

118038-03

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(O), 비공개() 발간등록번호(O)

농생명산업기술개발사업 2021년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-003577-01

벼농사 및
대체용고구마 품종
육성
생력화 기술개발

벼농사 대체용 고구마 품종 육성 및 생력화 기술개발

2021. 05. 31.

2021

주관연구기관 / 한국생명공학연구원
협동연구기관 / 한국과기산업

농림식품기술기획평가원
농림축산식품부

농림축산식품부

(전문기관) 농림식품기술기획평가원

<제출문>

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “벼농사 대체용 고구마 품종 육성 및 생력화 기술개발”(개발기간 : 2018. 04. 26~ 2020. 12. 31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2021. 05. 31.

주관연구기관명 : 한국생명공학연구원 (대표자) 김 장 성



협동연구기관명 : 한국과기산업 (대표자) 김 성 태



주관연구책임자 : 곽 상 수

협동연구책임자 : 김 성 태

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	118038	해 당 단 계 연 구 기 간	2018. 04. 26 ~2020. 12. 31	단 계 구 분	(1)/ (1)
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	농생명산업기술개발사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	벼농사 대체용 고구마 품종 육성 및 생력화 기술개발			
연구책임자	과 상 수	해당단계 참여연구원 수	총: 11 명 내부: 11 명 외부: 0 명	해당단계 연구개발비	정부:400,000천원 민간:140,000천원 계:540,000천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 11 명 내부: 11 명 외부: 0 명	총 연구개발비	정부:400,000천원 민간:140,000천원 계:540,000천원
연구기관명 및 소 속 부 서 명	한국생명공학연구원 식물시스템공학연구센터			참여기업명 한국과기산업	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위 탁 연 구	연구기관명:			연구책임자:	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	일반과제
-------------------------	------

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호											

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설· 장비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

요약(연구개발성과를 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다)

1. 벼농사 대체를 위한 습해내성 고구마 품종 선발
 - 고구마품종(33종)를 대상으로 식물생장실에서 습해 내성평가를 수행하여 습해 내성과 감수성 품종을 선발하고 특성을 규명하였음(2020년 SCI 논문게재).
 - 습해내성 ‘연자미’와 감수성 ‘전미’의 비교전사체 분석을 통하여 습해내성 분자 기작과 관련 후보 유전자를 수종 발굴하였음(2020년 SCIE 논문게재).
 - 습해내성 ‘연자미’, 감수성 ‘전미’, ‘대유미’(충북농업기술원 습해내성 추천품종)를 논에 재배한 결과, ‘연자미’가 가장 높은 수량(24.75 ton/ha)을 나타내었음.
2. 고구마 정식 기계화를 위한 유식물체 생산시스템 구축
 - 고구마 정식 기계화를 위해 새로운 유식물체(5~7cm) 생산시스템을 확립하였음. 뿌리를 내린 유식물체는 가뭄에 영향을 받지 않음(2020.8 특허출원)
 - 유식물체를 관행 삽수(25cm)와 재식거리를 달리하여 논에 심어본 결과, 유식물체에서 단위면적당 전체 수량이 관행 삽식묘 보다 높아 과제에서 개발한 유식물체가 정식 자동화에 활용될 수 있음을 확인하였음.

보고서 면수

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p>국가 식량안보 확보, 농가소득 증대, 농촌인구 고령화에 대응하기 위해 벼농사를 대체하는 논에 적합한 고소득 고구마 품종을 이용하여 벼 재배처럼 고구마 심는 것을 자동화하여 노동력을 대폭 절약할 수 있는 고구마 육묘 시스템 구축하고자 함. 또한 습해에 대한 고구마의 적응성을 높이기 위해 습해에 대한 생명공학 기반연구를 추진하고자 한다.</p>				
<p>연구개발성과</p>	<p>1. 벼농사 대체를 위한 습해내성 고구마 품종 선발 - 고구마품종(33종)를 대상으로 식물생장실에서 습해 내성평가를 수행하여 습해내성과 감수성 품종을 선발하고 특성을 규명하였음(2020년 SCI 논문 게재). - 습해내성 ‘연자미’와 감수성 ‘전미’의 비교전사체 분석을 통하여 습해내성 분자기작과 관련 후보 유전자를 수종 발굴하였음(2020년 SCIE 논문 게재). - 습해내성 ‘연자미’, 감수성 ‘전미’, ‘대유미’(충북농업기술원 습해내성 추천품종)를 논에 재배한 결과, ‘연자미’가 가장 높은 수량(24.75 ton/ha)을 나타내었음.</p> <p>2. 고구마 정식 기계화를 위한 유식물체 생산시스템 구축 - 고구마 정식 기계화를 위해 새로운 유식물체(5~7cm) 생산시스템을 확립하였음. 뿌리를 내린 유식물체는 가뭄에 영향을 받지 않음(2020.8 특허출원) - 유식물체를 관행 삽수(25cm)와 재식거리를 달리하여 논에 심어본 결과, 유식물체에서 단위면적당 전체 수량이 관행 삽식묘 보다 높아 과제에서 개발한 유식물체가 정식 자동화에 활용될 수 있음을 확인하였음.</p>				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<p>○ 기후위기/고령화/코로나팬데믹 시대에 식량과 영양안보를 위해 벼농사를 대체할 수 있는 습해내성 고구마 품종을 성공적으로 선발하고 벼를 재배한 논에서 직접 재배하여 습해내성 품종이 높은 생산성을 나타내는 것을 확인하였음 ○ 고령화시대 고구마 대량재배에 가장 문제되는 고구마 정식 기계화를 위한 유식물체 생산시스템을 구축하여 포장재배를 통하여 기존 삽수보다 우수함을 입증하였음</p>				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>고구마</p>	<p>습해내성</p>	<p>정식기계화</p>	<p>유식물체</p>	<p>건전묘</p>
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>					

※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

<본문목차>

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요	7
2. 연구수행 내용 및 결과	9
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	51
4. 연구결과의 활용 계획 등	56
붙임. 참고 문헌	57

1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발 목적

국가 식량안보 확보, 농가소득 증대, 농촌인구 고령화에 대응하기 위해 벼농사를 대체하는 논에 적합한 고소득 고구마 품종을 이용하여 벼 재배처럼 고구마 심는 것을 자동화하여 노동력을 대폭 절약할 수 있는 고구마 육묘시스템 구축하고자 함. 또한 습해에 대한 고구마의 적응성을 높이기 위해 습해에 대한 생명공학 기반연구를 추진하고자 한다.

1-2. 연구개발의 필요성

■ 왜 고구마가 벼 재배 대안이 될 수 있는가?

60년대까지 구황작물로 여겨왔던 고구마가 노화방지, 질병(암, 당뇨, 고혈압) 예방에 도움이 되는 최고의 건강식품으로 평가되면서 1kg 기준 벼, 감자보다 약 2~3배 비싼 가격으로 판매되고 있다. 또한 단위면적당 수량도 고구마가 벼에 비해 약 2배 많아, 논에 고구마를 재배하면 벼농사에 비해 약 2.7배 소득을 향상시킬 수 있어 논 재배용 고구마가 주목을 받기 시작하고 있다 (2014년 농림축산식품부 자료). 2016년 현재 한국에서 논에 고구마를 심는 면적이 346ha으로 조사되고 있음 (2016년 농림축산식품부 자료).

고구마가 가지고 있는 작물로서의 우수성은 다음과 같다.

- 고구마는 단위면적당 탄수화물을 가장 많이 생산하는 전분작물이다.
- 고구마는 건강에 좋은 항산화물질 등을 다량함유 하고 있는 건강식품이다.
- 고구마 재배에 농약과 비료를 적게 필요로 하며 모든 부위를 이용할 수 있다.
- 척박한 토양, 가뭄, 태풍 등 환경재해에 강한 작물이다.

* 미국공익과학단체(CSPI)는 2007년 항산화물질, 식이섬유, 칼륨 등이 많이 함유되어 있어 고구마를 건강에 좋은 10대 식품으로 선정하였다.

* 미국 농무부 (USDA)는 2008년 고구마를 전분작물 (밀, 옥수수, 감자, 고구마, 카사바, 사탕수수) 가운데 단위면적당 탄수화물을 가장 많이 생산하는 작물로 선정하고, Biomass and Bioenergy (Ziska et al, 2009)에 게재하였다.

* 일본 농림수산성은 2003년 전분작물 가운데 고구마가 부양능력이 가장 높다고 발표하였다 (10a 면적에서 옥수수 1.01명, 벼 2.44명, 감자 3.38명, 고구마 3.91명).

■ 고구마 재배의 문제점이 무엇인가?

고구마 재배는 다른 식량작물에 비해 장점이 많으나 다음과 같은 문제점을 해결해야 한다.

- 고구마의 관행의 삼식 묘 생산체계는 많은 노동력과 시간, 공간이 필요하다.
- 건전 묘를 생산하는 방법이 필요하다.
- 재배지역 특성에 맞는 품종육성이 필요하다.

- 특히 습해에 대한 고구마의 적응능력 향상을 위한 기반연구가 필요하다.
- 고구마 수확의 생력화를 위해 적정규모의 재배가 필요하다.
- 용도 (식용, 전분용, 가공식품용 등)에 맞는 품종을 육성할 필요가 있다.
- 수확 후 관리로서 저장(13~15℃)에는 많은 에너지가 필요하다.

이 가운데 고구마 재배에 가장 문제가 되는 것은 어떻게 제한된 시간에 어떻게 고구마를 효율적으로 심을 것인가이다. 따라서, 본 과제에서는 고구마를 벼, 감자농사와 같은 방법으로 유식물체, 씨 고구마 등을 개발하여 에너지를 대폭 줄이면서 심을 수 있는 육묘시스템을 구축하고자 한다. 또한 논에 안전하게 고구마를 재배하기 위한 습해에 대한 고구마 적응성에 관한 생명공학연구도 병행하여 추진하고자 한다.

1-3. 연구개발 범위

벼농사를 대체하는 고소득 고구마를 벼 재배처럼 고구마 심는 것을 자동화하여 노동력을 대폭 절약할 수 있는 고구마 육묘시스템을 구축하고 습해에 대한 고구마의 적응성을 높이기 위해 생명공학연구를 추진하기 위한 연구개발 개요는 다음과 같다.

<육묘시스템 구축>

- 국립식량과학원 고구마연구실에서 추천하는 논에 적합한 고구마 품종을 이용
- 조직배양기술로 고구마 건전 묘를 생산하고 바이러스 감염여부를 확인
- 건전 묘를 이용하여 육묘관에서 유식물체를 생산
- 육묘관에서 유식물체를 계속 재배하여 씨 고구마를 생산
- 유식물체를 생산한 품종을 이용하여 관행의 삼식 묘를 생산
- 유식물체, 씨 고구마, 삼식 묘를 포장에서 1차 실증실험
- 1차 실증실험에서 문제점을 보완하고 2차 실증실험

<습해에 대한 적응기구 연구>

- 국립식량과학원에서 제공하는 고구마 품종들을 이용하여 기내 습해내성 조사
- 습해에 대한 상대적 저항성품종과 감수성품종의 특성비교
- 습해 저항성 품종의 생리, 생화학, 분자생물학적 특성 조사
- 습해 저항성과 감수성 품종의 비교 전사체 연구
- 습해내성 인자 발굴 및 분자생물학적 메커니즘 규명

○ 연구개발 활용

- PCT특허 출원 및 국내외 바이오산업체에 기술이전
- 국내 농경지 (논 포함) 고구마 재배에 활용
- 해외 (동북아시아, 중앙아시아 등) 대규모 고구마 재배에 활용

2. 연구수행 내용 및 결과

<제1세부과제: 습해내성 고구마 품종 선발 및 유식물체 최적 생산시스템 구축>

■ 습해 저항성과 감수성 품종의 선발

1. 1차 선발

1) 고구마 내습평가 재료 및 방법

- 평가 고구마 품종 (33품종): 건미, 건풍미, 건황미, 고건미, 다호미, 단자미, 대유미, 맛나미, 바이오미, 보라미, 생미, 신건미, 신올미, 신자미, 신천미, 신황미, 연미, 연자미, 연황미, 예스미, 올미, 자미, 전미, 주황미, 증미, 진미, 진올미, 진홍미, 풍원미, 해피미, 헬씨미, 호감미, 홍미

- 고구마 재료 및 습해 스트레스 처리 방법
 - 삼식묘 조건: 잎을 모두 제거한 약 7 cm의 고구마 줄기절편 묘 삼식
 - 환경: 온도 28℃ / 22℃ (낮 / 밤), 습도 50%, 광주기 16 h / 8 h (명 / 암)
 - 활용상토: 부농원예용상토 하이 (제오라이트 7%, 펄라이트 7%, 질석 3%, 코코피트 68%, 피트모스 14.729%, 비료 0.243%, 습윤제 0.004%, pH조절제 0.024%)
 - 습해처리 방법: 플라스틱 트레이 안에 묘가 삼식 된 직경 10 cm의 포트를 넣고 포트가 잠길 정도로 물을 채운다. 이후 삼식묘 마디에서 고구마 식물체 발달을 확인한다. 국립식량과학원의 ‘콩 내습·내한발성 관련 분자표지 및 저항성 자원 개발 (2016)’의 담수처리 방법을 참고하였다 (Sasidharan et al, 2015).



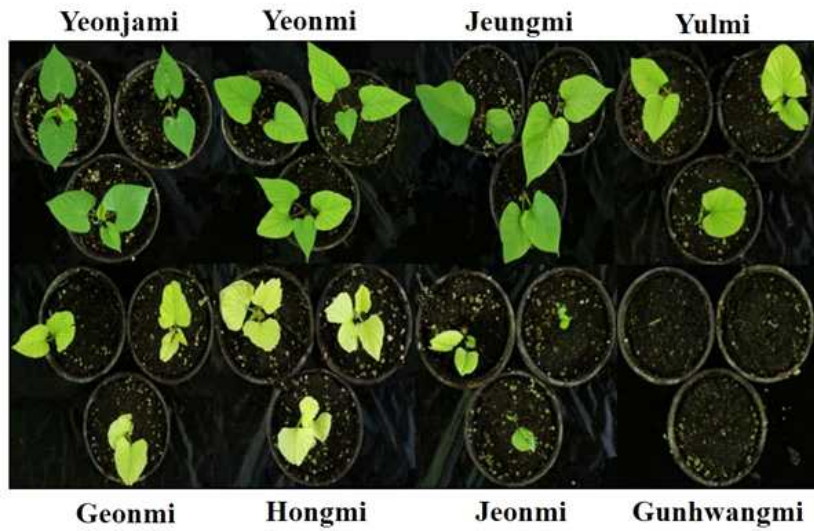
그림 1. 습해내성 및 취약품종 선발을 위한 스트레스 처리

2) 1차 내습평가 결과

- 습해처리 20일 후 연자미와 연미, 증미는 습해 스트레스가 낮게 나타났으며, 올미, 건미, 홍미와 같이 잎의 황화현상이 나타나거나 전미나 건황미처럼 지상부의 발달이 더디거나 발달하지 못하는 표현형이 확인되었다 (그림 2a). 발달한 잎에서 엽록소 측정결과, 연자미 (평균 spad unit: 38.87)와 연미 (38.8)에서 가장 높게 나타났으며, 전미 (14.27)와 홍미 (9.43)에서 가장 낮게 확인되었다 (그림 2b).

○ 1차 내습평가의 표현형 검정과 엽록소 측정 결과를 근거로 33품종 중 예상 습해 내성품종으로 연자미, 연미, 예상 습해 취약품종으로 홍미, 전미를 선발하였으며, 이들 4품종을 활용하여 습해내성 2차 선발을 진행하였다.

(a)



(b)

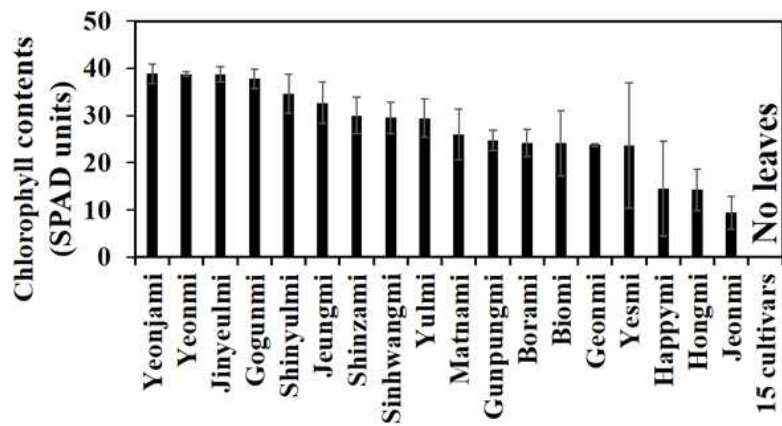


그림 2. 고구마 품종 별 내습평가 결과 (습해 처리 후 20일). (a) 습해처리 고구마 식물체 표현형. (b) 엽록소 측정 결과.

2. 2차 선발

1) 고구마 내습평가 재료 및 방법

○ 평가 고구마 품종

- 예상 습해 내성품종: 연자미, 연미
- 예상 습해 취약품종: 전미, 홍미

○ 생육조건

- 온도 28℃ / 22℃ (낮 / 밤), 습도 50%, 광주기 16 h / 8 h (명 / 암)
- 무처리: 정상생육 조건, 처리: 과습 조건

2) 과습 내성 표현형 검정 및 생육조사

- 정상조건 및 습해처리 후 기간 별(10일, 20일, 30일) 식물체 표현형 검정 결과, 전미, 홍미, 연미는 습해 조건에서 식물체 생육감소가 뚜렷하게 나타나는 반면 연자미는 습해 조건과 정상생육 조건에서 상대적으로 비슷한 표현형을 보였다(그림 3a).
- 모든 조건에서 생육 20일 차까지 연미, 연자미의 지상부 키가 전미, 홍미보다 더 크게 나타나는 패턴이며 그 중 연자미가 가장 큰 키를 보였다. 하지만 정상생육 조건 30일 후 전미의 키가 평균 약 47 cm로 가장 컸으나, 처리조건에서 다른 품종보다 약 80% 급격한 키 감소 폭을 보였다. 이는 다른 품종에 비해 전미가 습해에 상대적으로 스트레스를 많이 받았기 때문이라 예상된다(그림 3b).
- 정상조건 생육 30일에서 습해 예상 취약품종인 전미, 홍미의 평균 뿌리 길이는 약 20 cm 안팎이며 습해 내성품종인 연미, 연자미의 뿌리길이는 35 cm 이상으로 나타났다. 과습 조건 생육 30일 후 뿌리 길이는 전미, 홍미, 연미에서 모두 감소하는 패턴을 보였지만 연자미는 과습 조건에서 오히려 약 10% 뿌리길이가 증가하였다(그림 3a, b).

3) 엽록소 측정

- 습해처리 20일 차까지, 습해 예상 취약품종인 전미, 홍미에서 연미에 비해 엽록소 함량이 뚜렷하게 감소하였다. 연자미는 습해처리 10일 차에는 처리군에서 엽록소 함량이 감소하였지만 20일 차에는 오히려 증가한 결과를 보였다(그림 3c).
 - 습해처리 30일 후에는 모든 조건 및 품종의 평균 spad unit 범위가 35.1 ~ 45.4로 이는 정상생육 조건에서의 고구마 잎 spad unit 범위이다(약 40 내외). 이를 통해 습해처리 30일 후 엽록소 함량이 품종 및 스트레스 간 큰 차이가 나타나지 않은 것으로 확인되었다.
- 본 2차 내습평가를 통해 습해 내성품종은 연자미, 취약품종은 전미로 선발하였다.

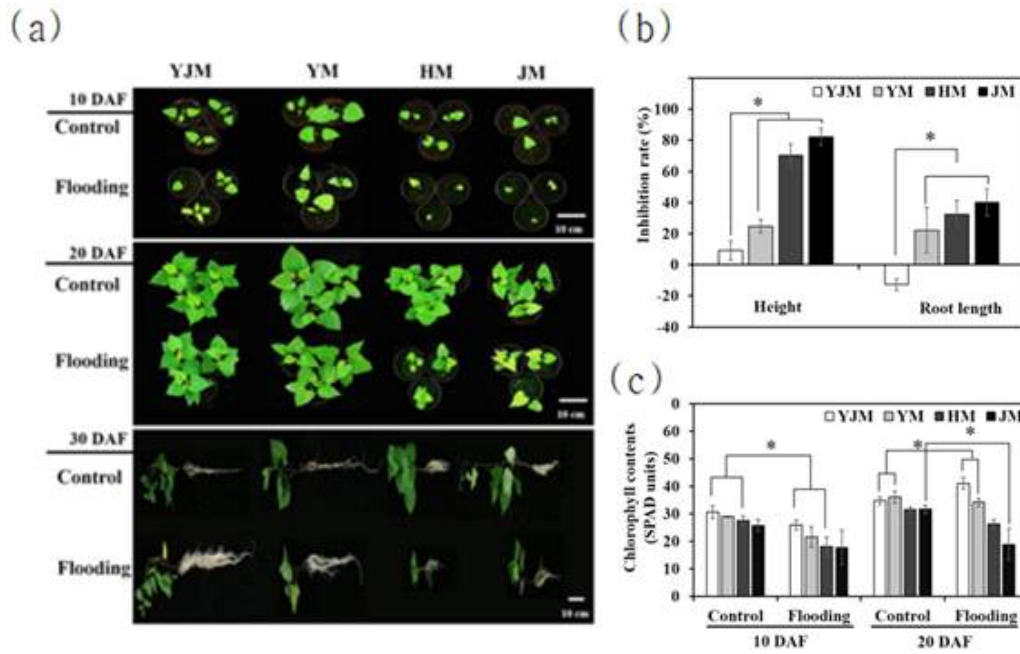


그림 3. 정상생육 (무처리) 및 처리 조건에서의 기간 별 고구마 식물체 표현형 및 생육조사 결과. (a) 생육 10일 차 및 20일 차 식물체 지상부 표현형. (b) 습해 처리 조건에서의 지상부 키 및 뿌리 길이 성장 저해율. (c) 습해 무처리 및 습해 처리 클로로필 함량변화.

■ 습해내성 및 감수성 고구마 품종을 활용한 습해내성 메커니즘 비교전사체 분석

○ 고구마 습해내성에 관여하는 분자적 메커니즘분석 규명을 위해 습해에 강한 연자미와 습해에 취약한 전미 간 비교전사체 분석을 진행하고자 하였다. 따라서 비교전사체 분석재료 선정을 위해 습해조건에서의 식물체 잎 샘플링을 탐색을 진행하였다. 이후 선정된 잎 샘플에서 습해내성 관점으로 전사체 결과분석을 수행하였다.

1. 비교전사체 분석 샘플링을 위한 두 품종의 습해반응의 생리학적 분석

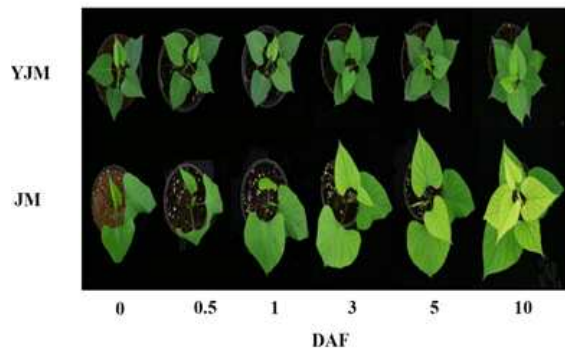
○ 실험방법: 정상조건에서 2주 생육한 연자미 및 전미 식물체에 10일간 습해 처리 후 표현형, 엽록소, MDA, H₂O₂ 함량 및 APX 활성측정

- 생육환경: 온도 28°C / 22°C (낮 / 밤), 습도 50%, 광 조건은 16 h / 8 h (낮 / 밤)
- 활용상토: 부농원예용상토 하이 (제오라이트 7%, 펄라이트 7%, 질석 3%, 코코피트 68%, 피트모스 14.729%, 비료 0.243%, 습윤제 0.004%, pH조절제 0.024%)
- 습해처리 방법: 플라스틱 트레이 안에 묘가 삽식 된 직경 10 cm의 포트를 넣고 포트가 잠길 정도로 물을 채움. 이후 삽식묘 마디에서 고구마 식물체 발달을 확인.

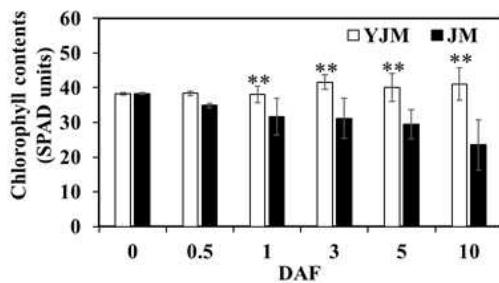
○ 습해스트레스 내성 표현형 분석: 10일 간의 습해스트레스 처리결과, 연자미는 뚜렷한 습해 표현형이 나타나지 않았지만, 전미는 습해처리 3일 차부터 잎의 색이 연해지는 황백화 현상이 나타나기 시작하였다 (그림 5a). 또한 연자미는 습해처리 10일 후 엽록소 함량이 증가(41.06 SPAD units)하여 습해내성을 확인할 수 있었다. 반면, 전미는 습해 처리 후 지속적으로 감소하는 엽록소 함량으로 습해에 취약한 표현형이 확인되었다 (그림 5b).

○ 산화스트레스 지표로서 지질과산화 정도를 나타내는 malondialdehyde (MDA) 함량과 H₂O₂ 함량도 습해처리 10일 후 연자미에 비해 전미에서 급격한 증가가 확인되었다 (그림 5c, d). 또한 습해관련 항산화효소인 ascorbate peroxidase (APX) 활성 측정결과, 연자미는 처리 3일 후, 전미는 10일 후 활성증가가 확인되었다 (그림 5e).

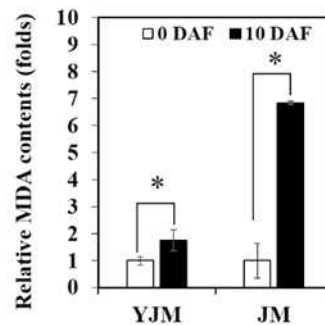
(a)



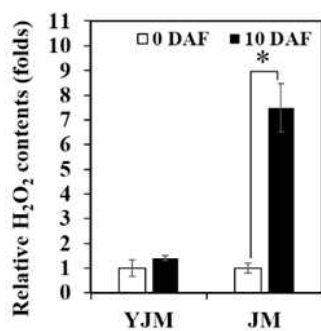
(b)



(c)



(d)



(e)

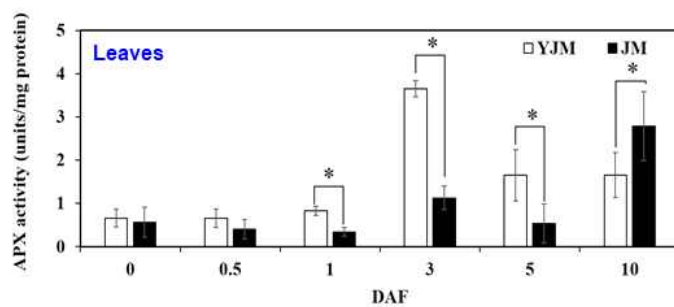


그림 5. 연자미와 전미 잎의 습해처리 10일 간의 생리학적 분석. (a) 습해처리 고구마 식물체 표현형. (b) 엽록소함량, (c) MDA함량, (d) H₂O₂함량 및 (e) APX활성 측정결과.

○ 10일 간의 습해처리 결과, 전미는 처리 3일차부터 잎의 황화현상과 함께 엽록소 함량이 감소하였으며, 산화스트레스 지표인 MDA, H₂O₂ 함량이 잎에서 연자미에 비해 높게 나타났다. 또한 습해관련 항산화효소인 APX의 활성이 처리 10일부터 증가하는 패턴을 보였다 (그림 5).

- 반면 연자미는 습해처리 동안 뚜렷한 습해 표현형이 확인되지 않았으며 엽록소 함량도 정상수준으로 유지되었다. 또한 잎의 MDA 및 H₂O₂ 함량 증가정도가 전미에 비해 낮게 나타났으며, APX의 활성은 전미보다 빠르게 처리 3일 차에 높게 증가하였다 (그림 5).
- 연자미와 전미의 생리학적 분석을 통해 연자미는 습해에 내성을 보이고 전미는 습해에 취약하다는 결과를 확인할 수 있었다.

2. 비교전사체 분석 샘플링을 위한 두 품종의 습해반응의 유전자발현 분석

- 실험방법: 습해처리 0, 0.5, 1, 3, 5, 10일 후 식물체 2~3 번째 잎을 샘플링하여, Trizol을 활용한 RNA 추출 및 cDNA 합성 후 qRT-PCR을 활용하여 습해관련 유전자들의 발현을 조사하였다. 유전자 발현은 습해처리 전 (0일 차) 연자미 발현을 1로 설정하여 상대적 비율로 표기하였다.
- 연자미와 전미 잎의 습해관련 유전자는 습해처리 전 (*ADH*, *ACC oxidase*), 습해처리 0.5일 차 (*LDH*, *XTH15*), 3일 차 (*SS*, *ALAT*, *XTH15*, *ACC oxidase*) 등에 발현차이가 확인되었다 (그림 6).
- 가는 뿌리에서는 잎보다 습해로 인한 유전자 발현증가가 빠르고 급격하게 나타났다 (그림 6).
- 두 품종 간 습해내성 차이가 습해내성관련 유전자 발현 차이에 기인할 가능성이 확인되었으며, 이 발현차이는 습해처리 초기 (0.5일)부터 나타나며, 습해처리 표현형이 나타나는 3일 후에는 급격한 발현패턴의 변화양상이 확인되었다. 따라서 무처리 0일, 습해처리 후 0.5일, 3일을 비교전사체를 분석타이밍으로 선정하였다.

■ 습해 내성 및 감수성 고구마 품종 간 습해내성 비교전사체 분석

1. 비교전사체 분석을 위한 total RNA 추출 및 RNA 서열분석

- 실험재료: 연자미 (YJM, 습해내성)와 전미 (JM, 습해감수성)의 0, 0.5, 3일 습해스트레스 처리한 잎
- Total RNA 추출 및 서열분석 방법: TRIzol reagent의 매뉴얼에 따라 RNA추출을 진행하였고 ND-1000 spectrophotometer와 RNA6000 Nano Kit을 이용한 2100 Expert Bioanalyzer로 RNA의 순도를 확인하여 분석가능한 상태의 RNA 샘플, 총 16개의 샘플을 분석에 이용하였다 (표 1). TruSeq Standarded mRNA를 이용하여 mRNA library를 확보하고 cDNA 합성 후 NovaSeq 6000으로 양방향 서열분석을 진행하고 질이 낮은 서열을 제거한 뒤 고구마 (cv. Taizhong6) 전사체 데이터베이스에 mapping 진행하였다.

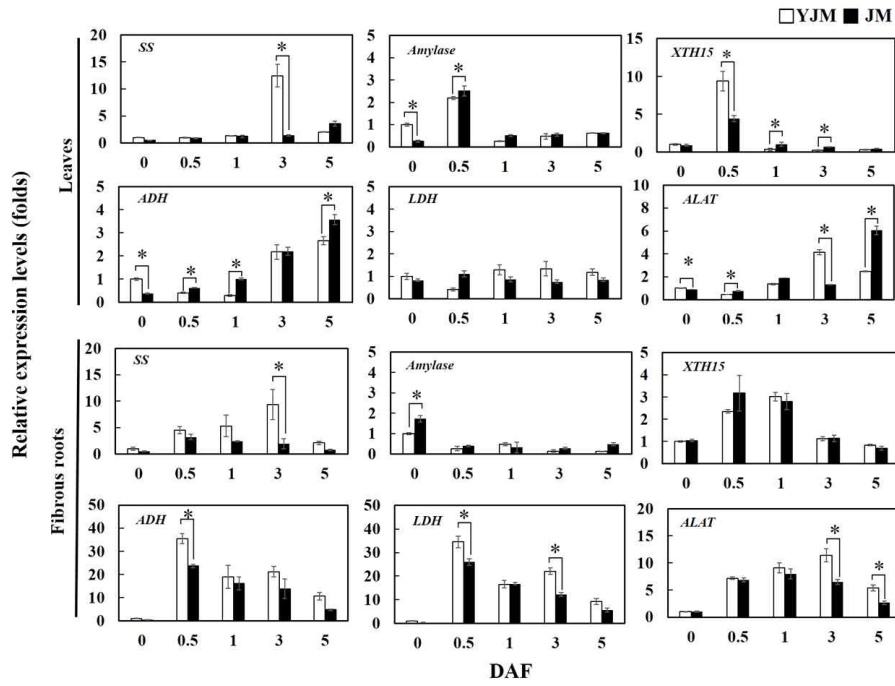


그림 6. 연자미와 전미의 잎과 가는뿌리에서 습해처리 기간 별, 습해내성 관련 유전자 발현패턴. *SS*, sucrose synthase; *ADH*, alcohol dehydrogenase; *LDH*, lactate dehydrogenase; *ALAT*, alanine amino transferase; *XTH15*, xyloglucan endotransglucosylase 15.

○ 서열분석 및 mapping결과: NovaSeq 6000을 이용하여 서열분석을 한 결과 총 561,608,772개의 raw read를 확보하였고, low-quality와 adaptor 오염된 read를 제외한 결과 확보한 read의 97.5%인 547,559,455의 trimmed read를 확보하였다. 확보한 trimmed read를 고구마 전사체 데이터베이스에 mapping한 결과, 429,701,469의 read가 mapping되어 모든 샘플이 74%이상 mapping된 결과를 얻었다 (표 1).

Cultivar name	Flooding duration (days)	Sample name	No. of raw reads	Trimmed reads		Mapped reads	
				No. of reads	% of raw reads	No. of reads	% of raw reads
Jeonmi (JM)	0	JM_0d_1	27,992,534	27,378,930	97.81	21,544,954	76.97
	0	JM_0d_2	35,738,954	34,832,602	97.46	26,845,079	75.11
	0	JM_0d_3	26,017,173	25,360,530	97.48	19,701,804	75.73
	0.5	JM_0.5d_1	31,253,935	30,602,711	97.92	24,375,537	77.99
	0.5	JM_0.5d_2	37,548,222	36,852,626	98.15	29,504,011	78.58
	3	JM_3d_1	34,252,119	33,439,746	97.63	26,511,375	77.40
	3	JM_3d_2	40,319,012	39,529,801	98.04	31,570,895	78.30
	3	JM_3d_3	38,776,675	37,734,023	97.31	29,001,142	74.79
	Yeonjami (YJM)	0	YJM_0d_1	39,766,686	38,713,504	97.35	30,063,834
0		YJM_0d_2	35,298,178	34,512,109	97.77	27,099,516	76.77
0.5		YJM_0.5d_1	34,919,729	33,896,712	97.07	26,833,296	76.84
0.5		YJM_0.5d_2	34,551,561	33,542,741	97.08	26,377,181	76.34
0.5		YJM_0.5d_3	43,993,902	42,686,631	97.03	33,504,847	76.16
3		YJM_3d_1	40,367,600	39,356,403	97.50	30,497,874	75.55
3		YJM_3d_2	28,111,723	27,401,855	97.47	21,542,105	76.63
3		YJM_3d_3	32,700,769	31,718,531	97.00	24,728,019	75.62

표 1. 조건별 고구마 잎 샘플의 raw, trimmed, mapped read의 수

2. 습해조건에서의 연자미와 전미의 비교전사체 분석결과

- 전사체 분석방법: 일정 기준치 이상의 read (NumReads>5, transcript per million[TPM]>0.3)를 발현된 유전자로 설정하고 샘플간 Log2 (fold change)>2, false discovery rate (FDR)<0.05인 유전자들을 서로 다르게 발현한 differentially expressed genes (DEGs)로 설정하여 분석을 진행하였다. 두 품종간 유의한 발현차이가 있는 유전자를 탐색하기 위해, 확인된 DEGs를 발현패턴과 발현기간에 따라 분류하고, 각각의 집단에 대해서 functional annotation 및 enrichment 분석을 진행하였다.

1) 습해로 인한 DEGs 발현패턴 변화에 따른 분석

- 전사체 분석 결과: 유전자의 발현 패턴에 따라 7개의 클러스터로 나누었다 (그림 7a, b). 습해처리 시간에 따라 전미에서 높게 발현되는 클러스터 1~3과 연자미에서 높게 발현되는 클러스터 4~7번을 분류할 수 있었고, 각각의 클러스터에 대해서 발현을 heatmap으로 표현하여 두 품종간의 발현양상이 상반되게 나타나는 것을 확인할 수 있었다.

- Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) 및 Gene Ontology (GO)를 이용한 functional enrichment를 통해 각각의 클러스터를 분석하였다 (그림 7c, d). 습해 감수성품종인 전미에서는 세포분열, 스테로이드합성, 성장, 수송, 탄수화물대사의 기능이 높게 나타났다. 반면 습해 내성품종인 연자미에서는 부정조직 발달, 이온수송, 스트레스 저항 및 방어, 지방산 산화 기능과 당 수송, 병원균과의 상호작용, 호르몬 신호전달 그리고 mitogen-activated protein kinase (MAPK) 신호전달 관련 기능이 높게 나타났다.

2) 습해 조건의 각 품종 내 DEGs 발현기간에 따른 분석

- 각 품종의 특이적 반응을 알아보기 위해 유전자발현 기간에 따라 3개의 그룹으로 나누어 분류하였다 (그림 8a, b). 단기간 발현하는 short-term group, 습해스트레스 전체적으로 나타나는 long-term group, 모든 조건에서 발현이 항상 높게 유지되는 basal group으로 나누어 heatmap으로 비교한 결과 매우 상반되는 발현을 보여주었다.
- 전사체 수준에서 전미는 습해 초기에 강한 반응성을 보이고, 습해시간이 지날수록 성장과 관련된 유전자들이 많이 확인되었다.
- 연자미는 습해초기에 성장, 세포사멸 기작 관련 유전자들이 많이 확인되었으나, 습해처리 3일차에서도 유전자들의 높은 반응성과 그 중 습해내성에 관련된 adventitious 조직발달 유전자도 확인되었다.
- 연자미에서는 습해조건에서 (0.5, 3일) 다수의 스트레스 내성 및 방어반응, 분화 관련된 유전자들이 다수 확인되었다.

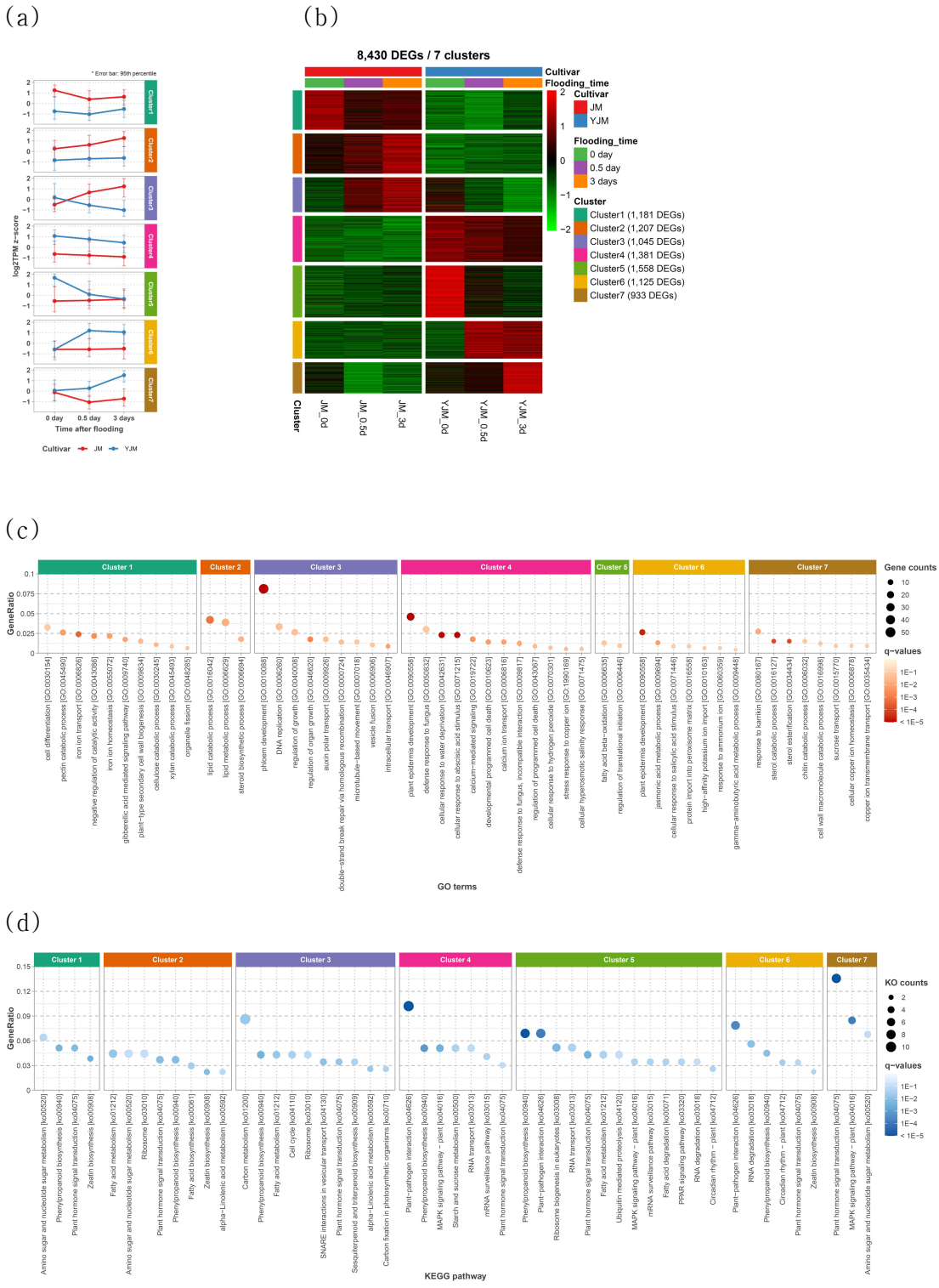


그림 7. 두 품종에서 공통적으로 발현된 DEGs 클러스터의 발현패턴. (a) DEGs 클러스터의 선형 그래프. (b) DEGs 클러스터의 발현 heatmap. (c) 각각의 클러스터에 대한 GO functional enrichment 분석. (d) 각각의 클러스터에 대한 KEGG pathway functional enrichment 분석.

(d)

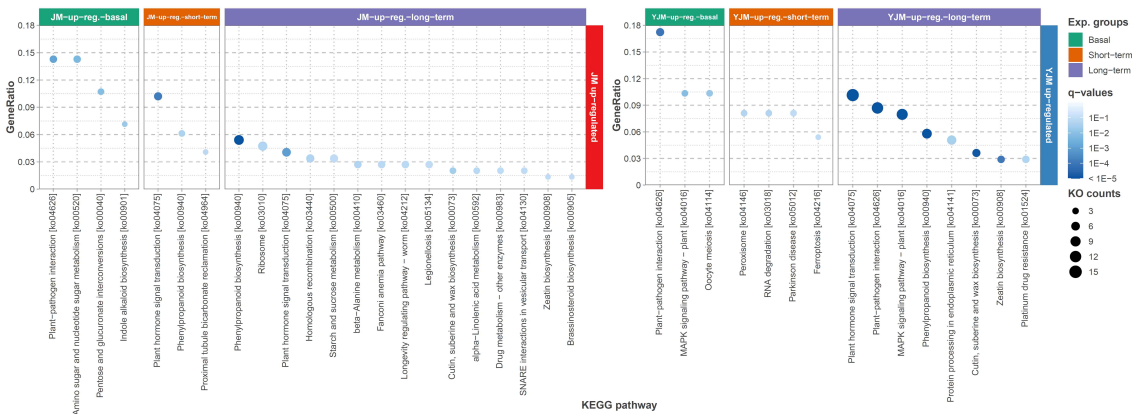


그림 8. 각 품종에서 발현기간에 따른 DEGs 분류. (a) 두 고구마 품종 공통 또는 특이적 DEGs의 벤다이어그램. (b) DEGs 그룹의 발현 heatmap. (c) 각각의 그룹에 대한 GO functional enrichment 분석. (d) 각각의 클러스터에 대한 KEGG pathway 분석.

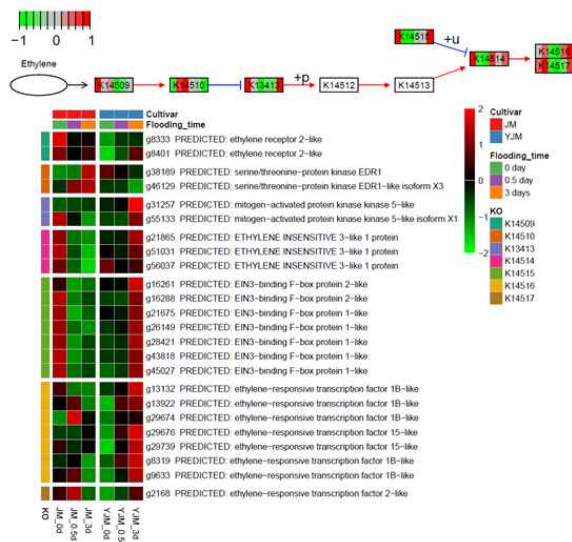
3) Target KEGG pathway 분석

- 앞서 DEGs 클러스터 분석 및 시간대별 품종 특이적 DEGs 그룹 분석에서 유의미하게 나타난 두 개의 KEGG pathway 중 습해와 관련이 있는 것으로 추정되는 Plant hormone signal transduction [ko04075]와 Mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathway-plant [ko04016]의 DEGs 발현 비교를 실시하였다.
- 연자미에서 습해스트레스 감지 및 반응에 중요하다고 알려진 에틸렌 신호전달 유전자들의 발현이 습해조건에서 전미보다 더 높게 유도되었다 (그림 9a). 따라서 연자미에서 더 높은 반응성으로 습해내성에 관여할 것으로 예상하였다 (Banga et al, 1996; Yang et al, 2015).
- 식물호르몬 ABA는 식물의 줄기생장 시, 그 함량이 감소한다고 알려져 있다 (Smulders 1991). 습해조건에서의 ABA 신호전달 관련 유전자의 발현은 전미에서 급격히 낮아졌고, 연자미에서는 약간 증가하였다 (그림 9b). 따라서 ABA 신호전달 유전자들의 발현감소가 전미의 습해반응인 줄기생장 증가로 나타난 것으로 예상하였다 (Pagmussat et al, 2004).
- 세포분열과 신초유도의 기능을 하는 zeatin 신호전달 유전자가 습해로 인해 전미에서 급격히 증가하는 것으로 보아, ABA와 마찬가지로 습해조건에서 나타나는 전미의 줄기생장에 zeatin이 관여한 것으로 예상하였다. (그림 9c).
- 저온, 염, 삼투 스트레스 신호전달에 관여하는 MAPK 경로의 유전자들의 발현을 두 품종에서 비교한 결과, 전미는 발현이 감소되었지만 연자미에서는 발현이 증가하였다. 따라서 전사체 수준에서 연자미는 습해를 포함한 다른 환경스트레스에서도 더 높은 적응 및 내성

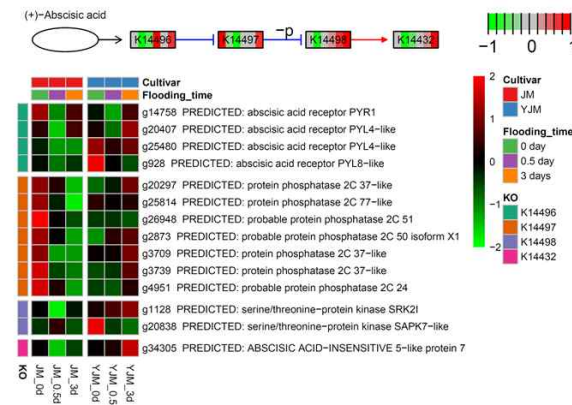
이 있을 것으로 추정된다 (그림 10a, Sinha et al, 2011).

- 병원균 감염으로부터 유도되는 MAPK 신호전달 경로의 유전자들의 발현을 두품종에서 비교하였을 때, 전미에 비해서 연자미의 발현이 월등히 높게 나타나는 것을 확인하였다. 따라서 습해에 의해 발생하는 병원균 감염 방어능력이 연자미에서 더 높을 것으로 추정된다. (그림 10b, Zhang et al, 2017).

(a)



(b)



(c)

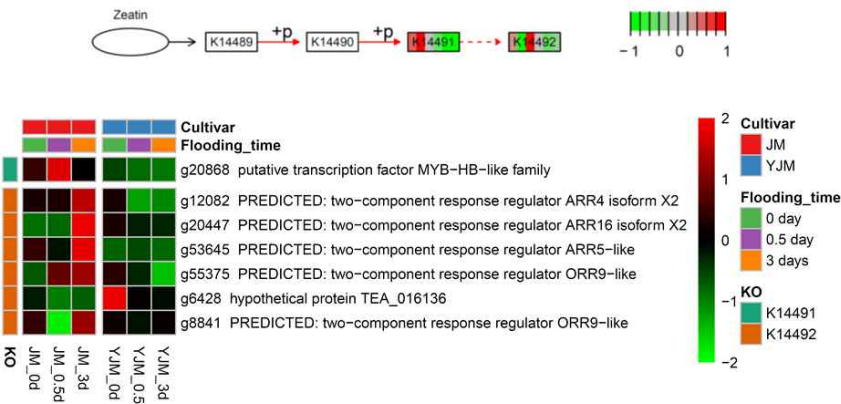
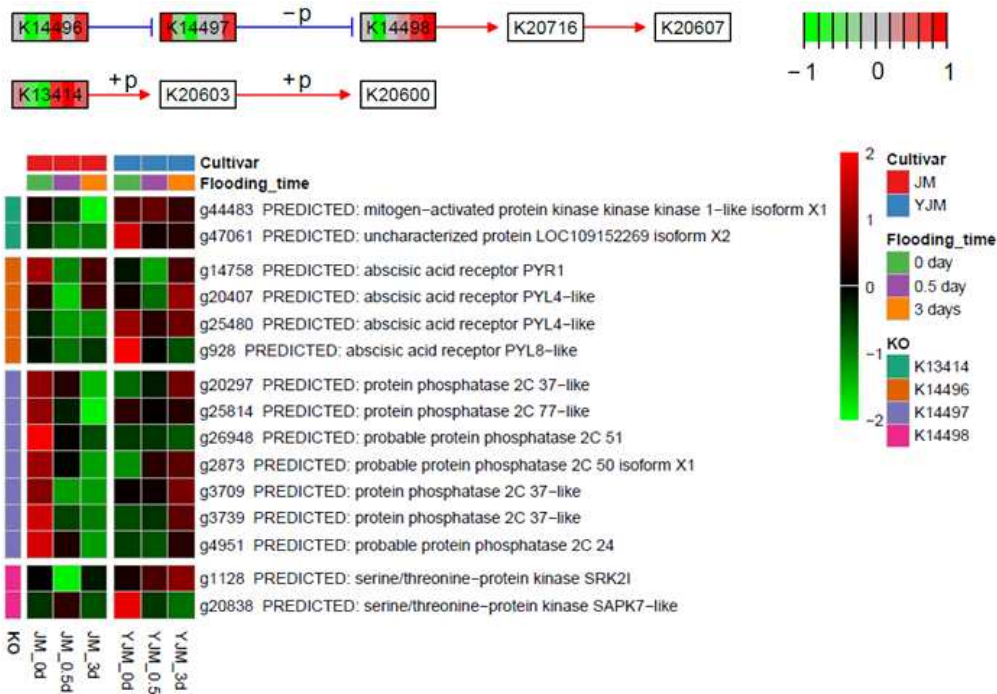


그림 9. 식물 호르몬 신호전달 경로 유전자들의 발현. (a) 에틸렌 신호전달 경로의 유전자 발현. (b) ABA 신호전달 유전자 발현. (c) zeatin 신호전달 경로의 유전자 발현

(a)



(b)

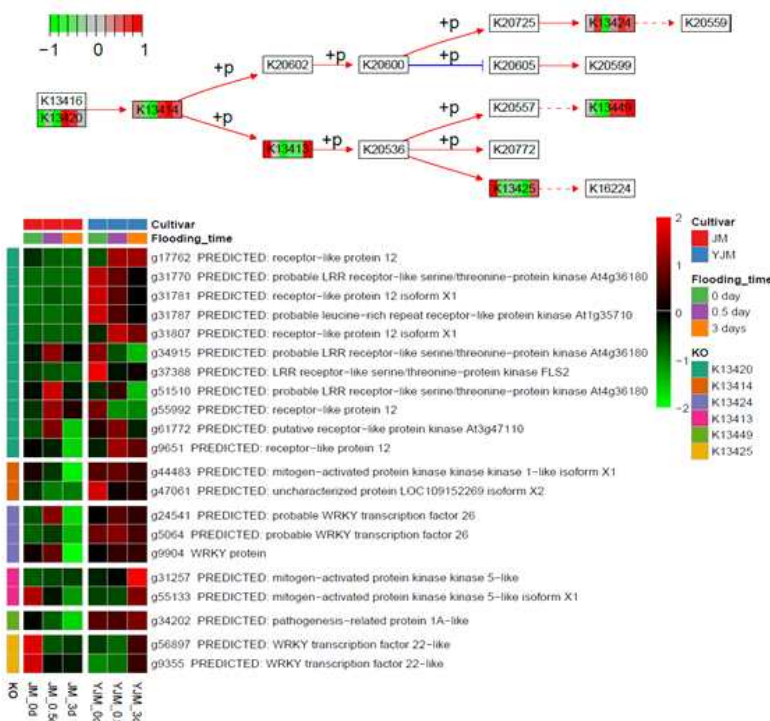


그림 10. MAPK 신호전달 경로 유전자들의 발현. (a) 저온, 염, 삼투 스트레스에 의해 유도되는 MAPK 신호전달 경로의 유전자 발현. (b) 병원균 감염에 의해 유도되는 MAPK 신호전달 경로의 유전자 발현.

4) RNA 시퀀싱 분석 데이터 타당성 검증

- RNA-Seq 분석 데이터의 타당성 검증을 위해 예상 습해내성관련 유전자를 무작위로 선별하여 DEG 발현을 동일한 샘플에서 qRT-PCR을 통해 비교검증하였다 (그림 11).
- 분석한 대부분의 유전자 발현패턴 및 발현정도가 qRT-PCR과 RNA-Seq 결과에서 비슷한 양상으로 확인되었다.

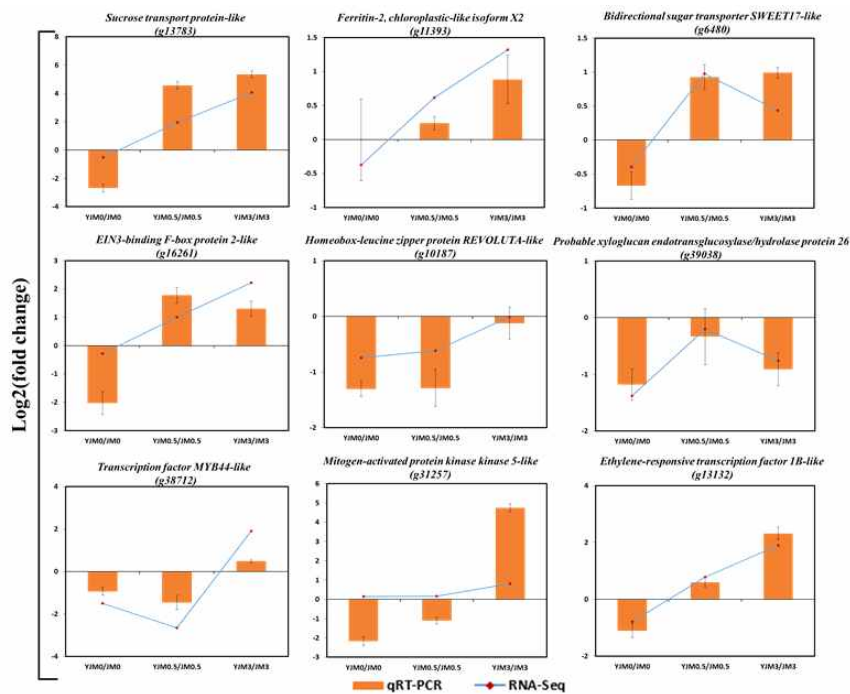


그림 11. 동일샘플 내 RNA-Seq 결과와 qRT-PCR을 통한 유전자 발현분석 비교

5) 예상 습해내성 관련 핵심유전자 확보

- 비교전사체 분석을 통해 습해 내성에 관련될 것으로 보이는 유전자들을 확보하였다 (표 2).
- MAPK 및 에틸렌 신호전달에 관여하는 *MAPKK 5*, 에틸렌 신호전달에 관여하는 *EIN3*, ABA 신호전달에 관여하는 *PYR4*이 습해조건에서 고구마의 신호전달을 통해 습해에 대한 내성과 반응성을 높여줄 것으로 보인다.
- 습해조건에서 비침수 조직인 잎이 직접적으로 침수되어있는 뿌리로 당의 수송을 통해 습해스트레스로부터 지하부의 에너지를 공급하여 습해내성에 관여하는 것으로 보이며, 연자미의 잎에서에서 당수송에 관여하는 *Sucrose transport protein*, *Bidirectional sugar transporter SWEET17* 유전자의 발현이 높게 나타나 습해스트레스로부터 지하부의 생존에 유리하게 하여 습해내성에 관여하는 것으로 보인다 (Ponnamperuma, 1972; Ismond et al, 2003; Takahashi et al, 2018).

○ *MYB44*는 MAPK 신호전달에 의해 유도되는 전사인자로서 활성산소종 제거 등 전반적인 스트레스에 대한 방어기작을 담당하고 있어, 습해내성에 관여할 것으로 보여진다. 또한 *ERF1B*는 습해스트레스 감지 및 반응에 중요한 식물 호르몬인 에틸렌에 의해 유도되어 고구마가 전사체 수준에서 습해스트레스에 대해 높은 반응성을 일으키게 되어 습해내성에 관여할 것으로 보인다.

○ 식물체가 습해를 받으면 지상부의 철이온의 농도가 증가하여 이온독성이 발생하게 되는데, *ferritin-2*를 통해서 습해에서 지상부의 이온독성으로부터 보호하여 습해내성을 부여할 것으로 보인다 (Chen et al, 2005; Rout 2015).

Gene ID	Description	YJM/ JM expression (Log ₂ fold change)			Function
		0 d	0.5 d	3 d	
<i>g31257</i>	<i>MAPKK 5</i>	0.1	0.2	0.8	Ethylene/ MAPK (pathogen infection) signal
<i>g55133</i>	<i>MAPPK 5</i>	-1.5	-0.3	1.8	Ethylene/ MAPK (pathogen infection) signal
<i>g21865</i>	<i>EIN3</i>	-0.8	0.4	1.4	Ethylene signal transduction
<i>g51031</i>	<i>EIN3</i>	-0.9	0.3	1.8	Ethylene signal transduction
<i>g56037</i>	<i>EIN3</i>	0	0.7	1.8	Ethylene signal transduction
<i>g20407</i>	<i>PYR4</i>	0	0.4	0.4	ABA signal transduction
<i>g25480</i>	<i>PYR4</i>	1.6	1.7	2.1	ABA signal transduction
<i>g13783</i>	Sucrose transport protein	-0.5	1.9	4	Sucrose transport
<i>g6480</i>	Bidirectional sugar transporter <i>SWEET17</i>	-0.3	1.0	0.4	Sucrose transport
<i>g38712</i>	<i>MYB44</i>	-1.5	-2.6	2.0	Transcription factor
<i>g13132</i>	<i>ERF1B</i>	-0.7	0.8	1.9	Transcription factor
<i>g11393</i>	<i>Ferritin-2</i>	-0.4	0.6	1.3	Store iron in soluble, non-toxic form

표 2. 연자미와 전미의 비교전사체 분석을 통해 확보한 예상 습해내성 관련 유전자.

■ 고구마정식 생력화 기술개발

1. 유식물체 고구마 묘 활용 고구마 묘 기계화정식 시험

1) 유식물체 고구마 기계화 정식시험을 위한 육묘 및 정식기 선정 시험

- 고구마 정식 생력화 기술개발을 위해 유식물체 형태의 고구마 묘를 활용하여 연구를 진행하였다. 유식물체 고구마 묘는 기존 관행묘 (20-25 cm) 보다 사이즈 (3-5 cm)가 작기 때문에 기계화를 위한 접근성이 용이 할 것으로 판단하였다. 또한 한 개의 관행묘로부터 최소 5개 이상의 유식물체 묘를 확보 할 수 있기 때문에, 육묘 및 수확량 측면에서 또한 효율적일 것으로 예상되었다. 따라서 유식물체 고구마 묘를 활용하여 농기계회사인 (주)동양물산기업과 연계하여 실증시험을 진행하였다. 고구마 생력화 현장재배 시험에 앞서, 우선 유식물체 고구마의 육묘조건 (묘 조건, 트레이, 생육환경 등)과 적정 정식기 시험을 진행하였다.
- 기계화 시험을 위해 (주)동양물산기업의 묘를 뽑아 토양에서 이식하고 흠을 덮는 정식 메커니즘인 엽채류정식기 PVZ1-60D (트레이 규격: 128, 200구)와 양파정식기 TOP6 (트레이 규격: 384구) 중 적정 정식기 및 육묘트레이 선정을 위한 시험이 필요하였다. 따라서 128, 200 그리고 384구 트레이에서의 유식물체 고구마 육묘 및 시험장에서 정식 테스트를 진행하여 검정하였다.
- 성공적인 고구마 트레이 육묘를 위해선 묘의 활력과 기계정식 시 중요한 지하부 뿌리매트가 형성되어야 한다. 트레이 생육 비교시험을 위해 습해내성 고구마 품종인 연자미를 활용하였으며, 온도 25°C, 습도 50%, 16시간 명과 8시간 암조건에서 생육하였다. 그리고 고구마 줄기를 2마디를 포함한 3~5 cm의 고구마 줄기절편으로 준비하였으며, 줄기절편 묘 활력에 효과적인 영양제 루팅(주)한국원예자재) 처리 후 (그림 12) 128, 200, 384구 트레이에 각각 삼식하였다.

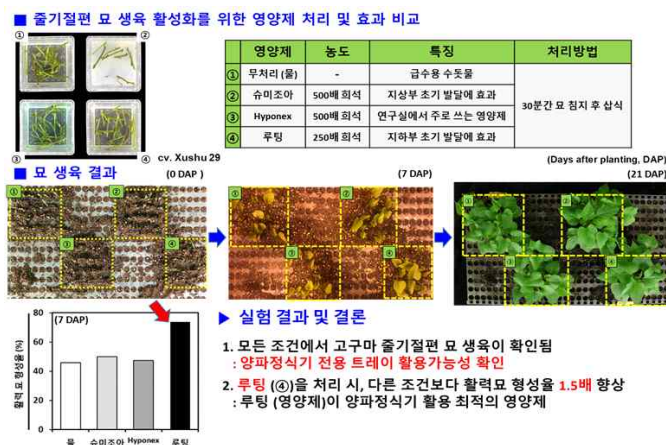


그림 12. 유식물체 고구마 묘 활력을 향상을 위한 영양제 비교실험

- 3주 생육한 128 및 200구 트레이 묘의 신초길이가 각각 5~10 cm, 4~7 cm로 128구 트레이 묘가 조금 더 크고 활력있게 생육하였다 (그림 13). 이는 묘간 간격이 좁아 공간경합이 심한 200구와는 달리, 128구는 상대적으로 지상부 간 경합이 적어 생육이 더 좋았던 것으로

로 판단되었다. 반면 384구 트레이 묘는 트레이 구 공간이 좁아 과도한 뿌리발달을 방지하기 위해 2주간 육묘하였으며, 신초길이가 약 3~5 cm로 확인되었으며 다른 두 트레이보다 생육이 저조하였다. 따라서 트레이 구 공간이 클수록 유식물체 고구마 육묘에 유리하다고 판단되었다.

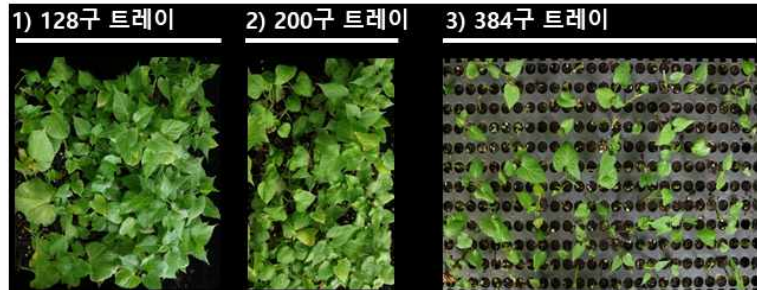


그림 13. 트레이에 따른 고구마 생육차이

○ 2020년 3월 16일 충남 논산 노성면에 위치한 (주)동양물산기업 하우스 시험장에서 육묘한 유식물체 고구마를 활용하여 정식기 시험을 진행하였다 (그림 14). 128, 200구 트레이 전용 엽채류정식기 PVZ1-60D의 재식거리는 20 cm, 384구 트레이 전용 양과정식기 TOP6는 12 cm로 설정하여 유식물체 고구마 묘를 정식하였다. 정식원리는 유식물체 묘 트레이를 탑재 대에 넣으면 집게가 묘를 집고, 호퍼가 파낸 토양 구멍에 묘를 떨어뜨린다. 그리고 진압륜이 지나가면서 묘가 정식된 주변 토양을 단단하게 하여 묘가 쓰러지지 않게 한다. 엽채류정식기와 양과정식기의 정식메커니즘 차이로, 엽채류정식기는 묘를 한개씩 정식하는 반면 양과정식기는 여섯 개의 묘를 동시에 정식한다.

(a)



(b)



(c)



그림 14. 유식물체 고구마 정식을 위한 트레이 및 정식기 시험. (a) (주)동양물산기업 하우스시험장. (b) 엽채류정식기 PVZ1-60D. (c) 양과정식기 TOP6

○ 정식결과, 엽채류정식기 및 양과정식기 모두 유식물체 고구마를 기계정식가능하였다 (그림 15). 정식률 평가결과, 엽채류정식기를 활용한 128구 트레이 묘 정식률은 78.1% (50/64 주)로 가장 높았으며, 200구 트레이 묘 정식률도 71.2% (57/80 주)로, 두 트레이에서 모두 비슷하게 나타났다. 정식된 두 트레이 유식물체 묘는 잎 수가 5~7장 발달하였으며, 튼튼한 뿌리매트 형성이 확인되었다 (그림 15c). 반면 양과정식기를 이용한 384구 트레이 묘 정식결과, 63.4% (59/93 주)로 상대적으로 낮게 나타났다. 엽채류정식기를 활용한 묘 보다 잎 수가 적었으며, 뿌리매트가 제대로 형성되지 않은 묘가 많이 확인되었다 (그림 15e).

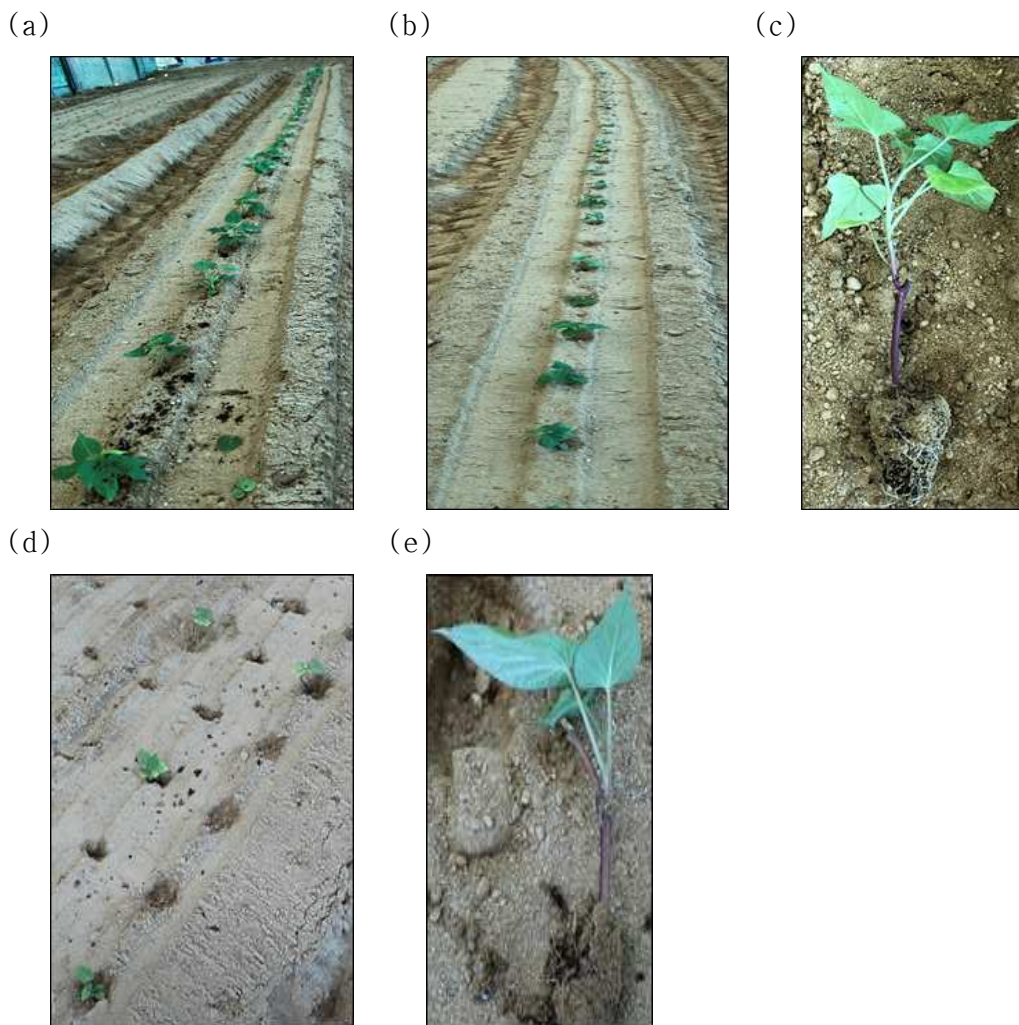


그림 15. 유식물체 고구마 정식을 위한 트레이 및 정식기 시험결과. (a) 기계정식된 128구 트레이 유식물체 묘. (b) 기계정식된 200구 트레이 유식물체 묘. (c) 건전한 지상부와 뿌리매트가 형성된 엽채류정식기 활용묘. (d) 기계정식된 384구 트레이 유식물체 묘. (e) 384구 트레이 묘

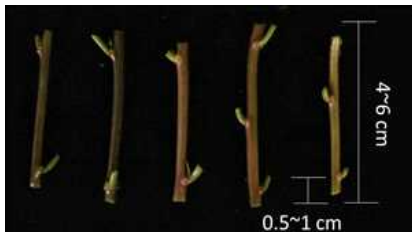
○ 유식물체 고구마 묘 실증시험을 위해 적정 육묘조건과 정식기 선정을 위한 시험결과, 정식률이 가장 78.1%로 가장 높고, 육묘 중 유식물체 묘의 상태가 가장 건전한 엽채류정식기 PVZ1-60D를 이용한 128구 트레이를 활용하는 것이 가장 적합하였다. 그리고 3~4주 간 육묘한 유식물체 고구마 묘는 새로 발달된 신초길이 7~10cm, 5~7 장의 잎을 보유한 묘가

토양 뿌리매트도 같이 발달되었기 때문에, 이 때의 묘가 최적의 상태로 판단하였다. 200구 및 384구 트레이도 고구마 생력화에 활용 할 수 있는 가능성을 보았으나, 상대적으로 낮은 정식률 (각각 71.2%, 63.4%), 육묘 중 묘 경합문제, 고구마 작부체계에 맞지 않는 여섯 개 묘 동시정식, 뿌리발달에 필요한 트레이 구의 좁은 공간 등의 문제로 선정하지 않았다. 그리고 본 시험을 통해 육묘 중 발달한 잎이 크더라도 잎이 찢어지는 문제가 발생하지 않으며, 고구마 묘가 15 cm 가까이 크면 정식되지 않는다는 사실을 확인 할 수 있었다.

2) 엽채류정식기를 활용한 128구 트레이 유식물체 고구마 묘 생력화 현장시험

○ 앞선 시험으로 고구마 유식물체 묘를 활용한 정식의 기계화 가능성을 확인할 수 있었으며, 실제 필드에서의 기계화 정식적용을 확인하기 위해 현장시험을 진행하였다. 앞선 시험을 통해 선정한 128구 트레이에 마디 2개 이상을 포함한 4~6 cm의 고구마 줄기절편을 500배 희석한 영양제 루팅(주한국원예자재)에 1시간 침지 후 삼식하였으며, 3~4주간 온도 25℃, 습도 50%, 16시간 명과 8시간 암조건에서 생육하였다 (그림 16). 그리고 정식 이틀전 날, 고구마 묘를 노지생육하여 순화과정을 진행하였다 (그림 16d).

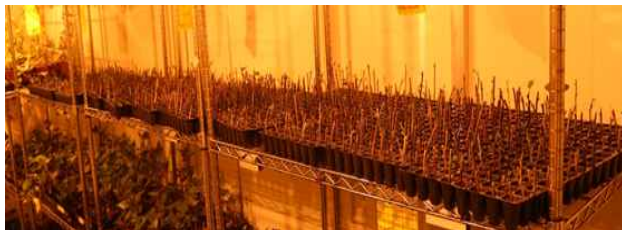
(a)



(b)



(c)



(d)



그림 16. 생력화 현장시험을 위한 유식물체 고구마 육묘과정. (a) 유식물체 묘를 위한 고구마 줄기절편. (b) 트레이 삼식 전, 영양제 루팅에 침지 중인 고구마 줄기절편. (c) 식물생장실에서 생육 중인 128구 트레이 유식물체 고구마 묘. (d) 현장필드 정식 전, 노지에서 순화 중인 묘

○ 유식물체 고구마 묘의 기계화 정식 시험을 위해 2020년 5월 14일 충남 논산시 노성면에 위치한 노지 시험포장에 방문하였다. 정식에 이용한 엽채류정식기 PVZ1-60D의 재식거리를 20 cm로 설정하였으며, 흑색비닐로 멀칭된 두둑에 고구마 기계화 정식을 진행하였다 (그림 17). 기계화 정식결과, 전체 고구마 유식물체 묘 정식률이 91.4% (383/419 주)로 앞선 시험의 78.1% 보다 향상된 정식률이 확인되었다. 또한 선발된 건전묘의 정식률은 96.1% (123/128)로 매우 우수하였다. 다만 정식 중 묘의 길이가 너무 작을 경우, 묘가 비닐멀칭 안에서 생육할 가능성이 확인되어 육묘방법의 보완이 필요하였다.

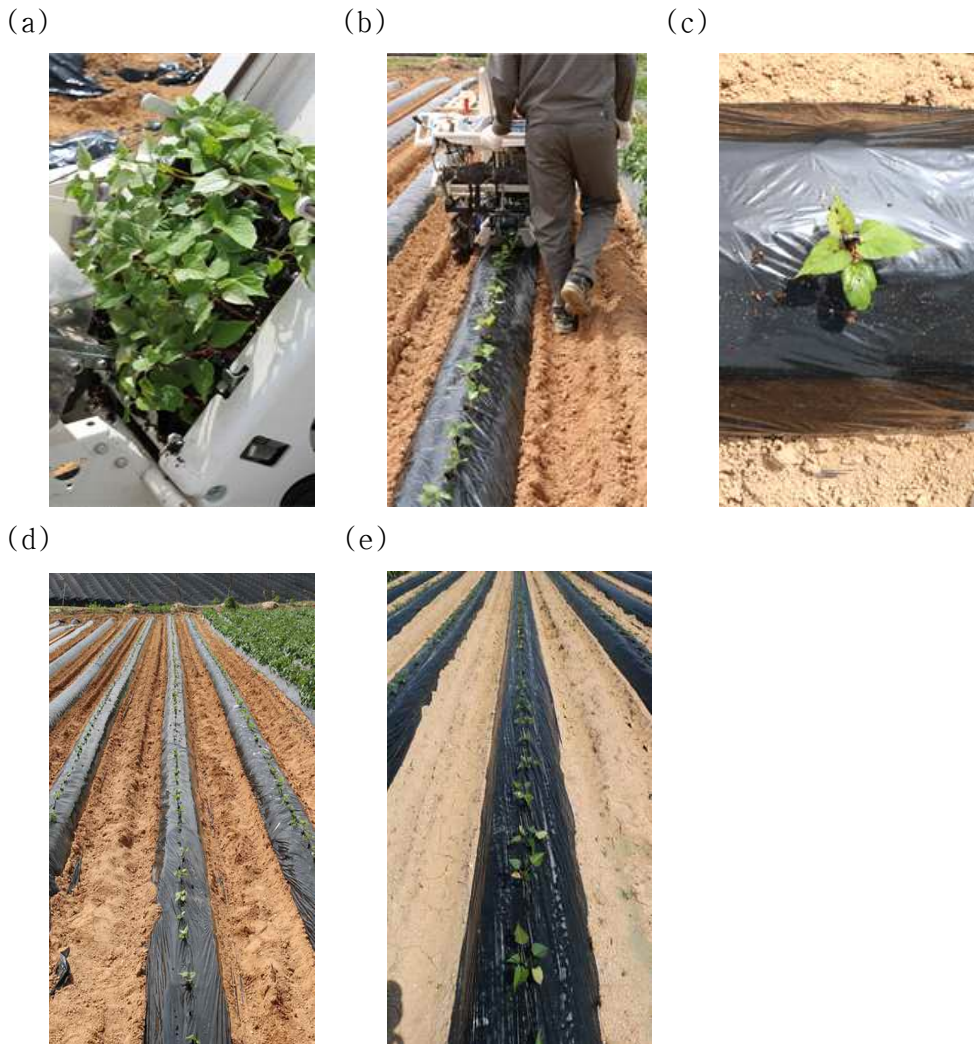


그림 17. 생력화 현장시험을 위한 유식물체 고구마 정식. (a) 엽채류정식기에 탑재된 128구 트레이 유식물체 묘. (b) 기계정식 중인 유식물체 묘. (c) 기계정식된 묘. (d) 유식물체 고구마 묘 정식 직후. (e) 기계정식 2주 후 정상생육 중인 묘.

○ 본 정식시험에서 엽채류정식기 PVZ1-60D (㈜동양물산기업)를 활용하여 128구 트레이에 생육한 유식물체 고구마 묘를 기계화정식 하였으며, 91.4%의 매우 우수한 정식률로 성공적인 결과가 도출되었다. 길이가 20 cm 이상인 기존 관행묘와 달리, 유식물체 고구마 묘는 길이가 10 cm 정도로 작아 엽채류정식기의 정식메커니즘에 적용할 수 있었다. 그리고 최적의 육묘과정을 통한 건전 유식물체 고구마 묘의 확보가 기계화정식에 매우 중요하다는 사실을 확인하였다. 건전묘 확보를 위해 2마디를 포함한 4~6 cm 줄기절편 묘를 500배 희석한 영양제 루팅(㈜한국원예자재)에 1시간 침지 후 128구 트레이 삽식하며, 4~5주간의 생육을 통해 4장 이상의 잎, 약 10 cm의 묘 길이가 충족되어야 한다. 또한 육묘기간 중 매트공간 포화로 인해 트레이 밖으로 뿌리가 돌출되지 않는 수준의 뿌리매트 형성이 필요하다.

- 결론적으로 엽채류정식기를 활용한 128구 트레이 생육 유식물체 고구마 묘의 기계정식을 성공하여, 고구마 정식의 생력화의 가능성을 볼 수 있었다.

2. 왜화제 처리를 통한 유식물체 고구마 육묘개선

- 유식물체 고구마 육묘를 위해선 4~6 cm 줄기묘에 최소한 마디 2개가 포함되어 있어야 한다. 본 시험에서는 고구마 생장실에서 생육하였기에 적정 조건의 묘를 확보할 수 있었지만, 실제 농가에서 하우스 육묘 할 경우에는 마디간 간격이 5 cm 이상으로 나타난다. 따라서 실제 농가에서 유식물체 고구마 묘를 활용하여 기계정식 하기 위해서는 육묘방법 개선을 통해 줄기묘의 마디간 간격을 줄일 필요성이 있다.
- 식물호르몬 지베렐린은 식물의 키를 조절한다고 알려져있다. 식물체 내에서 지베렐린이 많이 생합성되면 식물의 신장은 증가하고, 반대로 생합성이 억제되면 식물의 신장은 작아지게된다. 이 점에 착안하여 지베렐린 생합성을 억제하여 식물마디 간격을 줄어들게 하는 왜화제를 고구마 줄기묘에 처리하여 육묘방법을 개선하고자 연구를 진행하였다.
- 본 시험에서 왜화제로 5% 디니코나졸 액상수화제인 모회사의 왜화제 X를 활용하였다. 그리고 4~6 cm의 2마디 이상을 포함한 줄기절편 묘에 1) 1시간 침지 후 삼식하거나, 2) 묘 삼식 10일 후 2주마다 1회씩, 총 2회 엽면처리하여 처리방법을 비교하였다. 또한 왜화제 X 처리농도는 0.2, 2, 20 ml/L로 나누어 적정 농도탐색을 수행하였다. 고구마 묘는 온도 25℃, 습도 50%, 16시간 명과 8시간 암조건에서 생육하였다.



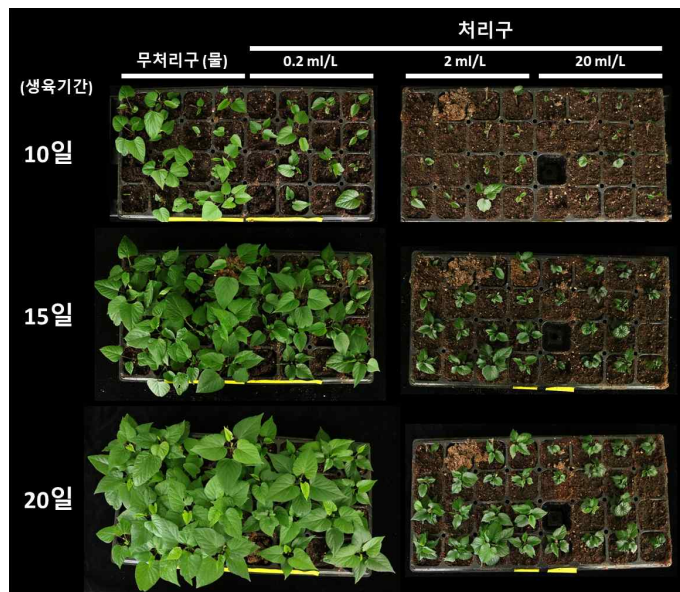
그림 18. 유식물체 고구마 육묘 개선에 사용된 왜화제 X.

1) 왜화제 X 줄기절편 침지처리 결과

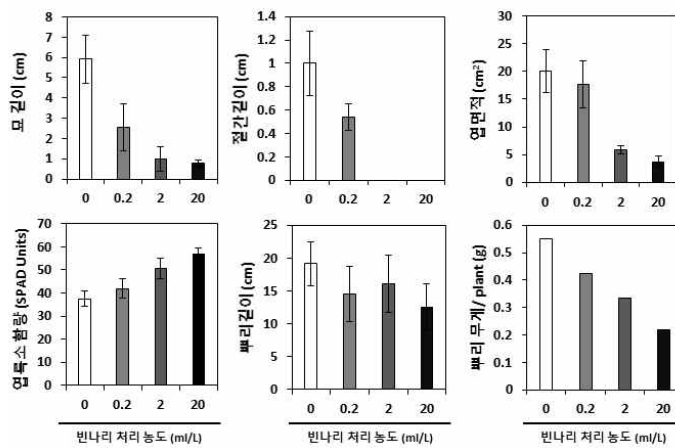
- 묘 침지 방법으로 왜화제 X를 처리한 후 20일간 생육을 관찰하였다 (그림 19). 왜화제 X 처리 농도가 높아질수록 생육억제가 뚜렷하게 확인되었으며, 0.2 ml/L 처리구에서는 생육억제 정도가 낮았지만, 2 ml/L 이상의 처리구에서는 비정상적인 형태를 보이며 급격한 생육억제가 나타났다 (그림 19a). 생육 20일 후 무처리구는 묘 길이가 6 cm 가까이 자란 반면, 0.2 ml/L에서는 2 cm 내외, 2 ml/L 이상에서는 약 1 cm로 매우 급격하게 억제되었다 (그림 19b). 절간길이 측정결과, 무처리구는 1 cm 내외이며, 0.2 ml/L는 0.5 cm 내외로 적정감소하였다. 반면 2 ml /L 이상에서는 절간간격이 너무 좁아 측정이 불가하였다. 2 ml/L

이상에서는 또한 5 cm² 이내로 감소한 엽면적으로 인해 잎 색은 매우 진한 녹색을 띄며 엽록소 함량이 무처리구에 비해 증가한 결과를 보였다. 지하부 측정결과, 뿌리길이는 처리구에서 다소 감소하였으나, 식물체 당 뿌리무게는 농도 급격한 감소한 결과를 보였다. 결과적으로 지상부, 지하부 모두 왜화제 X 처리로 인해 생육억제가 확인되었으며, 2 ml/L 이상의 농도에서는 그 정도가 급격하여 장애표현형이 확인되었다 (그림 19c).

(a)



(b)



(c)

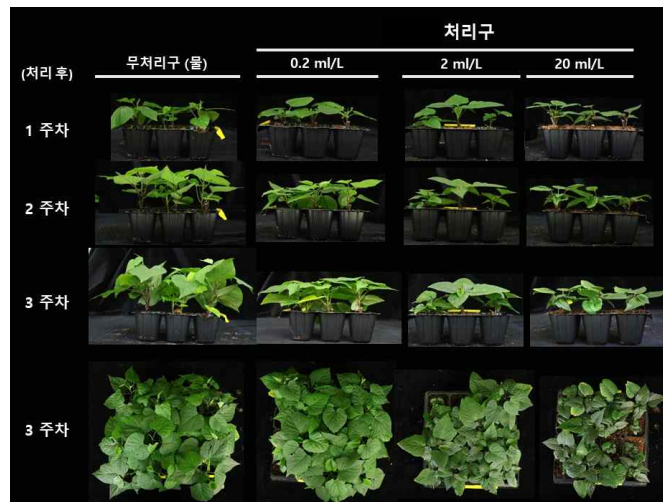


그림 19. 생육기간 별 왜화제 X 침지처리에 따른 묘 생육영향. (a) 유식물체 묘 표현형. (b) 생육조사 결과 (20일 묘). (c) 왜화제 X 처리농도 2 ml/L에서 나타난 장애 표현형

2) 왜화제 X 엽면처리 결과

○ 10일 생육한 유식물체 묘에 발달된 잎에 엽면 처리를 2주마다 1회씩, 총 2회 처리 후 3주간 생육을 관찰하였다 (그림 20). 처리 1주차에는 큰 차이가 없었으나 처리 2주 후부터는 왜화제 X 처리구에서 생육감소가 확인되었다 (그림 20a). 하지만 2 ml/L 이상의 농도에서도 큰 장애없이 생육만 억제되는 다소 완화된 생육억제로 나타났다. 처리 3주 후 묘 길이는 처리 농도에 따라 2~3배 감소하였으며, 절간길이도 약 2배 감소하였다 (그림 20b). 엽면적은 0.2 ml/L에서는 거의 억제없이 무처리와 비슷하게 확인되었으며, 2 ml/L 이상에서는 급격히 감소하였다. 이로 인해 엽록소 함량은 처리농도에 따라 증가하는 경향을 보였다. 뿌리길이는 모든 처리구 간 차이가 거의 없었으며, 뿌리무게는 무처리가 가장 높고 처리구 모두 약 30% 감소하였다. 따라서 침지처리와 마찬가지로 왜화제 X 엽면처리 생육억제에 효과가 있음을 확인하였으며, 같은 농도라도 억제정도가 낮게 나타났다.

(a)



(b)

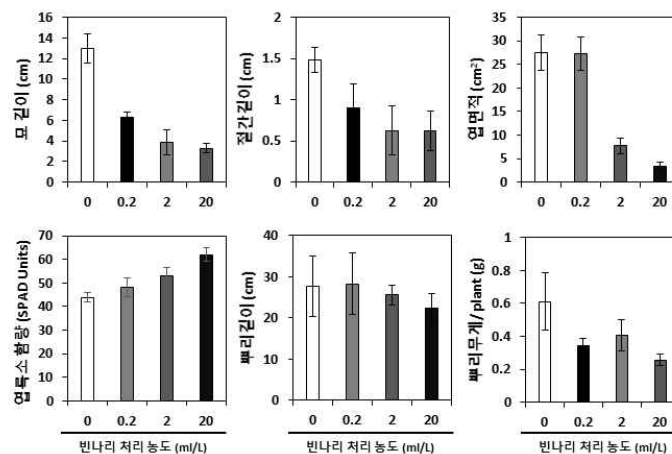


그림 20. 생육기간 별 왜화제 X 엽면처리에 따른 묘 생육영향.
(a) 유식물체 묘 표현형. (b) 왜화제 X 처리 3주 후 묘 생육조사.

- 고구마 생력화를 위한 유식물체 고구마 묘 육묘개선 방안으로 절간마디 간격을 감소하고 자 왜화제 X 처리 후 묘 생육을 관찰하였다. 왜화제 X 처리 방법으로 1시간 침지 후 삼식과 10일 묘 엽면처리하였으며, 왜화제 X 처리농도는 0.2, 2, 20 ml/L로 설정하였다. 실험결과, 두 처리방법과 모든 농도에서 고구마 묘 생육에 영향을 미치는 것이 확인되었다. 하지만 침지처리는 신초발달에 부정적인 영향을 주며 묘 손실을 유발할 수 있으며, 처리가 유동적이지 못해 효과가 없을 경우 대처가 불가능하고, 시간이 지나면서 왜화제 효과가 감소할 가능성이 있다는 단점이 있다. 반면 엽면처리는 건전한 10일 묘에 처리하기 때문에 묘 손실이 적으며, 필요시기에 따라 유동적 왜화제 처리가 가능하다는 장점이 있다.

- 적정농도로는 큰 장애 표현형 없이, 묘 길이 및 절간길이가 적절하게 감소하는 0.2 ml/L가 가장 적당하고 판단되었다. 0.2 ml/L로 엽면처리 할 경우, 엽면적은 큰 감소없이 엽록소 함량이 증가하기도 하였다. 따라서 **육묘관점에서 0.2 ml/L의 왜화제 X를 2주마다 1회, 총 2회 엽면처리**하는 것이 가장 효과적인 유식물체 고구마 묘 육묘방법으로 판단하였다. 다만, 실제 농가 적용을 위해선, 하우스 조건에서의 육묘시험과 수확량 평가를 통해 왜화제 X 고구마 뿌리발달에 미치는 영향까지 확인할 필요성이 있다.

〈제1협동과제 : 고구마 유식물체, 씨 고구마, 삼식 묘 최적 재배시스템 구축〉

□ 연구수행 내용 및 주요 결과

- (1차년도) 무균의 고구마 식물체로부터 생산된 유식물체와 관행의 삼식 묘를 이용하여 유식물체 크기 및 재식거리 차이에 따른 고구마 생산량을 비교분석 하였음.
- (2차년도) 습해 내성품종 고구마인 연자미와 연미의 관행재배 및 유식물체의 과습지역 재배비교 및 재배가능성을 확인하였으며, 최적의 고구마 유식물체 시스템을 구축하였음.
- (3차년도) 습해내성이 각기 다른 고구마 품종을 다소 습한토양에서 유식물체 및 관행묘 형태로 현장비교재배 한 결과, 습해토양에서 연자미의 벼 대체 가능성과 육묘, 정식, 수량 측면에서 유식물체의 재배 이점을 확인하였음.

■ 유식물체 고구마 묘의 현장재배 가능성 검정시험 (1차년도)

1. 조직배양을 통한 무균의 유식물체 생산

1) 고구마 생장점을 이용한 재분화 시스템 구축

- 고구마의 생장점을 이용한 조직배양을 통하여 빠르게 무병주를 얻을 수 있었으며, 고구마의 생장점 배양은 shoot tip부위를 이용하여 70% 에탄올 30초, 50% 유한락스 10분간 침지하여 소독하고 멸균수로 3회 수세 후, 재분화 배지에 치상하였다. 재분화 배지는 Thiamine-HCl (vitamin B2), myo-inositol (vitamin B8) 및 식물호르몬 옥신이 각각 0.4, 100, 1 mg/ L 농도로 첨가된 MS 배지에 치상한 후 25℃의 조건에서 3개월 후에 재분화 식물체를 얻을 수 있었다.

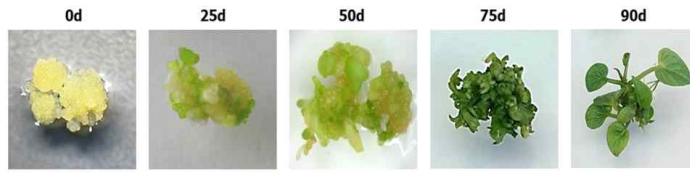
2) 무균의 유식물체 생산

- 고구마 조직배양을 통해 얻은 재분화 식물체를 대상으로 고구마 바이러스병 감염을 확인해 보았다. 국내에서의 고구마 바이러스병은 SPFMV, SPLV, SPGV 및 SPLCV등 4종이 보고되어 왔다. 이들 4종 바이러스에 대해서 특이적인 프라이머를 선별하여 RT-PCR을 통해 확인하였다. 확인 결과 고구마 조직배양을 통해 얻은 재분화 식물체는 바이러스병 감염이 되어 있지 않은 무균의 식물체임을 확인하였다.

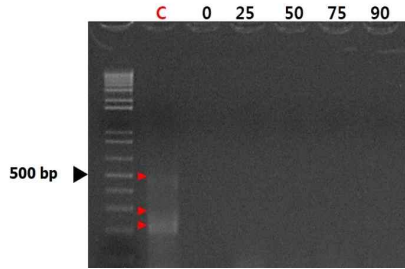
Sweetpotato Virus	RT-PCR primer set	
SPFMV (Sweetpotato Feathery Mottle Virus)	TACACACTGCTAAAAGTAGG	AGTTCATCATAACCCCATGA
SPGV (Sweetpotato G virus)	CAATGCCAAATGGAAGAATAG	GCATGATCCAATAGAGGTTTA
SPLV (Sweetpotato Latent Virus)	GGAGTCAGTTCAATCAATGGTA	AGTGGCTTTATTGGGTATGAT
SPLCV (Sweetpotato Leaf Curl Virus)	TCTGCCGTCGATCTGGAAGCTC	GTGCCCGCCTTTGGTGGAC

별첨 1. 고구마 주요 바이러스의 진단용 프라이머.

(a)



(b)



별첨 2. 조직배양을 통해 얻은 식물체의 바이러스 검사.

(a) 조직배양 시기별 캘러스 및 재분화 식물체 (b) RT-PCR을 통해 확인한 무균의 재분화 식물체, c; 바이러스 대조군

2. 유식물체 및 삽식 묘 생산시스템 구축

- 국립식량과학원 바이오에너지작물연구소 고구마 연구실에서 추천받은 고구마 품종인 베니하루까를 조직배양을 통해 무균의 고구마 식물체를 확보하였다. 그 후 무균의 고구마 식물체를 길이 약 4~6 cm, 3마디를 포함하며 그 중 1마디는 잎을 제거하여 40구 플러그 트레이에 삽식하였다. 현장재배 실험 전, 생장실 생육기간에 따라 20일 묘 (2018년 5월 9일 삽식) 및 30일 묘 (5월 19일 삽식)를 준비하였으며 이때 환경 조건은 온도 28℃ / 22℃ (낮 / 밤), 습도 50% 그리고 광 조건은 16 h / 8 h (낮 / 밤)이다. 이후 현장재배 삽식 10일 전 노지생육을 통해 식물체들이 환경에 잘 적응할 수 있도록 하였다. 관행 재배 묘는 한그루에서 같은 품종인 베니하루까를 조직배양을 통한 무균의 고구마 식물체로부터 생산하였다.
- 현장필드에 정식하기 전, 유식물체 (20일, 30일) 및 관행재배 묘의 식물체 상태를 비교하였다. 유식물체 30일 묘가 20일 묘보다 식물체 지상부가 비교적 크게 나타났으며 (그림 21a), 지하부 확인 결과 유식물체 30일 묘에서 뿌리가 더 발달하였다. 이를 통해 초기 생육기간 10일 차이로 유식물체 20일 및 30일 묘의 발달단계가 차이가 있음을 확인할 수 있었다. 관행재배 묘는 고구마 지상부만을 사용하며 유식물체보다 크고, 유식물체의 뿌리는 수분을 함유한 토양에 발달되어있다 (그림 21b).

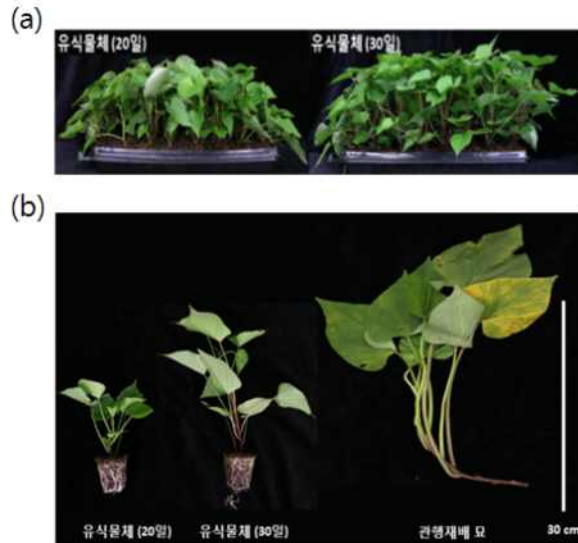


그림 21. 현장재배를 위한 삽식 전, 유식물체 (20일, 30일) 및 관행재배 묘 비교. (a) 유식물체의 지상부 생육결과. (b) 유식물체 와 관행재배 묘 생육비교.

3. 유식물체 및 관행재배 묘 정식 (현장재배 실험)

○ 2018년 6월 9일, 충남 논산시 가야곡면에 위치한 고구마 포장에 유식물체 (20일, 30일)와 관행재배 묘를 재식거리 (10, 15, 20 cm)에 따라 90주씩 삽식하였다. 유식물체는 뿌리가 필드 토양 속으로 들어갈 수 있도록 하였으며, 관행재배 묘는 기존의 방식대로 지상부 약 10 cm 정도를 제외한 나머지 부위를 토양에 정식하였다. 필드디자인은 아래와 같다 (그림 22).

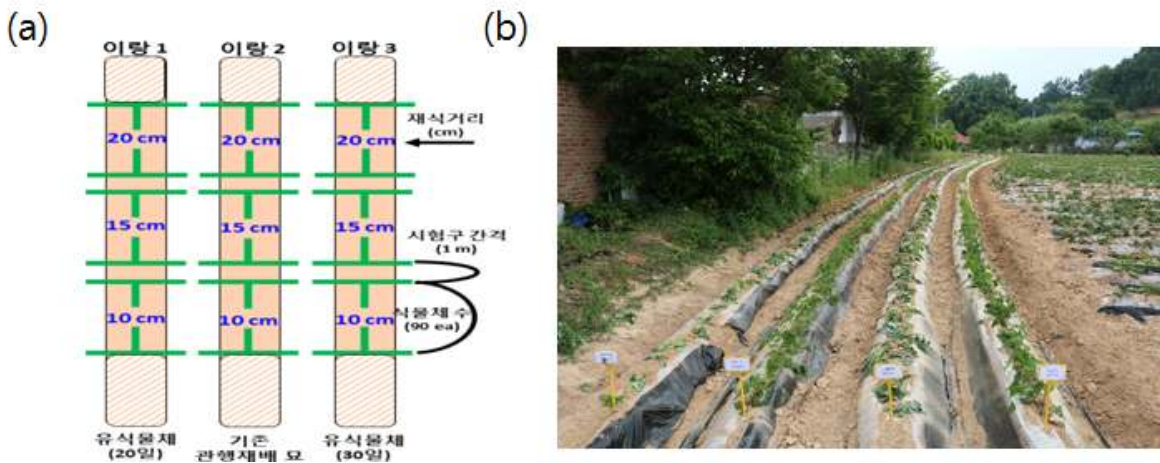


그림 22. 유식물체 (20일, 30일)와 관행재배 묘 현장재배 실험.

(a) 정식필드 디자인. (b) 유식물체 및 관행재배 묘 현장.

○ 삽식 직후, 유식물체 (20일, 30일)와 다르게 관행재배 묘에서 식물체가 마르는 탈수증세를 보이기 시작했다 (그림 23c). 이는 관행재배 묘와 달리 유식물체에서는 발달한 뿌리가 토양과 함께 수분을 보유하고 있었기 때문에 (그림 3b) 정식 직후 탈수증세가 나타나지 않은

것으로 판단된다.

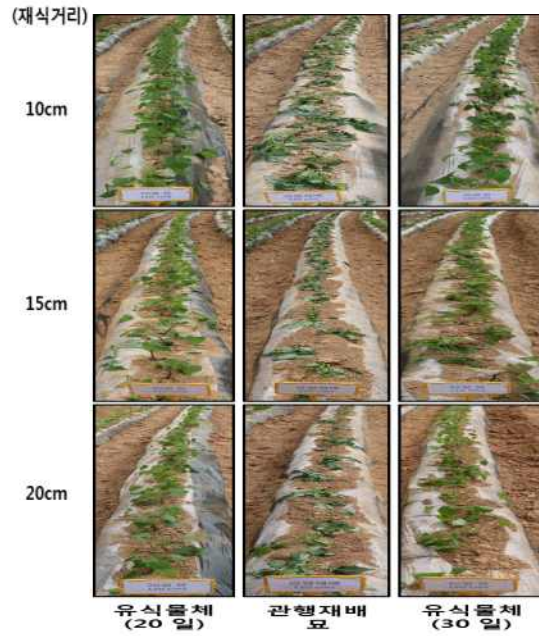


그림 23. 삼식 직후의 유식물체 및 관행재배 묘.

4. 현장재배 중간 생육조사

- 유식물체는 생육 상태가 매우 좋았으나 관행재배 묘의 경우 고사하거나 죽어가는 묘가 다수 확인되었다 (그림 24). 이는 정식과정에서 관행재배 묘의 문제점 중 하나인 삼식 중 상처 발생이 원인으로 예상되었다.

(a)



(b)

(c)



그림 24. 삼식 2주차 현장재배 사진. (a) 현장재배 필드전경.
(b) 유식물체 묘. (c) 관행묘

5. 고구마 괴근수확

○ 약 4개월 재배 후 2018년 10월 15일에 고구마 수확을 진행하였다. 고구마 괴근은 크기에 따라 대, 중, 소로 구분하였으며, ‘대’가 모양과 크기면에서 가장 상품화에 유리하다고 판단하였다 (그림 25 a).

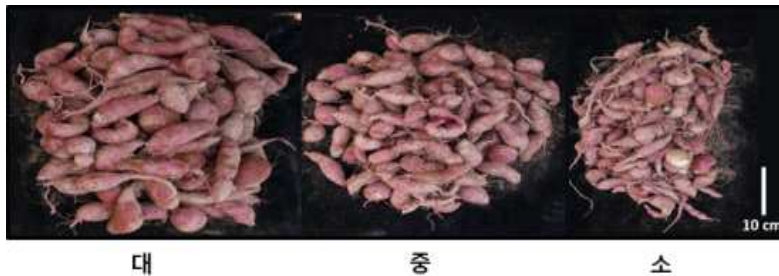


그림 25 (a). 고구마 뿌리 수확 및 크기별 구분

○ 유식물체 고구마 괴근 특이적으로 여러 뿌리가 꼬인형태로 발달하는 경우가 확인되었다 (그림 25 b). 그 원인으로 필드 삼식 전, 플러그 트레이에서 좁은 트레이 구 안에서 발달하여 뿌리들이 엉키게 되는데, 그 형태 그대로 필드에 정식되어 그대로 비대해진 결과로 판단되었다.



그림 25 (b). 유식물체에서 발달한 꼬인형태의 뿌리

○ 고구마 괴근 수확 및 시험구 및 크기별 분류

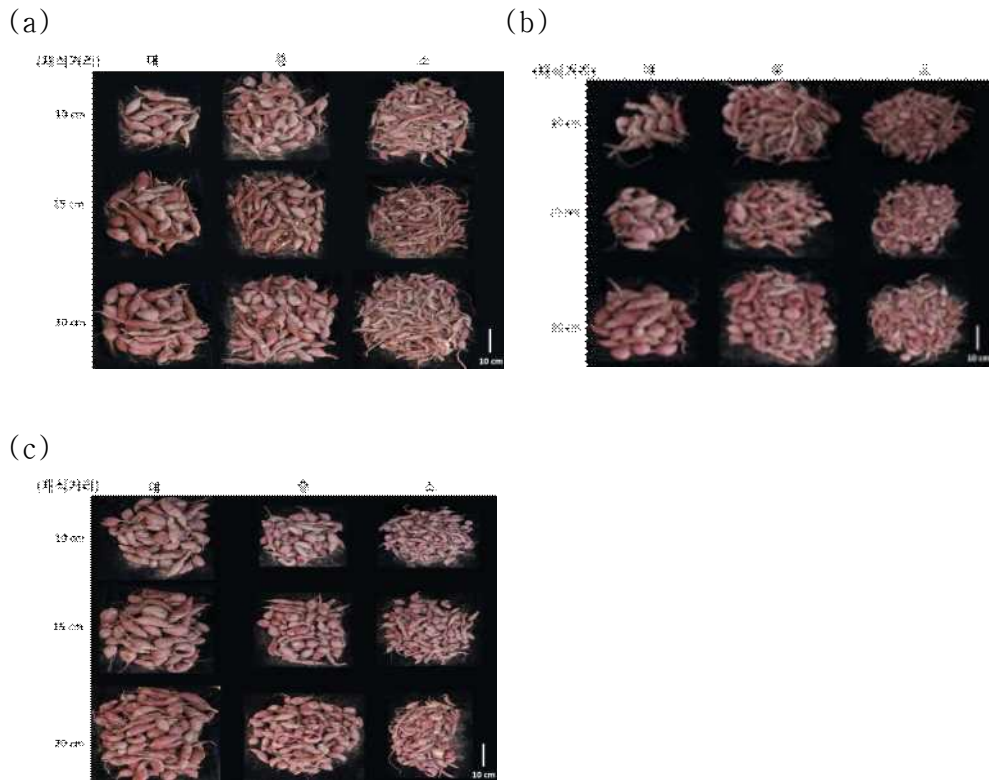


그림 26. 유식물체 (20일, 30일) 및 관행재배 묘의 재식거리에 따른 고구마 괴근수확 및 크기 별 분류. (a) 관행재배 묘 괴근 수확결과. (b) 유식물체 (20일) 묘 괴근 수확결과. (c) 유식물체 (30일) 묘 괴근 수확결과.

○ 각 90주의 유식물체 (20일, 30일) 및 관행재배 묘의 재식거리 별 수확된 고구마 괴근 무게결과가 그림 28.와 같이 나타났다. 유식물체 (30일, 재식거리: 20 cm)에서 수확된 고구마 괴근 총 무게가 33.912 kg으로 가장 높게 나타났으며 수량성이 가장 좋은 ‘대’ 크기의 괴근무게도 19.08 kg으로 가장 높았다 (그림 28, 표 3). 또한 재식거리 10, 15 cm 보다 20 cm에서 고구마 총 괴근무게가 높은 경향을 보였다.

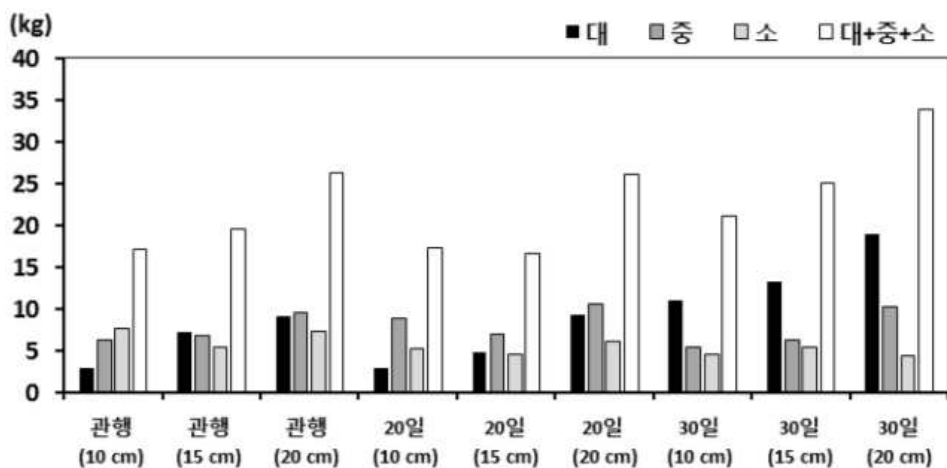


그림 27. 고구마 육묘방법과 재식거리 별 고구마 괴근무게

표3. 고구마 육묘방법과 재식거리 별 고구마 괴근무게

	관행 (10 cm)	관행 (15 cm)	관행 (20 cm)	20일 (10 cm)	20일 (15 cm)	20일 (20 cm)	30일 (10 cm)	30일 (15 cm)	30일 (20 cm)
대	3.008	7.34	9.28	2.996	4.86	9.385	11.065	13.295	19.08
중	6.405	6.885	9.675	8.96	7.075	10.71	5.42	6.34	10.315
소	7.715	5.44	7.4	5.41	4.668	6.13	4.714	5.515	4.517
대+중+소	17.128	19.665	26.355	17.366	16.603	26.225	21.199	25.15	33.912

단위: kg

○ 고구마 괴근 수는 평가결과는 아래와 같은 결과로 나타났으며, 이중 괴근 크기 ‘대’는 유식물체 (30일, 재식거리: 20 cm)에서 87개로 가장 많았다. 고구마 괴근 무게와 마찬가지로 괴근 수에서도 재식거리 10, 15 cm 보다 20 cm에서 고구마 총 괴근 수가 높은 패턴을 보였다 (그림 29, 표4).

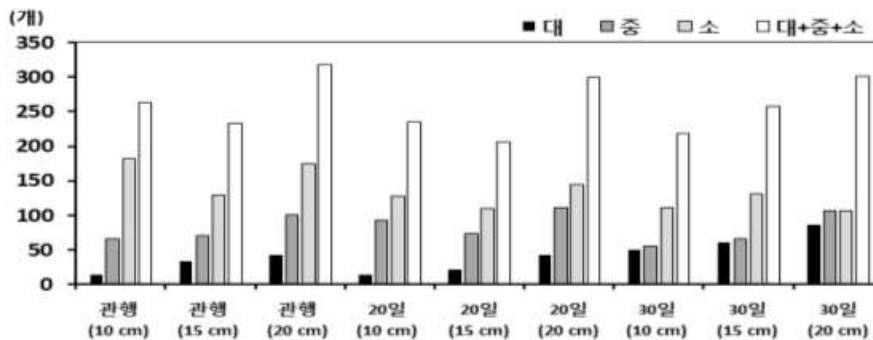


그림 28. 고구마 육묘방법과 재식거리 별 고구마 괴근 수

표4. 고구마 육묘방법과 재식거리 별 고구마 괴근 수

	관행 (10 cm)	관행 (15 cm)	관행 (20 cm)	20일 (10 cm)	20일 (15 cm)	20일 (20 cm)	30일 (10 cm)	30일 (15 cm)	30일 (20 cm)
대	14	33	42	14	22	43	50	61	87
중	66	71	100	93	73	111	56	66	107
소	183	129	175	128	111	145	112	131	107
대+중+소	263	234	318	235	206	299	218	257	301

단위: 개

○ 고구마 괴근 수량성 예측

- 고구마를 정식한 필드 넓이와 고구마 괴근 수확무게를 근거로 수량을 예측하였으며, 그 결과 유식물체 (30일, 재식거리: 10 cm)의 총 괴근수량이 8723.87 kg/10a로 가장 높게 나타났다 (그림 30, 표5).
- 상품성이 좋은 ‘대’ 크기의 고구마 괴근수량은 유식물체 (20일), 관행재배 묘 보다 유식물체 (30일)가 가장 높은 수량성이 예상되었다.
- 고구마 괴근 무게결과에서는 유식물체 (30일, 재식거리: 20cm)의 총 괴근무게가 더 높았

으나, 동일한 면적에 삼식 한다고 가정한다면 재식거리 10 cm에서 정식가능한 고구마 묘가 더 많아지기 때문에 예상 수량이 더 높게 나타난 것으로 예측된다.

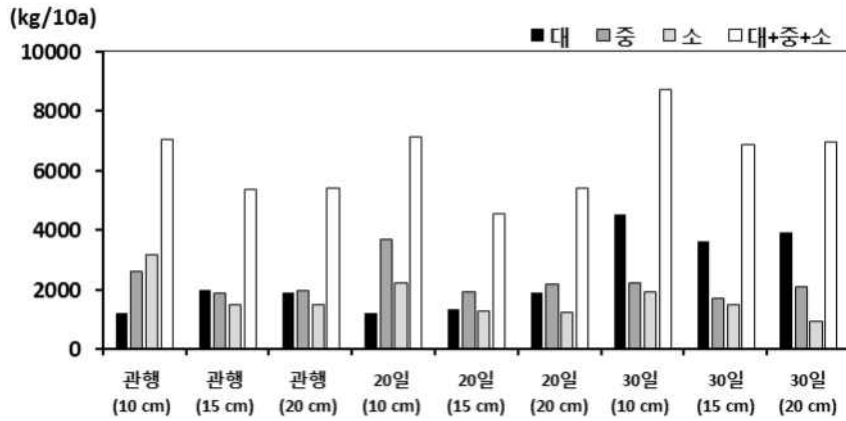


그림 29. 고구마 육묘방법과 재식거리 별 괴근수량 예측결과

표5. 고구마 육묘방법과 재식거리 별 괴근수량 예측결과

	관행 (10 cm)	관행 (15 cm)	관행 (20 cm)	20일 (10 cm)	20일 (15 cm)	20일 (20 cm)	30일 (10 cm)	30일 (15 cm)	30일 (20 cm)
대	1237.86	2013.72	1909.47	1232.92	1333.33	1931.07	4553.50	3647.46	3925.93
중	2635.80	1888.89	1990.74	3687.24	1941.02	2203.70	2230.45	1739.37	2122.43
소	3174.90	1492.46	1522.63	2226.34	1280.66	1261.32	1939.92	1513.03	929.42
대+중+소	7048.56	5395.06	5422.84	7146.50	4555.01	5396.09	8723.87	6899.86	6977.78

단위: kg/10a

■ 과습지역에서의 고구마 유식물체 현장재배 실험 (2차년도)

1. 과습지역에서의 고구마 재배를 위한 고구마 삼식 묘 준비 및 필드 재배방법

- 연구팀에서 한국고구마 33품종 중 습해에 상대적으로 강한 품종으로 연자미 및 연미를 선발하였으며, 과습지역에서 두 고구마 품종을 재배시험을 수행하였다.
- 유식물체 고구마 묘 준비를 위해 4~6 cm의 3마디 및 잎 2장을 가진 연자미와 연미 줄기 절편을 40구 플러그트레이에 삼식하였으며, 온도는 28℃ / 22℃ (낮/밤), 50%의 습도 및 광 16 h / 8 h (낮/밤) 조건의 식물생육실에서 성장하였다. 식물생육실 육묘기간에 따라 10일 묘, 15일 묘, 20일 묘로 분류하였으며, 필드에서의 정상생육을 위한 순화과정으로 필드삼식 5일 전 노지생육 하였다. 또한 재식거리 별 삼식을 위해 5, 10, 15 cm 묘로 분류하여 생육하였다. 연자미 및 연미의 관행재배 묘는 한그루고구마 육묘장에서 생육하였다.
- 삼식 필드 디자인: 2019년 6월, 충남 논산시 상월면에 위치한 고구마 현장재배 필드는 과거에 논이었으며, 현재에도 주변은 논이며 벼가 재배되는 습한 토양조건이었다 (그림 30a). 육묘기간 (10, 15, 20일) 및 재식거리 (5, 10, 15 cm)에 따라 삼식 조건을 세분화 하였으며, 각 조건 당 고구마 40 주 씩 삼식하였다 (그림 30b). 이때 유식물체는 뿌리매트가 토양 속으로 들어가도록 삼식하였으며, 관행재배 묘는 지상부 약 10 cm 정도를 제외한 나머지 부위를 토양에 삼식하였다.

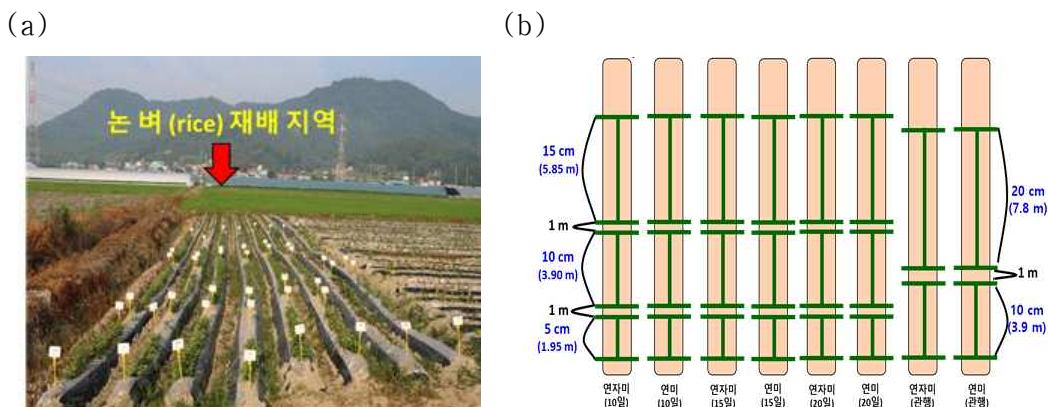


그림 30. 고구마 유식물체와 관행재배 묘의 과습지역 현장재배 실험. (a) 유식물체 및 관행재배 묘 필드. (b) 현장재배 필드 디자인.

- 정식 30일 후 중간 생육관찰 결과, 유식물체는 건전한 상태로 생육 중인 것에 반해 관행묘의 경우 곳곳 뿌리를 내리지 못하고 죽은 묘가 다수 확인되었다 (그림 31). 이는 1차년도에서 확인한 것처럼 유식물체 묘의 경우 수분을 보유한 뿌리매트 형태로 정식되기 때문에, 정식 직후 탈수문제가 나타나지 않기 때문으로 예상하였다. 따라서 보식이 필요없고 초기 물관리에 유리한 유식물체 재배는 보식으로 인한 노동비 절감효과로 연결될 것으로 예상되었다.

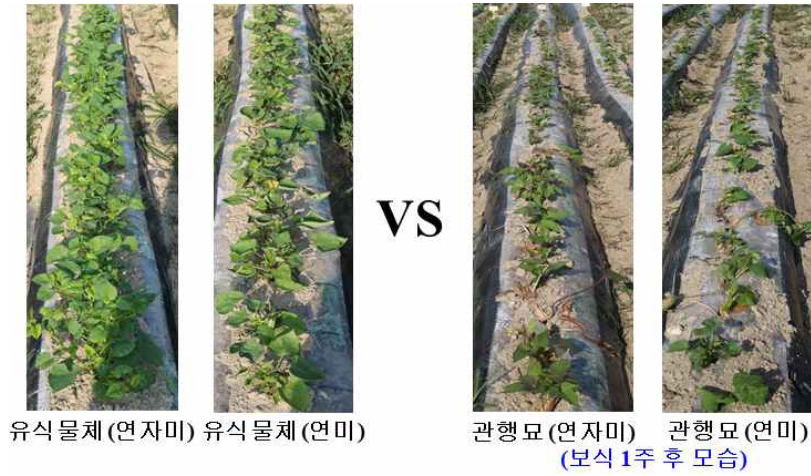


그림 31. 정식 30일 후 유식물체 및 관행묘 생육비교

2. 과습지역 재배 고구마 괴근생산량 검정

- 2019년 10월, 정식 4개월 후 과습지역에서의 조건 별 고구마 관행묘 및 유식물체 묘 괴근 생산량 결과는 표 6.과 같이 나타났다. 과습지역에서 고구마 재배 결과, 농촌진흥청에서 보고된 일반토양에서의 연자미 및 연미 수량보다 연자미는 50%, 연미는 80% 이상의 수량 감소가 나타났다. 단위 면적 (10 a) 당 수량 비교 시, 유식물체 연자미 10일 묘 (재식거리 5, 10 cm)와 15일 묘 (5 cm)가 관행 재배와 비슷한 수준의 수량성을 보였다. 반면 유식물체 형태의 연미는 대부분의 조건에서 관행재배 조건보다 수량이 낮게 나타났다. 그 결과, 연미에 비해 연자미가 과습지역 재배에 좀 더 높은 수량성을 보였다.
- 재식거리에 따른 괴근수량 비교결과, 5, 10, 15 cm 간 큰 차이가 없거나, 15 cm 보다 5, 10 cm에서 더 높게 나타났다. 육묘기간 별 괴근수량 비교 시, 연자미는 10, 15일 묘에서 수량이 더 높았으며, 이는 육묘기간 단축 및 비용절감으로 이어질 수 있을 것으로 예상된다.

표 6. 과습지역의 연자미와 연미의 관행재배 및 유식물체의 육묘기간 (10, 15, 20일)과 재식거리 (5, 10, 15 cm)에 따른 괴근생산량 평가. (a) 연자미와 (b) 연미 괴근생산량.

(a)

육묘기간 (일)	연자미 (유식물체)									연자미 (관행)	
	10			15			20			10	20
재식거리 (cm)	5	10	15	5	10	15	5	10	15	10	20
수량 (kg/10a)	809.12	959.2	734.16	997.32	608.1	728.28	658.6	559.6	628.88	843.1	924.1

(b)

육묘기간 (일)	연미 (유식물체)									연미 (관행)	
	10			15			20			10	20
재식거리 (cm)	5	10	15	5	10	15	5	10	15	10	20
수량 (kg/10a)	209.2	283.94	244.678	208.52	322.08	228.872	413.52	239.56	275.632	363.7	425.6

- 본 현장재배 실험을 통해 과습지역에서의 유식물체 고구마의 재배가능성 및 관행재배 묘 대체 가능성을 확인하였다. 또한 최적의 유식물체 고구마 묘의 재배 시스템 (육묘기간: 10, 15일, 재식간격: 5, 10 cm)을 구축하였다.
- 과도하게 습한지역에서의 고구마 재배로 인해 습해내성 고구마 연자미의 경우 정상 발조건 수량보다 과습지역에서의 괴근생산량이 50% 가까이 감소했다. 하지만 수량감소에도 불구하고 과습지역에서 연자미 재배 시, 수량기반 소득평가 결과로 보았을 때 쌀보다 농가 소득이 2배 증가가 예상되었다 (표 7). 또한 본 시험포장 정도의 과도하지 않게 다소 습한 지역에서 재배한다면 소득은 더욱 증가할 것으로 예상된다.

표 7. 과습지역에서의 고구마 (연자미) 유식물체 재배 수량기반 소득평가

(통계청/농산물유통정보, 2018)

년도	작물	수량 (ton/ha)	소매가격 (원/kg)	농가소득 (만원/10a)
2016	쌀	5.3	2,000	43
2019 (과습지역 재배)	습해내성 고구마 (연자미)	8.1 ¹⁾	4,400	84.3 ²⁾

¹⁾본 현장재배를 통해 확인된 유식물체 연자미의 육묘기간(10, 15일) 및 재식거리(5, 10, 15 cm)의 수량 평균값
²⁾2016년 고구마 수량(17 ton/ha)대비 산출한 농가소득값

- 1차년도와 마찬가지로 유식물체에서 꼬인형태의 괴근발달이 많이 발달하였다. 따라서 수량이 농가소득으로 연결되기 위해, 트레이 규격 및 육묘기간 조절 등을 통해 상품성 있는 꼬인형태의 괴근 발달 최소화를 위한 연구가 필요하다.

(a)



(b)



그림 32. 관행재배 및 유식물체 고구마 괴근. (a) 관행재배 묘 괴근. (b) 유식물체 유래 꼬인형태의 괴근.

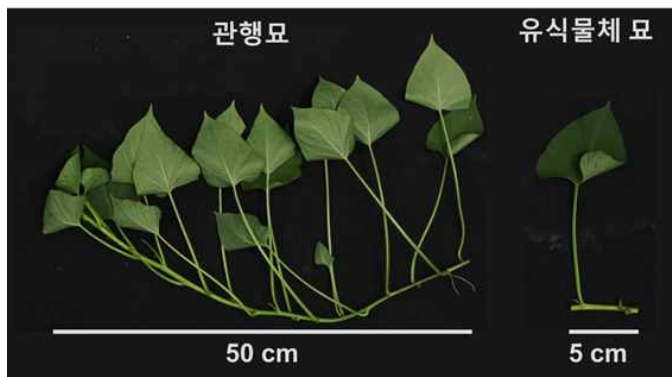
■ 습한조건의 토양에서 습해내성 및 감수성 유식물체 고구마 현장재배 시험 (3차년도)

○ 성장실 조건에서 한국 33품종 중 습해내성 품종을 선발하기 위해 생화학 및 분자생물학적 분석을 진행하였으며, 상대적으로 습해에 강한 품종 연자미, 습해 취약품종으로 전미를 선발하였다. 이후 연자미와 전미를 실제 농가에서 유식물체와 관행묘 형태로 육묘하고, 2차년도보다는 다소 완화된 습한조건의 토양에서 필드정식 및 수량을 비교하여, 논 대체 고구마로서의 연자미 평가와 유식물체 육묘 및 재배의 이점을 확인하고자 시험을 진행하였다.

1. 현장재배 시험을 위한 유식물체 고구마 육묘

○ 본 시험에서 연구팀에서 선발한 습해에 강한 품종 연자미, 습해에 취약한 전미 그리고 충북도농업기술원에서 논 대체 고구마로 선발한 대유미를 활용하였다. 고구마 육묘는 충남 논산에 위치한 한그루육묘장의 하우스 안에서 진행하였다. 유식물체는 2~3마디를 포함한 4~6 cm의 고구마 줄기절편을 40구 트레이에 삽식하여 15일간 생육하였다. 관행묘는 6주 생육한 고구마 줄기를 25~30 cm 크기로 준비하였다. 육묘 과정 중 1개의 관행묘 당 약 5~6개의 유식물체 묘를 확보할 수 있었으며, 또한 유식물체 육묘기간이 15일로 짧기 때문에 육묘관점에서 유식물체 묘가 유리한 것을 확인하였다. 품종 간 유식물체 및 관행묘의 생육차이는 확인되지 않았다.

(a)



(b)



(c)

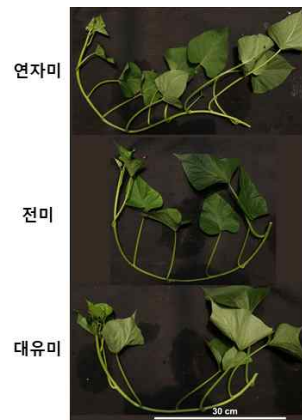


그림 33. 유식물체 (15일) 및 관행묘 (6주) 육묘. (a) 관행묘 및 유식물체 묘 생육비교. (b) 품종별 유식물체 묘. (c) 품종별 관행묘

2. 습한토양에서의 유식물체 고구마 정식

- 고구마 묘 정식은 2020년 5월 28일에 충남 논산시에 위치한 한그루육묘장에 위치한 약 89.77 m² (27.16평) 크기의 필드에서 진행하였다 (그림 34). 주변에 논 벼 재배지역이 있어 토양이 습하였으며, 토양수분 측정기인 DM-18 (TAKEMURA)를 이용하여 일반 고구마 밭 토양과 비교한 결과 실제 수분함량이 높게 나타났다 (그림 34d).
- 시험구는 포장시험에 주로 사용되는 한 집구내에서 실험단위를 난수표를 활용하여 임의 배치하는 난괴법을 이용하여 5반복 배치하였다 (그림 34 a). 유식물체는 재식거리 10 cm 씩 총 100 주 정식하였으며, 관행묘는 재식거리 20 cm 씩 총 75주 정식하였다.

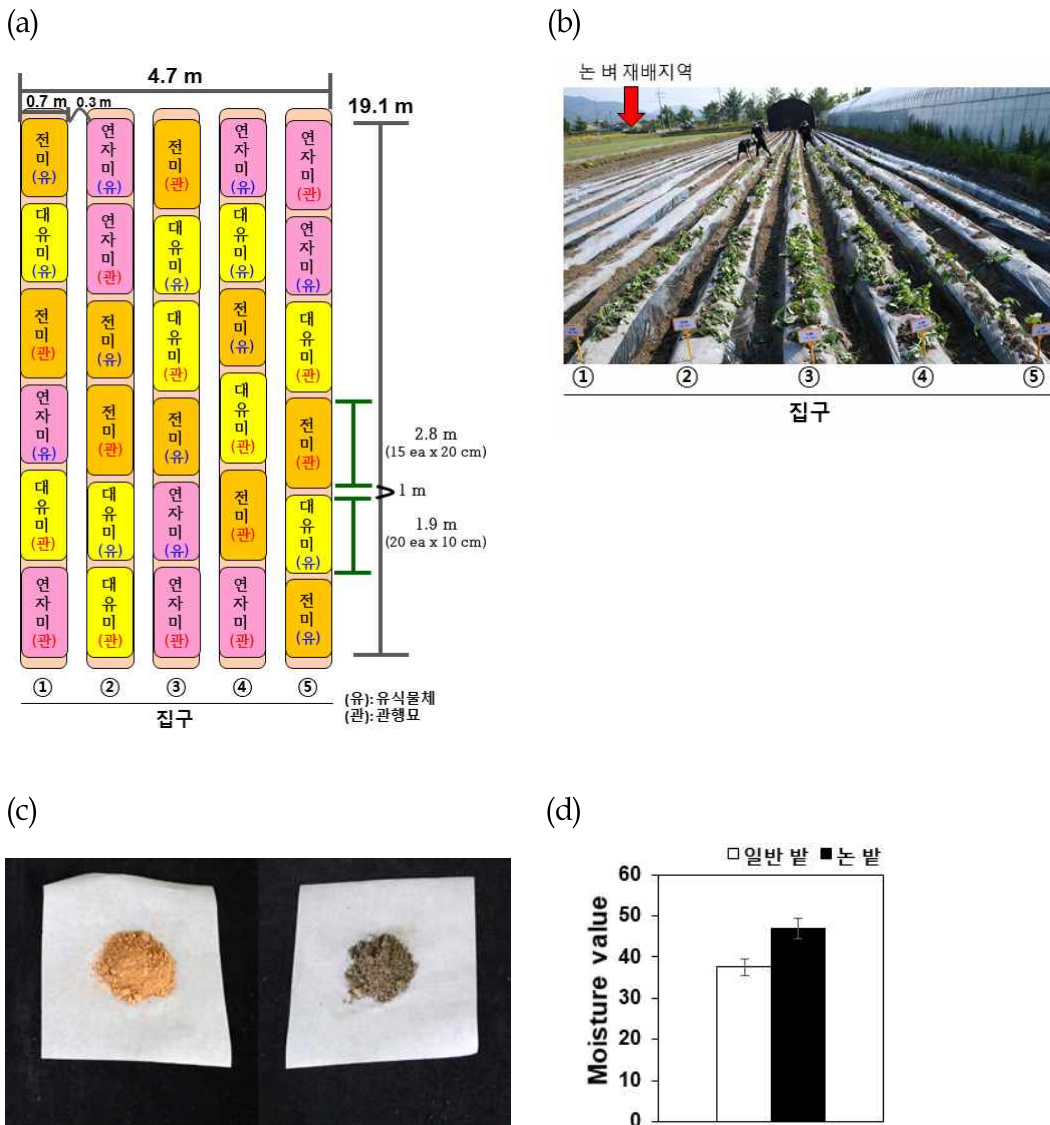


그림 34. 습한 토양에서의 고구마 현장재배시험. (a) 현장재배 필드 디자인. (b) 필드전경. (c) 일반토양 (좌)와 습한토양 (우) 비교. (d) 토양 수분비교.

○ 정식 1일 후 묘 생육관찰 결과, 유식물체는 건전한 반면 관행묘는 심각한 탈수증세를 보이고 있었다 (그림 35a). 그 원인으로 유식물체 묘는 정식 시에 뿌리발달 및 수분을 함유한 매트로 인해 묘가 정식 후 초기탈수에 견딜 수 있었던 것으로 판단되었다. 이로 인해 정식 1개월 후 100% 가까이 생존해있는 유식물체 묘와 달리, 관행묘는 약 30%의 묘가 고사하였다 (그림 35c). 따라서 보식이 필요한 관행묘와 다르게, 유식물체는 보식이 필요없기 때문에 경제적으로 유리하다고 판단하였다. 품종 간 생존율, 광합성 효율 및 엽록소 함량의 유의한 차이는 확인되지 않았다.

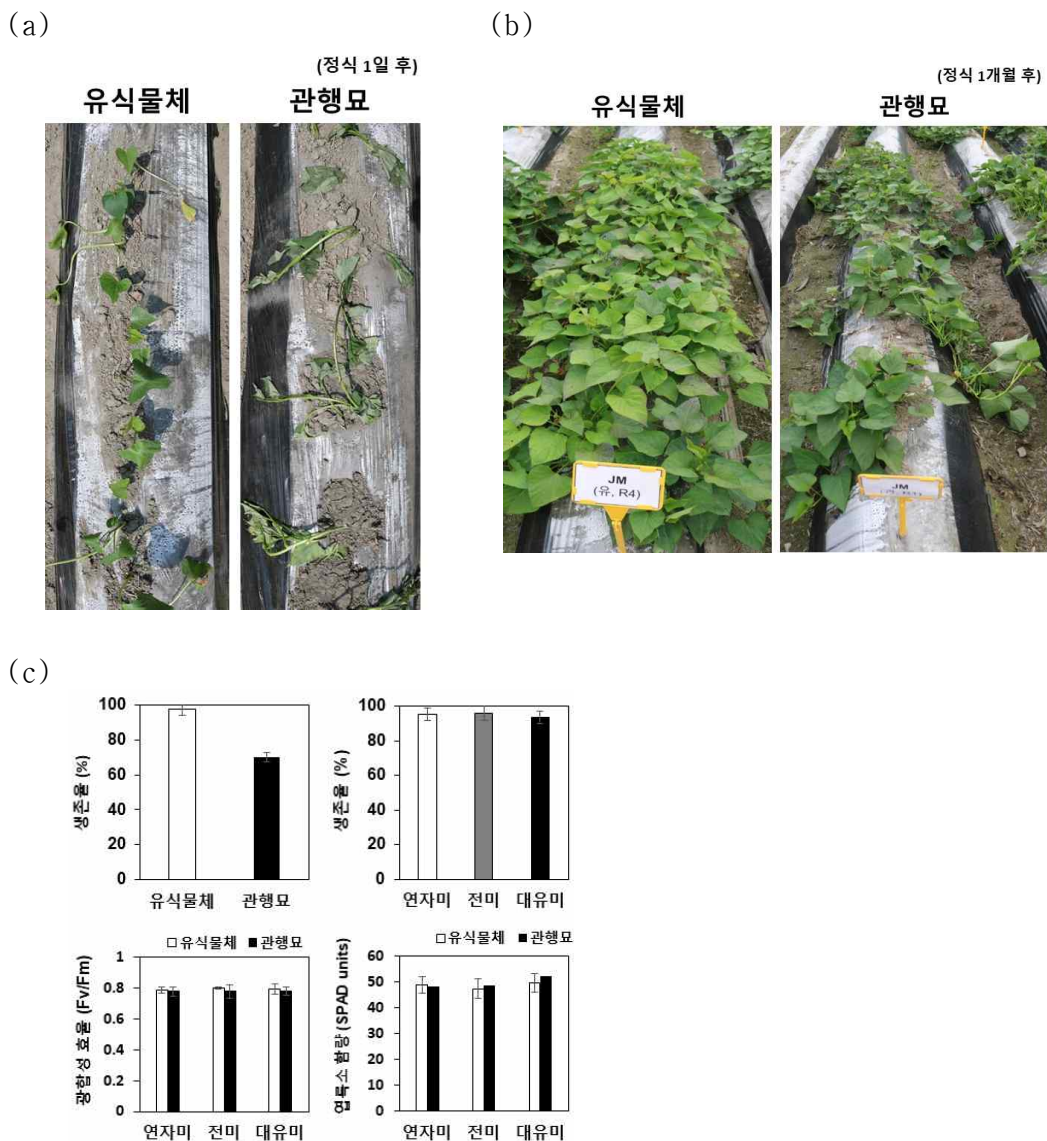


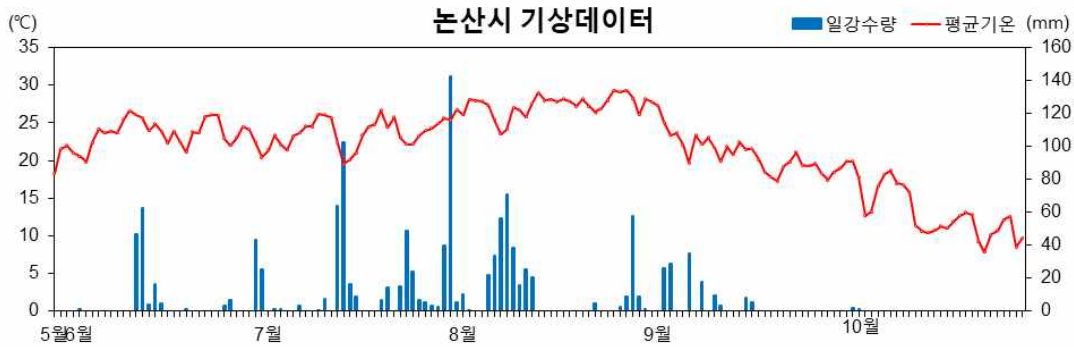
그림 35. 필드 정식 후 묘 생육비교. (a) 정식 1일 후 유식물체와 관행묘 비교. (b) 정식 1개월 후 유식물체와 관행묘 비교 (c) 정식 1개월 후 묘 생육조사.

3. 유식물체 고구마의 현장재배 수확결과

○ 고구마 시험재배 간 논산시 기상 확인결과, 2020년 7, 8월에 집중적으로 호우경보 (4회),

호우주의보 (7회)가 발령되었으며, 8월에 3개의 태풍 (장미, 바비, 마이삭), 9월에는 1개의 태풍 (하이선)의 영향을 받았다 (그림 36a). 실제 작년보다 월강수량합이 약 2.5배 이상 증가하였다 (그림 36b). 이는 주변 논 벼 재배로 인한 수분함량이 높고, 예년과 달리 높은 강수량으로 인해 고구마가 생육 중 습해를 받기에 충분한 시험환경으로 확인되었다.

(a)



(b)

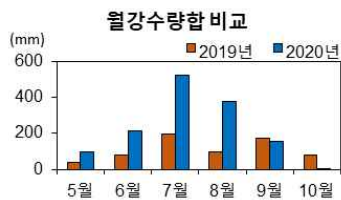


그림 36. 현장재배 시험기간 (5~10월) 간 기상조사. (a) 논산시 일강수량 및 평균기온. (b) 작년 및 올해 월강수량합 비교.

○ 고구마 괴근 수량평가를 위해 5개월 필드 재배한 고구마를 서리가 내린 다음날인 2020년 10월 30일에 수확하였다 (그림 37).

(a)



(b)



그림 37. 고구마 수확 당일. (a) 고구마 수확당일 날 필드전경. (b) 서리 피해를 입은 고구마.

○ 괴근은 모양과 크기에 따라 한입고구마, 일반고구마 그리고 전분용 고구마로 분류하였다 (그림 38). 한입고구마는 모양이 예쁘고 지름이 3 cm 보다 작으며, 일반고구마는 시중에 판매되는 일반적 크기와 사이즈의 고구마이며 두 고구마는 상품성있는 고구마로 분류하였다. 반면 크기가 매우 크거나 못생겼으며 혹은 굳은뿌리 형태의 뿌리는 전분용 고구마로

분류하였다.

- 괴근 수확결과, 전분용 고구마로서 관행묘는 굵은뿌리, 유식물체는 꼬인형태의 괴근이 주로 발달하는 차이가 있었다. 그 원인은 유식물체는 트레이 육묘 중 뿌리가 트레이 구 안에서 꼬이게 되고, 그 형태 그대로 토양에 정식된 후 비대하기 때문에 꼬인형태의 뿌리가 많이 발달한 것으로 생각된다.

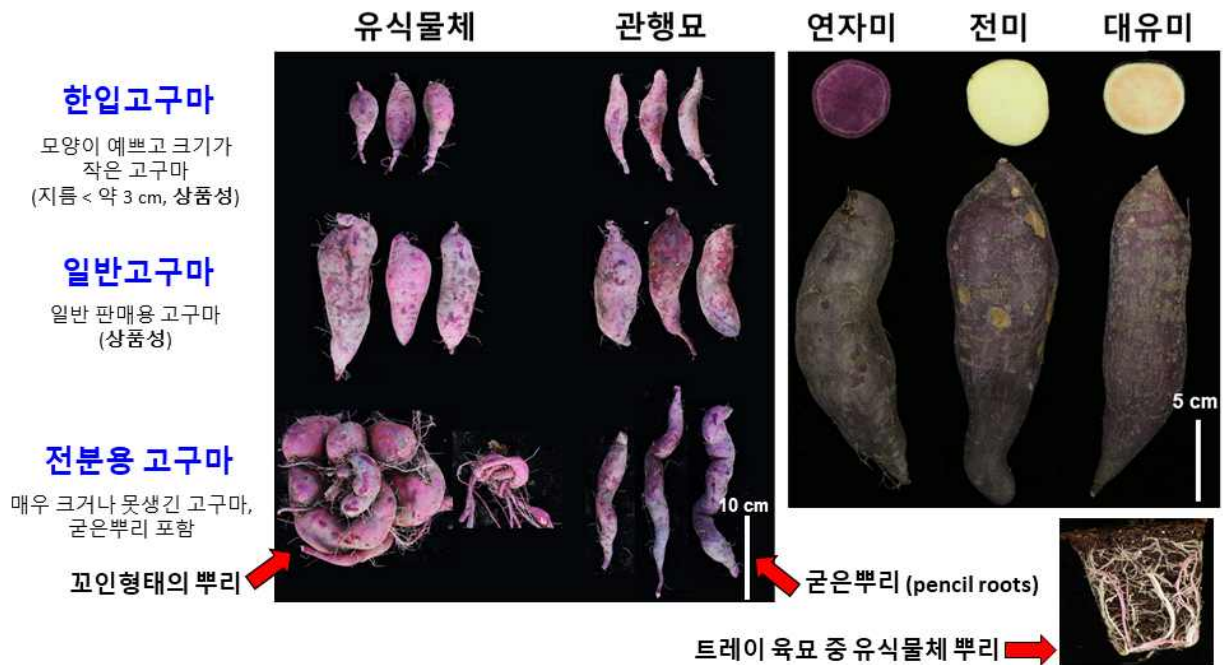
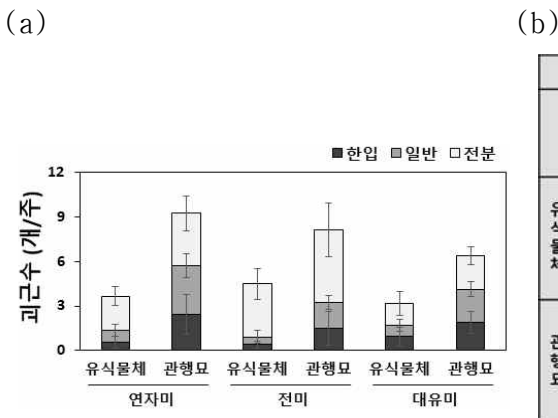


그림 38. 수확한 고구마 괴근 분류.

- 식물체 1주당 괴근수 조사결과, 유식물체보다 관행묘에서 주당 총 괴근수가 약 1.8~2.5배 높게 나타났다 (그림 39). 또한 상품성 고구마 (한입 및 일반고구마)도 관행묘에서 약 2.4~4.1배 유식물체보다 높게 발달하였다. 품종 간 비교 시 유식물체 묘 형태에서는 유의한 차이가 없었지만, 관행묘 재배 시 연자미, 전미는 8~9개로 비슷하나 대유미는 6개로 상대적으로 낮았다.

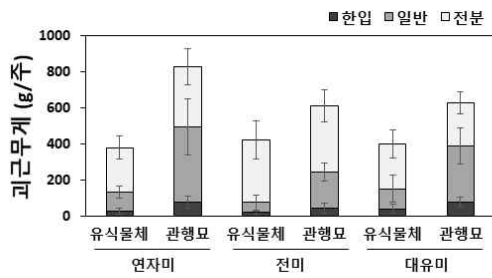


		괴근수 (개/주)											
		연자미				전미				대유미			
유식물체	관행묘	한입	일반	전분	합계	한입	일반	전분	합계	한입	일반	전분	합계
				0.56±0.38	0.82±0.41	2.28±0.63	3.66±1.05	0.42±0.23	0.49±0.43	3.58±1.03	4.49±1.19	0.94±0.64	0.76±0.41
		2.41±1.34	3.29±0.82	3.53±1.19	9.23±0.75	1.51±1.14	1.72±0.45	4.89±1.80	8.11±0.81	1.91±0.72	2.21±0.49	2.29±0.60	6.41±0.19

그림 39. 고구마 묘 당 괴근수.

○ 식물체 1주당 괴근무게를 조사하였으며, 유식물체보다 관행묘에서 주당 총 괴근무게는 약 1.5~2.2배, 상품성 (한입 및 일반)고구마는 약 2.8~3.3배 높게 나타났다 (그림 40). 반면 유식물체는 꼬인형태의 괴근발달이 많았기 때문에, 전체 괴근 중 전분용 고구마 괴근무게의 비율이 관행묘보다 약 20% 높게 나타났다. 유식물체 재배 시 품종간 유의한 차이는 없었으나, 관행묘로 재배했을 경우 연자미의 1주당 총 괴근무게가 전미와 대유미에 비해 약 1.2~1.4배 높게 나타났다.

(a)



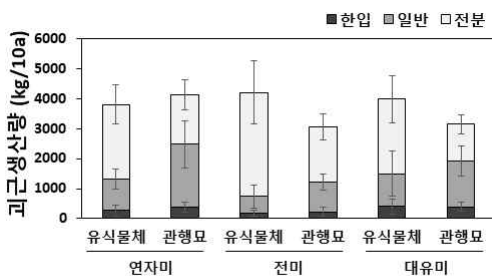
(b)

		괴근무게 (g/주)											
		연자미				전미				대유미			
		한입	일반	전분	합계	한입	일반	전분	합계	한입	일반	전분	합계
유식물체	괴근무게	27.36±16.36	104.04±34.39	248.49±65.00	379.91±83.32	18.59±10.13	55.26±39.52	347.01±104.57	420.86±89.96	40.21±26.16	109.71±75.60	248.06±77.28	397.98±95.48
관행묘	괴근무게	75.09±33.99	419.81±155.99	333.47±100.05	828.37±110.48	44.38±28.87	199.82±50.89	366.99±89.18	611.19±136.93	77.14±29.71	309.66±100.32	243.23±62.24	630.03±109.04

그림 40. 고구마 묘 당 괴근무게.

○ 주당 괴근무게와 관행묘 (20 cm)와 유식물체 (10 cm) 재식거리 차이에 기반하여 단위면적당 괴근생산량 (kg/10a)을 평가하였다. 연자미는 관행묘와 유식물체간 괴근생산량에 유의한 차이가 없었으나, 전미와 대유미에서는 관행묘 보다 유식물체에서 총 괴근생산량이 약 1.3~1.4배로 높게 확인되었다. 품종간 비교 시, 유식물체 재배의 경우 품종간 총 괴근생산량의 유의한 차이는 없었다. 하지만 관행묘 재배결과에서는 전미 (3055.93 kg/10a)와 대유미 (3150.16 kg/10a)는 비슷하였지만, 연자미는 4141 kg/10a로 약 1.3배 총 괴근생산량으로 높게 나타났다. 또한 연자미의 상품성 괴근생산량 (2474 kg/10a)은 농촌진흥청에서 보고된 연자미의 상품괴근생산량 (2596 kg/10a)와 유사하게 나타났으며, 이는 연자미의 우수한 습해내성으로 습한 조건의 토양에서도 일반 고구마 재배 토양과 비슷한 생산량을 보일수 있었던 것으로 판단되었다.

(a)



(b)

		괴근생산량 (kg/10a)											
		연자미				전미				대유미			
		한입	일반	전분	합계	한입	일반	전분	합계	한입	일반	전분	합계
유식물체	괴근생산량	273.60±185.65	1040.40±343.91	2484.90±649.98	3799.10±833.24	185.93±101.33	552.56±395.16	3470.09±1045.72	4208.59±899.95	402.10±261.62	1097.12±755.97	2480.60±772.84	3979.82±954.80
관행묘	괴근생산량	375.46±169.93	2099.05±779.93	1667.34±500.24	4141.85±552.39	221.92±144.37	999.12±254.45	1834.88±445.88	3055.93±694.65	385.70±148.53	1548.31±501.59	1216.16±311.22	3150.16±545.21

(c)

상품괴근생산량 (kg/10a)	연자미	전미	대유미
참고*	2,596	2,615	2,779
유식물체	1314.20±358.89	738.49±420.29	1499.22±911.34
관행묘	2474.51±685.33	1221.05±295.38	1934.01±445.63

그림 41. 단위면적당 괴근생산량. (a, b) 육묘방법 및 품종별 단위면적 당 괴근 생산량. (c) 상품괴근생산량 비교 (*농촌진흥청 자료참고).

- 본 시험에서 습해내성 및 감수성 고구마를 활용하여 유식물체 및 관행묘 형태로 육묘 및 습한 조건의 토양에 현장재배하였다. 육묘 과정에서 유식물체 묘는 관행묘 보다 재료 확보와 육묘기간의 단축되는 이점을 확인할 수 있었다. 또한 필드정식 시, 유식물체는 뿌리 발달 및 수분보유 토양매트로 인해 관행묘와 달리 초기 탈수증세가 없어 매우 높은 생존율을 보여 보식으로 인한 노동 및 비용을 절감하는 장점을 확인하였다. 고구마 괴근 수확 결과, 관행묘로 재배하였을 때 전미 및 대유미보다 연자미가 습한조건의 토양재배에 적합하였다. 또한 연자미를 제외한 전미 및 대유미에서 관행묘 보다 유식물체에서의 괴근생산량이 높아, 유식물체 육묘가 습한 조건의 토양에서 더 적합하였다. 그리고 유식물체의 특징으로 꼬인뿌리 형태의 전분용 고구마가 많이 발달되었다. 하지만 유식물체 유래 꼬인형태의 괴근은 황토와 같이 부드러운 토질에 재배할 경우 꼬인형태의 괴근발달이 감소되는 것을 확인하였으며, 토질을 고려하여 용도에 맞는 고구마 괴근 확보가 가능할 것으로 기대한다.

3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

3-1. 목표

- 국가 식량안보 확보, 농가소득 증대, 농촌인구 고령화에 대응하기 위해 벼농사를 대체하는 논에 적합한 고소득 고구마 품종을 이용하여 벼 재배처럼 고구마 심는 것을 자동화하여 노동력을 대폭 절약할 수 있는 고구마 육묘시스템 구축하고자 함. 또한 습해에 대한 고구마의 적응성을 높이기 위해 습해에 대한 생명공학 기반연구를 추진하고자 한다.

3-2. 목표 달성여부

<1차년도>

당초 목표	가중치 (%)	개발 내용	달성도 (%)
1. 논에 적합한 고구마 품종 확보 및 조직배양	25	<ul style="list-style-type: none"> - 국립식량과학원 바이오에너지작물연구소 고구마연구실에서 33품종의 국내고구마 품종을 분양받아 조직배양 수행 - 고구마연구실에서 추천해준 베니하루까 품종 확보 및 조직배양 	100
2. 습해내성 품종과 감수성 품종의 선발	25	<ul style="list-style-type: none"> - 습해처리를 한 33품종의 국내고구마 품종을 대상으로 생육조사 및 표현형 검정 - 1차 내습평가의 표현형 검정과 엽록소 측정 결과를 근거로 33품종 중 예상 습해 내성품종으로 연자미, 연미, 예상 습해 취약품종으로 홍미, 전미를 선발 - 2차 습해내성 평가를 통해 내성품종으로 연자미 품종을 습해감수성 품종으로 전미 품종 선발 - 유식물체 증식과 관행 묘 확보를 위한 식물체 증식 	100
3. 습해관련 유전자 발현 분석	25	<ul style="list-style-type: none"> - 비교전사체 분석 샘플링을 위한 두 품종의 습해반응의 생리학적 분석 - 비교전사체 분석 샘플링을 위한 두 품종의 습해반응의 유전자발현 분석 - 두 품종 간 습해내성 차이가 습해내성관련 유전자 발현 차이에 기인할 가능성이 확인되었으며, 이 발현차이는 습해처리 초기 (0.5일)부터 나타나며, 습해처리 표현형이 나타나는 3일 후에는 급격한 발현패턴의 변화양상이 확인됨. 따라서 무처리 0일, 습해처리 후 0.5일, 3일을 비교전사체를 분석타임으로 선정. 	100
4. 유식물체 고구마 묘의 현장재배	25	<ul style="list-style-type: none"> - 고구마연구실에서 추천해준 베니하루까 품종의 유식물체 묘와 관행묘를 생산하여 성장비교 	100

		<ul style="list-style-type: none"> - 유식물체 20일묘와 30일묘의 성장을 확인하였을 때 30일묘에서 지상부 및 뿌리발달이 잘 되어있음을 확인 - 관행묘의 경우 유식물체 보다 지상부의 크기가 더 발달 되어 있음이 확인 - 유식물체와 관행 묘를 고구마 포장에 재식거리 별로 정식(10, 15, 20 cm) - 정식 후 관행 묘의 경우 수분 부족으로 고사하거나 죽어가는 다수의 묘가 확인되었으나 유식물체의 경우 발달된 뿌리가 수분을 함유한 토양을 감싸고 있기 때문에 고사된 묘가 없음이 확인됨. - 고구마 괴근 수확량 확인 시 유식물체 (30일, 재식거리: 10 cm)의 총 괴근수량이 가장 높게 나타남. - 상품성이 좋은 고구마 괴근수량은 	
	100		100

<2차년도>

당초 목표	가중치 (%)	개발 내용	달성도 (%)
1. 습해내성 및 감수성 고구마 품종을 활용한 비교전사체 분석	25	<ul style="list-style-type: none"> - 연자미와 전미 품종의 0, 0.5, 3일 습해스트레스 처리한 잎을 비교전사체 재료로 사용함 - 서열분석 및 mapping결과: NovaSeq 6000을 이용하여 서열분석을 한 결과 총 561,608,772개의 raw read를 확보하였고, low-quality와 adaptor 오염된 read를 제외한 결과 확보한 read의 97.5%인 547,559,455의 trimmed read를 확보 - DEG의 발현패턴 변화에 따른 분석 수행 - DEG의 발현기간에 따른 분석을 수행 - Target KEGG pathway 분석수행 	100
2. 고구마정식 생력화 기술개발	25	<ul style="list-style-type: none"> - (주)동양물산기업과 협력하여 유식물체를 활용한 정식 생력화를 위한 시험 진행 - 업체류정식기 PVZ1-60D (트레이 규격: 128, 200구)와 양파정식기 TOP6 (트레이 규격: 384구)를 활용하기 위해 각각의 트레이에 유식물체 생산 - 각각의 트레이에 유식물체 묘를 생산해본 결과 묘간 간격이 좁아 공간경합이 심한 200구와는 달리, 128구는 상대적으로 지상부 간 경합이 적어 생육이 더 좋았던 것으로 판단됨 - 384구 트레이 묘는 트레이 구 공간이 좁아 과도한 뿌리발달을 방지하기 위해 2주간 육묘하였으며, 신초길이가 약 3~5 cm로 확인되었으며 다른 두 	100

		트레이보다 생육이 저조	
3. 현장재배를 위한 유식물체와 관행 묘 생산	25	<ul style="list-style-type: none"> - 습해내성과 감수성 품종으로 선발한 연자미 전미 품종을 활용하여 유식물체와 관행 묘 생산 - 유식물체 고구마 묘 준비를 위해 4~6 cm의 3마디 및 잎 2장을 가진 연자미와 연미 줄기절편을 40구 플러그트레이에 삼식하였으며 재식거리 별 삼식을 위해 5, 10, 15 cm 묘로 분류하여 생육 - 관행 묘는 20~25 cm 크기로 준비 	100
4. 과습지역에서 고구마 현장재배	25	<ul style="list-style-type: none"> - 준비된 유식물체와 관행 묘를 충남 논산시 상월면에 위치한 고구마 필드에 정식. 현장재배 필드는 과거에 논이었으며, 현재에도 주변은 논이며 벼가 재배되는 습한 토양을 가지고 있음 - 정식 30일 후 중간 생육관찰 결과, 유식물체는 건전한 상태로 생육 중인 것에 반해 관행묘의 경우 곳곳 뿌리를 내리지 못하고 죽은 묘가 다수 확인 - 현장재배 실험을 통해 과습지역에서의 유식물체 고구마의 재배가능성 및 관행재배 묘 대체 가능성을 확인함. 또한 최적의 유식물체 고구마 묘의 재배 시스템 (육묘기간: 10, 15일, 재식간격: 5, 10 cm)을 구축 	100
	100		100

<3차년도>

당초 목표	가중치 (%)	개발 내용	달성도 (%)
1. 비교전사체 결과 확인	25	<ul style="list-style-type: none"> - RNA-Seq 분석 데이터의 타당성 검증을 위해 예상 습해내성관련 유전자를 무작위로 선발하여 DEG 발현을 동일한 샘플에서 qRT-PCR을 통해 비교검증 - 분석한 대부분의 유전자 발현패턴 및 발현정도가 qRT-PCR과 RNA-Seq 결과에서 비슷한 양상확인 	100
2. 습해내성 관련 핵심유전자 확보	25	<ul style="list-style-type: none"> - MAPK 및 에틸렌 신호전달에 관여하는 <i>MAPKK 5</i>, 에틸렌 신호전달에 관여하는 <i>EIN3</i>, ABA 신호전달에 관여하는 <i>PYR4</i>이 습해조건에서 고구마의 신호전달을 통해 습해에 대한 내성과 반응성을 높여줄 것으로 보임 - 연자미의 잎에서 당수송에 관여하는 <i>Sucrose transport protein, Bidirectional sugar transporter SWEET17</i> 유전자의 발현이 높게 나타나 습해스트레스로부터 지하부의 생존에 유리하게 하여 습해내성에 관여 - <i>MYB44</i>는 MAPK 신호전달에 의해 유도되는 전사 	100

		<p>인자로서 활성산소종 제거등 전반적인 스트레스에 대한 방어기작을 담당하고 있어, 습해내성에 관여할 것으로 예상됨</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>ERF1B</i>는 습해스트레스 감지 및 반응에 중요한 식물 호르몬인 에틸렌에 의해 유도되어 고구마가 전사체 수준에서 습해스트레스에 대해 높은 반응성을 일으키게 되어 습해내성에 관여할 것으로 예상 - 식물체가 습해를 받으면 지상부의 철이온의 농도가 증가하여 이온독성이 발생하게 되는데, <i>ferritin-2</i>를 통해서 습해에서 지상부의 이온독성으로부터 보호하여 습해내성을 부여할 것으로 보임 	
<p>3. 과습지역에서 고구마 현장재배</p>	<p>25</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 연구팀에서 선발한 습해에 강한 품종 연자미, 습해에 취약한 전미 그리고 충북도농업기술원에서는 대체 고구마로 선발한 대유미를 활용 - 유식물체는 2~3마디를 포함한 4~6 cm의 고구마 줄기절편을 40구 트레이에 삼식하여 15일간 생육 - 관행묘는 6주 생육한 고구마 줄기를 25~30 cm 크기로 준비 - 토양수분 측정기인 DM-18 (TAKEMURA)를 이용하여 일반 고구마 밭 토양과 비교한 결과 실제 수분함량이 높게 나타난 토양에 정식 - 연자미는 관행묘와 유식물체간 괴근생산량에 유의한 차이가 없었으나, 전미와 대유미에서는 관행묘보다 유식물체에서 총 괴근생산량이 약 1.3~1.4배로 높게 확인 - 관행묘 재배결과에서는 전미 (3055.93 kg/10a)와 대유미 (3150.16 kg/10a)는 비슷하였지만, 연자미는 4141 kg/10a로 약 1.3배 총 괴근생산량으로 높게 나타남 - 연자미의 상품성 괴근생산량 (2474 kg/10a)은 농촌진흥청에서 보고된 연자미의 상품괴근생산량 (2596 kg/10a)와 유사하게 나타났으며, 이는 연자미의 우수한 습해내성으로 습한 조건의 토양에서도 일반 고구마 재배 토양과 비슷한 생산량을 보일수 있었던 것으로 판단 	<p>100</p>
<p>4. 고구마정식 생력화 기술개발</p>	<p>25</p>	<ul style="list-style-type: none"> - (주)동양물산기업 하우스 시험장에서 육묘한 유식물체 고구마를 활용하여 정식기 시험을 진행 - 128, 200구 트레이 전용 엽채류정식기 PVZ1-60D의 재식거리는 20 cm, 384구 트레이 전용 양파정식기 TOP6는 12 cm로 설정하여 유식물체 고구마묘를 정식 	<p>100</p>

		<ul style="list-style-type: none"> - 엽채류정식기를 활용한 128구 트레이 묘 정식률은 78.1% (50/64 주)로 가장 높았으며, 200구 트레이 묘 정식률도 71.2% (57/80 주)로, 두 트레이에서 모두 비슷하게 나타남. - 실제 필드에서의 기계화 정식적용을 확인하기 위해 현장시험을 진행 - 정식에 이용한 엽채류정식기 PVZ1-60D의 재식거리를 20 cm로 설정하였으며, 전체 고구마 유식물체 묘 정식률이 91.4% (383/419 주)로 앞선 시험의 78.1% 보다 향상된 정식률이 확인 	
	100		

3-3. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

○ 후속연구의 필요성

1) 습해내성 핵심유전자 활용

: 비교전사체 분석을 통해 습해내성에 관련되는 다수의 핵심유전자를 확보하고 분리하였다. 이러한 핵심유전자를 이용하여 과발현 형질전환 고구마 식물체를 제작하여 습해내성 표현형을 보이는지 확인이 필요하다.

2) 유식물체 활용 꼬인 형태의 괴근 생성 감소를 위한 연구

: 필드정식 시, 유식물체는 뿌리 발달 및 수분보유 토양매트로 인해 관행묘와 달리 초기 탈수증세가 없어 매우 높은 생존율을 보여 보식으로 인한 노동 및 비용을 절감하는 장점을 확인하였다. 고구마 괴근 수확결과, 관행묘로 재배하였을 때 전미 및 대유미보다 연자미가 습한조건 토양재배에 적합하였다. 또한 연자미를 제외한 전미 및 대유미에서 관행묘 보다 유식물체에서의 괴근 생산량이 높아, 유식물체 육묘가 습한 조건 토양에서 더 적합하였다. 그리고 유식물체의 특징으로 꼬인뿌리 형태의 전분용 고구마가 많이 발달되었다. 하지만 유식물체 유래 꼬인 형태의 괴근은 황토와 같이 부드러운 토질에 재배할 경우 꼬인 형태의 괴근 발달이 감소되는 것을 확인하였다. 따라서 추후연구를 통해 토질의 종류에 따라 유식물체를 활용하였을 때 괴근 생성의 변화를 확인할 필요가 있다.

3) 정식 생력화 기술개발

: 본 연구를 통해 엽채류정식기를 활용한 128구 트레이 생육 유식물체 고구마 묘의 기계정식을 성공하여, 고구마 정식 생력화의 가능성을 볼 수 있었다. 하지만, 정식 중 묘의 길이가 너무 작을 경우, 묘가 비닐멀칭 안에서 생육할 가능성이 확인되어 육묘방법의 보완이 필요하다. 본 과제에서 엽채류정식기에 활용할 수 있는 적당한 크기의 줄기묘 마디간 간격을 줄이기 위해 왜화제를 처리하여 연구를 진행하였다. 실제 농가 적용을 위해선, 하우스 조건에서의 육묘시험과 수확량 평가를 통해 왜화제가 고구마 뿌리발달에 미치는 영향까지 확인할 필요성이 있다.

4. 연구결과의 활용 계획 등

1) 습해내성 핵심유전자를 활용한 습해내성 고구마 품종 개발

: 본 과제를 통해 개발된 핵심유전자를 활용하여 기능분석을 통한 습해내성 고구마 품종개발에 활용가능

2) 벼 대체 논 재배 고구마 품종 선발

: 본과제를 통해 벼농사를 대체할 수 있는 습해내성 고구마 품종을 성공적으로 선발하고 벼를 재배한 논에서 직접 재배하여 습해내성 품종이 높은 생산성을 나타내는 것을 확인하였다. 따라서 논에 습해내성 고구마 품종을 재배하였을 때 농가수의 증대를 기대 할 수 있다.

3) 유식물체를 활용한 정식 생력화 기술개발

: 본 연구를 통해 엽채류정식기를 활용한 128구 트레이 생육 유식물체 고구마 묘의 기계정식을 성공하여, 고구마 정식의 생력화의 가능성을 볼 수 있었다. 또한 최적의 육묘과정을 통한 건전 유식물체 고구마 묘의 확보가 기계화정식에 매우 중요하다는 사실을 확인하였다. 추후 후속연구를 통해 정식 생력화가 성공하면 노동력 감소 및 농가소득 증대에 기여할수 있을 것이다.

붙임. 참고문헌

- Banga M, Slaa EJ, Blom CW, Voeselek LA (1996) Ethylene biosynthesis and accumulation under drained and submerged conditions (a comparative study of two *Rumex* species). *Plant Physiology* 112:229-237
- Chen H, Qualls RG, Blank RR (2005) Effect of soil flooding on photosynthesis, carbohydrate partitioning and nutrient uptake in the invasive exotic *Lepidium latifolium*. *Aquatic Botany* 82:250-268
- Ismond KP, Dolferus R, De Pauw M, Dennis ES, Good AG (2003) Enhanced low oxygen survival in *Arabidopsis* through increased metabolic flux in the fermentative pathway. *Plant Physiology* 132:1292-1302
- Sasidharan R, Voeselek LA (2015) Ethylene-mediated acclimations to flooding stress. *Plant Physiology* 169:3-12
- Sinha AK, Jaggi M, Raghuram B, Tuteja N (2011) Mitogen-activated protein kinase signaling in plants under abiotic stress. *Plant Signaling Behavior* 6:196-203
- Smulders MJ, Horton RF (1991) Ethylene promotes elongation growth and auxin promotes radial growth in *Ranunculus sceleratus* petioles. *Plant Physiol* 96:806-811
- Takahashi H, Xiaohua Q, Shimamura S, Yanagawa A, Hiraga S, Nakazono M (2018) Sucrose supply from leaves is required for aerenchymatous phellem formation in hypocotyl of soybean under waterlogged conditions. *Annals of Botany* 121:723-732
- Pagnussat GC, Lanteri ML, Lombardo MC, Lamattina L (2004) Nitric oxide mediates the indole acetic acid induction activation of a mitogen-activated protein kinase cascade involved in adventitious root development. *Plant Physiology* 135:279-286
- Ponnamperuma FN (1972) The chemistry of submerged soils. *Adv Agron* 24:29-96
- Rout GR, Sahoo S (2015) Role of iron in plant growth and metabolism. *Rev Agric Sci* 3:1-24
- Yang C, Lu X, Ma B, Chen SY, Zhang JS (2015) Ethylene signaling in rice and *Arabidopsis*: conserved and diverged aspects. *Molecular Plant* 8:495-505
- Zhang P, Lyu D, Jia L, He J, Qin S (2017) Physiological and de novo transcriptome analysis of the fermentation mechanism of *Cerasus sachalinensis* roots in response to short-term waterlogging. *BMC Genomics* 18:649
- Ziska LH, Runion GB, Tomecek M, Prior SA, Torbet HA, Sicher R. (2009) An evaluation of cassava, sweetpotato and field corn as potential carbohydrate sources for bioethanol production in Alabama and Maryland. *Biomass & Bioenergy* 33:1503-1508

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 벼농사 대체용 고구마 품종 육성 및 생력화 기술개발 (영문) Development of energy-saving technology of sweetpotato replacing rice cultivation				
주관연구기관	한국생명공학연구원		주 관 연 구	(소속) 한국생명공학연구원	
참 여 기 업	(주)한국과기산업		책 임 자	(성명) 곽 상 수	
총연구개발비	계	540,000	총 연 구 기 간	2018. 04. 26 ~ 2020. 12. 31	
(540,000천원)	정부출연 연구개발비	400,000	총 참 여 연 구 원 수	총 인 원	11명
	기업부담금	140,000		내부인원	11명
	연구기관부담금			외부인원	

○ 연구개발 목표 및 성과

국가 식량안보 확보, 농가소득 증대, 농촌인구 고령화에 대응하기 위해 벼농사를 대체하는 논에 적합한 고소득 고구마 품종을 이용하여 벼 재배처럼 고구마 심는 것을 자동화하여 노동력을 대폭 절약할 수 있는 고구마 육묘시스템 구축하고자 함. 또한 습해에 대한 고구마의 적응성을 높이기 위해 습해에 대한 생명공학 기반연구를 추진하고자 한다.

○ 연구내용 및 결과

1. 33종의 국내 고구마 품종을 대상으로 습해처리를 통한 벼농사 대체용 논재배에 적합한 품종(연자미)을 선발하고 습해내성 고구마 품종 육성을 위한 기초연구를 수행하였음.
2. 습해내성 및 감수성 품종을 이용하여 비교전사체 분석을 수행하였고 고구마의 습해내성에 관여하는 핵심유전자 선발 및 확보하였음.
3. 기존 관행묘를 이용한 고구마 정식의 단점을 보완할 수 있는 유식물체를 활용한 정식방법을 개발하였으며 최적의 유식물체 생산기술을 확립하였음. 이를 활용해 습해지역에 고구마를 재배하여 생산성이 좋음을 확인하였음.
4. 유식물체를 엽채류정식기를 활용하여 필드에 정식하였을 때 정식율이 매우 좋았으며 고구마 정식 생력화를 위한 기술개발에 활용이 가능할 것으로 기대됨.

○ 연구성과 활용실적 및 계획

1. 습해내성 고구마 품종을 활용한 벼농사 대체 논재배 고소득 작물 재배 가능
2. 습해내성 핵심유전자를 활용한 고구마 품종 육성에 기여
3. 유식물체를 활용한 고구마 정식 생력화 실용화
4. 고구마 유식물체 건전묘 생산을 위한 기술개발에 활용

[별첨 2]

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호		118038	
사업구분	농식품기술개발사업				
연구분야				과제구분	단위
사업명	농생명산업기술개발사업				주관
총괄과제	기재하지 않음			총괄책임자	기재하지 않음
과제명	벼농사 대체용 고구마 품종 육성 및 생력화 기술개발			과제유형	(개발)
연구기관	한국생명공학연구원			연구책임자	곽 상 수
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차연도	2018.04.26.~2018.12.31	110,000	40,000	150,000
	2차연도	2019.01.01.~2019.12.31	145,000	50,000	195,000
	3차연도	2020.01.01.~2020.12.31	145,000	50,000	195,000
	4차연도				
	5차연도				
	계				
참여기업	(주)한국과기산업				
상대국	상대국연구기관				

※ 총 연구기간이 5차연도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2021.01.18

3. 평가자(연구책임자) : 곽 상 수

소속	직위	성명
한국생명공학연구원	책임연구원	곽 상 수

4. 평가자(연구책임자) 확인 : 곽 상 수

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확 약	
-----	---

I. 연구개발실적

※ 다음 각 평가항목에 따라 자체평가한 등급 및 실적을 간략하게 기술(200자 이내)

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 33종의 국내 고구마 품종을 대상으로 습해처리를 통한 벼농사 대체용 논재배에 적합한 품종(연자미)을 선발하고 습해내성 고구마 품종 육성을 위한 기초연구를 수행하였음.
- 습해내성 및 감수성 품종을 이용하여 비교전사체 분석을 수행하였고 고구마의 습해내성에 관여하는 핵심유전자 선발 및 확보하였음.
- 기존 관행묘를 이용한 고구마 정식의 단점을 보완할 수 있는 유식물체를 활용한 정식방법을 개발하였으며 최적의 유식물체 생산기술을 확립하였음. 이를 활용해 습해지역에 고구마를 재배하여 생산성이 좋음을 확인하였음.
- 유식물체를 엽채류정식기를 활용하여 필드에 정식하였을 때 정식율이 매우 좋았으며 고구마 정식 생력화를 위한 기술개발에 활용이 가능할 것으로 기대됨.
- 본 과제를 수행하여 논문 4건(SCI 3건/비SCI 1건), 특허출원 1건, 학술발표 6건, 석사인력양성 1건, 홍보 2건 등이 성과를 창출하였음.

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 습해내성 품종의 선발을 통해 벼농사 대체용 고구마를 논에 재배할 시 농가소득 증진이 기대됨.
- 습해내성 핵심유전자를 활용한 습해내성 고구마 품종 육성에 기여
- 유식물체를 활용한 고구마 정식 생력화의 실용화를 통한 노동력 감소 및 고소득 작물재배 가능
- 고구마 유식물체 건진묘 생산을 위한 기술개발에 활용

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 습해내성 핵심유전자를 활용한 습해내성 고구마 품종 개발
본 과제를 통해 개발된 핵심유전자를 활용하여 기능분석을 통한 습해내성 고구마 품종개발에 활용가능
- 벼 대체 논 재배 고구마 품종 선발
본과제를 통해 벼농사를 대체할 수 있는 습해내성 고구마 품종을 성공적으로 선발하고 벼 를 재배한 논에서 직접 재배하여 습해내성 품종이 높은 생산성을 나타내는 것을 확인하였음. 따라서 논에 습해내성 고구마 품종을 재배하였을 때 농가수익 증대를 기대 할 수 있음.
- 유식물체를 활용한 정식 생력화 기술개발
본 연구를 통해 업체류정식기를 활용한 128구 트레이 생육 유식물체 고구마 묘의 기계정식을 성공하여, 고구마 정식의 생력화의 가능성을 볼 수 있었음. 또한 최적의 육묘과정을 통한 건전 유식물체 고구마 묘의 확보가 기계화정식에 매우 중요하다는 사실을 확인하였음. 추후 후속연구를 통해 정식 생력화가 성공하면 노동력 감소 및 농가소득 증대에 기여할수 있을 것임.

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 국내 고구마 품종을 대상으로 습해내성 고구마 품종을 선발하고 특성을 규명하여 국제 저명 학술지에 게재하였음.
- 고구마정식 생력화를 위한 유식물체 생산 방법을 개발하였으며 특허출원하였음.
- 비교전사체 분석을 통해 고구마 습해내성 핵심유전자를 확보하였고 얻어진 연구성과를 학술대회 등에 발표하였고, 논문에 게재함.
- 매년 고구마 필드 및 습해지역에 선발된 고구마 품종을 정식하여 생산성을 확인함.

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 논문: SCI 3편 발표, 비SCI 1편 발표
- 지적재산권: 특허출원 1건
- 학술발표: 6건
- 인력양성: 석사 1명 배출
- 홍보: 2건

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
습해내성 품종 선발	25	100	- 국내고구마 33품종을 대상으로 습해처리를 통해 내성 품종을 선발하였음.
비교전사체분석을 통한 습해내성 핵심유전자 확보	25	100	- 습해내성/감수성 품종을 이용하여 비교전사체 분석을 수행하였음. - 비교전사체 분석을 통해 습해내성 관련 핵심유전자군을 선발하였음.
과습지역에서 고구마 현장재배	25	100	- 선발된 습해내성 품종의 유식물체를 생산하여 과습지역에 현장재배를 실시하였음. - 기존의 관행묘 시스템과 비교하여 과습지역에서 생산량을 확인하였음.
정식생력화를 위한 기술개발	25	100	- 유식물체를 활용한 업체류정식기의 이용이 가능함을 확인 - 실제 필드에 적용하여 실시완료함
합계	100점	100	

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

- 습해지역 벼농사 대체용 고구마 재배를 위한 습해내성 고구마 품종을 선발하고 직접 현장재배를 통해 생산량을 비교분석 하였음.
- 비교전사체 분석을 통해 고구마 습해내성 핵심유전자군을 확보하고 습해내성 품종육성을 위한 체계적인 연구를 수행하고 있다고 판단됨.
- 본 과제에서 수행한 유식물체 이용 정식생력화 기술이 실용화 되면 노동력 대폭 감소를 통한 농가소득 증진을 기대할 수 있는 혁신적인 기술개발이 될 것으로 판단됨.

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

- 고구마에서 습해내성 품종 선발 및 분자생리학적 연구는 극히 미비한 상황으로 본 연구에서의 습해내성 고구마 품종 선발 및 관련연구는 벼대체 식량작물 고구마 재배로 농가수익 증대 및 습해내성 고구마 품종 개발에 크게 기여할 것으로 기대됨.
- 고구마를 정식할 때 필요한 노동력은 향후 고령화로 인한 노동력 감소로 이어질 수 있어 심각한 문제를 야기할 수 있음. 따라서 본 과제를 통해 개발된 고구마 정식 생력화 기술이 실용화가 되면 노동력 감소 및 대량재배를 기대할 수 있는 매우 중요한 연구로 평가될 수 있음.

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

- 본 연구에서 얻어진 습해내성 핵심유전자군을 활용하면 습해내성이 향상된 고구마 품종 개발에 활용할 예정임.
- 습해내성 고구마 품종을 활용한 벼농사 대체 논재배 고소득 작물 재배 가능
- 유식물체를 활용한 고구마 정식 생력화 실용화
- 고구마 유식물체 건전묘 생산을 위한 기술개발에 활용

IV. 보안성 검토

o 연구책임자의 보안성 검토의견, 연구기관 자체의 보안성 검토결과를 기재함

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

- 해당사항 없음

2. 연구기관 자체의 검토결과

- 해당사항 없음

	원	록	록						출	치		I	균	표		용	시	활	
단위	건	건	건	건	백	백	백	백	명	백	건	건	건	건	건	명	건	건	용
가중치	30			10									30	10		10		10	
최종목표	2	1		1	10							3	2	3	3		2		2
연구기간내 달성실적	1	0		0	0							4	1	2.0	6		1		2
달성율(%)	50	0		0	0							13	50	73.	20		50		100
												3		8	0				

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	유식물체 건조모 생산기술을 활용한 습해지역 고구마 재배기술
②	고구마 습해내성 핵심유전자 확보 및 분리
③	유식물체 이용 고구마 정식기술
·	
·	
·	

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준				기술의 활용유형(복수표기 가능)					
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장애로 해결	정책 자료	기타
①의 기술		v				v	v			
②의 기술	v						v	v		
③의 기술	v					v	v	v		
·										
·										

* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	습해내성 고구마 품종을 활용한 벼농사 대체 논재배 고소득 작물 재배 가능
②의 기술	본 연구에서 얻어진 습해내성 핵심유전자군을 활용하면 습해내성이 향상된 고구마 품종개발에 활용할 예정임
③의 기술	유식물체를 활용한 고구마 정식 생력화를 국내 농기계 기업과 협력하여 실용화를 통한 농가에 보급

7. 연구종료 후 성과창출 계획

성과목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술실시 (이전)		사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책 활용·홍보		기타 (타연구활용등)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		논문		학술발표			정책활용	홍보전시	
												SCI	비SCI						
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명				
가중치	30			10									30	10		10		10	
최종목표	2	2		1	100							6	3	3	6		5	4	
연구기간내 달성실적	1	0		0	0							3	1	2.2	6		1	2	
연구종료후 성과창출 계획	1	2		1	100							3	2	3	3		3	2	

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

핵심기술명 ¹⁾	유식물체를 활용한 고구마정식 생력화 기술		
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input checked="" type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	100,000천원
이전방식 ²⁾	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input checked="" type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타()		
이전소요기간	3년	실용화예상시기 ³⁾	3년
기술이전시 선행조건 ⁴⁾	작물 정식 기계개발 기술을 가지고 있는 기업		

- 1) 핵심기술이 2개 이상일 경우에는 각 핵심기술별로 위의 표를 별도로 작성
- 2) 전용실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 다른 1인에게 독점적으로 허락한 권리
통상실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 제3자에게 중복적으로 허락한 권리
- 3) 실용화예상시기 : 상품화인 경우 상품의 최초 출시 시기, 공정개선인 경우 공정개선 완료시기 등
- 4) 기술 이전 시 선행요건 : 기술실시계약을 체결하기 위한 제반 사전협의사항(기술지도, 설비 및 장비 등 기술이전 전에 실시기업에서 갖추어야 할 조건을 기재)

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 농생명산업기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 농생명산업기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.