당 방법을 지도/교육
- 고구마 무병주에 의한 수확물을 일반묘의 수확물과 차별화하여 농가와 상생발전

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

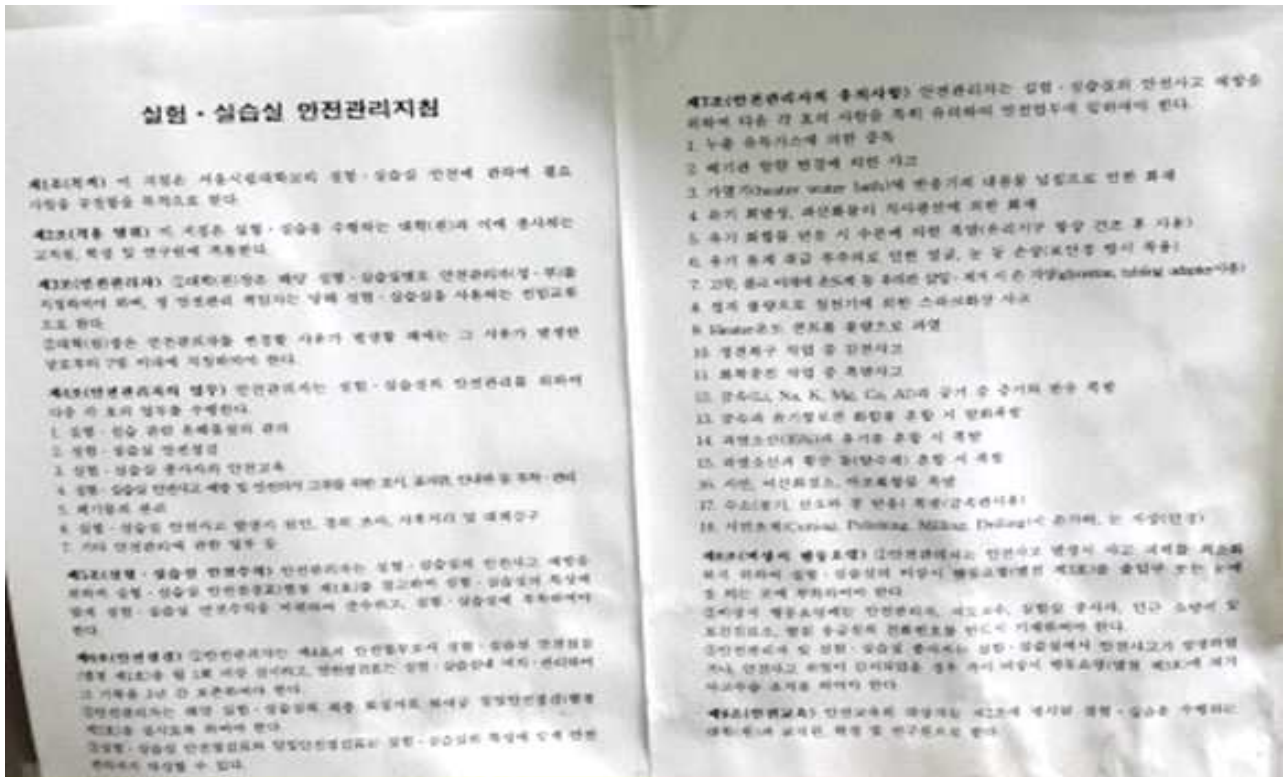
- ▷ 고구마에 감염하는 베고모바이러스에서 새로운 계통이 발생하였으며 기존에 알려져있던 고구마잎말림바이러스 (SPLCV)와는 다른 병징을 보였다. 각각의 병징에 의거하여 고구마 모자이크 바이러스 (Sweet potato mosaic associated virus)와 고구마 옆맥 황화 바이러스 (Sweet potato golden vein associated virus)로 가명명되었다. (Paprotka 등, 2010)
- ▷ 고구마 감염 포티바이러스인 SPFMV에 대한 진딧물의 매개능력에 관한 연구결과가 보고되었다. (Wosula 등, 2012)
- ▷ 바이러스의 복합 감염으로 인한 고구마의 병 발생 악화현상에 대한 연구 결과가 보고되었다. (Cuellar 등, 2014)

제 7 장 연구시설·장비 현황

-해당사항 없음-

제 8 장 연구실 안전관리 이행실적

■ 실험실 안전관리 지침 게시



고압가스 안전수칙

- ★ 고압가스 실험실 및 가스라인용량 가스충전을 표시한다.
- ★ 권고압력을 용량에 가스충기량 확인 표를 부착하여 표지판 부착위치 명세 표를 작성한다.
- ★ 사용하지 않을 용기표판 및 용기 시계는 반드시 압력 표시도를 0로 돌려 놓는다.
- ★ 용기용량 시계 불거리, 불표지판 압력, 용기 시계 압력 등 위험을 확인을 점검할 후 용기충전에 한다.
- ★ 밸브 나사산, 안전장치, 연결부위 용접 수시로 누출 용기 및 교체작업을 이용하여 누출검사를 실시한다.
- ★ 가연성 가스는 불-스파크가 발생할 위험장치가 있는 곳 화염 안전을 근처에서 취급하면 안된다.
- ★ 가연성, 폭발, 부식성 가스 사용자는 반드시 가스누출경보장치 및 자동차단밸브를 설치하고, 수시로 누출감사 및 점검을 실시한다.
- ★ 실험대를 장기간 사용하지 않을 경우 밸브를 차단하고 실험대용 연결된 장치 및 배관으로부터 누출 점검을 실시한다.
- ★ 조연성(산소)가스와 가연성 가스를 혼합 용기로 혼합 보관하면 안된다.
- ★ 압력표판기, 안전용 및 연결, 제조업체 시계용 용접 강판을 점검한다.
- ★ 불활성 용기 및 용접용 가스공급회사에서 즉시 환수를 거도록 조치한다.

서울시립대학교
UNIVERSITY OF SEOUL

비상 시 행동요령

- 비상연락처
 - 문관당직실: 6490-6440 • 전기실: 6490-6080(아산, 주말 오후가람)
 - 소방서: 119
 - 대학보건소: 6490-6590-2(병원 주간-야간 해당)
 - 서울성심병원(응급실): 957-0119 • 삼육서울병원(응급실): 2210-3566
 - 성암오르병원(응급실): 958-2340 • 경희의료원(응급실): 958-8282
- 다음의 가장 가까운 위치를 확인한다.
 - 가장 가까운 전화, 화재경보기, 소화기, 비상구
- 화재 발생 시
 1. 화재 경보기를 작동 시키고, 소방서 "119"에 화재를 신고한다.
 2. 쉽게 끌 수 있는 화재의 경우, 올바른 소화기를 사용하여 끈다.
 3. 사고가 발생한 방의 문을 닫는다.
 4. 건물 안의 사람들을 대피시킨다.(화재 시 엘리베이터 이용 금지)
- 응급환자 발생 시
 1. 부상 정도에 따라 대학보건소, 인근 종합병원, 119를 통해 구급차를 부른다.
 2. 필요한 응급처치를 한다.
 3. 책임교수나 가까운 상사의 사람에게 연락하여 도움을 요청한다.
- 연구실 책임교수

연구실 최동철(실험실)	연구실전화 <u>6490-5612</u>
책임교수 김신재	전화(H.P) <u>010-4612-6368</u>
- 학과(부)

사무실 황정민(여과)	사무실전화 <u>6490-2680</u>
조교	전화(H.P)
- 연구활동 중사자

성명 서상권	전화(H.P) <u>010-23302-4709</u>
성명 성화진	전화(H.P) <u>010-2473-6686</u>
성명 김홍재	010-4611-6406

서울시립대학교
UNIVERSITY OF SEOUL

■ 실험실 안전 보호구 및 관리모습



가스 및 화학물질 보유 현황표

종류	보유량
Ethyl Alcohol	5L
Methanol	1L
Hydrochloric acid	1L
Sulfuric acid	500ml
Acetic acid	500ml
2-propanol	500ml
chloroform	20
N-hexyl Alcohol	500ml
Benz Alcohol	30g
diphenyl hydrogen phosphate	1kg
Sodium diethyl sulfide	1kg
Acetic acid	500ml
Acetic acid	500ml
Ethyl acetate	500ml
Acetic acid	500ml



■ 실험실의 안전 문구 작성 안전 보호구 및 소화기 비치



■ 유해 물질 처리 시설 완료 분리수거 철저히 수행 및 암 후드에서 유해 물질 및 실험 실시



■ 실험실의 안전 점검표 매월 작성

서울과학기술대학교 (7월) 연구·실험실 일상 점검표 (학과: 분당캠퍼스)

★ 상기 내용을 설정해 점검하여 기록 함.

연구·실험실 명	실험실 번호												연구실동통시차 명단																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
점검사항	실험실 번호: 생물, 연구실동통시차 명단: 구양, 섭화림, 이봉퍼																														
일반점검	연구실 출입 및 청소상태																														
	연구실 출입 기록 비치																														
	연구실 내 응급구호 장비 비치																														
	연구실 내 안전보호구 비치																														
	연구실 내 소화기 비치																														
소독점검	소독기 내지 및 충전상태 확인																														
	통일된 정형화기 사용 여부																														
	고압수류 확인 및 압도중 확인																														
전기점검	전기장비 사용 금지																														
	기타용 실험기기 전원 off OFF																														
	위험물질 보관기 사용 금지																														
	연구실 내 흡입기 사용 여부																														
화재안전	MOOG (국산) 연구실 내지																														
	연구실 내지 (연구실 번호) 확인																														
	연구실 내지 (연구실 번호) 확인																														
	위험물질 보관기 사용 여부																														
생물안전	생물 안전장비 및 관리 상태																														
	실험 후 잔액이 없도록 관리																														
	연구실 내지 (연구실 번호) 확인																														
가스안전	가스용기 보관 및 관리 상태																														
	가연성가스(수소) 사용 여부																														
	가스용기 보관기 사용 여부																														
	가스용기 및 충전기 확인																														
화학안전	화학물질 보관 및 관리 상태																														
	화학물질 (연구실 번호) 확인																														
	화학물질 (연구실 번호) 확인																														
	화학물질 (연구실 번호) 확인																														
점검자 확인																															

비상연락처 • 화재신고 : 119 (관할소방서 : 2212-0119) • 서울경찰청 : 957-0119

작성(연구실책임자) [인]

※ 기록사항 [] : 없음 [/] : 있음 [/] : 불명 [/] : 기타사항 [/]


■ 연구실 정기 안전 점검 및 개선조치


연구실 정기 안전점검 결과 개선조치

번호	단과대학	학과	건물명	호실	연구실명	작성자(안전담당자)		연구실 책임자(지도교수)	
						성명	내선번호/ 이메일	성명	내선번호/ 이메일
1	자연과학대학	환경원예학과	자연과학관	8-406	식물유전공학연구실	주양	☎ 5612 MAIL: eson266@naver.com	김선형	☎ 2692 MAIL: mongdal@uos.ac.kr


분야	순서	개 선 조 치 내 용					
일반 #4	1	미비점	기준 보관 높이가 1.5m 이상으로 견도 위험이 있는 곳에 보관			개선일자	2015.02.01
		개선조치결과	박스로 덮아서 보관				
		개선 전 사진	개선 후 사진	재발방지대책	추후 개선계획 일정		
					개선보류 사유		

분야	순서	개 선 조 치 내 용					
일반 #6	2	미비점	연구실 내 일상점검 미흡			개선일자	2015.02.01
		개선조치결과	일상점검 기록·유지하여 월마다 안전관리자에게 제출하여 사고예방				
		개선 전 사진	개선 후 사진	재발방지대책	추후 개선계획 일정		
					개선보류 사유		

분야	순서	개 선 조 치 내 용					
소방 #4	3	미비점	출입문을 임의로 폐쇄하여 화재, 폭발 등 재난 발생 시 양방향 피난의 대피가 어려움			개선일자	2015.02.10
		개선조치결과	공간 부족으로 공간을 확보하여 조정할 계획입니다.				
		개선 전 사진	개선 후 사진	재발방지대책	추후 개선계획 일정		
					개선보류 사유		

분야	순서	개 선 조 치 내 용			
화공 #2	4	미비점	라벨링이 안되어 있어 시료, 폐액, 시약인지 확인 불가능함		
		개선조치결과	라벨링을 함 (종류수로 라벨링을 안했던 것이었음)		개선일자 2015.01.30
		개선 전 사진	개선 후 사진	재발방지대책	추후 개선계획 일정
					개선보류 사유

분야	순서	개 선 조 치 내 용			
화공 #4	5	미비점	약품 보관 위치 미흡		
		개선조치결과	•위험 시약 따로 보관함		개선일자 2015.01.30
		개선 전 사진	개선 후 사진	재발방지대책	추후 개선계획 일정
				새로운 시약장을 설치하여 분리 보관함	개선보류 사유

분야	순서	개 선 조 치 내 용			
화공 #2	6	미비점	시약장 시연장치 미설치		
		개선조치결과	장공 장치 설치하여 연구자만 취급하도록 함 (추후 조정)		개선일자
		개선 전 사진	개선 후 사진	재발방지대책	추후 개선계획 일정
					2015.02.09 개선보류 사유

분야	순서	개 선 조 치 내 용			
화공 #7	1	미비점	약품 성상별 구분 없이 보관		
		개선조치결과	•분류 보관, 종류별 정리		개선일자 2015.01.30
		개선 전 사진	개선 후 사진	재발방지대책	추후 개선계획 일정
					개선보류 사유

제 9 장 참고문헌

- Agrawal GK, Job D, Zivy M, Agrawal VP, Bradshaw RA, Dunn MJ, Haynes PA, vanWijk KJ, Kikuchi, S, Renaut J, Weckwerth W, and Rakwal R. 2011. Time to articulate a vision for the future of plant proteomics - A global perspective: An initiative for establishing the International Plant Proteomics Organization (INPPO). *Proteomics*, 11, 1559-1568.
- Agrawal GK, Rakwal R. (Eds.), 2008. *Plant Proteomics: Technologies, Strategies, and Applications*. Wiley & Sons, Hoboken, NJ, USA,
- Austine DF. 1979. An infrageneric classification for *Ipomoea* (convolvulaceae). *Taxon*. 28:359-361
- Banks G, Bedford I, Beitia F, Rodriguez-Cerezo E, Markham P, 1999. A novel geminivirus of *Ipomoea indica* (Convolvulaceae) from Southern Spain. *Plant Disease* 83, 486.
- Benfey PN, Bennett M, Schiefelbein J (2010) Getting to the root of plant biology: impact of the Arabidopsis. *Plant J* 61:992 - 1000
- Bi, Huiping, and Peng Zhang. 2012. "Molecular Characterization of Two Sweepviruses From China and Evaluation of the Infectivity of Cloned SPLCV-JS in *Nicotiana Benthamiana*.." *Archives of Virology* 157 (3): 441 - 54. doi:10.1007/s00705-011-1194-6.
- Casimiro I, Beeckman T, Graham N, Bhalerao R, Zhang H, Casero P, Sandberg G, Bennett MJ (2003) Dissecting Arabidopsis lateral root development. *Trends Plant Sci* 8:165 - 171
- Cellar NA, Kuppannan K, Langhorst ML, Ni W, Xu P, Young SA. 2008. Cross species applicability of abundant protein depletion columns for ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 861,29 - 39.
- Chabot R, Anroun H, Cesces MC. 1996. Growth promotion of maize and lettuce by phosphate solubilizing *Rhizobium leguminosarum* biovar phaseoli. *Plant Soil* 184:31-121.
- Choi, E, G Lee, J Park, T K Lee, H S Choi, and S Lee. 2012. "Molecular Characterization and an Infectious Clone Construction of Sweet Potato Leaf Curl Virus (SPLCV) Isolated From Korea.." *Acta Virologica* 56 (3): 187 - 98.
- Chun C, Kazal T. 2001. Mass propagation of virus-free trans-plants of sweetpotato in closed-type systems. *Proceedings of the international seminar on sweetpotato breeding and biotechnological application in Korea*, August 21. 24-36
- Chung, Mi-Nam ; Jeong, Byeong-Choon ; Ahn, Young-Sup ; Lee, Joon-Seol ; Kim, Hag-Sin ; Bang, Jin-Ki, 2005. Effect of virus-free cutting on growth, yield and quality of sweetpotato. *Proceedings of the Korean Society of Crop Science Conference* Apr. 48-49
- Cuellar, W.J. et al., 2014. Synergistic interactions of begomoviruses with Sweet potato

- chlorotic stunt virus(genus Crinivirus) in sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). *Molecular Plant Pathology*, pp.n/a-n/a. Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/mpp.12200/epdf>.
- Deng, X G, F Zhu, J Y Li, H Feng, D H Xi, and H H Lin. 2014. "Genetic Diversity and Phylogentic Analysis of Sweet Potato Feathery Mottle Virus and Sweet Potato Virus G in Sichuan, China.." *Journal of Plant Pathology* 96 (1). Edizioni ETS: 215 - 18.
- Fauquet CM, Stanley J, 2003. Geminivirus classification and nomenclature: progress and problems. *Annals of Applied Biology* 142, 165-89.
- Feng, G, G Yifu, and Z Pinbo. 2000. "Production and Deployment of Virus-Free Sweetpotato in China." *Crop Protection*. doi:10.1016/S0261-2194(99)00085-X.
- Gao F, Gong YF, Zhang PB. 2000. Production and deployment of virus-free sweet potato in China. *Crop Prot.* 19:105-111.
- Gibson, R. W., Mpembe, I., Alicai, T., Carey, E. E., Mwanga, R. O. M., Seal, S. E. and Vetten, H. J. 1998. Symptoms, etiology and serological analysis of sweet potato virus disease in Uganda. *Plant Pathol.* 47:95-102.
- Guo JH, Qi HY, Guo YH, Ge HL, Gong LY, Zhang LX. 2004. Biocontrol of tomato wilt by plant growth-promoting rhizobacteria. *Biol Control*, 29: 66-72
- Gupta R, Wang Y, Agrawal GK, Rakwal, R, Jo IH, Bang KH, Kim ST. 2015. Time to dig deep into the plant proteome: a hunt for low-abundance proteins. *Frontiers in Plant Science*, 6, 1
- Gutierrez, D L, S Fuentes, and L F Salazar. 2003. "Sweetpotato Virus Disease (SPVD): Distribution, Incidence, and Effect on Sweetpotato Yield in Peru." *Plant Disease* 87 (3): 297 - 302. doi:10.1094/PDIS.2003.87.3.297.
- Gutierrez-Manero FJ, Ramos-Solano B, Probanza A, Mehouchi J, Tadeo FR, Talon M. 2001. The plant-growth promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. *Physiol. Plant.* 111, 206-211.
- Hahn, S. K. 1979. Effect of virus (SPDV) on growth and yield of sweet potato. *Exp. Agric.* 15:253-256.
- Jeong B. C., Ahn Y. S., Chung M. N., Lee J. S., Oh Y. H., and Mok I. G. 2001. Problems and Improvement Plans of Korean Sweetpotato Industry. *Proceedings of the International Seminar on Sweetpotato Breeding and Biotechnological Application*. Mokpo Experiment Station, RDA. pp. 18~23.
- Jetiyanon K, Kloepper JW. 2002. Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria for induction of systemic resistance against multiple plant diseases. *Biol Control*, 24: 285-291
- Joung HY, Kim HD, Choi SR, Kim TI, Shin HK, Ko JY, Kim SY, 1998. Effects of pinching frequency on the growth of four carnation cultivars in hydroponics, *Proceedings of the Korean Society for Bio-Environment Control Conference* 1998 oct. 01, pp.103-106

- Kwak SS, Lee HS, K-won SY, Kim KY. 2001. Sweetpotato per-oxidases and their biotechnological application. Proceedings of the international seminar on sweetpotato breeding and biotechnological application in Korea, August 21. 55-71
- Karyeija, R. F., Gibson, R. W. and Valkonen, J. P. T. 1998. The significance of Sweet potato feathery mottle virus in subsistence sweet potato production in Africa. *Plant Dis.* 82:4-15.
- Karyeija, R. F., Kreuze, J. F., Gibson, R. W. and Valkonen, J. P. T. 2000. Synergistic interactions of a potyvirus and a phloem-limited crinivirus in sweet potato plants. *Virology* 269:26-36.
- Kil, E.J. et al., 2014. First Report of Sweet potato golden vein associated virus Infecting Sweet Potato in Korea. *Plant Disease*, 98(8), pp.1163-1163.
- Kim ST, Cho KS, Jang YS, Kang KY. 2001. Two-dimensional electrophoretic analysis of rice proteins by polyethylene glycol fractionation for protein arrays. *Electrophoresis* 22, 2103 - 2109.
- Kim UG, Jung HJ, Lee S, Kim ST. 2012. Crop proteomics: Practical method for high resolution of two-dimensional electrophoresis. *Journal Plant Biotechnology.* 39, 81-92.
- Kim YJ, Lee HM, Wang Y, Wu J, et al., 2013. Depletion of abundant plant RuBisCO protein using the protamine sulfate precipitation method. *Proteomics* 13, 2176 - 2179.
- Kim, J. et al., 2015. Seed transmission of Sweet potato leaf curl virus in sweet potato (*Ipomoea batatas*). *Plant Pathology*. DOI : 10.1111/ppa.12366
- Kim, S. J., Ryu, K. H., Choi, J. K. and Park, W. M. 1998. Sequence analysis of coat protein and 3'-noncoding region for Korean and other strains of Sweet potato feathery mottle virus. *Mol. Cells* 6:777-785.
- Kloepper JW, Ryu CM, Zhang SA. 2004 Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology*, 94: 1259-1266
- Kreuze, J F, R F Karyeija, R W Gibson, and J P T Valkonen. 2000. "Comparisons of Coat Protein Gene Sequences Show That East African Isolates of Sweet Potato Feathery Mottle Virus Form a Genetically Distinct Group." *Archives of Virology* 145 (3). Springer-Verlag: 567 - 74. doi:10.1007/s007050050047.
- Krishnan HB, Natarajan SS. 2009. A rapid method for depletion of Rubisco from soybean (*Glycinemax*) leaf for proteomic analysis of lower abundance proteins. *Phytochemistry* 70,1958 - 1964.
- Kwak, Hae-Ryun, Mi-Kyeong Kim, Jun-Chul Shin, Ye-Ji Lee, Jang-Kyun Seo, Hyeong-Un Lee, Mi-Nam Jung, Sun-Hyung Kim, and Hong-Soo Choi. 2014. "The Current Incidence of Viral Disease in Korean Sweet Potatoes and Development of Multiplex Rt-PCR Assays for Simultaneous Detection of Eight Sweet Potato Viruses.." *The Plant Pathology Journal* 30 (4): 416 - 24. doi:10.5423/PPJ.OA.04.2014.0029.
- Kwak, Hae-Ryun, Mi-Kyeong Kim, M N Chung, Su-Heon Lee, Jin-Woo Park, Kook-Hyung Kim, and Hong-Soo Choi. 2006. "Virus Disease Incidences of Sweet Potatoes in Korea." *The Plant Pathology Journal* 22 (3): 239 - 47.

doi:10.5423/PPJ.2006.22.3.239.

- Kwak, Hae-Ryun, Mi-Kyeong Kim, Mi-Nam Jung, Su-Heon Lee, Jin-Woo Park, Kook-Hyung Kim, Sug- Ju Ko, and Hong-Soo Choi. 2007. "Genetic Diversity of Sweet Potato Feathery Mottle Virus From Sweet Potatoes in Korea." *The Plant Pathology Journal* 23 (1). Korean Society of Plant Pathology: 13 - 21. doi:10.5423/PPJ.2007.23.1.013.
- Kyoung-Ran Yoo and Seung-Yeob Lee, 2013. Growth Characteristics and Yield of Sweet Potato Cultivars between Virus-free and Farmer's Slips in Late Season Cultivation. *Korean J. Crop Sci.*, 58(1): 43~49(2013)
- Lee HM, Gupta R, Kim SH, Wang Y, Rakwal R, Agrawal GK, Kim ST. 2015. Abundant storage protein depletion from tuber proteins using ethanol precipitation method: Suitability to proteomics study. *Proteomics*, 15, 1765-1769.
- Lee HM, Park YH, Jun TH, Kwon SW, Choi IS, Kim YC, Gupta R, Chung MN, Kim SH, Yang P, Wang Y, Kim ST. 2015. Direct sequencing of RAPD products provides a set of SCAR markers for discrimination of sweet potato cultivars. *Plant Omics Journal*, 8(3), 195-200.
- Lee SJ, Kang KY, Jwa NS, Kim DW, Agrawal GK, Sarkar A, Deswal R, Renaut J, Job D, Rakwal R, Kim ST. 2012. A decade of plant proteomics in South Korea: The international plant proteomics organization (INPPO) perspective and involvement. *Plant Omics*. 5, 5
- Lee SJ, Kim JY, Kim YC, Ha TJ, Lee BW, Chung MN, Kim SH, Park YH, Kim ST. 2013. Omics-based biomarkers for the identification of six Korean cultivars of sweet potato (*Ipomoea batatas* L. Lam). *Journal Horticulture Science Biotechnology*. 88, 509 - 518.
- Lewis DR, Negi S, Sukumar P, Muday GK (2011) Ethylene inhibits lateral root development, increases IAA transport and expression of PIN3 and PIN7 auxin efflux carriers. *Development* 138: 3485 - 3495
- Loebenstein, Gad, and G Thottappilly. 2009. *The Sweetpotato*. Springer Science & Business Media. doi:10.1007/978-1-4020-9475-0.
- Loper JE, Schroth MN. 1986. Influence of bacteria sources of indol-3-acetic acid on root elongation of sugar beet *Phytopathology* 76: 386-389.
- Lozano G, Trenado H, Valverde R, Navas-Castillo J (2009): Novel begomovirus species of recombinant nature in sweet potato (*Ipomoea batatas*) and *Ipomoea indica*: taxonomic and phylogenetic implications. *J. Gen. Virol.* 90, 2550-2562.
- Luan, Yu Shi, Juan Zhang, Dan Mei Liu, and Wen Li Li. 2007. "Molecular Characterization of Sweet Potato Leaf Curl Virus Isolate From China (SPLCV-CN) and Its Phylogenetic Relationship with Other Members of the Geminiviridae.." *Virus Genes* 35 (2): 379 - 85. doi:10.1007/s11262-007-0084-1.
- Metaxas DJ, Syros TD, Yupsanis T, Economou AS. 2004. Peroxidases during adventitious rooting in cuttings of *Arbutus unedo* and *Taxus baccata* as affected by plant genotype and growth regulator treatment. *Plant Growth Regulation* 44: 257 - 266

- MAF 1994. The agriculture and forestry statistical annual report. The ministry of agriculture and forestry. South Korea.
- Morel GM, Martin C. 1952. Guérison de dahlias atteints d'une maladie A virus. Comptes rendus hebdomadaire des séances de l'Académie des Sciences, Paris. 235: 1324-1325.
- Oh SM, Hwang, JM, Kim JI, 2001. Effect of Pinching and Uniconazole Treatments on the Growth and Fruit Set of Once-Over Harvested Pepper in the Plastic House, Proceedings of the Korean Society for Bio-Environment Control Conference 2001 Nov. 01 pp.. 116-122
- Osmont KS, Sibout R, Hardtke CS (2007) Hidden branches: developments in root system architecture. *Annu Rev Plant Biol* 58:93 - 113
- Overvoorde P, Fukaki H, Beeckman T (2010) Auxin control of root development. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2(6):a001537
- Paprotka, T, L S Boiteux, MEN Fonseca, and R O Resende. 2010. "Genomic Diversity of Sweet Potato Geminiviruses in a Brazilian Germplasm Bank." *Virus Research*.
- Park, J, S Kim, E Choi, H R Kwak, M K Kim, K Y Lee, H S Choi, and S Lee. 2012. "Molecular Characterization of Sweet Potato Leaf Curl Virus (SPLCV) Isolates From Korea: Phylogenetic Relationship and Recombination Analysis." *Acta Virologica* 55 (04): 327 - 35.
- Park, W. M., Kim, S. J., Ryu, K. H. and Chin, M. S. 1995. Characterization and detection of Sweet potato feathery mottle virus (SPFMV) from sweet potato by RT-PCR with the SPFMV specific primers and restriction analysis. *Korean J. Plant Pathol.* 11:396-397.
- Park, W. M., Ryu, K. H., Kim, S. J. and Chin, M. S. 1994. Some properties of a potyvirus isolated from sweet potato in Korea. *Korean J. Plant Pathol.* 10:358-359.
- Raj SN, Deepak SA, Basavaraju P, Shetty HS, Reddy MS, Kloepper JW. 2003. Comparative performance of formulations of plant growth promoting rhizobacteria in growth promotion and suppression of downy mildew in pearl millet. *Crop Prot*, 22: 579-588
- Rännäli, M, V Czekaj, R A C Jones, J D Fletcher, R I Davis, L Mu, G I Dwyer, B A Coutts, and J P T Valkonen. 2008. "Molecular Genetic Characterization of Sweet Potato Virus G(SPVG) Isolates From Areas of the Pacific Ocean and Southern Africa." *Plant Disease* 92 (9): 1313 - 20. doi:10.1094/PDIS-92-9-1313.
- Richardson AE. 2001. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Aust. J. Plant Physiol.* 28: 897-906.
- Ryu, K H, S . J . Kim, and W M Park. 1998. "Nucleotide Sequence Analysis of the Coat Protein Genes of Two Korean Isolates of Sweet Potato Feathery Mottle Potyvirus." *Archives of Virology* 143 (3). Springer-Verlag: 557 - 62. doi:10.1007/s007050050311.
- Ryu, K. H. and Choi, S. H. 2002. Molecular detection and analysis of Sweet potato feathery mottle virus from root and leaf tissues of cultivated sweet potato plants. *Plant Pathol. J.* 18:12-17.
- Scher FM, Baker R. 1982. Effect of *Pseudomonas putida* and synthetic iron chelator on

- induction of soil suppressiveness to *Fusarium* wilt pathogens. *Phytopathology* 72:1567–1573
- Soon-Il Kwon, Mok-jong Kim, In-Kyu Kang, 2005. Change of Root Physiology of Tissue Cultured M.9 Apple Rootstock after Layering. *Korean J. Plant Biotechnol.* Vol. 32 No. 3, 181~186
- Stamford NP, Santos CERS, Lira Junior MA, Figueiredo MVB. 2008. Effect of rhizobia and rock biofertilizers with *Acidithiobacillus* on cowpea nodulation and nutrients uptake in a tabeland soil. *World J Microbiol Biotechnol* 24:1857–1865
- Untiveros, Milton, Segundo Fuentes, and Jan Kreuzer. 2008. “Molecular Variability of Sweet Potato Feathery Mottle Virus and Other Potyviruses Infecting Sweet Potato in Peru..” *Archives of Virology* 153 (3): 473 - 83. doi:10.1007/s00705-007-0019-0.
- Van der Ent, S, Van Wees SCM, Pieterse CMJ. 2009. Jasmonate signals in plant interactions with beneficial microbes. *Phytochemistry* 70:1581–1588.
- Vessey JK. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil* 255: 571 - 586, 2003.
- Wang Y, Brown HN, Crowley DE, Szanislo PJ. 1993. Evidence for direct utilization of a siderophore, ferrioxamine B, in axenically grown cucumber. *Plant Cell Environ.* 16: 579–585.
- Wang, Mingqiang, Jorge Abad, Segundo Fuentes, and Ruhui Li. 2013. “Complete Genome Sequence of the Original Taiwanese Isolate of Sweet Potato Latent Virus and Its Relationship to Other Potyviruses Infecting Sweet Potato..” *Archives of Virology* 158 (10): 2189 - 92. doi:10.1007/s00705-013-1705-8.
- Water WM, Purcell AE, Nelson AM, 1975. Effects of amylolytic enzymes on moistness and carbohydrate changes of baked sweet potato cultivars. *J. Food Sci.* 40: 703.
- Wisler, G. C., Duffus, J. E., Liu, H. Y. and Li, R. H. 1998. Ecology and epidemiology of whitefly- transmitted closteroviruses. *Plant Dis.* 82:270–280.
- Woolfe JA.1990. *Sweet Potato: An Untapped Food Resource.* Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Wosula, E.N., Clark, C.A. & Davis, J.A., 2012. Effect of Host Plant, Aphid Species, and Virus Infection Status on Transmission of Sweetpotato feathery mottle virus. *Plant Disease*, 96(9), pp.1331–1336.
- Yang CL, Shang YF, Zhao JH. 1996. production techniques and application of virus-free sweetpotato. *Sci. Agrc. Sinica.* 29:94–95
- Yun, W . S ., Y . H . Lee, and K . H . Kim. 2002. “First Report of Sweet Potato Latent Virus and Sweet Potato Chlorotic Stunt Virus Isolated From Sweet Potato in Korea.” *The Plant Pathology Journal* 18 (3): 126 - 29. doi:10.5423/PPJ.2002.18.3.126.
- Yun, W. S., Lee, Y. H and Kim, K. H. 2002. First report of Sweet potato latent virus and sweet potato chlorotic stunt virus isolated from sweet potato in Korea. *Plant Pathol. J.* 18:126–129.
- 농림수산통계연보. 2014. 농림수산식품부

정미남 2008 고구마 바이러스 진단체계 및 무병묘 대량생산에 관한 연구. 전남대학교 박사학위 논문.

정미남, 이준설, 송연상, 한선경, 안승현, 이형운, 박광근, 2012. 한국농업의 희망을 깨는 고구마. RDA Interrobang (92호).

九州沖縄農業研究 センター成果情報, 2006. 九州沖縄農業研究 センター

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 첨단생산기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 첨단생산기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.