

발간등록번호

11-1543000-000918-01

시설원예 특화를 위한 사과무병종묘 산업화기반 구축

Protected Horticultural Industrialization of
Apple Virus-Free Stocks

충북대학교 산학협력단

농림축산식품부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “시설원예 특화를 위한 사과무병종묘 산업화기반 구축에 관한 연구”의 기획지원과제 보고서로 제출합니다.

2015. 03. 31.

주관연구기관명 : 충북대학교 산학협력단

주관연구책임자 : 김 대 일

연 구 원 : 박 소 영

연 구 원 : 오 명 민

연 구 원 : 차 병 진

연 구 원 : 신 현 만

연 구 원 : 이 성 희

연 구 원 : 이 재 응

연 구 원 : 신 현 석

연 구 원 : 오 영 재

연 구 원 : 김 설 아

연 구 원 : 원 정 연

연 구 원 : 오 세 원

연 구 원 : 이 경 주

연 구 원 : 이 현 정

연 구 원 : 손 기 호

연 구 원 : 이 진 희

요 약 문

I. 제 목

시설원에 특화를 위한 사과무병종묘 산업화기반 구축

II. 후속연구과제를 위한 동향조사 및 기반구축

1. 동향조사

시설원예를 이용한 사과무병묘의 대량생산체계 및 산업화구축 기술은 총 1,015건으로, 한국 특허가 449건, 44%로 가장 높은 점유율을 보이고 있으며, 일본 특허가 389건, 38%, 미국 특허는 143건, 14%, 유럽 특허 34건, 4% 순으로 나타났다. 각 기술 분류별로 살펴보면, 기술 분류별 특허 출원 비중은 환경조절, 안정적 증식 및 육묘방법 기술이 가장 높은 것으로 나타났으며, 변이 검정 및 품종동정 기술, 바이러스 검정법 기술 시스템, 왜성대목 및 무병종묘 대량생산 기술 시스템 순으로 나타났다. 국가별 특허 동향을 살펴보면, 1990년대 이후로 관련 기술 특허 출원이 본격적으로 이루어졌으며, 현재까지도 꾸준한 특허 출원이 이루어지고 있다. 특이점은 한국의 경우 2000년대 들어 급격한 특허 출원 수 증가가 나타났으며, 일본의 경우 1990년대 개발 초기부터 관련 기술 특허 출원이 꾸준히 이루어진 것으로 나타났다. 한국의 경우 2000년대 초반 정부의 연구개발 지원이 이루어진 것으로 나타났다. 무병종묘 기술의 경우 선진국에서는 우수 품종 유전자에 관한 기술 개발이 이루어져왔으며, 우리나라에서 우수한 종자 및 종묘에 대한 농가 로열티에 대한 문제가 꾸준히 제기됨에 따라 국가적 차원의 연구개발 지원이 이루어진 것으로 조사되었다. 한국에서 출원된 특허를 살펴보면, 주요 출원인은 대부분 정부출연 연구기관 및 대학연구기관이며, 특허분석에서 한국의 기술발전 위치도 성장기로 나타남에 따라, 향후에도 해당 기술에 대한 연구 개발은 활발할 것으로 판단된다. 일본의 경우 1990년대부터 원예 식물에 대한 우수 품종 종자 및 종묘에 관한 유전자 연구가 꾸준히 진행되어온 것으로 조사되었다. 특허 기술동향도 이와 마찬가지로 1990년대부터 특허 출원이 꾸준히 이루어져 온 것으로 판단되며, 일본의 경우 국가 연구기관 및 사기업의 관련기술 특허 출원도 이루어져 온 것으로 조사되었다. 미국과 유럽의 경우 역시 주요 출원인은 국가출연 연구단체, 대학기관인 것으로 나타났으며, 전체적으로 관련 특허 출원 건수가 적은 편으로 나타나 해당 기술은 한국과 일본이 주도하고 있는 것으로 판단된다. 논문 분석 결과, 최근 5개년 구간을 통해 총 404건의 유효 논문이 추출되었으며, AA. 왜성대목 및 무병종묘 대량생산 기술(129건), AD. 환경조절 안정적 증식 및 육묘방법 기술(102건), AB. 바이러스 검정법 기술(93건), AC. 변이검정 및 품종 동정 기술(80건) 순으로 나타났다. 논문 발행 동향에서는 AA기술의 발행 비중이 특허에서의 AA기술 특허 출원 동향보다 높은 것으로 나타났다. 이는 왜성대목 및 무병종묘 대량생산 기술의 특성 상 학술적인 기술 부분이 많아 다소 특허 출원으로 연결되기 어려운 경우도 있기 때문으로 판단된다. 논문 주요 발행인 현황을 살펴본 결과, TOP1 발행인으로 농촌진흥청이 나타났으며, 전북대학교, 경북대학교, 국립산림과학원 등 정부 기관과 주요 대학 연구기관이 나타났다. TOP10 논문 발행인 중 유일하게 나타난 NORTHWEST A&F UNIVERSITY는 중국의 북서농림대학교로, 해당 분야에 대한 연구 개발이 활발한 것으로 조사되었다. 시설원예 특화를 위한 사과무병종묘 산업화기반 구축기술과 관련하여 국내외 기술동향을 살펴본 결과, 한국, 미국, 일본 모두 국가주도로 연구개발이 이

루어지고 있다. 이는 우수 품종의 종자 및 종묘사업 전반에 대한 국가적으로 기술 확보에 박차를 가하고 있는 유망한 기술로 판단된다. 따라서 향후에도 본 기술 관련 연구개발 또는 지재권 확보를 위해 세부 기술별 전략을 수립하여 우수한 기술 확보를 선점하는 것이 바람직할 것으로 판단된다.

2. 기반구축

본 과제에 바로 착수할 수 있는 조직배양 원종후보군을 이미 확보하였으며 성장점 배양을 위해 원종후보군의 관리 및 초대배양을 실시하였다. 또한 경정배양을 통해 육성된 무균상태의 원종후보군 식물체를 이용해 현재 성장점배양을 시작하였으며, 무균 원종후보군 육성을 통해 추후 본 과제 진행시 성장점 배양의 효율을 극대화할 수 있을 것이다.

식물공장 완공으로 각 구역의 환경(온도, 습도, 이산화탄소)을 실시간으로 모니터링할 수 있으며, 여러 환경 요인(온도, 습도, 이산화탄소, 관수, 광)을 제어할 수 있는 시스템을 구축하였다. DFT(담액수경)과 NFT(박막수경)으로 작물을 재배할 수 있는 양액 재배 시스템을 구축하였으며, 특별히 광질에 따른 작물의 성장반응을 확인하기 위한 독립된 구역을 마련하여 기내배양 사과 소식물체의 발근 및 순화 촉진을 위한 광환경 구명에 이용할 예정이다.

Ⅲ. 후속연구과제 상세기획

사과의 바이러스는 생육과 생산량, 품질 등에 크게 영향을 미쳐 국내에서도 농식품 지원으로 농협연합회에서 중앙과수묘목관리센터를 설립하고 무병종묘 보급에 힘쓰고 있으나 농가의 무병종묘 보급 요구는 급증하고 있다. 하지만 대규모 무병종묘 번식체계가 확립되지 않아 대목의 경우 네덜란드에서 무병종묘를 수입하여 취목번식하고 있으며, 일부 접수 품종의 무병종묘가 확보되어 있으나 생산량이 부족하여 묘목산업으로부터의 요청에 크게 미치지 못하는 실정이다. 육묘 생산 기술 부분은 접수와 대목 선택기술, 발아율 향상 기술, 접목 활착률 제고 기술이 선진국보다 우수한 반면, 환경조절이나 병해충 관리 기술은 상대적으로 떨어진다. 또한 아직까지 체계적인 과수우량묘목 생산을 위한 시설 내 공정 육묘 관리 체계의 구축이나 산업화는 전무한 상태이다. 작물 발근에 관련된 연구는 대부분 화훼 작물에 초점이 맞춰져 있으며 기내 조직배양에서의 배지 성장조절제 처리에 따른 효과를 확인하는 연구가 주를 이루고 있다. 기내 배양 사과 대목을 기외 삽목했을 때 발근과 순화에 미치는 배양조건 및 성장 조절물질의 효과를 본 연구가 2004년에 있었지만 그 내용이 매우 제한적이며, 실용화되고 있지 못하다. 기지현상은 이전에 같은 종 또는 근연종을 재배한 포장에 다시 재배할 경우 발생하는 수체의 불량한 생장을 뜻하고, 특히 사과, 복숭아, 배나무 등과 같은 장미과 과수에서 많이 발생하며, 주로 나무를 굴취하는 과정에서 뿌리가 절단되며 발생하는 hydrogen cyanide(HCN)가 주원인으로 알려져 있으며, 이외에도 토양 선충, 곰팡이, 박테리아 등에 의해 발생하는 것으로 알려져 있다(Vetter, 2000; Rumberger 등, 2007). 기지현상 및 산업화, 도시화로 인한 육묘장 확보의 어려움으로 포트재배가 절실히 필요한 실정이나 포트 개발 및 사과묘 규격화를 위한 어떤 연구도 현재 진행되고 있지 않다. 현재 사과재배에서 문제가 되고 있는 바이러스는 국내외를 막론하고 Apple Chlorotic Leaf Spot Virus(ACLSV), Apple Stem Pitting Virus(ASPV), Apple Stem Grooving Virus(ASGV), Apple Mosaic Virus(ApMV) 등이 있다. 현재 네덜란드 등 농업선진국을 중심으로 사과의 바이러스 검정에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있으며, 국내 연구기관들도 사과, 포도 등 과수의 바이러스를 검

출, 진단할 수 있는 방법을 개발하고 있다.

1. 제 1세부과제 : 사과무병종묘 변이검정용 마커 개발 및 시설내 안정증식 육묘법 개발

가. 사과무병종묘 변이검정용 마커 개발

사과에서 적용 가능한 마커를 찾기 위해 기존의 보고된 문헌을 통해 마커를 탐색한다. 1차 선발된 마커 중, 캐필러리 전기영동을 통해 2차 선발을 수행한다. 2차년도에 선발된 마커들을 이용하여 주요 사과 대목(M.9, M.26), 접수(자홍, 홍로, 후지, 감홍 등) 품종에 대해 PCR을 수행한 후, 아가로스겔 전기영동과 캐필러리 전기영동을 수행하며, 각 품종별 다형성을 가지는 마커들에 대한 genotyping 데이터를 구축하여 품종 판별용 마커를 선발한다. 개발된 분자마커와 genotyping 데이터를 이용하여 사과 변이 확인을 위한 품종 동정 시스템을 구축한다.

나. 시설내 사과무병종묘 안정증식 및 육묘법 개발

1차년도에는 조직배양하여 생산된 사과무병대목(M.9, M.26)을 재배하기 위한 최적의 포트 종류 및 용적을 선정하는 연구를 실시한다. 2차년도에는 1차년도에 포트재배한 사과무병대목을 이용하여 접목을 실시한 후 묘목을 재배하기 위한 포트의 종류 및 용적을 선정하는 연구를 실시한다. 3차년도에는 1, 2차년도의 연구를 통해 선정된 대목용/묘목재배용 포트를 이용한 재배 시 포트 내 토양 조성에 따른 수체의 생육을 비교·분석하는 연구를 실시한다. 4차년도에는 완성된 사과무병포트종묘를 토양에 정식한 후 실증재배를 통하여 기존사과종묘와의 수체 생육을 비교·분석하는 연구를 실시함으로써 포트재배의 우수성을 검증한다. 5차년도에는 완성된 사과무병포트종묘를 토양에 정식한 후 실증재배를 통하여 기존사과종묘와의 과실 특성을 비교·분석하는 연구를 실시함으로써 포트재배의 우수성을 검증한다.

기대효과

육묘 단계별 변이 확인을 위한 품종동정 시스템 구축을 통해 사과 조직배양묘의 조기 변이 선별을 가능케 하여 시설원예기반 사과무독묘 생산시스템의 안정화를 도모할 수 있다. 육묘 단계별 변이 확인을 위한 품종동정 시스템 구축을 통해 사과 조직배양묘의 조기 변이 선별을 가능케 하여 시설원예기반 사과무독묘 생산시스템의 안정화를 도모할 수 있다.

2. 제 2세부과제 : 사과 왜성대목 및 상업적품종 무병종묘 대량생산 기술 개발

지역산업체로부터 우량 왜성대목 및 우수형질의 품종 M.9과 M.26을 확보한다. 그 후 물리적, 화학적 조절을 통해 사과 왜성대목 무병종묘 생산 기술을 개발한다. 사과 대목용 신초의 배양단계별 최적화 배양조건을 구명하고 시스템화를 이룬다. 1~4년차 동안 개발한 기내배양 기술 및 기내접목 기술의 프로토콜을 확립하여 우량 무병종묘의 생산방법을 농가에 보급하고 지역산업체에 기술이전을 수행한다.

기대효과

국내산 사과 왜성대목과 접수의 무병우량종묘 생산 기술을 개발할 수 있으며 대용량 생물반응기를 이용하여 과수화를 억제하고 우량한 건전묘의 대량생산 기술을 개발할 수 있다. 또한 사과 품종별 최적화된 우량묘 육성 배지를 개발하여 활용 가능하다. 현재 바이러스 감염이 심각한 사과품종의 바이러스 free 우량종묘의 대량생산 보급체계를 확립하여 농가의 직접적인 소득증가를

유도할 수 있으며 기내대량배양기술을 이용하여 사과 왜성대목 및 우량 품종 무병종묘의 전략적 공급이 가능하다.

3. 제 3세부과제 : 기내 배양 사과 무병종묘 대량 생산을 위한 환경조절 기술 개발

대목용 기내배양 사과 소식물체(M.9, M.26)를 재배하기 위한 기본적인 재배조건을 확립하고 시스템을 선정을 위한 실험을 진행한다. 지상부 생장을 촉진시키기 위한 환경 조건을 구명하기 위하여 지상부 생육에 가장 영향을 미치는 광(광도, 광질) 그리고 이산화탄소를 다르게 처리하여 광합성율, 성장특성, 엽록소형광 등을 측정하여 생장을 촉진시킬 수 있는 지상부 환경조건을 구명한다.

기대효과

식물 공장 내 환경 조절 기술을 통한 사과 조직배양묘의 순화 및 발근 촉진 기술은 향후 과수 무병종묘 산업화 구축에 기술적 토대와 예시가 될 수 있으며, 사과 조직배양묘의 종묘 생산을 위한 순화 및 발근과정과 실증 실험까지의 과정은 사과 무병종묘의 공급을 위한 표준 기술공정 확립이 가능하다. 사과 조직배양묘의 안정적인 순화 및 발근을 위한 환경제어 조건의 확립은 환경제어를 통한 안정적인 사과묘 생산을 가능하게 하며 시설원예 산업의 새로운 아이템으로써 충북 지역의 시설원예 산업화의 원동력이 될 수 있을 것으로 기대된다.

4. 제 4세부과제 : 사과무병종묘 바이러스 검정법 확립

주요 사과 재배지에서 가지, 잎, 열매 등을 채집하여 바이러스를 검정하고 분리주를 확보한다. 증식기주에 대하여 ELISA와 PCR 등 대표적인 바이러스 검정법들의 효용성을 조사한다. 이전의 연구에서 밝혀진 결과들을 토대로 바이러스별로 최적의 검출법을 선별하고, 각 검출 단계와 방법들을 프로토콜화하여 고효율 검정법을 확립함으로써 바이러스 무독묘 생산의 효율을 높이는데 기여한다.

기대효과

목본식물에서는 바이러스 분리 및 검출이 어려운 것으로 알려져 있는데, 본 연구에서 사과나무에서의 바이러스 검출 감도를 향상시킨다면 목본식물 바이러스 감염진단의 정확성을 향상시키는 데 기여할 수 있다. 주요 바이러스의 검정시간을 단축하고 정확도를 향상시킴으로써 무독묘 생산 효율을 높이고 생산단가를 낮출 수 있다.

5. 제 1협동과제 : 사과무병종묘 최적 번식 및 유통 체계 모델화

일반적인 접사를 동원한 접목방식과 접목 가위 또는 기계를 이용한 접목방식과의 비교 실험을 통해 안정적인 활착률과 인력 문제의 해결 방안을 모색한다. 묘목을 수확하여 저온저장고에 보관한 후 3월 하순~4월 상순에 농가에 공급하는 시스템이 필요하며 실험을 통하여 안정적인 묘목 수확 시기, 저장 조건, 저장 가능 기간을 구명한다. 사과무병종묘의 생산 및 시범공급을 통한 유통 과정 중 문제점을 파악하고 농가의견을 반영하여 문제점을 개선한다. 1, 2, 3, 4차년도의 결과를 바탕으로 사과무병종묘의 생산, 저장 및 유통의 최적 조건을 도출하고 사과무병묘의 대량 생산 공정 및 유통 체계를 모델화한다.

기대효과

사과무병종묘의 접목, 생산, 수확, 저장, 유통의 전 단계에 대한 기술 개발 및 모델화를 통하여 시설재배 특화 사과 무병종묘 생산 체계를 확립할 수 있다. 사과무병종묘의 접목, 생산, 수확, 저장, 유통의 전 단계에 대한 기술 개발 및 모델화를 통하여 시설재배 특화 사과 무병종묘 생산 체계를 확립할 수 있다.

6. 제 2협동과제 : 사과 바이러스 무병묘의 생육 단계별 특성검정

국내에 유통되고 있는 사과 묘목의 대목(M.9 및 M.26)에 대한 원종 구입처, 보급종의 자가증식 여부, 연간 대목 생산량, 묘목 사업 시작년도 등 국내 주요 사과 묘목 또는 대목 생산업체의 현황을 조사한다. 국내 주요 사과 묘목 또는 대목 생산업체에서 구입한 대목에 대해 대목 종류별, 지역별, 바이러스 종류별 감염정도를 파악하여 국내 유통 사과 묘목 중 대목의 바이러스 감염 실태를 분석한다. 재배중인 사과 무병 묘목의 부위별(눈, 잎, 신초 등) 잠복 감염 바이러스의 발현 여부를 조사한다. 사과나무 성목에 착과를 시켜 각 부위별(과일, 눈, 잎, 결과지 등) 잠복 감염 바이러스 발현을 분석한다. 사과바이러스를 접종한 성목에 착과를 시켜 수관 생육량 및 과일의 생산성과 상품성을 비교하여 무병 묘목의 유통 정착화를 도모한다.

기대효과

사과무병종묘와 바이러스 접종 묘목과의 생육 차이로 수관 생체량 증가 및 과일 생산량과 상품성 증대 등 초고품질 재배 기술을 확립할 수 있다. 국내 유통되고 있는 사과 묘목에 대한 바이러스 감염 실태 파악과 현장 실증을 통한 무병 묘목의 유통 정착화로 사과 생산량과 상품성을 증대시켜 답보상태인 충북 사과산업의 새로운 전기가 마련될 수 있다.

S U M M A R Y

(영 문 요 약 문)

The study was performed to establish foundation of further research plan for protected horticultural industrialization of apple virus-free stocks. The results of searching the domestic and foreign technology and research related to the field of this study indicated that research and technical development of this field, which internationally spurs technical development for seed industry, is remarkably promising and promoted by governmental institutions of Korea, USA and Japan. We have investigated major improvements of fruit nursery and the products were reflected in the further research plan. Primary apple candidates for tissue culture were secured and managed for the further research, and in vitro apple seedlings were produced for propagation of apple virus-free rootstocks. In addition, a plant factory was completed for rooting and acclimatization of apple virus-free rootstocks. Through detailed plan, we have organized 6 particular projects and have proposed application of packaged technology and field demonstration model. Finally, we built a cooperative system with North Chungcheong Province and were promised active and continuous support from North Chungcheong Province.

목 차

제 1 장 서 론	1
제 2 장 후속연구과제를 위한 동향조사 및 기반구축	1
제 3 장 후속연구과제 상세기획	26

제 1 장 서 론

사과(*Malus domestica*)는 주요 과수원예작물 중 하나로 전체 과실생산액의 20.6%를 차지하고 있으며, 최근 사과 가격의 호조, 신규 과원 조성시 지자체의 지원 등으로 재배면적이 증가하고 있다. 이와 더불어 우량 사과묘목의 필요성 또한 증대되고 있으며 사과묘목의 생산은 농업분야의 고부가가치 산업으로 인식되고 있다.

하지만 사과를 포함한 영년생 과수묘목은 2~3년간 번식/육묘하여 종묘가 보급되고 있으나 기지현상에 의해 연작이 어렵고, 이러한 연작장해를 회피하기 위해 대부분의 묘목업자들은 육묘장을 매년 이동하고 있으며, 같은 육묘장에 다시 재배할 경우 methyl bromide(MB)와 같은 훈증제를 이용하고 있으나 토양 지력의 손실 및 토양 환경에 큰 피해를 초래하게 된다. 또한 산업화 및 도시화로 이동해야 할 대규모 육묘장 확보가 매우 어려워 묘목산업이 규모화 되지 못하고 영세한 실정이다. 이를 극복하기 위해 시설재배를 통한 정착식 과수묘목 생산시스템의 개발이 절실하다.

따라서 본 연구를 통한 시설내 우량 사과묘목의 재배를 위한 바이러스 무병종묘의 생산, 시설내 순화를 위한 환경조절, 시설재배용 포트 개발, 최적 번식 및 유통 체계 모델화, 무독 사과 현장실증 등을 통한 사과우량무병종묘 생산 기술의 패키지와 산업화 기반 구축이 필요하다.

제 2 장 후속연구과제를 위한 동향조사 및 기반구축

제 1 절 특허 및 기술수준 조사

1. 국가별 특허 동향

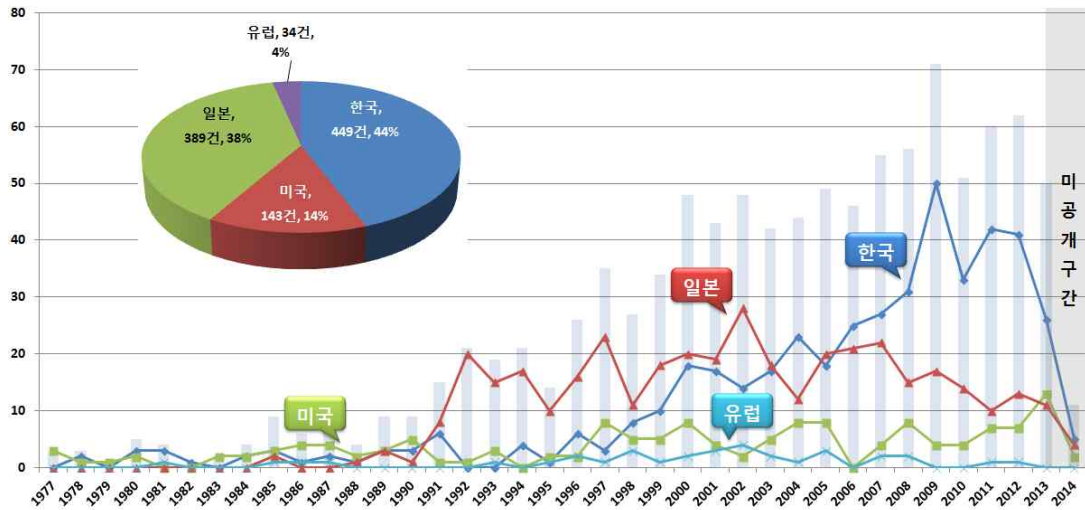
가. 주요시장국 특허 동향

(1) 연도별 특허 출원/등록 추이

유효 특허로 선별된 건을 기준으로 시설원에 특허를 위한 사과무병종묘 산업화기반 구축 기술분야의 연도별 전체 특허동향을 살펴봄으로써, 각국에서의 특허출원 트렌드를 알아보고자 했다.

[전체]

전체 총 1,015건의 유효 특허가 추출되었으며, 1991년을 기점으로 관련 기술의 특허 출원 활동이 활발한 추세를 보였다. 특히 한국의 경우, 1990년대까지 관련 기술 특허 출원 건수가 미미한 편이었으나, 2000년대 들어 특허 출원이 다소 급격히 증가하는 추세를 보임에 따라, 2000년대 이후부터 관련 기술 연구 개발이 활발히 이루어진 것으로 판단된다.



<연도별 특허 출원 추이(전체)>

우리나라에서는 작물 품종을 외국산에 의존하는 경우가 많아 이에 따라 정부에서는 농가의 부담을 경감하기 위해 경쟁력 있는 국산 품종의 개발의 중요성을 인식함에 따라 2000년대 초반부터 정부주도의 연구개발이 활발하게 이루어져온 것으로 조사되었다.

일본은 한국에 이어 두 번째로 관련 특허 출원 건수가 많으며, 일본의 경우 1990년대 초반부터 관련 기술 특허 출원 활동이 꾸준하게 이루어져 왔다. 특히 원예식물에 대한 다양한 유전자원 확보 및 육종기술에 대한 연구가 꾸준히 이루어져 왔으며, 이는 신품종 개발이 활발하게 이루어져 왔기 때문인 것으로 조사되었다.

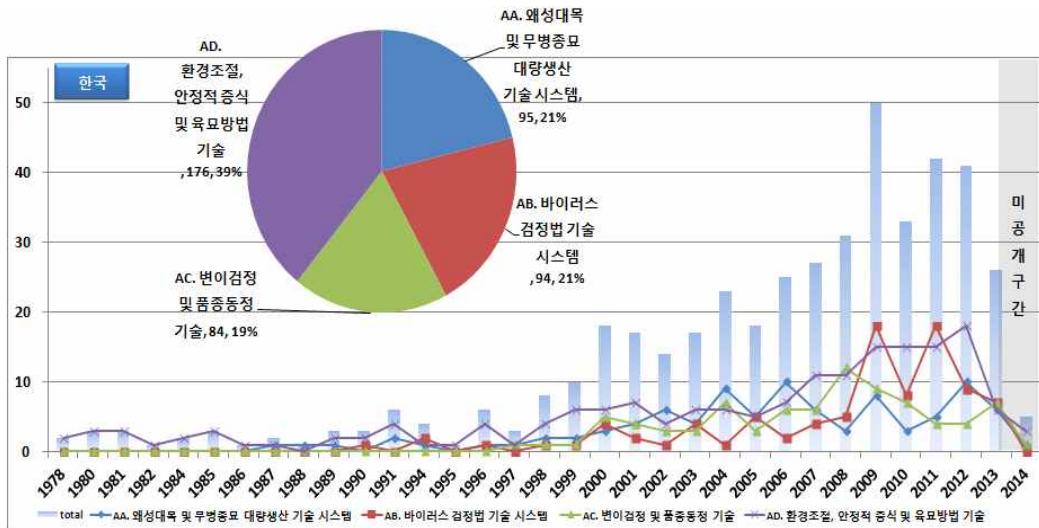
미국의 경우에도 1990년대 후반부터 현재까지 관련 기술 특허 출원은 있으나, 한국, 일본에 비해 출원 비중이 낮은 편이다.

(2) 기술 연도별 특허 출원/등록 추이(국가별)

[한국]

시설원예 특화를 위한 사과무병종묘 산업화기반 구축 기술과 관련하여, 한국의 연도별 출원 동향을 살펴보면, 2000년대 이후 출원이 급격하게 증가하였으며, 2009년에 가장 많은 관련 기술 특허 출원이 나타났다.

기술 분류별 출원 동향 비중을 살펴보면, AD. 환경조절, 안정적 증식 및 육묘방법 기술, AA. 왜성대목 및 무병종묘 대량생산 기술, AB. 바이러스 검정법 기술 시스템, AC. 변이검정 및 품종동정 기술 순으로 출원 비중이 높은 것으로 나타났다.

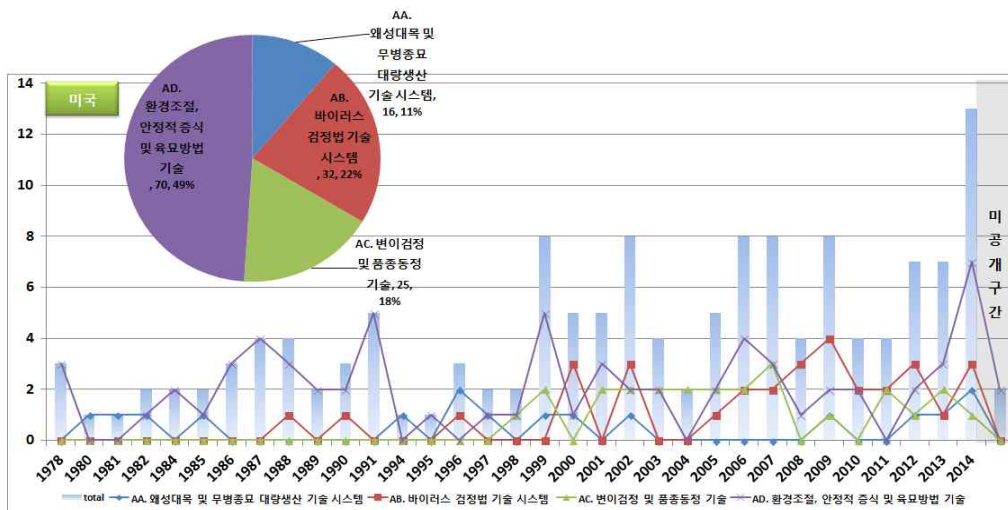


<기술 분류별 연도별 특허 출원 추이(한국)>

[미국]

미국은 한국과 일본에 비해 관련 기술 특허 출원이 적은 편으로 이를 출원 연도별로 자세히 살펴보면, 2000년대 후반까지 매년 10건 미만의 특허가 출원되었으며, 관련 기술이 지속적으로 출원되고 있는 것으로 나타났다.

기술분류별 출원 동향 비중을 살펴보면, AD. 환경조절, 안정적 증식 및 육묘방법 기술, AB. 바이러스 검정법 기술 시스템, AC. 변이검정 및 품종동정 기술, AA. 왜성대목 및 무병종묘 대량 생산 기술 시스템 순으로 나타났다.



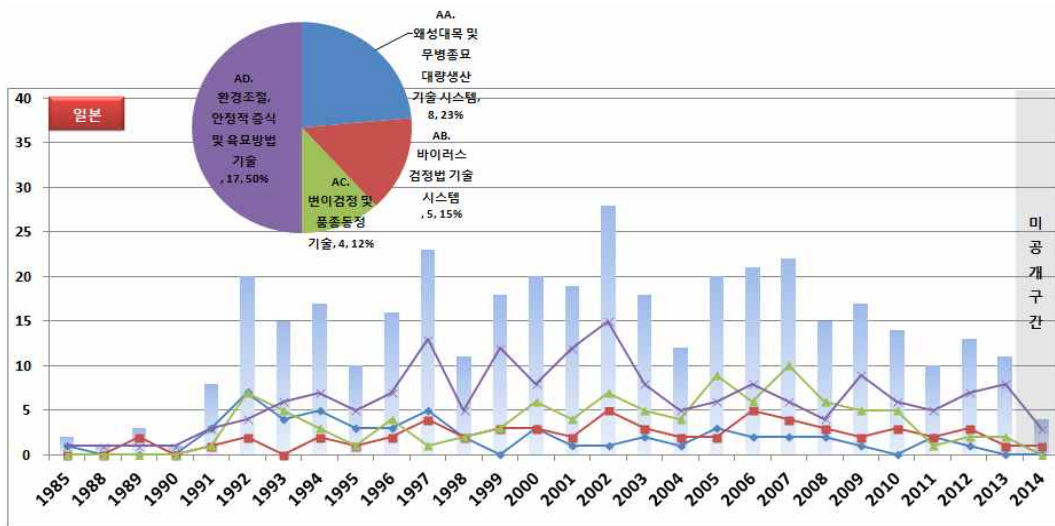
<연도별 특허 출원 추이(미국)>

[일본]

일본의 연도별 특허동향의 경우, 1990년대부터 관련 특허가 최근까지 출원이 꾸준히 이루어지고 있음에 따라 관련 기술 연구 개발이 활발하게 이루어지고 있는 것으로 나타났다.

기술분류별 출원동향을 살펴보면, AD. 환경조절, 안정적 증식 및 육묘방법 기술, AA. 왜성대목 및 무병종묘 대량생산 기술, AB. 바이러스 검정법 기술 시스템, AC. 변이검정 및 품종동정 기술 순으로 출원비중이 높은 것으로 나타났다.

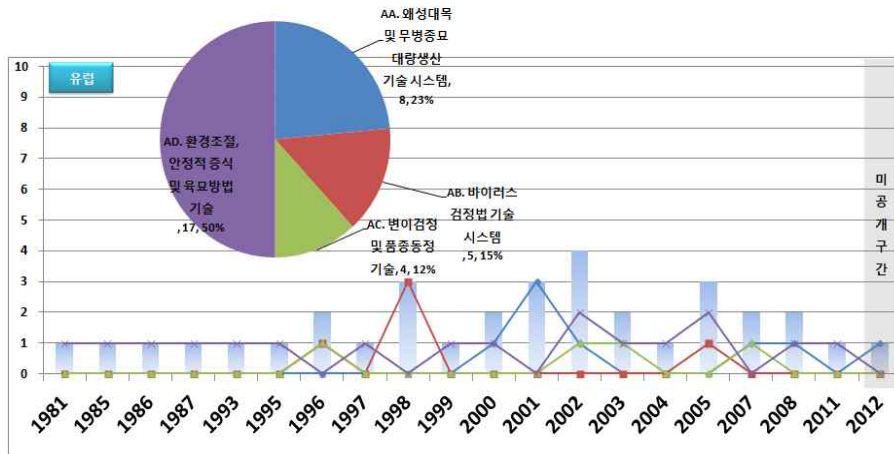
일본은 2002년 가장 높은 출원건수를 나타내었으며, 이 시기에 한국과 일본의 원예사업 기술 발표도 활발히 이루어진 것으로 조사되었으며, 우리나라도 이 시기에 관련 기술의 영향을 받아 관련 기술의 연구 개발이 활발히 이루어진 것으로 판단되었다.



<연도별 특허 출원 추이(일본)>

[유럽]

유럽의 경우 관련기술 특허 출원 건수가 미미한 편이라 동향을 파악하기 어려웠으며, 개발 초기부터 관련 특허 출원은 이루어졌으나 3건 미만이었다. 출원된 특허 기술의 분류별 출원 동향을 살펴보면, AD. 환경조절, 안정적 증식 및 육묘방법 기술, AA. 왜성대목 및 무병종묘 대량생산 기술, AB. 바이러스 검정법 기술 시스템, AC. 변이검정 및 품종동정 기술 순으로 출원비중이 높은 것으로 나타났다.



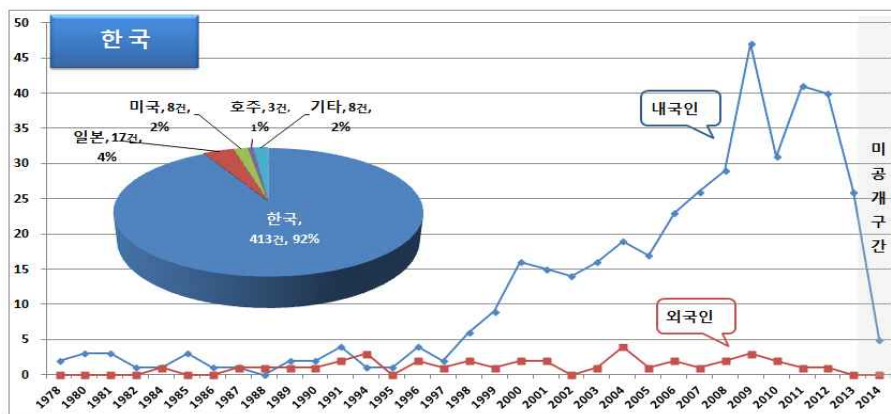
<연도별 특허 출원 추이(유럽)>

나. 국가별 내외국인 출원 동향 및 점유율

(1) 국가별 내외국인 출원 동향 및 점유율

[한국]

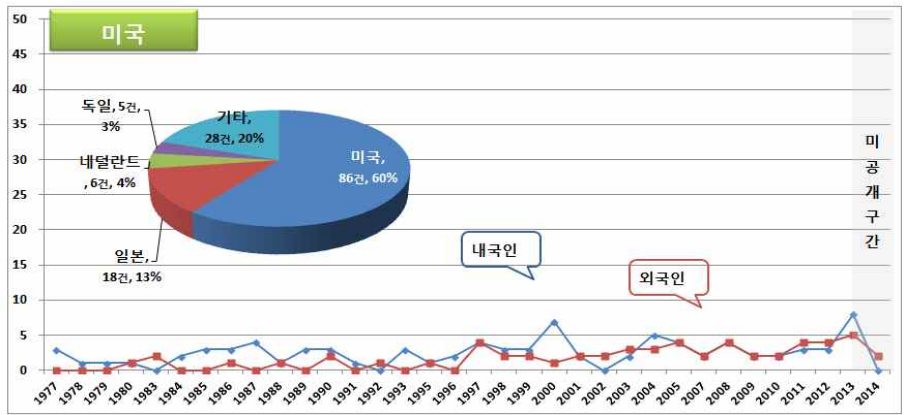
한국특허에서의 시설원예 특허를 위한 사과무병종묘 산업화기반 구축기술 분야는 내국인의 출원 비중이 전체 91%로 매우 높은 것으로 나타났다. 내국인에 의한 출원 비중이 높은 것으로 조사됨에 따라, 자국 산업(시장)에 대한 장벽을 형성하고 있는 것으로 나타났으며 외국인의 출원인 국적을 살펴보면, 일본, 미국, 호주, 프랑스 순으로 나타났다.



<국가별 내외국인 출원동향 및 점유율(한국)>

[미국]

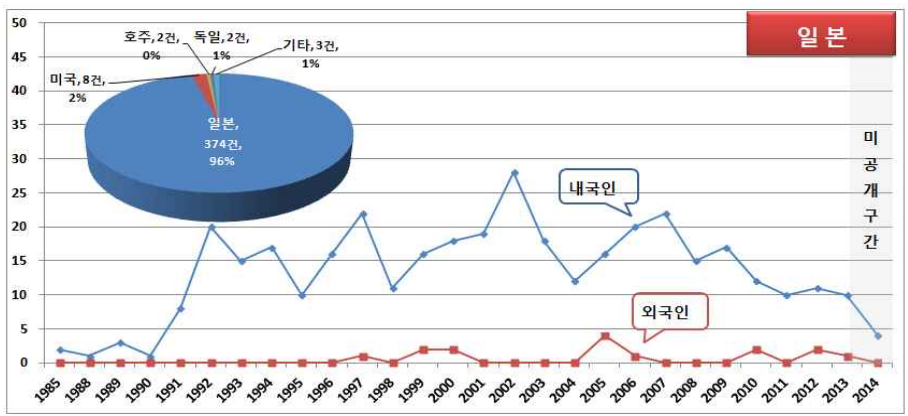
미국특허의 경우, 관련 기술의 전체 출원 건수가 적은 편이며, 내국인 외국인 출원 비중이 크게 차이가 없는 것으로 나타났다. 외국인의 출원인 국적을 살펴보면, 일본, 네덜란드, 독일 순으로 나타났다.



<국가별 내외국인 출원동향 및 점유율(미국)>

[일본]

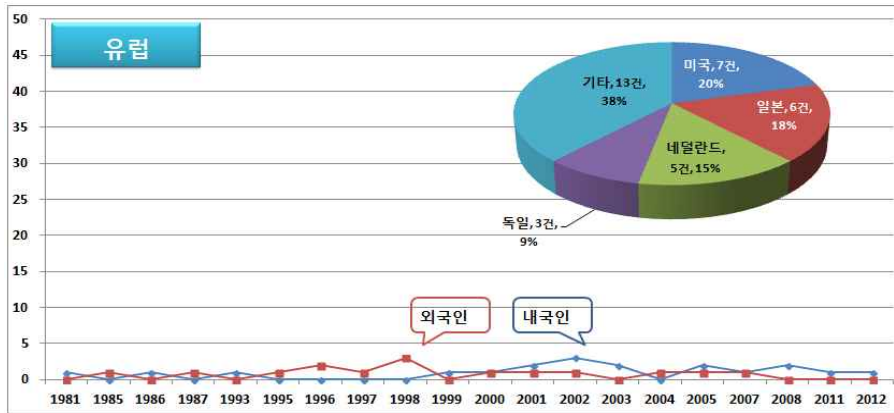
일본특허도 내국인의 출원 비중이 높으며, 한국과 마찬가지로 내국인의 출원 비중이 96%로 높게 나타났다. 일본의 경우 해당기술 특허 출원 초기부터 꾸준히 출원되었으며, 이에 따른 자국 산업(시장)에 대한 장벽을 형성한 것으로 보인다. 외국인 출원인 국적을 살펴보면, 미국, 호주, 독일 순으로 나타났다.



<국가별 내외국인 출원동향 및 점유율(일본)>

[유럽]

유럽특허의 경우 출원 비중이 적어 내외국인 출원 동향 파악은 어려우며, 2012년 이후 관분 과제 연구 기술과 일치하는 특허는 나타나지 않았다. 외국인 출원인의 국적을 살펴보면 미국, 일본, 네덜란드, 독일 등 유럽 외 국가의 출원 비중이 높은 편으로 나타났다.



<국가별 내외국인 출원동향 및 점유율(유럽)>

다. 포트폴리오를 통한 기술발전 위치

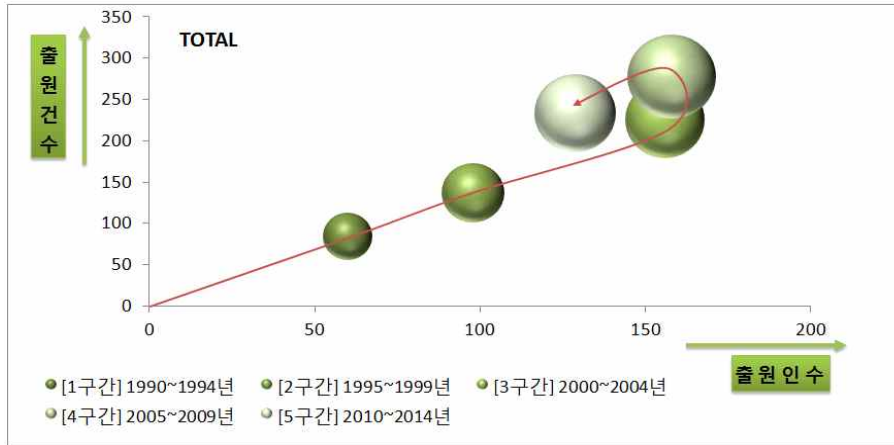
특허건수와 출원인수 변화의 상관관계를 통해 기술 위치를 살펴보는 포트폴리오 모델을 통해 국가 기술시장 성장단계를 파악할 수 있다.

시설원에 특허를 위한 사과무병종묘 산업화기반 구축 기술 분야의 전체 및 해당 국가의 기술 위치를 포트폴리오로 나타낸 것으로 전체 출원 중 최근의 출원 동향을 1구간(1990년~1994년), 2구간(1995년~1999년), 3구간(2000년~2004년), 4구간(2005년~2009년), 5구간(2010~2014년)의 5개의 구간으로 나누어 각각의 구간별 특허 출원인 수 및 출원 건수를 나타내어 특허 출원 동향을 통한 기술의 위치를 살펴볼 수 있다.



<기술시장 성장단계>

(1) 기술 위치 포트폴리오(TOTAL)

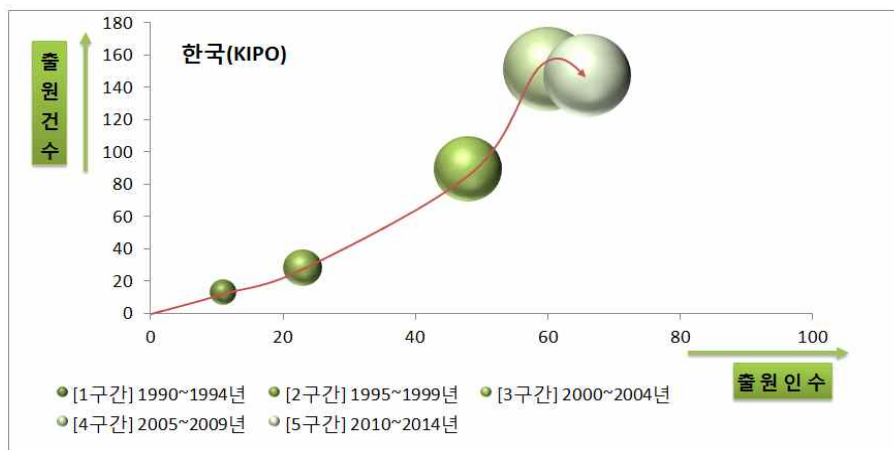


<기술 위치 포트폴리오(전체)>

[TOTAL]

본 그래프는 전 세계 기술 위치를 포트폴리오로 나타낸 것으로, 3구간(2000~2004년)까지 출원건수와 출원인 수가 계속 증가하는 성장기 단계의 양상을 보이는데, 이는 3구간 까지 급격한 기술 개발이 이루어졌기 때문이다. 이후 4구간(2005~2009년)까지 출원인수는 일정하게 유지되나, 출원건수가 증가하는 모습으로 볼 때, 관련 기술의 지속적인 연구개발 활동이 이루어져 왔음을 알 수 있다.

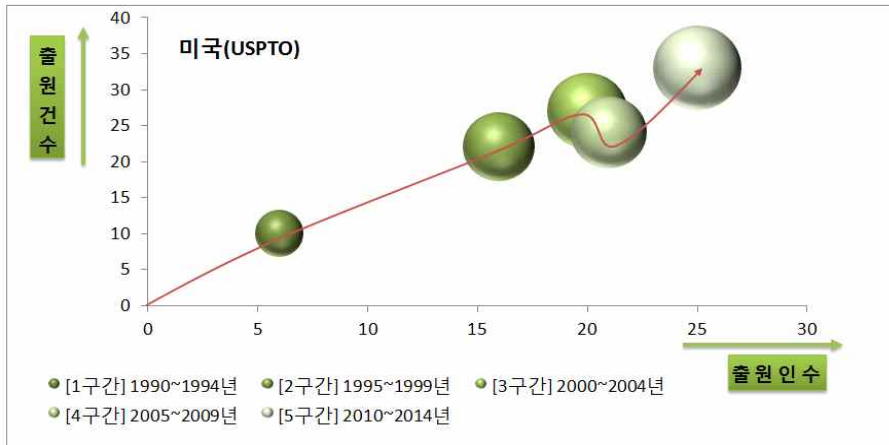
(2) 국가별 기술 위치 포트폴리오(국가별)



<기술 위치 포트폴리오(한국)>

[한국]

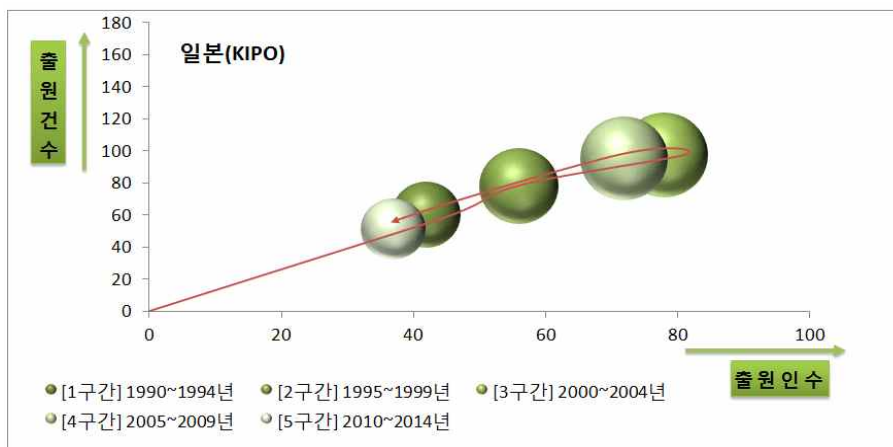
한국특허의 기술 위치는 3구간(2000~2004년)부터 관련 특허 출원건수 및 출원인수의 빠른 증가가 나타났으며, 4구간(2005~2009년)부터 최근 5구간(2010~2014년) 사이 출원인수는 여전히 증가하는 추세를 보이는 점으로 미루어 볼 때 성장기로 판단된다. 이후에도 해당 기술의 성장세는 당분간 지속될 것으로 보인다.



<기술 위치 포트폴리오(미국)>

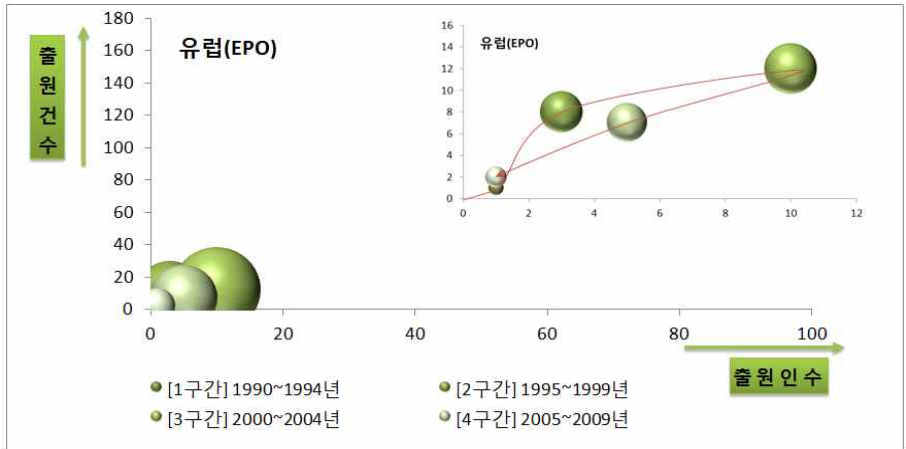
[미국]

미국특허의 기술 위치를 살펴보면, 4구간(2005~2009년)에 출원건수가 다소 감소하였지만 최근까지도 5구간(2010~2014년)까지 출원인수와 출원건수가 증가하는 추세를 보이고 있는 것으로 나타났다. 하지만, 전체 출원 건수가 많지 않아 성장기로 판단하기에는 다소 어려웠다.



[일본]

일본특허의 기술 위치를 살펴보면, 3구간(2000~2004년)까지 특허 출원인수 및 출원건수가 꾸준히 증가해온 것을 알 수 있다. 하지만, 4구간(2005~2009년)부터 5구간(2010~2014년)까지 출원인수가 급격히 감소함에 따라 일본에서는 지속적인 연구개발 활동은 이루어지고 있으나, 일부 기업이 도태되었으며, 특허수의 정체로 특허출원인의 감소현황이 보이는 것으로 판단된다.



[유럽]

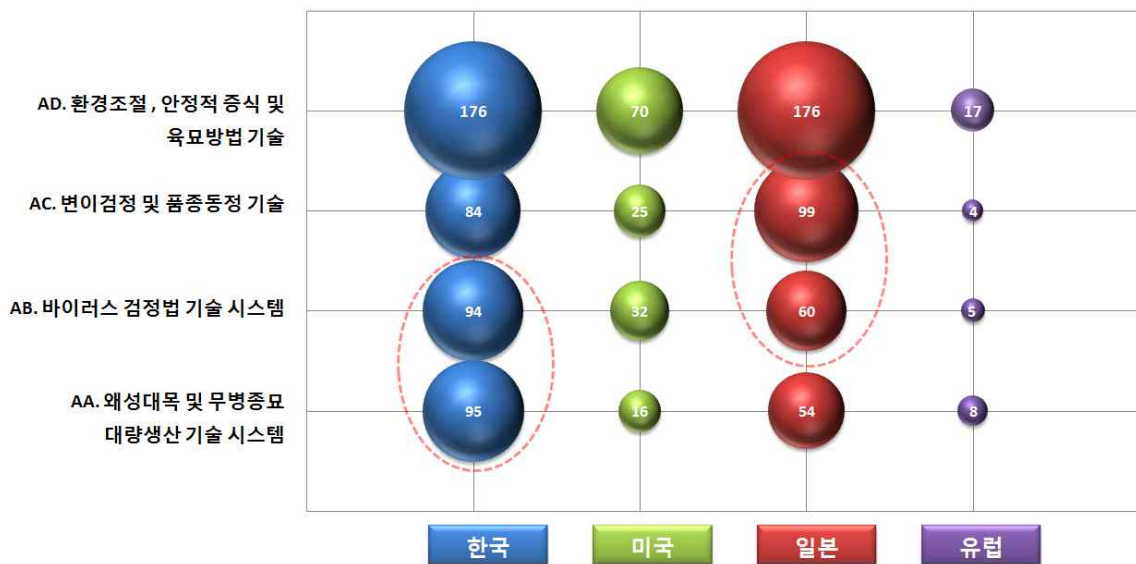
유럽특허의 기술 위치를 살펴보면, 전체적인 특허 출원건수가 적은 편이라, 기술위치 파악은 어려웠다.

2. 세부 기술별 특허 동향

가. 세부 기술별 특허 출원 현황

시설원에 특허를 위한 사과무병종묘 산업화기반 구축 기술의 기술 분류별 특허출원 현황을 살펴보면, 한국과 일본의 경우 AA기술부터 AC 기술까지 전반적으로 비슷한 비중의 특허가 출원된 것을 볼 수 있었다.

다만, 한국은 AA, 왜성대목 및 무병종묘 대량생산 기술과 AB, 바이러스 검정법 기술 시스템에 보다 많은 특허가 분포되어 있으며, 일본의 경우 AC, 변이검정 및 품종동정 기술과 AB, 바이러스 검정법 기술 시스템 기술의 특허가 한국보다 많은 것으로 나타났다. AD, 환경조절, 안정적 증식 및 육묘방법 기술의 경우, 사과 종묘뿐 만 아니라 원예 식물에 적용 및 응용될 수 있는 범위가 넓은 만큼 관련 특허수도 가장 비중이 높은 것으로 나타났다.



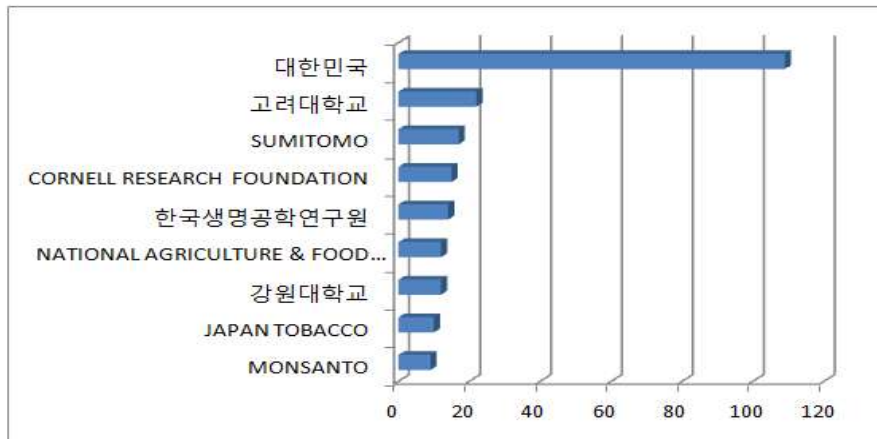
<국가-세부기술별 특허 출원 현황>

3. 주요 출원인별 특허 동향

가. 주요 출원인(전체)

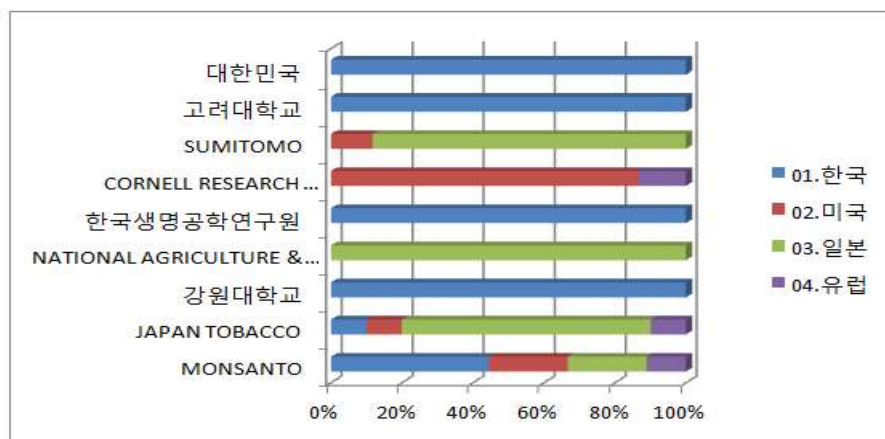
[전체]

시설원에 특허를 위한 사과무병종묘 산업화기반 구축 기술과 관련하여 최다 출원인은 한국 출원인인 "대한민국"이 압도적으로 높은 것으로 나타났으며, 고려대학교, 일본의 SUMITOMO社, 미국의 CORNELL RESEARCH FOUNDATION이 그 뒤를 잇고 있는 것으로 나타났다.



<전체 주요 출원인 TOP10>

주요 출원인별 특허 출원국을 살펴본 결과, 한국 출원인은 모두 자국에만 관련 특허를 출원한 것으로 나타났으며 일본의 SUMITOMO, JAPAN TABACCO, MONSANTO社는 해외 출원 활동도 활발한 것으로 나타났다.



<TOP10 출원인의 국가별 특허 출원 분포>

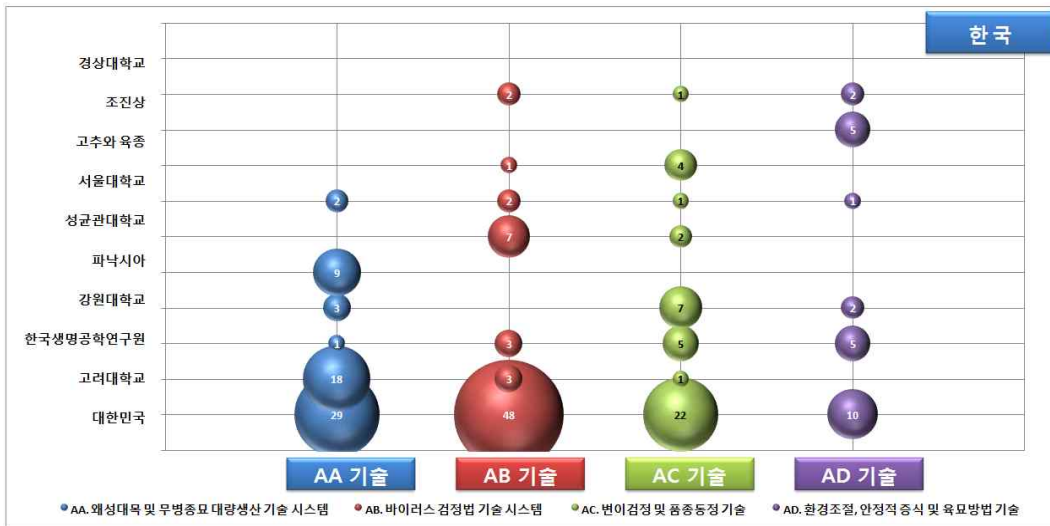
나. 국가별 주요 출원인

(1) 국가별 주요 출원인(한국)

시설원에 이용 사과무병종묘 생산 산업화를 위한 패키지 기술의 소분류별 특허출원 현황을 살펴보면, 한국은 TOP10 출원인 중 "대한민국"의 출원이 압도적으로 많은 것으로 나타났으며 고려

대학교, 한국생명공학연구원, 강원대학교 등 정부기관 및 연구기관, 대학기관의 출원이 해당 기술의 연구 개발이 활발한 것으로 판단된다.

"대한민국"으로 출원된 특허가 81건으로 가장 많으며, 해당 출원인은 모든 기술분야에 특허를 출원하였으며, 특히 AB. 바이러스 검정법 기술 시스템 부분의 출원 비중이 가장 높은 것으로 나타남. AA. 왜성대목 및 무병종묘 대량생산 기술 시스템 기술의 경우, 출원인이 대한민국과 고려대학교, 파낙시아社에 집중 분포되어 있는 것으로 보임에 따라 해당 출원인의 기술을 살펴볼 필요가 있다.



<세부 기술별 국가 주요 출원인(한국)>

한국의 경우, "대한민국"으로 출원된 특허를 자세히 살펴보면, 다음과 같다.

<대한민국 출원인 분포>

출원 인명	대한민 국	농림수 산식품 부	농촌진 흥청	충청 북도	경상북 도	강원도	경기도	산림청	부산광 역시	안동시	영주시	암염면 구원	합계
건수	41	10	12	5	3	2	2	2	1	1	1	1	81

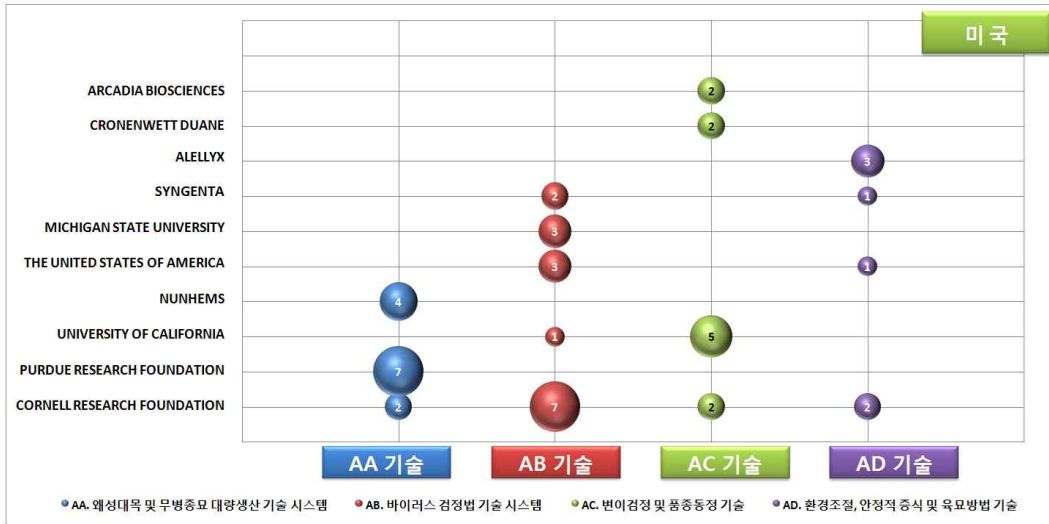
대한민국 명으로 출원된 특허 비중이 높으며, 농림수산식품부, 농촌진흥청, 충청북도가 그 뒤를 잇는 것으로 나타남에 따라 정부 주도의 연구개발이 활발히 진행되어 온 것으로 나타났다.

(2) 국가별 주요 출원인(미국)

시설원에 이용 사과무병종묘 생산 산업화를 위한 패키지 기술의 소분류별 특허출원 현황을 살펴보면, 미국은 TOP10 출원인 중 CORNELL RESEARCH FOUNDATION의 전체 출원수가 가장 많으며, 기술별로 살펴보면, AA기술의 경우 PURDUE RESEARCH FOUNDATION, AB기술의 경우 CORNELL RESEARCH FOUNDATION, AC기술의 경우 UNIVERSITY OF CALIFORNIA의 출원이 많은 것으로 나타났다. AD 기술의 경우 3건의 ALELLYX社의 출원이 있었다.

미국 역시 한국과 마찬가지로 대학 연구기관, 정부출현 연구소의 출원 비중이 높은 것으로 나

타났다.

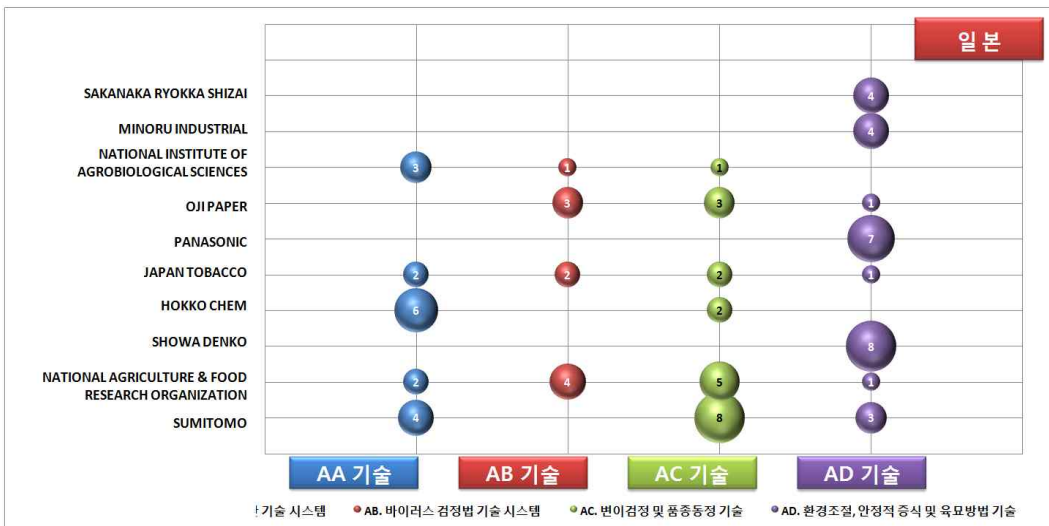


<세부 기술별 국가 주요 출원인(미국)>

(3) 국가별 주요 출원인(일본)

시설원에 이용 사과무병종묘 생산 산업화를 위한 패키지 기술의 소분류별 특허출원 현황을 살펴보면, 일본은 TOP10 출원인 중 SUMITOMO社의 전체 출원 건수가 가장 많은 것으로 나타났다. 기술별로 살펴보면, AA기술의 경우 HOKKO CHEM社의 특허 출원 비중이 가장 높은 것으로 나타났으며, AB기술의 경우 NATIONAL AGRICULTURE & FOOD RESEARCH ORGANIZATION이, AC기술의 경우 SUMITOMO社, AD기술의 경우 SHOWA DENKO社의 출원 비중이 높은 것으로 나타났다.

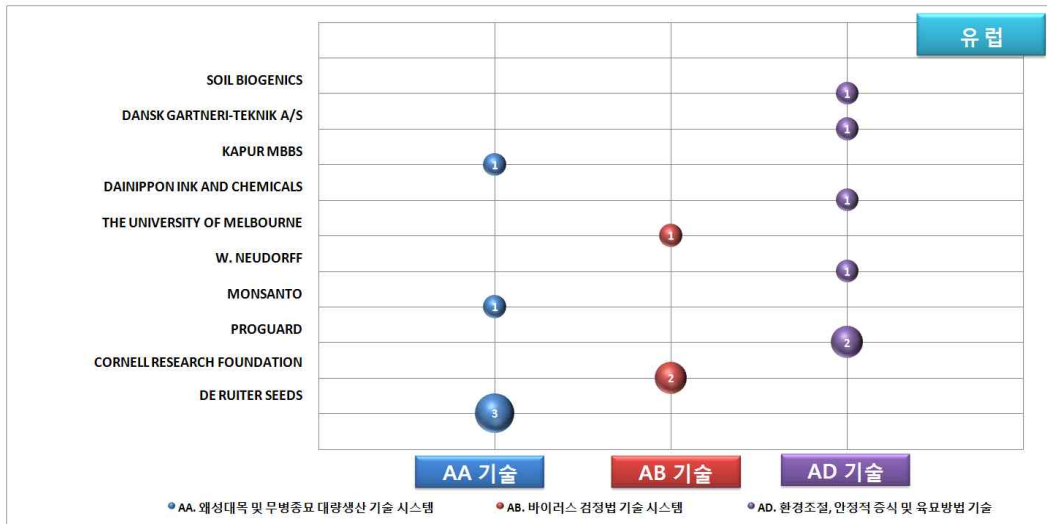
일본의 경우 원예 식물에 대한 우수 종자 및 종묘에 관한 연구가 활발하게 진행되어온 만큼, 국가 연구기관 및 일반 기업의 특허 출원인도 상위에 나타나고 있다.



<세부 기술별 국가 주요 출원인(일본)>

(4) 국가별 주요 출원인(유럽)

시설원예 이용 사과무병종묘 생산 산업화를 위한 패키지 기술의 소분류별 특허출원 현황을 살펴보면, 유럽은 TOP10 출원인 중 AA기술의 경우 DE RUTER SEEDS社, AB기술의 경우 CORNELL RESEARCH FOUNDATION, AD기술의 경우 PROGUARD社가 다소 출원 비중이 높은 것으로 나타났으며, AC기술의 경우 관련 특허가 추출되지 않았다.



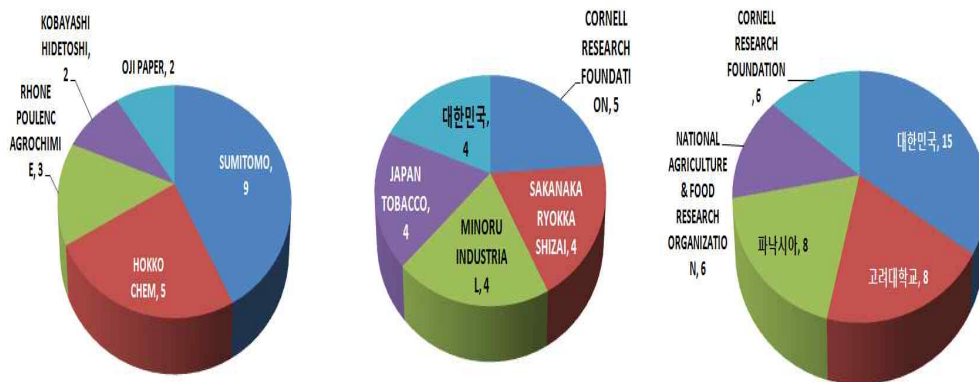
<세부 기술별 국가 주요 출원인(유럽)>

다. 연도 구간별 주요 출원인 동향

연도 구간별 출원인 동향을 살펴보면, 1구간(1990~1994년)에서 한국출원인은 나타나지 않았고, SUMITOMO社, HOKKO CHEM社, KOBAYASHI HIDETOSHI, OJI PAPER社 등 일본 국적의 출원인들이 강세로 나타났으며, RHONE POULENC AGROCHIMIE의 프랑스 국적의 출원인도 나타났다.

2구간(1995~1998년)에서는 처음 한국 출원인의 특허가 출원되었고, "대한민국" 출원인명으로 4건 출원되었으며, 연구 개발이 정부 주도로 이루어진 것을 알 수 있다. 전체 출원인 중 미국 국적의 CORNELL RESEARCH FOUNDATION의 출원 비중이 가장 높은 편이나, 일본의 JAPAN TABACCO, MINORU INDUSTRIAL, SAKANAKA RYOKKA SHINZAI社가 비슷한 수준으로 그 뒤를 잇는 것으로 나타났다.

3구간(2000~2004년)에서는 한국의 출원 비중이 급격히 증가했다. 대한민국의 출원이 15건으로 가장 많은 출원수를 보였으며, 고려대학교, 파낙시아社가 그 뒤를 잇고 있다. 외국 출원의 경우 일본의 NATIONAL AGRICULTURE & FOOD RESEARCH ORGANIZATION, 미국의 CORNELL RESEARCH FOUNDATION이 주요 출원인으로 나타났다.

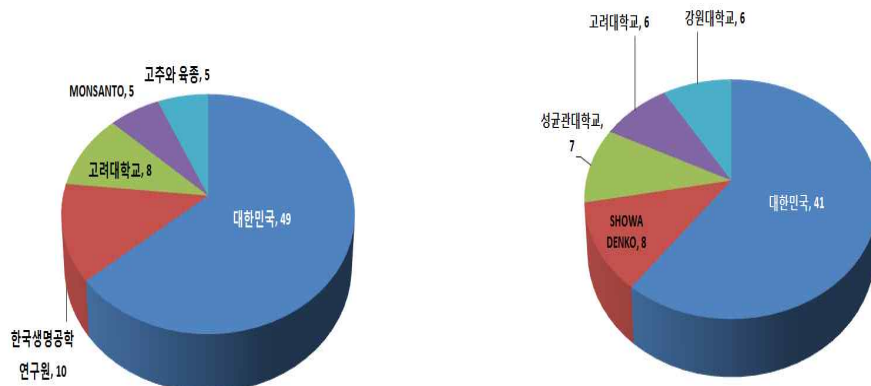


<연도 구간별 출원인 동향 (1구간~3구간)>

4구간에서도 한국의 특허 출원이 압도적으로 증가했고, 대한민국의 출원비중이 가장 높으며, 한국생명공학연구원, 고려대학교, 고추와육종社, 일본의 MONSANTO社가 그 뒤를 잇는 것으로 나타났다.

일본의 MONSANTO社가 보유한 특허는 자국인 일본을 비롯하여 한국, 미국, 유럽에도 관련 특허를 출원하였으며, 일본의 경우 관련 기술동향이 성숙기를 나타냄에 따라, 해외 진입 장벽을 구축하려는 의도가 엿보인다.

5구간에서도 4구간과 비슷한 흐름을 보여, 대한민국의 출원 비중이 높으며, 일본의 SHOWA DENKO社, 성균관대학교, 고려대학교, 강원대학교가 그 뒤를 잇는 것으로 나타났다. 일본의 경우 관련 기술 시장이 성숙기로 나타났으며, 응용 기술 분야 연구 개발이 이루어져 구간마다 출원하는 주요 출원인이 다른 것으로 판단된다.



<연도 구간별 출원인 동향 (4구간~5구간)>

4. 논문 발행 동향

가. 논문 분석 개요

(1) 주요 논문 선정

시설원예를 이용한 사과무병묘의 대량생산체계 및 산업화 구축 기술과 관련하여 가장 특히 출원 집중도가 높은 최근 5개년 구간(2011~2015년)의 논문을 조사하였으며, 총 404건의 관련 논문이 조사되었다. 상기 관련 논문은 NDSL, KISTI, RISS 등의 데이터베이스를 활용하여 논문을 검색하고 관련 논문을 추출하였다.

기술분류	AA 왜성대목 및 무병종묘 대량생산 기술	AB 바이러스 검정법 기술	AC 변이검정 및 품종 동정 기술	AD 환경조절 안정적 증식 및 육묘방법 기술	총합계
건수	129	93	80	102	404

<기술별 유효 논문 데이터 통계>

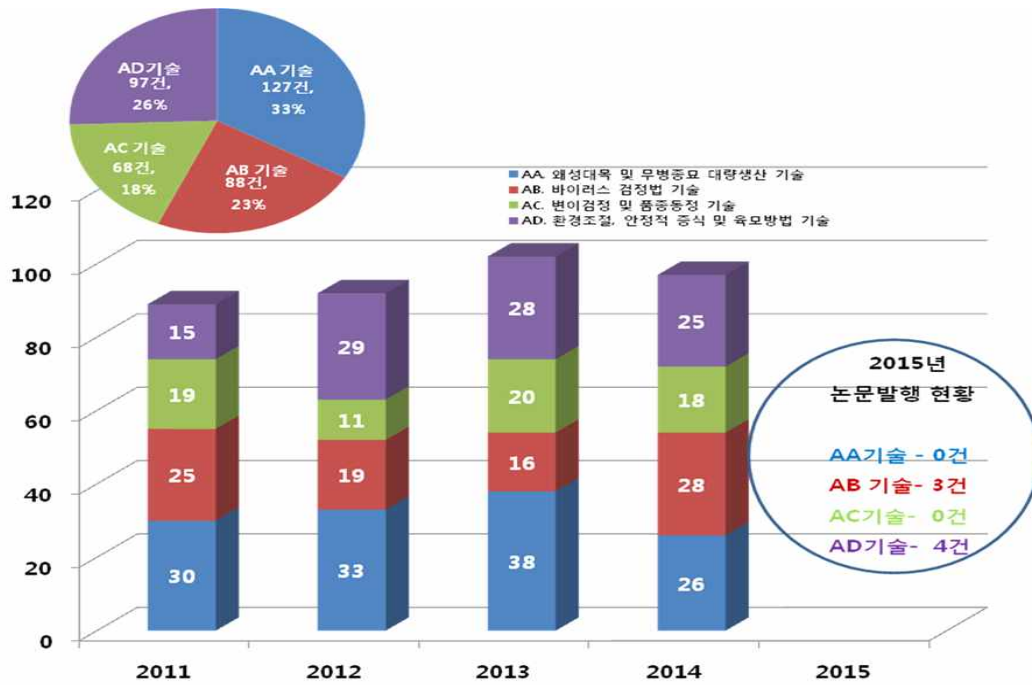
바이러스 검정법 기술, 변이검정 및 품종동정 기술과 관련하여 상당한 문헌수가 조사되었지만, 식물보다는 동물에 적용되는 기술 문헌이 많은 비중을 차지함에 따라 본 과제의 목적과는 다소 거리가 있어 노이즈 처리하였다.

나. 논문 발행 동향

(1) 연도별 기술별 논문 발행 현황

논문 발행 동향을 살펴보면, 관련 논문 발행은 2014년도까지 80건 이상의 꾸준한 연구 활동이 이루어지고 있는 것으로 나타났다. 5개년 중 가장 특히 출원 발행이 활발했던 2013년도에 특히 AA기술인 왜성대목 및 무병종묘 대량생산 기술과 관련한 논문 발행 비중이 높은 것으로 나타났다.

AA기술은 특히 출원 발행 비중에 비해 논문 발행 비중이 높게 나타났으며, 해당 논문을 검토한 결과 왜성대목 및 무병종묘 대량생산 기술은 아직 개발 초기단계로, 다양한 방법으로 연구 개발 방안이 제안되고 있는 것으로 나타났다.

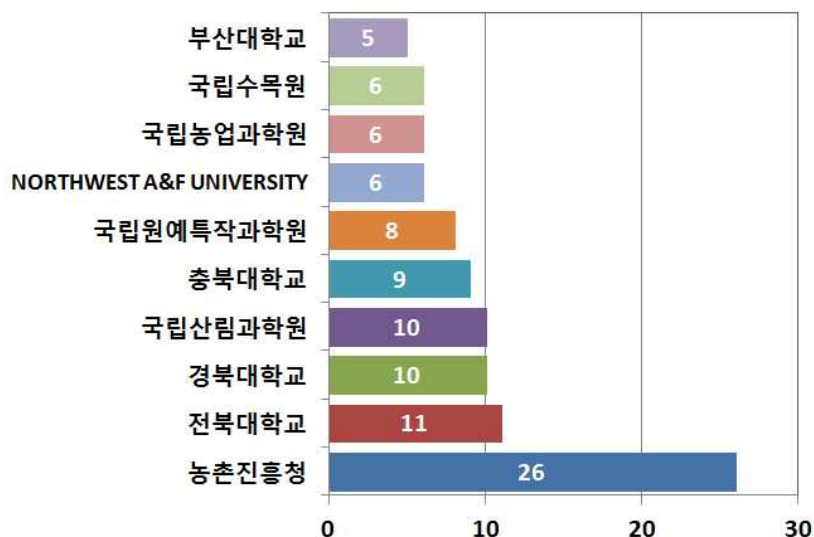


< 연도별 기술별 논문 발행 현황 >

(2) 논문 주요 발행인 현황

① 논문 상위 발행인 TOP 10

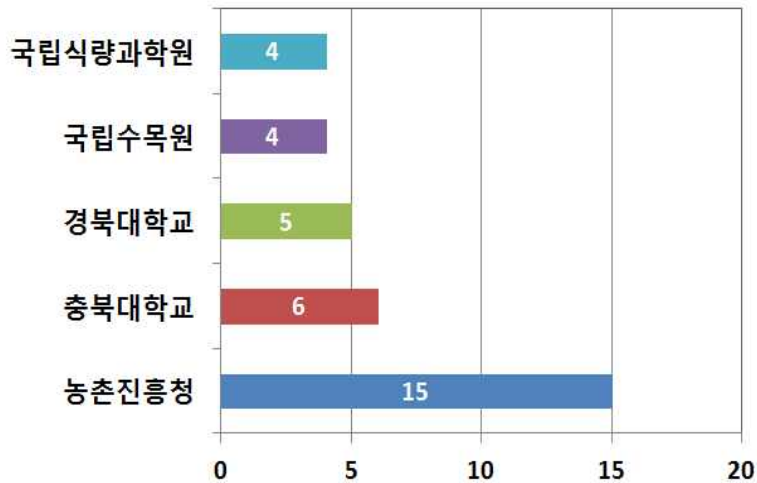
논문 발행인 중 TOP 10을 선정하여, 해당 분야의 연구개발이 활발하게 이루어져 있는 기관을 파악했다. 조사 결과, 농촌진흥청의 관련 논문 출원이 가장 많은 것으로 나타났으며, 전반적으로 한국의 논문 발행 비중이 높은 것으로 나타났다.



특히 동향 조사 분석 결과에서 한국의 경우 5구간(2010~2014년) 특히 출원수가 가장 많은 것으로 나타났으며, 해당 기술과 관련하여 특히 출원비중이 높았던 일본의 경우는 기술이 성숙기에 접어들면서 관련 논문 발행은 저조한 것으로 판단된다.

논문 상위 발행인은 대부분 정부출연 연구소와 대학기관으로, 이 중 농촌진흥청에 이어 전북대학교, 경북대학교, 충북대학교 등 지방 거점 국립대학교의 논문 발행 건수가 높게 나타났으며 이는 수도권에 비해 원예학, 농예학 등 농업 관련 기술에 대한 관심이 높은 것에 따른 결과로 보여진다.

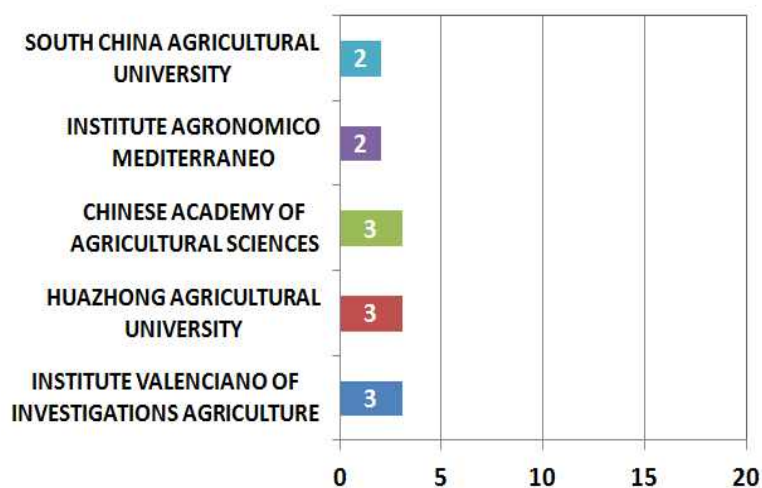
② AA기술(왜성대목 및 무병종묘 대량생산 기술) 논문 상위 발행인



<AA기술 논문 상위 발행인 TOP5>

각 기술별 논문 발행인 중 TOP 5를 선정하여, 해당 분야의 연구개발이 활발하게 이루어져 있는 기관을 파악하고자 했다. 왜성대목 및 무병종묘 대량생산 기술의 경우, 한국이 해당 기술의 연구를 주도하고 있는 것으로 나타났으며, 특히 농촌진흥청과 충북대학교의 발행 건수가 전체 발행 건수의 절반 이상을 차지하는 것으로 나타났다.

③ AB기술(바이러스 검정법 기술) 논문 상위 발행인

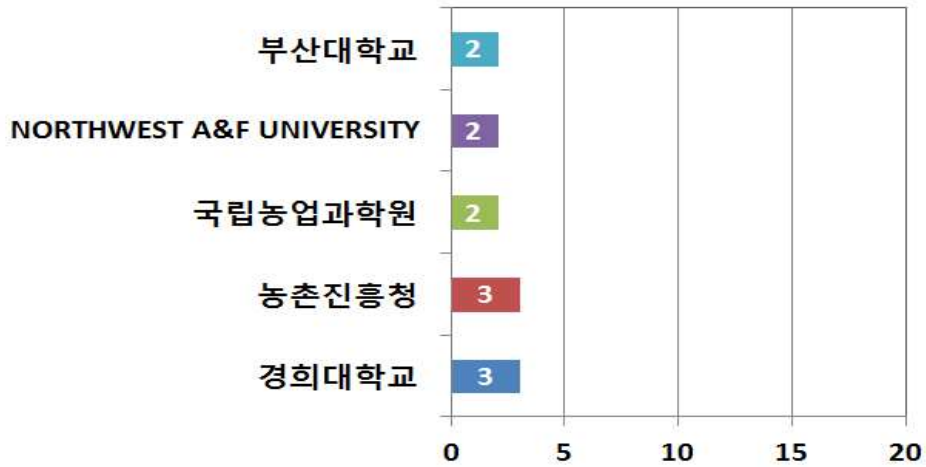


<AB기술 논문 상위 발행인 TOP5>

바이러스 검정법 기술은 특허 출원은 한국과 일본의 출원수가 높은 것으로 나타났으나, 논문에

서는 최근 2011년 이후 국내보다는 외국의 연구소와 대학기관이 해당 기술의 연구개발에 보다 집중하고 있는 것으로 판단된다.

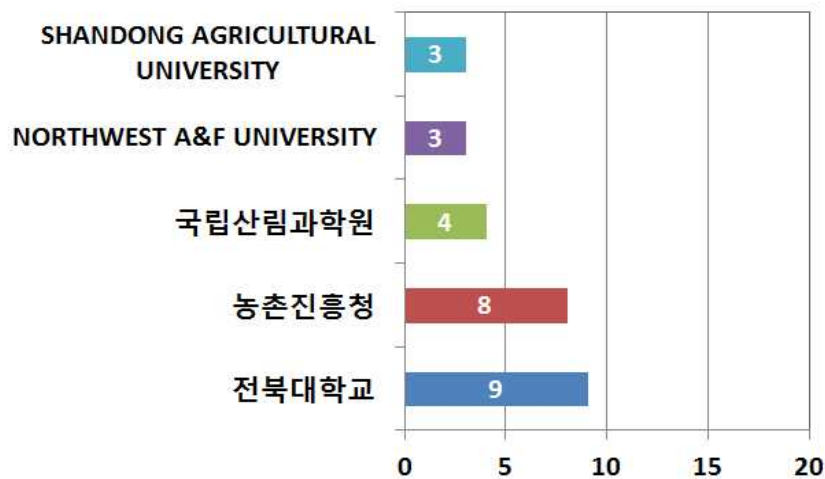
④ AC기술(변이검정 및 품종동정 기술) 논문 상위 발행인



<AC기술 논문 상위 발행인 TOP5>

변이검정 및 품종동정 기술은 국내에서도 연구개발이 이루어지고 있는 것으로 보이며, NORTHWEST A&F UNIVERSITY는 중국의 서북농림대학교로, 원예식물 및 관련 곤충에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있는 연구기관으로 조사되었다.

⑤ AD기술(환경조절, 안정적 증식 및 육묘방법 기술) 논문 상위 발행인



<AC기술 논문 상위 발행인 TOP5>

환경조절, 안정적 증식 및 육묘방법 기술의 경우, 한국의 정부 출연 연구기관인 농촌진흥청과 국립산림과학원, 대학기관인 전북대학교가 주요 발행인으로 분석되었으며, 중국의 NORTHWEST A&F UNIVERSITY, SHANDONG AGRICULTURE UNIVERSITY 등 대학기관들이 그 뒤를 따르고 있는 것으로 나타났다. 이는 최근 중국이 시설농업 및 농업 첨단기술에 대한 연구를 활발히

하고 있는 것에 따른 결과로 보인다.

5. 결론 및 시사점

- 가. 시설원예를 이용한 사과무병묘의 대량생산체계 및 산업화구축 기술은 총 1,015건으로, 한국 특허가 449건, 44%로 가장 높은 점유율을 보이고 있으며, 일본 특허가 389건, 38%로, 미국 특허는 143건, 14%, 유럽 특허 34건, 4% 순으로 나타났다.
- 나. 각 기술 분류별로 살펴보면, 기술 분류별 특허 출원 비중은 AD. 환경조절, 안정적 증식 및 육묘방법 기술이 가장 높은 것으로 나타났으며, AC. 변이검정 및 품종동정 기술, AB. 바이러스 검정법 기술 시스템, AA. 왜성대목 및 무병종묘 대량생산 기술 시스템 순으로 나타났다.
- 다. 국가별 특허 동향을 살펴보면, 1990년대 이후로 관련 기술 특허 출원이 본격적으로 이루어졌으며, 현재까지도 꾸준한 특허 출원이 이루어지고 있다. 특이점은 한국의 경우 2000년대 들어 급격한 특허 출원 수 증가를 나타냈으며, 일본의 경우 1990년대 개발 초기부터 관련 기술 특허 출원이 꾸준히 이루어진 것으로 나타났다.
- 라. 한국의 경우 2000년대 초반 정부 주도의 연구개발 지원이 이루어진 것으로 나타났다. 무병종묘 기술의 경우 선진국에서는 우수 품종 유전자에 관한 기술 개발이 이루어져왔으며, 우리나라에서 우수한 종자 및 종묘에 대한 농가 로열티에 대한 문제가 꾸준히 제기됨에 따라 국가적 차원의 연구개발 지원이 이루어진 것으로 조사되었다.
- 마. 한국에서 출원된 특허를 살펴보면, 주요 출원인은 대부분 정부출현 연구기관 및 대학 연구기관이며, 특허분석에서 한국의 기술발전 위치도 성장기로 나타남에 따라, 향후에도 해당 기술에 대한 연구 개발은 활발할 것으로 판단된다.
- 바. 일본의 경우 1990년대부터 원예 식물에 대한 우수 품종 종자 및 종묘에 관한 유전자 연구가 꾸준히 진행되어온 것으로 조사되었다. 특허 기술동향도 이와 마찬가지로 1990년대부터 특허 출원이 꾸준하게 이루어져 온 것으로 판단되며, 일본의 경우 국가 연구기관 및 사기업의 관련기술 특허 출원도 이루어져 온 것으로 조사되었다.
- 사. 미국과 유럽의 경우 역시 주요 출원인은 국가출현 연구단체, 대학기관인 것으로 나타났으며, 전체적으로 관련 특허 출원 건수가 적은 편으로 나타나 해당 기술은 한국과 일본이 주도하고 있는 것으로 판단된다.
- 아. 논문 분석 결과, 최근 5개년 구간을 통해 총 404건의 유효 논문이 추출되었으며, AA. 왜성대목 및 무병종묘 대량생산 기술(129건), AD. 환경조절 안정적 증식 및 육묘방법 기술(102건), AB. 바이러스 검정법 기술(93건), AC. 변이검정 및 품종 동정 기술(80건) 순으로 나타났다.

- 자. 논문 발행 동향에서는 AA기술의 발행 비중이 특허에서의 AA기술 특허 출원 동향보다 높은 것으로 나타났다. 이는 왜성대목 및 무병종묘 대량생산 기술의 특성 상 학술적인 기술 부분이 많아 다소 특허 출원으로 연결되기 어려운 경우도 있기 때문으로 판단된다.
- 차. 논문 주요 발행인 현황을 살펴본 결과, TOP1 발행인으로 농촌진흥청이 나타났으며, 전북대학교, 경북대학교, 국립산림과학원 등 정부 기관과 주요 대학 연구기관이 나타났다. TOP10 논문 발행인 중 유일하게 나타난 NORTHWEST A&F UNIVERSITY는 중국의 북서농림대학교로, 해당 분야에 대한 연구 개발이 활발한 것으로 조사되었다.
- 카. 시설원에 특화를 위한 사과무병종묘 산업화기반 구축기술과 관련하여 국내외 기술동향을 살펴본 결과, 한국, 미국, 일본 모두 국가주도로 연구개발이 이루어지고 있다. 이는 우수 품종의 종자 및 종묘사업 전반에 대한 국가적으로 기술 확보에 박차를 가하고 있는 유망한 기술로 판단된다.
- 타. 따라서 향후에도 본 기술 관련 연구개발 또는 지재권 확보를 위해 세부 기술별 전략을 수립하여 우수한 기술 확보를 선점하는 것이 바람직 할 것으로 판단된다.

제 2 절 과수묘목산업 현장애로사항 조사

1. 기지현상

과수 묘목의 재배 시 이전에 묘목을 재배한 포장에 다시 묘목을 재배하는 경우 생장이 불량해지는 기지현상이 발생하며 이로 인해 매년 육묘 포장을 이동하거나 토양 소독을 해줘야 한다. 따라서 자가 소유 토지에서 묘목을 재배하기 위해서는 넓은 면적의 토지를 소유하고 있어야만 육묘장을 번갈아가며 사용하는 것이 가능하다. 하지만 이는 많은 비용이 필요하므로 토지를 임차하여 묘목을 재배하는 것이 일반적이다. 토지를 임차할 경우 기지현상을 우려하여 1~2년 정도의 기간 동안 단기 임차를 한 후 포장을 변경하여 다른 토지를 다시 임차하여야 하지만 단기 임차는 임차료가 높으며, 대부분의 임대인들이 단기 임대보다 장기 임대를 원하기 때문에 단기 임차 자체가 어렵다. 또한 단기 임차를 하게 되더라도 묘목 재배에 적합한 토지의 지속적인 확보가 가능해야 하는데 도시화 및 산업화와 맞물려 육묘 포장 확보 자체에 상당한 어려움이 있다.

2. 노동집약적

과수 묘목 재배는 자동화 또는 기계화가 되어있지 않기 때문에 많은 노동력을 필요로 한다. 많은 인건비의 발생으로 경제적 부담이 크며, 게다가 농촌의 인구 감소 및 노령화로 인하여 인력의 확보가 어렵다. 인력의 충원을 위해 인력시장에서 일용근로자를 동원하는 실정이며, 이로 인해 작업의 효율성이 낮아지고 전문성을 기대하기 어렵다.

3. 재배환경의 변화

국내 대부분의 과수 묘목 재배 방식은 시설이 아닌 일반 노지에서 재배하는 방식이므로 환

경의 영향을 상당히 많이 받는다. 최근 지구온난화로 인한 기후 변화로 예상치 못한 기상 현상이 발생하면서 이에 대한 대처가 어렵다. 접목을 하는 시기인 3~4월에 기온이 불규칙하여 접목 후 기온이 낮아져 냉해 피해가 속출하고 있으며, 여름철 강수량이 많아 일조량이 부족하거나 고온이 계속되어 묘목의 생장이 불량한 경우가 발생하고 있다. 또한 묘목을 수확하기 전인 2월 중순~3월 상순의 기온 편차가 심하여 최근 묘목의 동해가 빈번하게 발생하고 있다.

4. 대목 취목(휘묻이)

사과 묘목은 접목을 이용하여 번식시키므로 대목과 접수가 필요하며 사과 대목은 삽목이 어렵기 때문에 증식을 위해 취목(휘묻이)을 이용하게 되는데, 이 경우 균일한 대목의 확보가 어렵다.

5. 접목

접목을 위해서는 접목전문가가 필요한데 접목전문가의 숙련도에 따라 접목 후 활착률이 상이하다. 대부분의 업체에서 비슷한 시기(3월 하순~4월 상순)에 접목을 실시하기 때문에 원하는 일정에 맞추어 접목전문가를 확보하는데 어려움이 발생하며 이에 따라 최적 접목 시기를 놓치는 경우가 발생한다. 접목전문가는 일반근로자에 비해 인건비가 높으며 현재 활동하고 있는 접목전문가들이 고령화되고 있지만 후대 접목전문가들이 많이 양성되고 있지 않아 새로운 접목 방법의 개발이 반드시 필요하다.

6. 무병대목의 확보

현재 중앙과수묘목관리센터에서 무병대목을 생산하여 공급하지만 그 생산량이 턱없이 부족하여 원하는 만큼의 수량을 확보할 수가 없으며 이로 인한 무병묘목의 생산율과 보급률이 매우 낮은 실정이다.

7. 묘목의 저장

육묘포장에서 묘목이 동해 피해를 입는 것을 방지하기 위하여 묘목을 가을에 낙엽 후 굴취하게 되면 묘목이 출고되는 이듬해 3월까지 묘목의 저장이 불가피하다. 일반창고나 하우스에 보관하게 될 경우 온도가 일정하지 않아 곰팡이나 세균의 번식이 일어나거나 냉해를 입을 수 있다. 따라서 온도를 일정하게 유지해 줄 수 있는 저온저장고가 필요하지만 시설비와 유지비가 발생하여 부담이 크다.

8. 묘목의 유통

사과 M.9, M.26 자근대목은 실생묘에 비해 뿌리가 매우 연하고 약하기 때문에 쉽게 손상될 수 있다. 특히 묘목을 굴취할 경우, 보관을 위해 저장고에 가식할 경우, 농민에게 공급하기 위해 가식한 묘목을 다시 굴취할 경우 상당한 뿌리 손상이 발생하며 묘목을 트럭에 싣고 운반하는 과정 중에서도 가지가 부러지거나 뿌리가 손상되는 경우가 발생한다. 따라서 포트 재배를 통해 포트에 심긴 상태로 공급하거나 손상을 막기 위한 포장방법 등을 모색할 필요가 있다.

제 3 절 조직배양 원종 후보군 개발

1. 조직배양 원종후보군 확보

왜성대목 중 M.9은 조기결실과 대과생산이 가능한 왜성대목으로 수세가 실생의 30% 정도로 품종의 특성은 역병에는 강하나 면충에는 약하고 내한성은 M.26보다 다소 약한 편이다. 유럽에서 최근 가장 많이 재배되고 있는 품종이다. M.26은 1929년 영국에서 육성된 왜성대목으로 M.16과 M.9을 교배하여 육성된 품종이다. 수세가 실생의 40% 정도로 강한 발근력, 번식력, 조기결실성, 다수확성, 내한성 등이 장점으로 우리나라와 일본에서 주로 많이 이용하고 있는 품종이다.


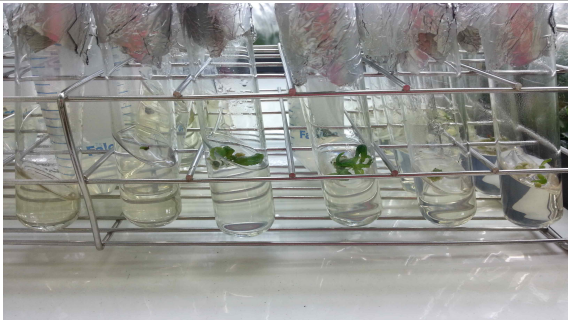
생장점 배양을 위한 조직배양 원종후보는 국내에서 사과의 주요한 왜성대목으로 이용되는 M.9/M.26을 선정하였다. 두 품종의 왜성대목 M.9/M.26은 현재 국내에서 바이러스 이병여부가 확인되어 있지 않은 상태로 본 과제의 총림과수묘목영농조합법인(제1협동)으로부터 제공받아 표면살균 전까지 온실에서 재배를 실시하였다.

2. 원종후보군 관리 및 초대배양

생장점 배양을 위한 후보시료들은 11~12월 온실 내에서 재배하면서 휴면타파, 기내배양시 재생율 증가 및 오염을 최소화하기 위해 1주 간격으로 BA와 지베렐린이 포함된 살균제를 처리하였다. 초대배양에 적합한 정도로 신초가 신장하였을 때 녹지를 절단하여 흐르는 물에 수세한 다음 70% 에탄올에 수 초간 침지하였다. 그리고 다시 2% sodium hypochlorite에 15분간 침지하여 무균배양을 위한 재료의 표면살균을 완료하였다.

3. 무병주 증식을 위한 기내배양묘 육성

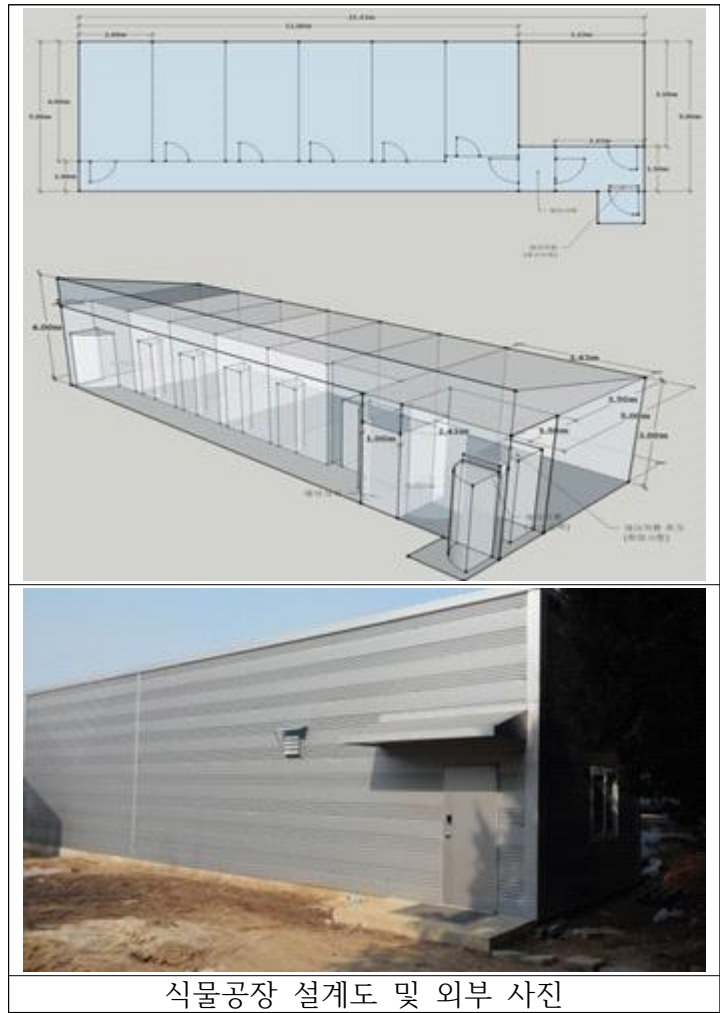
생장점 배양을 위한 기내 무균 식물체를 유도하기 위하여 BA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 이 첨가 된 MS 배지에 배양하여 25도로 향온이 유지되는 무균배양실에서 8주간 배양하였다. 배양 8주 후 5mm 내외로 배양한 경정 부위에서 새 잎과 신초가 자랐고 박테리아 등의 오염이 없음을 확인하였다. 경정배양을 통해 육성된 무균상태의 원종후보군 식물체를 이용해 현재 생장점배양을 시작하였다. 무균 원종후보군 육성을 통해 추후 본 과제가 시작하게 되면 생장점배양에 필요한 표면살균 과정을 별도로 거칠 필요가 없을 것이다. 또한 이로 인해 시료가 살균해를 받지 않게 되어 본 과제 진행시 생장점 배양의 효율을 극대화할 수 있을 것이다.

	
<p>회문이에 의한 대목생산 (원종후보군 채취지역)</p>	<p>경정배양에 의한 무균식물체 유도 (생장점 배양용)</p>



제 4 절 식물공장 완공

1. 과제수행시 사용할 수 있는 식물공장 준공
 - 가. 기본 구성도



식물공장 설계도 및 외부 사진

총 면적은 16m×5m(24평)이고, 재배실 6 구역(구역당 2m×4m)과 연구 및 준비실을 갖추고 있다. 각각의 6개의 재배실은 온도, 습도, CO₂가 독립적으로 제어 가능하고(환경 요인 연구에 용이), 외부와 완전히 차단되며, 클린룸 시스템(에어커튼 및 에어샤워 설비)으로 외부 오염원 으로부터 차단된다.

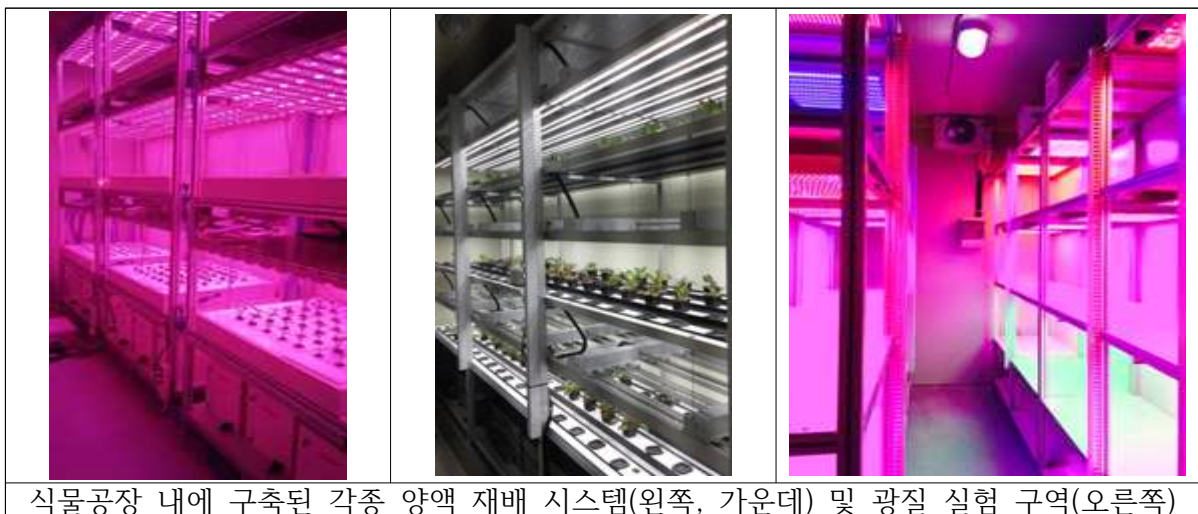
2. 상세 설명

각 구역의 환경(온도, 습도, 이산화탄소)을 실시간으로 모니터링할 수 있으며, 여러 환경 요인(온도, 습도, 이산화탄소, 관수, 광)을 제어할 수 있는 시스템을 구축하였다.



데이터 로거 장치(CR-1000)를 활용한 환경 모니터링 및 제어 시스템

DFT(담액수경)과 NFT(박막수경)으로 작물을 재배할 수 있는 양액 재배 시스템을 구축하였으며, 특별히 광질에 따른 작물의 성장반응을 확인하기 위한 독립된 구역을 마련하여 기내배양 사과 소식물체의 발근 및 순화 촉진을 위한 광환경 구멍에 이용할 예정이다.



식물공장 내에 구축된 각종 양액 재배 시스템(왼쪽, 가운데) 및 광질 실험 구역(오른쪽)

제 3 장 후속연구과제 상세기획

제 1 절 연구배경 및 문제점

1. 국내 연구 동향

가. 사과 바이러스와 무병종묘 생산

사과의 바이러스는 생육과 생산량, 품질 등에 크게 영향을 미쳐 국내에서도 농식품 지원으로 농협연합회에서 중앙과수묘목관리센터를 설립하고 무병종묘 보급에 힘쓰고 있어 농가의 무병종묘 보급 요구가 급증하고 있다. 하지만 대규모 무병종묘 번식체계가 확립되지 않아 대목의 경우 네덜란드에서 무병종묘를 수입하여 취목번식하고 있으며, 일부 접수 품종의 무병종묘가 확보되어 있으나 생산량이 부족하여 묘목산업으로부터의 요청에 크게 미치지 못하는 실정이다.

식물체가 바이러스에 감염되면 품질과 수량이 30~50% 이상 떨어지게 되나, 직접적인 치료 방법이 없기 때문에 정단분열조직(생장점) 배양을 통한 무병종묘를 육성, 이용하는 것이 가장 효과적인 방법이다. 사과는 1990~2000년대 ACLSV와 ApMV 등의 바이러스 무독화를 위한 다양한 처리방법들이 대학과 농촌진흥청을 중심으로 시험연구 된 바 있고, 최근까지 농협과 민간 기업 등에서 사과 왜성대목 생산을 시도하고 있으나 아직까지 기술적 한계로 인해 대량생산 체계는 갖추지 못한 실정이다. 접목재배를 하는 사과의 특성상 지역에 따라 바이러스 이외에 접목을 통하여 전염되는 파이토플라스마가 문제를 일으키는 경우도 있다. 국내 발생하는 사과 바이러스와 바이로이드는 ACLSV, ASGV, ASPV, ApMV 등 바이러스 네 종과 ASSVd 등 바이로이드 한 종이 있다. 사과 바이러스 진단을 위해 영주, 안동, 충주, 예산, 장수, 포천 지역 6곳에서 총 1123점을 조사한 결과, 포천 지역에서 진단 주수 166주 중 감염 주수 127주, 감염률 76.5%로 가장 높았으며, 평균 감염률은 47.6%로 나타났고, ASPV 24.9%, ACLSV 21.6%, ASGV 16.0% 순으로 나타났다. 바이로이드는 영주 지역에서 감염률 8.0%로 가장 높았으며, 총 진단 주수 932주 중 감염 주수 16주로 감염률은 평균 1.7%를 나타내었다. 사과 바이러스를 검출하기 위하여 지표식물검정법은 물론, 근래에는 혈청학적 진단법의 일종인 면역효소항체법(ELISA)과 중합효소연쇄반응법(PCR)을 사용하고 있으나, 기주의 품종과 바이러스의 종류 등에 따라 검출감도 등 반응이 다르므로 맞춤형 검출법의 필요성이 높다. 특히 국립원예특작과학원의 경우 2~3년 전에 multiplex PCR을 이용하여 ASPV 등 4종의 주요 사과 바이러스를 한꺼번에 진단할 수 있는 유전자다중진단기술을 개발하여 기술이전을 하고 일선 농업기술센터에 보급한 바 있다.

또 다른 과수묘목산업의 큰 문제점 중 하나는 영년생 과수의 특성상 2~3년이 지나야 과실의 확인이 가능하므로 정확한 품종의 확인을 위해서는 상당한 시간이 소요되며 과수묘목업자의 도덕성과 맞물려 현재 농가에서 구매 당시 품종과 다른 품종으로 확인되어 받는 피해가 상당한 실정이다. 하지만 이를 조기에 판단할 수 있는 분자표지를 이용한 변이의 검정과 품종의 동정을 위한 연구가 전혀 이루어지지 않고 있으며 품종 특이적 분자표지를 이용하여 변이발생체계의 도태와 품종의 동정체계 확립이 반드시 필요하다.

나. 시설원예 육묘 산업

전국의 공정 육묘장 면적은 1997년 20ha였지만, 그 이후 급격히 성장하여 2010년도에는 159ha에 이르렀다. 현재 육묘 생산 품목은 벼, 엽채류, 과채류가 대부분을 차지하고 있으며, 벼와 엽채류는 실생묘를 대부분의 과채류는 접목묘를 일부 생산하고 있다. 육묘 생산 기술 부분은

접수와 대목 선택기술, 발아율 향상 기술, 접목 활착률 제고 기술이 선진국보다 우수한 반면, 환경조절이나 병해충 관리 기술은 상대적으로 떨어진다. 또한 아직까지 체계적인 과수우량묘목 생산을 위한 시설 내 공정 육묘 관리 체계의 구축이나 산업화는 전무한 상태이다.

다. 과수 묘목의 발근 및 순화

작물 발근에 관련된 연구는 대부분 화훼 작물에 초점이 맞춰져 있으며 기내 조직배양에서의 배지 성장조절제 처리에 따른 효과를 보는 연구가 주를 이루고 있다. 기내 배양 사과 대목을 기외 삽목했을 때 발근과 순화에 미치는 배양조건 및 성장 조절물질의 효과를 본 연구가 2004년에 있었지만 그 내용이 매우 제한적이며, 실용화되고 있지 못하다. 시설 내 과수 종묘 생산을 위한 연구는 몇 가지 과수품목(무화과, 블루베리 등)에서 산발적으로 이루어졌는데, 주목적은 삽수의 발근 촉진이었으며, 이를 위해 성장조절제 처리 및 발근 촉진제와 삽상의 온도를 조절하였으며, 그 이외의 환경을 조절하여 발근 촉진을 유도한 연구는 제한적이기 때문에, 이와 관련된 연구 수행과 기술개발이 필요한 실정이다.

라. 기지현상

기지현상은 이전에 같은 종 또는 근연종을 재배한 포장에 다시 재배할 경우 발생하는 수체의 불량한 생장을 뜻하고, 특히 사과, 복숭아, 배나무 등과 같은 장미과 과수에서 많이 발생하며, 주로 나무를 굴취하는 과정에서 뿌리가 절단되며 발생하는 hydrogen cyanide(HCN)가 주원인으로 알려져 있으며, 이외에도 토양 선충, 곰팡이, 박테리아 등에 의해 발생하는 것으로 알려져 있다 (Vetter, 2000; Rumberger 등, 2007). 영년생 과수묘목은 1~2년간 번식/육묘하여 종묘가 보급되고 있으나 이러한 기지현상에 의해 연작이 어려워, 이러한 연장장애를 회피하기 위해 대부분의 묘목업자들은 육묘장을 매년 이동하고 있으며, 같은 육묘장에 다시 재배할 경우 methyl bromide(MB)와 같은 훈증제를 이용하고 있으나 토양 지력의 손실 및 토양 환경에 큰 위해를 초래한다(Brown과 Koutoulis, 2008; Wilson 등, 2004). 또한 산업화 및 도시화로 이동해야 할 대규모 육묘장 확보가 매우 어려워 묘목산업이 규모화되지 못하고 영세하다. 기지현상 및 산업화, 도시화로 인한 육묘장 확보의 어려움으로 포트재배가 절실히 필요한 실정이나 포트 개발 및 사과묘 규격화를 위한 어떤 연구도 현재 진행되고 있지 않다.

2. 국외 연구 동향

가. 사과 바이러스와 무병종묘 생산

국제원예학회 자료에 따르면 넓게 잡아 총 25종의 바이러스가 각종 사과 품종을 감염하고 있는 것으로 알려져 있으나, 이들 중 현재 사과재배에서 문제가 되고 있는 바이러스는 국내외를 막론하고 Apple Chlorotic Leaf Spot Virus(ACLSV), Apple Stem Pitting Virus(ASPV), Apple Stem Grooving Virus(ASGV), Apple Mosaic Virus(ApMV) 등 네 종이 있다.

1952년 Morel과 Martin이 성공적으로 바이러스에 감염된 다알리아의 정단분열조직을 배양한 이래 영양번식 작물의 성장점배양은 무병묘 생산의 주요한 방법이 되고 있으며 국외에서 1990년대부터 현재까지 바이러스 무병종묘 생산연구에 대한 학술논문은 1991~1995년 28편, 1996~2000년 34편, 2001~2005년 55편, 2006~2010년 59편으로 점차 증가하고 있어 전 세계적으로 바이러스 진단과 제거 및 성장점 배양을 통한 무병종묘 생산의 중요성이 증가되고 있다.

중국의 국립 바이러스무병종묘육성 현지내보존센터에서는 대대적인 현지조사를 통해 80~100%의 재배되고 있는 배와 사과가 ASGV와 ACLSV 등에 감염되어 있음을 확인하고 바이러스 무병종묘를 육성하기 위해 성장점 배양 등 다양한 연구를 시도하고 있다. 캐나다 'Centre for Plant Health, Canadian Food Inspection Agency'에서는 재배하고 있는 사과 무병종묘 인증 프로그램 통해 사과에서 가장 문제가 되고 있는 ASGV-free묘를 생산 및 보급하고 있고, 폴란드 또한 화훼 및 과수생산연구소에서 활발하게 바이러스 무병종묘 육성연구를 실시하고 있다. 현재 네덜란드 등 농업선진국을 중심으로 사과의 바이러스 검정에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있으며, 국내 연구기관들도 사과, 포도 등 과수의 바이러스를 검출, 진단할 수 있는 방법을 개발하고 있다.

'Golden Delicious'사과 유전체의 91.3%에 해당하는 총 contig 603.9Mb가 해독되었고 이로써, 사과 유전체의 크기는 약 742.3Mb로 정확히 추정된다. HiDRAS(High-quality Disease Resistant Apples for a Sustainable Agriculture) 프로젝트는 사과유전자원의 수집/분석, 분자육종기술의 동반발전, 사과 흑성병 저항성 유전자의 발굴 및 SSR 마커를 분석을 통한 약 160여개의 유전자지도를 완성하여 HiDRAS reference map을 DB화 하였다. RosBREED : Enabling marker-assisted breeding in Rosaceae 프로젝트는 미국 USDA fund로 지원되며 2010년부터 그간의 유전체 연구를 바탕으로 장미과 과수(사과, 복숭아, 체리, 딸기)를 중심으로 마커를 이용한 품종 연구를 수행중이다. Foroni 등(2012)은 microsatellite 마커를 이용한 유연관계 분석 및 homonymy와 synonymy 구별에서 200개의 사과 샘플 중 60개의 synonymy와 32개의 homonymy 동정 및 불분명한 사과 품종을 구분하였다. Moriya 등(2012)은 SSR 마커를 이용한 실용적인 사과 품종 동정 방법 및 어비와의 양친 분석에서 15개의 SSR 마커셋을 이용하여 95개의 사과 품종 중 65개 품종의 양친관계를 분석하였다. 네덜란드는 사과 유전자원의 관리와 품종 동정을 위한 microsatellite genotyping을 이용하고 있으며 16개의 microsatellite 마커를 이용하여 659개 사과 유전자원의 genotyping을 하였으며, 중복된 품종을 제외한 475개의 다른 유전자형을 구분하였다(van Treuren 등, 2010).

나. 시설원에 육묘 산업

일본의 경우 육묘 생산 품목은 과채류 접목묘, 과채류와 엽채류의 자근묘, 화훼류의 묘, 벼의 묘 등 다양하며 묘의 품질과 가격이 적절하기 때문에 농업 경영인 및 농업 법인에 의한 수요 증가로 육묘 산업의 규모가 크다. 선진국에서는 1980년대부터 UV-B 조사가 온실에서 자란 소나무 묘목의 생육, 광합성 그리고 색소에 미치는 영향을 조사하는 등 육묘에 환경조절 처리를 하여 생육을 증대시키는 연구가 진행되어 왔다.

온실에서 자란 사과 묘목에 구리와 peat(피트)를 공급해주었을 때 사과 묘목의 줄기와 잎의 원소 함량을 측정해 연구가 2000년도에 이루어 졌으며, 유칼립투스 묘목 생산을 위해 온실에서 적절한 환경 조절에 관한 연구도 2011년도에 이루어 졌다. 현재 육묘 생산은 하우스를 이용하는 경우가 대부분이지만 폐쇄형 육묘 시스템을 이용하여 스트레스 저항성을 증대시키기 위한 연구도 일부 진행 중에 있다. 사과 묘목산업은 과수산업의 핵심 고부가 산업으로 네덜란드의 경우 과실생산면적은 미미하나 유럽 사과묘목의 70%를 공급하여 과실생산보다 높은 수익을 얻고 있다. 미국 캘리포니아주의 Sierra Gold Nurseries의 경우 복숭아 묘목의 포트재배와 시설재배를 이용하여 재배·판매하고 있으며 포트재배를 통해 묘목의 균일화와 안정적 생산을 통해 높은 수익을 올리고 있다. 오스트레일리아의 Australian Nurserymen's Fruit Improvement

Company의 경우 모든 과수를 망사를 친 공간에서 포트재배를 통해 토양병원균이 없는 과수(아보카도, 시트러스, 사과, 핵과류 등) 재배법을 개발하고 있다.

다. 과수 묘목의 발근 및 순화

시설 내에서 과수 재배에 관한 연구는 열대 또는 아열대 작물 재배가 주를 이루고 있으며 종묘생산을 위한 시설원에 연구는 거의 전무하다. 일본 국립과수연구소에서는 2000년부터 3년간 아열대과수 망고에 대하여 하우스 시설재배에 적합한 품종 선발연구를 수행하여 시설내의 최저 온도는 5°C로 설정하였으며, 여러 측면의 평가를 통해 최종적으로 7개 품종에 대해 일본에서 시설재배에 적합한 품종으로 선발하였으며, 이러한 품종들은 경제적 재배가치가 있다고 판단한다. 기내 배양 과수 묘목의 발근 촉진과 순화에 관련된 연구는 유럽과 미국을 중심으로 1970년대 초반부터 수행되었으며, 기내에서 미세 증식된 절편체에 다양한 생장조절제 처리를 한 다음 온실로 옮긴 뒤 생장조절제가 과수의 생육 및 발근에 미치는 영향을 보았다. 특히 미국에서는 이미 1990년대 기내 배양된 다양한 품종의 사과묘목 발근과 순화에 대한 프로토콜이 정립되었다. 화학적인 처리와 환경 조절 처리로 삽수의 발근을 증가시키는 연구는 소나무와 같은 산림 작물에서 이루어졌지만 과수에서는 연구가 매우 미흡한 실정이다.

3. 지역의 산업적·경제적 여건

사과는 주요 과수원예작물 중 하나로 2014년 재배면적은 30,702ha로 전체 과실생산액(35,838억원)의 20.6%를 차지하고 있으며 최근 사과 가격의 호조, 신규 과원 조성시 지자체의 지원 등으로 재배면적이 증가하고 있다(통계청, 2014). 2014년 시도별 재배면적은 경북(18,811ha), 충북(3,877ha), 경남(3,370ha), 전북(2,078ha) 순으로 나타났으며(통계청, 2014), 최근 지구온난화의 영향으로 재배적지가 점차 북상하고 있으며 이로 인한 충청지역 재배농가가 지속적으로 증가하고 있다. 충청지역 총 과수재배면적은 11,069ha로 사과가 이중 40%인 4,422ha로 가장 높은 비중을 차지하고 있으며, 충주시가 63.5%인 1,740ha로 가장 높은 재배면적을 차지한다(정부합동평가, 2012). 사과묘목은 충북 옥천에 이원묘목특구 등이 조성되어 있으며 2012년 재배면적은 183ha이고, 생산량은 1,370만주로 전국 묘목시장의 70% 정도를 차지하고 있고 이 중 유실수가 75.9%를 차지하고 있으며, 사과는 약 40만주가 생산되고 있다(충청지방통계청, 옥천군, 2012). 사과묘목은 2013년 1주당 이중접목묘 7,000원, 이중접목대묘 9,000원, 자근대접목묘 13,000원, 자근대접목대묘 18,000원으로 최근 농가에서 자근대접목대묘를 선호하기 때문에 사과묘목 생산은 농업분야의 고부가가치 산업 중 하나이다(한국과수묘목협회, 2013). 전국 도내 시설재배면적은 경기도(16,872ha), 충청남도(16,818ha), 경상남도(13,572ha), 경상북도(12,782ha), 전라북도(7,020ha), 전라남도(6,977ha), 충청북도(5,101ha), 제주도(5,206ha), 강원도(3,632ha) 순으로 재배면적은 7위에 머무른다(통계청, 2014). 충청북도의 연도별 시설작물 재배면적은 1979년 116ha을 시작으로 1990년에는 620ha이었고, 1990년도 이후 재배면적이 급격히 증가함에 따라 현재 2014년 5,101ha까지 증가하였다(통계청, 2014). 충청북도 내 시설재배 작목은 총 23작물로 과채류가 2,581ha의 면적으로 가장 많았으며 수박(1,774ha), 기타채소(723ha), 과수(540ha), 포도(517ha), 생과수(포도)(473ha), 호박(357ha), 기타(342ha), 토마토(247ha), 엽채류(242ha) 등으로 오히려 포도를 포함한 과수류가 1,500ha 이상으로 높은 시설재배 면적을 차지한다(통계청, 2014).

4. 지역의 연구 인프라 및 기술적 여건

충북지역은 대학, 지자체 연구기관과 민간종묘 생산업체에 조직배양시설을 갖추고 있고 조직배양 전문인력이 배치되어 있는 등 물적, 인적 기본인프라가 잘 구축되어 있어 관련 연구소와 산학협력 체계 구축, 기술개발 및 연구의 분담과 조정 과정을 통한 유기적인 기술의 패키지화 가능성이 높다. 2000년부터는 원예종묘 생산연구를 해 온 바 있어 기술적으로 성숙단계에 있고 이를 최근의 발달된 시스템에 적용함으로써 실질적인 무병종묘 대량생산이 가능할 것이다. 또한 충북 옥천에 이원묘목특구 등이 조성되어 있으며 2012년 재배면적은 183ha이고, 전체 생산업체수는 134개소이며 관련 유통업체수는 52개소로 전국 묘목시장의 70% 정도를 차지하고 있다(충청지방통계청, 옥천군, 2012).

제 2 절 연구목표

1. 제 1세부과제 : 사과무병종묘 변이검정용 마커 개발 및 시설내 안정증식 육묘법 개발

가. 사과무병종묘 변이검정용 마커 개발

- 1년차 : 사과 다형성 마커 탐색
 - 기존 문헌을 통해 사과 품종 판별에 사용된 마커 탐색
 - 사과 유전자 지도 기반 염색체별 마커 선발
 - 각 마커들의 사과에서 다형성 평가 수행

- 2년차 : 국내 사과 품종 동정을 위한 분자마커 탐색 및 선발
 - 사과 품종 동정을 위한 분자마커 탐색
 - 국내 주요 사과 품종 동정을 위한 분자마커 선발

- 3년차 : 국내 사과 품종 특이적 분자마커 선발/적용 및 genotyping 데이터 구축
 - 국내 사과 품종 특이적 분자마커 선발 및 적용
 - 마커 genotyping 데이터 구축

- 4년차 : 분자마커를 사용한 육묘 변이 검정
 - 국내 사과 품종 특이적 마커 적용
 - 마커 genotyping 데이터 구축
 - 조직배양묘의 변이 확인을 위해 마커를 이용한 변이 검정 수행

- 5년차 : 육묘 단계별 변이 확인을 위한 품종 동정 시스템 구축
 - 마커 genotyping 데이터를 이용한 품종 동정 시스템 구축
 - 육묘 각 단계별 변이 확인을 위한 분자마커 검정 수행

나. 시설내 사과무병종묘 안정증식 및 육묘법 개발

- 1년차 : 시설재배용 사과무병대목 재배를 위한 포트의 종류 및 최적 용적 개발
 - 조직 배양하여 순화/발근된 사과 대목 M.9/M.26의 재배를 위한 포트 종류 선정

- 조직 배양하여 순화/발근된 사과 대목 M.9/M.26의 재배를 위한 포트 용적 선정
- 2년차 : 사과무병종묘 재배를 위한 포트의 종류 및 최적 용적 개발
 - 접목 실시 후 사과무병종묘 재배를 위한 포트 종류 선정
 - 접목 실시 후 사과무병종묘 재배를 위한 포트 용적 선정
- 3년차 : 사과무병대목과 사과무병종묘의 포트 최적 토양 환경 개발
 - 포트 토양 환경 구성에 따른 사과무병대목의 최적생육환경 개발
 - 포트 토양 환경 구성에 따른 사과무병종묘의 최적생육환경 개발
- 4년차 : 기존사과종묘와 사과무병포트종묘와의 생육 차이 구명
 - 실제 토양에 정식 후 기존사과종묘와 사과무병포트종묘의 생육 차이 비교·분석
- 5년차 : 기존사과종묘와 사과무병포트종묘와의 과실 특성 차이 구명
 - 4년차에 토양에 정식한 기존사과종묘와 사과무병포트종묘의 과실 특성 비교·분석

2. 제 2세부과제 : 사과 왜성대목 및 상업적품종 무병종묘 대량생산 기술 개발

- 1년차 : 사과 대목 품종별 성장점배양을 통한 효율적 무병종묘 유도체계 확립
 - 우량 왜성대목 및 우수형질의 품종 확보
 - 물리, 화학적 조절을 통한 왜성대목 무병주 유도 기술 개발
- 2년차 : 배양단계별 품종별 증식조건 최적화 및 시스템화
 - Multiple-shoots 유도 및 기내발근 조건 최적화
 - 기내배양환경 조절을 통한 과수화 억제 조건 구명
- 3년차 : 대용량 생물반응기를 이용한 무병종묘 대량생산 시스템 개발
 - 사과 무병종묘 생산용 생물반응기 시스템 개발
 - Scale-up 대용량 생물반응기 시스템을 이용한 무병종묘 대량생산
 - 접수용 품종의 무병주 유도 및 대량증식
- 4년차 : 광독립영양배양을 통한 순화용 무병종묘 육성 기술개발
 - 광독립영양배양을 통한 순화용 무병종묘 및 균일묘 육성기술 개발
 - Flow cytometric-based nucleic DNA 함량 분석을 통한 건전묘 조기 스크리닝
 - 무병 왜성대목과 접수를 이용한 micro-grafting 기술개발
- 5년차 : 기내배양을 통한 사과 무병종묘의 대규모 생산과 보급을 위한 기반기술 시스템화
 - 첨단환경조절 순화실 시설구축
 - 사과 무병종묘 대량배양 시스템 및 기술 프로토콜화 확립
 - 우량 무병종묘의 농가보급 및 관련 지역산업체에 기술보급

3. 제 3세부과제 : 기내 배양 사과 무병종묘 대량 생산을 위한 환경조절 기술 개발

- 1년차 : 대목용 기내배양 사과 소식물체를 위한 기본 재배조건 확립 및 재배시스템 선정
 - 기내 배양 사과 대목의 적정 기본 환경 조건 확립
 - 기내 배양 사과 대목의 안정적인 순화 및 발근을 위한 재배 시스템 선정
- 2년차 : 대목용 기내배양 사과 소식물체의 순화 및 발근 촉진을 위한 지하부 환경제어 기술 개발
 - 순화 및 발근 촉진을 위한 지하부 물리적 환경조건 구명
 - 순화 및 발근 촉진을 위한 지하부 화학적 처리조건 구명
- 3년차 : 대목용 기내배양 사과 소식물체의 순화 및 생장 촉진을 위한 지상부 환경제어 기술 개발
 - 순화 촉진을 위한 지상부 환경조건 구명
 - 생장 촉진을 위한 지상부 환경조건 구명
- 4년차 : 기내배양 사과 접목묘 생산을 위한 환경제어 기술 개발
 - 기내 배양 사과 접수의 기외 삽목률 향상을 위한 환경조건 구명
 - 유경 접목을 위한 환경조건 구명
- 5년차 : 기내배양 사과 소식물체의 안정적인 묘 생산을 위한 대규모 하드웨어 구축 및 패키지 기술 개발
 - 기내배양 사과 소식물체의 순화 및 발근 촉진을 위한 특화된 대규모 시스템 구축
 - 전·후방 기술과의 유기적 연결을 위한 패키지 기술 개발

4. 제 4세부과제 : 사과무병종묘 바이러스 검정법 확립

- 1년차 : 우리나라 사과 바이러스 유전자원 및 감염현황 조사
 - 채집 및 유전자은행 등을 통해 사과 바이러스 분리주 확보
 - 국내 유통 사과 묘목의 바이러스 감염 현황 조사
- 2년차 : 바이러스 검출법 평가
 - 주요 사과 바이러스에 대한 각 검출법 효율 탐색
 - 사과 품종에 따른 바이러스 검출감도 변화 연구
 - 사과 무병종묘에 발생하는 주요 사과 바이러스 감염 현황 조사
- 3년차 : 주요 사과 바이러스 및 묘목생산단계별 최적 검출법 선정
 - 검출법에 따른 주요 바이러스 검출 감도 및 속도 비교
 - 기내배양, 발근, 순화, 육묘 등 각 묘목생산단계별 바이러스 검출법 탐색
- 4년차 : 주요 사과 바이러스 최적 검출법 생력화 연구
 - 단기간에 많은 양을 처리할 수 있도록 시스템 개선
 - Multiplex PCR 가능성 검정

- 5년차 : 주요 사과 바이러스별, 묘목 생산단계별 검정기술 프로토콜화
 - 최적 검출법 선발
 - 시설원예 활용 사과무병종묘 생산시스템에서 주요 바이러스 고효율검정법 확립

5. 제 1협동과제 : 사과무병종묘 최적 번식 및 유통 체계 모델화

- 1년차 : 사과무병종묘 최적 번식 방법 개발
 - 사과무병종묘의 접목 방법 및 접목 시기의 비교 실험을 통해 최적 접목 방법 모색
- 2년차 : 사과무병종묘 저장 조건 개발
 - 사과무병종묘의 저온 저장을 위한 저장 조건 및 저장 기간 구명
- 3년차 : 사과무병종묘 등급 규격화 및 유통체계 개발
 - 사과 묘목 등급 규격화 및 사과포트묘 포장·운송 방법 개발
- 4년차 : 사과무병종묘 유통 과정 중 문제점 피드백 및 개선
 - 사과포트묘 시범공급을 통한 유통 과정 중 문제점 파악
 - 농가의견을 수렴하여 문제점 개선
- 5년차 : 사과무병종묘 대량생산 및 유통 체계 모델화 확립
 - 사과무병종묘의 대량생산 실시
 - 3, 4차년도에 개발된 유통 체계 모델화

6. 제 2협동과제 : 사과 바이러스 무병묘의 생육 단계별 특성검정

- 1년차 : 국내 유통 사과나무 대목의 바이러스 감염 실태 조사
 - 사과 왜성 대목(M.9 및 M.26) 및 접수별 생산 및 유통 현황 조사
 - 사과 왜성 대목 및 접수의 바이러스 감염률 조사
 - 사과 바이러스 무병 묘목 식재 및 주요 바이러스 접종
- 2년차 : 사과 바이러스 무병 묘목의 유목기 수체 생육 특성 검정
 - 사과나무 수관 부위별(눈, 결과지, 잎 등) 잠복 감염 바이러스 발현 여부 조사
 - 바이러스 접종 묘목과의 수체 생육량 비교
- 3년차 : 사과 바이러스 무병 묘목의 유목기 수체 생육 특성 검정
 - 사과나무 수관 부위별(눈, 결과지, 잎 등) 잠복 감염 바이러스 발현 여부 조사
 - 바이러스 접종 묘목과의 수체 생육량 비교
- 4년차 : 사과 바이러스 무병 묘목의 성과기 수체 생육 특성 검정
 - 사과나무 수관 부위별(과일, 눈, 결과지, 잎 등) 잠복 감염 바이러스 발현 여부 조사

- 바이러스 접종 묘목과의 상품성 및 수량성 비교
- 5년차 : 사과 바이러스 무병 묘목의 성과기 수체 생육 특성 검정
 - 사과나무 수관 부위별(과일, 눈, 결과지, 잎 등) 잠복 감염 바이러스 발현 여부 조사
 - 바이러스 접종 묘목과의 상품성 및 수량성 비교

제 3 절 연구추진전략

◎ 총괄 추진 전략



제 2세부는 사과 왜성대목 및 상업적품종 무병종묘를 조직배양 및 대용량 생물반응기를 이용하는 대량생산 기술을 개발하며, 제 3세부는 제 2세부에서 생산된 조직배양묘의 순화를 위한 지하부 및 지상부 환경제어 기술을 개발하고 안정적인 묘 생산을 위한 대규모 하드웨어 구축 및 패키지 기술을 개발하며, 제 1세부는 시설재배용 사과무병종묘의 포트 규격, 지하부 최적 배지 환경 개발 및 지상부 온도 및 광환경 구멍을 통한 안정증식육묘법을 개발하며, 제 1, 4세부는 무병종묘 생산의 전반적인 과정에서 정확한 품종의 무병종묘 생산을 위한 품종변이 및 바이러스 검정 체계 확립을 통한 인증체계를 수립하며, 지역산업체인 제 1협동은 제 1~4세부에서 개발한 무병종묘의 번식, 저장 및 유통 체계를 모델화하며, 제 2협동은 사과 무병묘의 시범포를 운영하여 유묘기 및 성과기 수체 생육 특성 검정을 통해 사과무병종묘의 우수성을 구명하며 지역과수묘목 관련 산업체 및 과수재배 농가의 교육 및 홍보를 지원한다. 또한 3년차부터 위탁업체를 선정하여 우량 무병종묘의 신속한 대량생산을 통해 농가보급을 앞당겨 산업화 과정에서 발생하는 문제점을 개선한다. 본 연구를 통해 시설원에 사과무병종묘 산업화의 전단계를 패키지화하여 충북 시설 관련 농산업 발전에 기여하고 과수묘목 해외수출 기반을 조성한다.

또한 충청북도 본 연구과제가 원활히 수행될 수 있도록 150백만원 상당의 매칭펀드를 지원하여 시범 전시포 시설 및 운영, 현장 확산에 필요한 사업비, 과수묘목 산업 현장 교육을 지원한다.

1. 제 1세부과제 : 사과무병종묘 변이검정용 마커 개발 및 시설내 안정증식 육묘법 개발
가. 사과무병종묘 변이검정용 마커 개발



육묘단계별 변이 시스템 구축

① 1차년도

기존 문헌을 통해 사과 품종 판별에 사용된 마커를 탐색한다. 사과에 사용된 많은 종류의 마커를 탐색하고, 사과 유전자 지도를 기반으로 17개의 염색체에 고르게 위치할 수 있는 마커를 선발한다. 주요 사과 품종의 DNA를 추출하고 탐색한 마커를 이용하여 PCR을 수행하고 아가로스겔 전기영동을 통해 다형성을 보이는 1차 마커를 선발 후, 캐필러리 전기영동을 통해 2차 선별을 수행한다.

② 2차년도

사과 분자마커의 탐색을 계속 진행하며, 대목(M.9, M.26), 접수(자홍, 홍로, 후지, 감홍 등)의 DNA 추출 후 PCR을 수행하고, 아가로스겔 전기영동과 캐필러리 전기영동을 통해 탐색된 분자마커 중 대목(M.9, M.26), 접수(자홍, 홍로, 후지, 감홍 등) 등 주요 사과품종의 동정을 위한 분자마커를 선발한다.

③ 3차년도

사과 품종 특이적 분자마커를 선발/적용을 계속해서 수행하고, 2차년도에 선발된 마커들을 이용하여 주요 사과 품종에 대해 PCR을 수행한 후, 아가로스겔 전기영동과 캐필러리 전기영동을 수행하며, 각 품종별 다형성을 가지는 마커들에 대한 genotyping 데이터를 구축한다.

④ 4차년도

분자마커를 사용한 조직배양묘의 변이의 검정을 위해 3차년도까지 개발된 품종 특이적인 마커들을 이용하여 육묘에 대한 genotyping을 수행하고, 구축된 genotyping 데이터와 비교하여 변이를 판별한다. 또한 품종판별을 위한 최소의 마커셋을 구성하여 변이검정의 효율성을 높인다.

⑤ 5차년도

4년차도까지 개발된 분자마커와 genotyping 데이터를 이용하여 품종 동정 시스템을 구축한다. 육묘의 각 단계별로 변이 확인을 위해 분자마커를 이용한 품종 동정을 수행하며, 품종 동정 시스

템의 문제점을 확인 후 보완하여 실질적인 품종 동정 시스템의 구축을 확립한다.

○ 추진일정

연도	연구목표	추진일정											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1차년도	사과 마커 탐색	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	대목(M.9, M.26), 접수(자홍, 홍로, 후지, 감홍 등)의 DNA 추출	□	□	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□
	마커 다형성 평가 수행	□	□	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2차년도	사과 품종 동정을 위한 분자마커 탐색	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	대목(M.9, M.26), 접수(자홍, 홍로, 후지, 감홍 등)의 DNA 추출	□	□	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□
	마커 다형성 평가 수행/품종 동정용 마커 선발	□	□	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
3차년도	국내 사과 품종 특이적 분자마커 선발 및 적용	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	마커 genotyping 데이터 구축	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
4차년도	국내 사과 품종 특이적 마커 적용	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	마커 genotyping 데이터 구축	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	조직배양묘의 변이 확인을 위해 마커를 이용한 변이 검정 수행	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
5차년도	마커 genotyping 데이터를 이용한 품종 동정 시스템 구축	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	육묘 각 단계별 변이 확인을 위한 분자마커 검정 수행	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■

나. 시설내 사과무병종묘 안정증식 및 육묘법 개발



① 1차년도

기내에서 조직배양을 통해 증식하고 순화 및 발근 처리된 사과무병대목(M.9 또는 M.26)의 시설내 포트 재배를 위한 포트의 종류와 용적을 개발한다.

② 2차년도

1차년도에서 생산된 사과무병대목에 접목을 실시하여 사과무병종묘의 시설내 포트 재배를 위한 포트의 종류와 용적을 개발한다.

③ 3차년도

1, 2차년도에서 선정된 포트를 이용하여 사과무병대목과 종묘를 재배하기 위한 포트 내 최적의 토양조건을 개발하며, 이를 통하여 사과무병대목 및 종묘의 포트재배법을 확립한다.

④ 4차년도

사과무병포트종묘와 기존사과종묘를 실제 토양에 정식 후 생육 차이를 비교·분석한다.

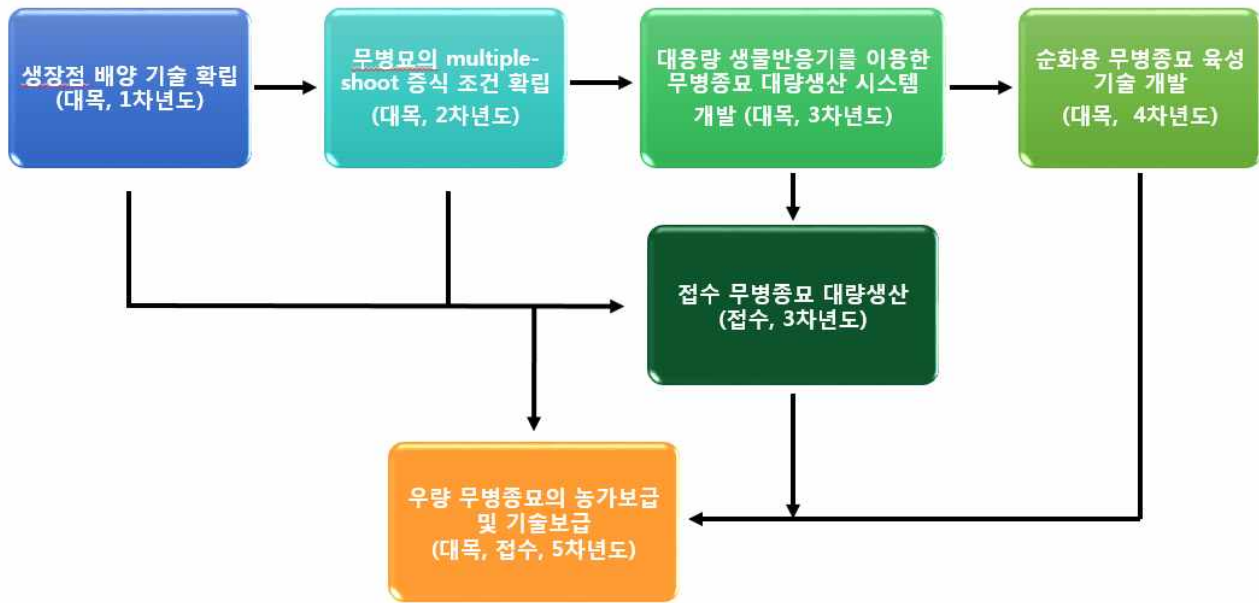
⑤ 5차년도

4차년도에 재식한 사과무병포트종묘와 기존사과종묘의 과실 특성을 비교·분석함으로써 사과무병종묘의 우수성을 확인하고 시설내 사과무병포트종묘 재배법을 확립한다.

○ 추진일정

연도	연구목표	추진일정											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1차년도	조직배양하여 순화/발근된 사과무병대목 (M.9, M.26) 재배를 위한 포트 종류 선정												
	조직배양하여 순화/발근된 사과무병대목 (M.9, M.26) 재배를 위한 포트 용적 선정												
2차년도	접목을 실시하여 사과묘목을 재배하기 위한 포트의 종류 선정												
	접목을 실시하여 사과묘목을 재배하기 위한 포트의 용적 선정												
3차년도	포트 토양환경 조성에 따른 사과무병대목의 최적생육환경 개발												
	포트 토양환경 조성에 따른 사과무병종묘의 최적생육환경 개발												
4차년도	실제 토양에 정식 후 기존사과종묘와 사과 무병포트종묘의 생육차이 비교·분석												
5차년도	실제 토양에 정식 후 기존사과종묘와 사과 무병포트종묘의 과실특성 비교·분석												

2. 제 2세부과제 : 사과 왜성대목 및 상업적품종 무병종묘 대량생산 기술 개발



가. 1차년도

지역산업체로부터 우량 왜성대목 및 우수형질의 품종 M.9과 M.26을 확보한다. 그 후에 물리적, 화학적 조절을 통해 사과 왜성대목 무병종묘 생산 기술을 개발한다. 무병종묘는 성장점 배양을 통해 생산하며, 이때 무병화율을 증진시키기 위하여 고온처리, ribavirin 및 항생제 처리 등 물리화학적 처리시 최적의 농도와 처리시기 등을 구명한다. 이를 통해 대량증식을 위한 사과 대목용 품종별 무병묘를 확보한다.

나. 2차년도

사과 대목용 신초의 배양단계별 최적화 배양조건을 구명한다. 신초의 배양단계 중 1단계인 multiple-shoot를 유도 단계에서는 배지 종류 및 무기염류 농도, 생장조절제 종류 및 농도, 광질 등을 달리 처리하여 최대 multiple-shoot를 유도할 수 있는 조건을 확립한다. 2단계인 기내생장 단계에서는 생장을 최대화하기 위한 배지 및 배양환경 조건을 구명하고, 마지막으로 3단계 기내발근 단계에서는 오옥신 종류 및 농도, 처리방법 등을 통해 기내발근 효율을 극대화 한다. 무병종묘를 획득하기 위한 각 배양 단계별 배양시스템을 체계화한다.

다. 3차년도

대용량 생물반응기를 이용한 무병종묘 대량생산 시스템 개발을 위해 1~5L 규모의 공기부양식 생물반응기를 이용하여 사과 무병주 생산용 생물반응기 시스템을 개발한다. 또한, 생물반응기 배양 중 vessel 내 공기공급량과 배양배지 공급을 조절하여 생장이 활발한 건전묘의 획득률을 증진시킨다. 또한 scale-up 대용량 생물반응기 시스템을 이용하여 무병종묘의 대량생산 시스템을 개발한다. 이 때 과수화 발생을 억제하여 건전묘의 획득률을 증진시킨다. 4차년도에 수행할 기내접목(micro-grafting)을 위해 접수용 품종의 성장점 배양을 통해 품종별 무병주를 확보한다. 접수용 품종은 현재 과수농가에서 많이 이용하는 후지 등 3품종을 이용하고, 접수의 증식은 1, 2년 차에 대목용 품종에서 기 개발된 조건을 이용하여 품종에 따라 수정 된 조건을 적용하여 품종별

배양조건을 최적화한다.

라. 4차년도

순화 시 생존율을 극대화하기 위해 광독립영양배양을 통한 순화용 무병종묘 육성 기술을 개발한다. 이를 통해 기내배양시 종속영양을 하던 기내배양묘를 독립영양이 가능한 상태로 변환시켜 순화시 묘 손실을 최소화 한다. 또한 배양시 접종밀도, 조건 등을 구명하여 균일묘 생산기술을 개발한다. 순화 전 대량증식묘는 flow cytometric-based nucleic DNA 분석을 수행하여 DNA 함량변이 발생 여부를 확인함으로써 변이주를 조기에 스크리닝 한다. 그리고 1~3차년도에 확보한 대목용 및 접수용 무병주를 이용하여 micro-grafting 기술을 개발하여 기내접목과 기외접목의 효율을 비교한다. 이를 통해 기내접목과 기외접목묘의 경제성을 비교 분석하여 효율이 높은 접목 기술을 선별한다.

마. 5차년도

기내배양을 통한 사과 무병종묘의 대규모 생산과 보급을 위한 기반기술을 시스템화하고 프로토콜화한다. 기 개발된 기술로 생산 된 무병종묘의 경제성분석을 통해 생산단가를 낮추는 방향으로 개발기술을 보정하고 이를 프로토콜화한다. 또한 우량 무병종묘를 관련 농가에 보급하고 개발된 기술은 각 관련 산업체에 기술이전을 통해 기술을 보급한다. 이렇게 완성된 생산기술들을 적용 할 첨단환경조절을 준공을 위해 시설 설계 및 구축을 한다.

○ 추진일정

연도	연구목표	추진일정											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1차년도	우량 왜성대목 및 우수형질의 품종 확보	■	■	■	■								
	물리, 화학적 조절을 통한 왜성대목 무병주 유도 기술 개발			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2차년도	Multiple-shoots 유도 및 기내발근 조건 최적화	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
	기내배양환경 조절을 통한 과수화 억제 조건 구명							■	■	■	■	■	■

조성 한 후 기존에 사용되어 온 수경재배 시스템을 수정 및 보완하여 기내 배양된 소식물체가 가장 잘 자랄 수 있는 재배 시스템을 선정한다.

나. 2차년도

순화와 발근 촉진에 있어서 중요한 지하부 환경요인인 수분, 산소 등의 물리적 환경을 제어하거나 화학적인 처리로서 적정 생장조절제와 농도를 선정하여 사용함으로써 사과 소식물체의 발근을 촉진시키는 지하부 환경 조절 기술을 개발한다.

다. 3차년도

지상부 환경요인인 온도, 습도 등을 조절하여 대목용 사과 소식물체의 순화를 향상시킬 수 있는 환경을 구명하고, 이와 더불어 광과 이산화탄소를 처리하여 발근 이후 생장을 촉진시킬 수 있는 환경 조절 기술을 개발한다.

라. 4차년도

기내 배양된 사과 접목묘 생산을 위하여 기내 배양된 접수용 사과 소식물체의 접수를 기외 삽목하였을 때 삽목율을 향상시킬 수 있는 환경조건을 확립하고, 1~3차년도의 결과를 통해 밝혀진 환경 조건을 토대로 기내 배양된 사과 대목에 기내 배양된 대목과 기내 배양된 접수용 사과 소식물체의 접수를 접목하는 유경 접목을 위한 환경조건을 구명한다.

마. 5차년도

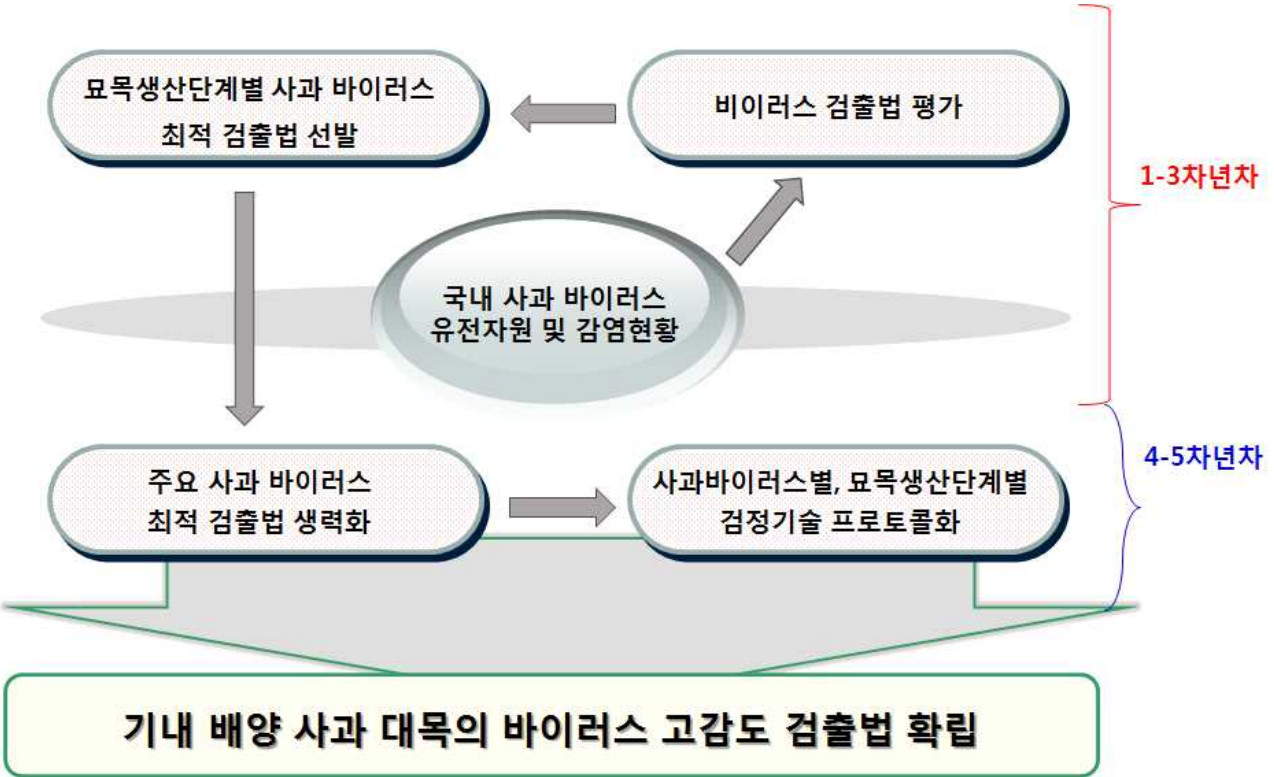
대규모 하드웨어를 구축하고 4차년도까지 개발된 기술을 도입하여 나오는 문제점을 추가적으로 보완하여 경제적으로 가능한 실질적인 기술을 구축하고 실제로 전방과 후방기술과 연결되었을 때 문제가 될 수 있는 부분을 해결하여 패키지화된 기술을 최종 확립한다.

○ 추진일정

연도	연구목표	추진일정											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1차년도	기내 배양 사과 대목의 기본 환경 조건 확립	■	■	■	■	■	■	■	■				
	기내 배양 사과 대목의 안정적인 순화 및 발근을 위한 재배 시스템 선정					■	■	■	■	■	■	■	■
2차년도	순화 및 발근 촉진을 위한 지하부 물리적 환경조건 구명	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	순화 및 발근 촉진을 위한 지하부 화학적 처리조건 구명										■	■	■

3차년도	순화 촉진을 위한 지상부 환경조건 구명	██████████
	생장 촉진을 위한 지상부 환경 조건 구명	████████████████████
4차년도	기내배양 사과 접수의 기외 삽목률 향상을 위한 환경조건 구명	████████████████████
	유경 접목을 위한 환경조건 구명	████████████████████
5차년도	기내배양 사과 소식물체의 대량 생산을 위한 대규모 시스템 구축	████████████████████
	전·후방 기술과의 유기적 연결을 위한 패키지 기술 개발	████████████████████

4. 제 4세부과제 : 사과무병종묘 바이러스 검정법 확립



가. 1차년도

충주, 예산, 안동 등 주요 사과 재배지에서 가지, 잎, 열매 등을 채집하여 바이러스를 검정하고 분리주를 확보한다. 사과의 주요 바이러스 중 시료로부터 분리주를 확보할 수 없는 것은 유전자 은행 등에 요청하여 유전자원을 확보한다. 한편으로는 국내에서 유통되고 있는 사과 묘목들을 무

작위로 구입 또는 대목생산업체로부터 분양받아 주요 바이러스의 감염현황을 조사한다. 1차년도의 연구와는 별도로, 확보한 분리주들을 증식기주에 증식시킨 후 미리 확보하여 재배 중인 여러 품종의 사과묘목들에 접종하여 다음연도의 연구에 대비한다.

나. 2차년도

증식기주에 대하여 ELISA와 PCR 등 대표적인 바이러스 검정법들의 효용성을 조사한다. 여기서 선발된 방법을 사용하여 1차년도에 접종해 놓은 사과 묘목들을 대상으로 바이러스를 검정하여 품종별로 검출감도의 변화를 확인한다. 또한, 본 연구의 2세부와 3세부에서 생산된 묘목들 및 협동기관에서 생산하여 시중에 공급하고 있는 묘목들을 대상으로 주요 바이러스를 검정하여 무독묘 생산율을 높이도록 한다. 또한 각 바이러스별로 가장 감염이 잘되며, 체내에서 바이러스의 증식도 활발한 사과 품종들을 선발하고 여기에 각 바이러스 접종하여 계속 유지하면서 각 단계의 연구에 사용한다. 감염된 개체들은 다른 바이러스의 추가 감염을 피하기 위하여 온실 내에서 망실에 재배하며 주기적으로 살충제를 처리하며 관리한다.

다. 3차년도

묘목 생산단계별로 사과 바이러스의 최적 검출법을 선별하기 위하여 2세부와 3세부에서 생산하고 있는 묘목들을 기내배양 상태, 발근단계, 순화단계, 육묘단계 등 생산 단계별로 제공받아 각 단계별로 바이러스를 검정하여 검출에 가장 적합한 시기를 찾아내며, 동시에 바이러스 감염률이 가장 높은 생육단계도 찾아내어 대책을 마련하도록 한다. 또한, 바이러스의 밀도를 조절하여 각 검출법별로 검출해낼 수 있는 한계치를 확인하여 비교한다.

라. 4차년도

단기간에 많은 양을 처리하여 현장에서 바로 사용할 수 있도록 바이러스 검출법의 생력화 방안을 도출하기 위하여 몇 가지 시도를 한다. 최적 검출법, 검출을 위한 최적 생육단계 등의 선발 결과에 따라 연구의 방향이 달라질 수 있겠지만, 현재로서는 가장 가능성이 높은 방법은 여러 프라이머를 동시에 사용하여 몇 가지 바이러스를 동시에 검출해 낼 수 있는 multiplex PCR이다. 이 방법은 현재 여러 병원체에 대하여 실용화 되어 있는 방법이며, 사과의 바이러스에 대해서도 일부 적용되고 있으므로 단점을 보완하면 실제로 현장에서도 사용 가능할 것으로 생각한다.

마. 5차년도

이전의 연구에서 밝혀진 결과들을 토대로 바이러스별로 최적의 검출법을 선발하고, 각 검출 단계와 방법들을 프로토콜화하여 고효율 검정법을 확립함으로써 바이러스 무독묘 생산의 효율을 높이는데 기여한다.

○ 추진일정

연도	연구목표	추진일정											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1차년도	채집 및 유전자은행 등을 통해 사과 바이러스 분리주 확보	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	국내 유통 사과 묘목의 바이러스 감염 현황 조사			■	■	■	■	■	■	■			
2차년도	주요 사과 바이러스에 대한 각 검출법 효율 탐색 및 사과 품종에 따른 바이러스 검출감도 변화 연구	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	사과 무병종묘에 발생하는 주요 사과 바이러스 감염 현황 조사						■	■	■	■	■	■	■
3차년도	검출법에 따른 주요 바이러스 검출 감도 및 속도 비교	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■		
	기내배양, 발근, 순화, 육묘 등 각 묘목생산단계별 바이러스 검출법 탐색						■	■	■	■	■	■	■
4차년도	단기간에 많은 양을 처리할 수 있도록 시스템 개선	■	■	■	■	■	■	■	■				
	multiplex PCR 방법 확립			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
5차년도	시설원에 활용 사과무병종묘 생산시스템에서 주요 바이러스 고효율검정법 확립	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
	주요 사과 바이러스별, 묘목 생산단계별 검정기술 프로토콜화												■

5. 제 1협동과제 : 사과무병종묘 최적 번식 및 유통 체계 모델화



가. 1차년도

접사를 동원한 접목과 접목 가위 또는 기계를 이용한 접목방식과의 비교 실험을 통해 안정적인 활착률과 인력 문제 해결방안을 모색하고 접목장소(제자리접, 들접)와 시설원예를 이용한 접목시기 변화에 따른 묘목의 생육변화를 분석한다.

나. 2차년도

사과무병묘를 저온저장고에 장기 보관하기 위한 안정적인 묘목 수확 시기, 저장 조건 방안 모색 및 저장 가능 기간을 구명한다.

다. 3차년도

1, 2차년도의 최적 조건에서 생산되는 사과무병묘의 등급을 규격화하고 시설재배용 사과포트묘의 포장 방법 및 운송 방법을 모색한다.

라. 4차년도

시설재배용 사과포트묘의 시범공급을 통한 유통 과정 중 문제점을 파악하고 농가의견을 반영하여 문제점을 개선한다.

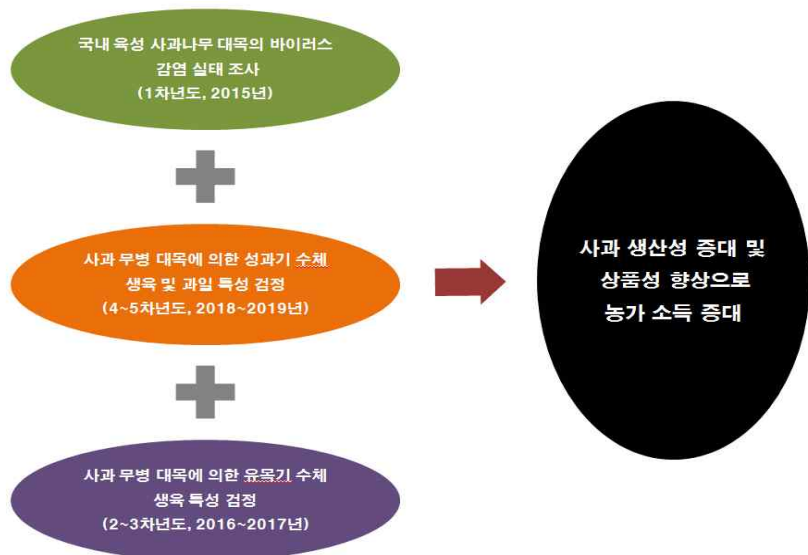
마. 5차년도

1, 2, 3, 4차년도의 결과를 바탕으로 사과무병종묘의 생산, 저장 및 유통의 최적 조건을 도출하고 사과무병묘의 대량 생산 공정 및 유통 체계를 모델화한다.

○ 추진일정

연도	연구목표	추진일정											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1차년도	사과무병종묘 생산을 위한 접목 방법선정												
	사과무병종묘 생산을 위한 접목 조건 및 시기 선정												
2차년도	사과무병종묘 최적 수확 시기 선정												
	사과무병종묘 저장 조건 및 기간 구명												
3차년도	사과무병종묘 등급의 규격화 방안 선정												
	사과포트묘의 포장 및 유통 방법 모색												
4차년도	유통과정의 문제점 파악 및 개선												
5차년도	사과무병종묘의 대량 생산 및 유통체계 모델화 확립												

6. 제 2협동과제 : 사과 바이러스 무병묘의 생육 단계별 특성검정



가. 1차년도

국내의 사과 묘목을 대량으로 취급하는 사업장을 파악하고 왜성 대목의 구입처, 생산량 및 판로 등의 현황을 조사한다. 또한, 각각의 구입한 대목에 대한 바이러스 종류별 감염정도 파악과 대목별 및 지역별 차이 여부를 확인한다. 총림과수묘목영농조합법인에서 생산한 무병 묘목을 식

재하고 관행재배하면서 주요 바이러스를 접종한다.

나. 2, 3차년도

무병 묘목과 바이러스를 접종한 사과 묘목과의 수관 생육량(수고, 신초장, 엽중 등) 비교 및 각 부위별(눈, 잎, 신초 등) 잠복 감염 바이러스의 발현을 조사한다.

다. 4, 5차년도

사과무병종묘와 바이러스를 접종한 사과 묘목에 착과를 시켜 수관 생육량 및 과일의 생산성과 상품성을 비교한다. 더불어 각 부위별 잠복 감염 바이러스 발현 분석에서 과일에 대한 분석을 추가하여 사과무병종묘의 현장 실증으로 완성도를 제고한다.

○ 추진일정

연도	연구목표	추진일정											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1차년도	사과 왜성 대목(M. 9 및 M. 26) 및 접수별 생산 및 유통 현황 조사												
	사과 왜성 대목 및 접수의 바이러스 감염률 조사												
	사과 바이러스 무병 묘목 식재 및 주요 바이러스 접종												
2차년도	사과나무 수관 부위별(눈, 결과지, 잎 등) 잠복 바이러스 발현 여부 조사												
	바이러스 접종 묘목과의 수체 생육량 비교												
3차년도	사과나무 수관 부위별(눈, 결과지, 잎 등) 잠복 감염 바이러스 발현 여부 조사												
	바이러스 접종 묘목과의 수체 생육량 비교												

4차년도	사과나무 수관 부위별(과일, 눈, 결과지, 잎 등) 잠복 감염 바이러스 발현 여부 조사	
	바이러스 접종 묘목과의 상품성 및 수량성 비교	
5차년도	- 사과나무 수관 부위별(과일, 눈, 결과지, 잎 등) 잠복 감염 바이러스 발현 여부 조사	
	- 바이러스 접종 묘목과의 상품성 및 수량성 비교	

제 4 절 연구내용

1. 제 1세부과제 : 사과무병종묘 변이검정용 마커 개발 및 시설내 안정증식 육묘법 개발

가. 사과무병종묘 변이검정용 마커 개발

(1) 연차별 연구내용

○ 1차년도

구분	연구목표	연구내용
1차년도	사과 다형성 마커 탐색	<ul style="list-style-type: none"> 문헌을 통해 사과 품종 판별에 사용된 마커를 선발 사과 유전자 지도 기반 염색체별 마커를 선발 각 마커들의 사과에서 다형성 평가를 수행함

○ 2차년도

구분	연구목표	연구내용
2차년도	사과 품종 동정을 위한 마커 탐색 및 선발	<ul style="list-style-type: none"> 사과 품종 동정을 위한 분자마커 선발 국내 주요 사과 품종의 품종 동정을 위한 분자마커를 선발함 대목(M.9, M.26), 접수(자홍, 홍로, 후지, 감홍 등)에 적용하여 다형성 평가 수행

○ 3차년도

구분	연구목표	연구내용
3차년도	사과 품종 특이적 마커 개발 및 genotyping 데이터 구축	<ul style="list-style-type: none"> 사과 품종 동정을 위한 분자마커 선발/적용 사과의 품종 특이적 마커의 genotyping 데이터 구축

○ 4차년도

구분	연구목표	연구내용
4차년도	분자마커를 사용한 육묘 변이 검정	<ul style="list-style-type: none"> 조직배양묘의 변이 확인을 위해 마커를 이용 genotyping 수행 및 변이 판별 품종 판별용 최소의 마커셋 구성

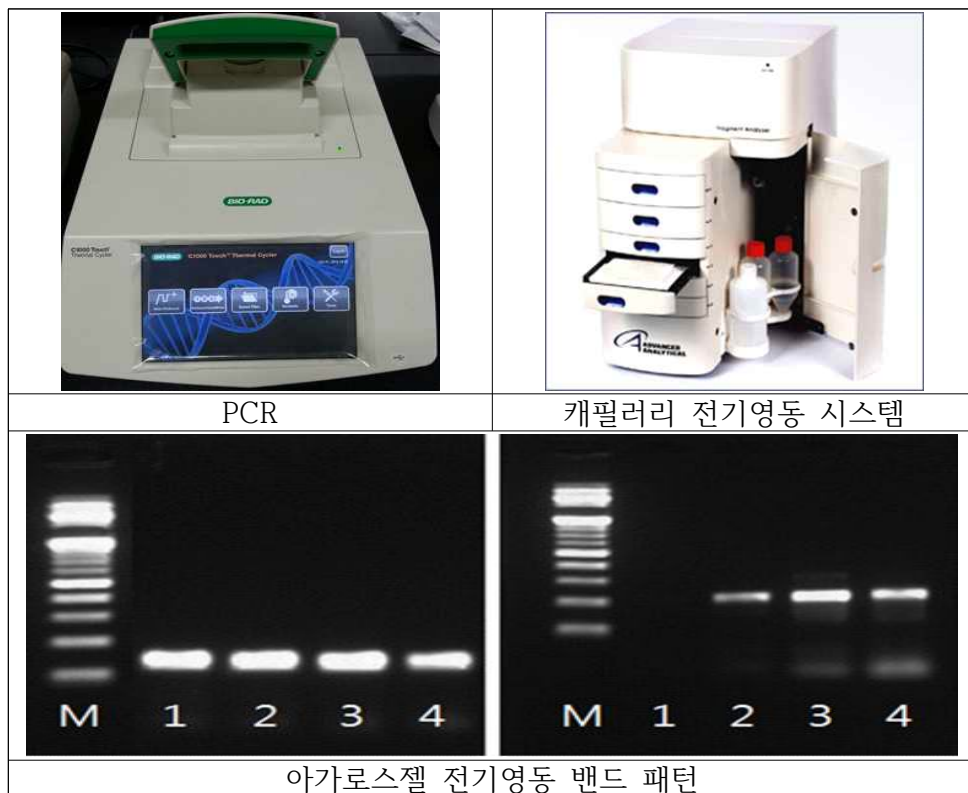
○ 5차년도

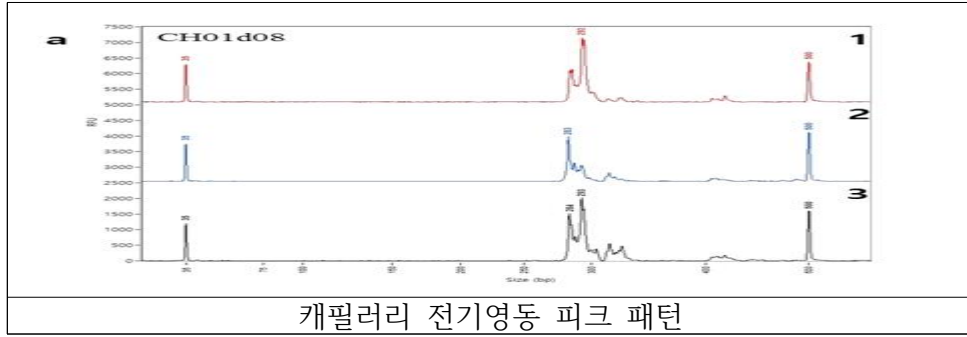
구분	연구목표	연구내용
5차년도	육묘 단계별 변이 확인을 위한 품종동정 시스템 구축	<ul style="list-style-type: none"> 육묘의 각 단계별 변이 확인을 위한 품종 동정 수행 품종 동정 시스템 구축

(2) 상세 연구내용

① 사과 다형성 마커 탐색

사과에서 적용 가능한 마커를 찾기 위해 기존의 보고된 문헌을 통해 마커를 탐색한다. 사과의 유전자 지도를 기반으로 17개의 염색체에 고르게 위치하고 있는 마커를 선발하여 염색체 전체를 커버할 수 있도록 한다. 홍로, 감홍 등 주요 사과 품종의 DNA를 Cetyl trimethyl ammonium bromide(CTAB)을 이용하여 추출하고, 탐색한 마커를 이용하여 PCR을 수행한다. PCR 산물은 1.5% 아가로스겔 전기영동을 통해 다형성을 보이는 마커를 1차로 선발한다. 1차 선발된 마커 중, 캐필러리 전기영동을 통해 2차 선발을 수행한다.





② 사과 품종 동정을 위한 분자마커 탐색 및 선발

1차년도에 마커 탐색을 계속적으로 수행하며, 대목(M.9, M.26), 접수(자홍, 홍로, 후지, 감홍 등)의 DNA 추출 후 PCR을 수행하고, 아가로스겔 전기영동과 캐필러리 전기영동을 통해 탐색된 분자마커 중 대목(M.9, M.26), 접수(자홍, 홍로, 후지, 감홍 등) 등에 적용하여 주요 사과품종의 동정을 위한 분자마커를 선발한다.

③ 사과 품종 특이적 분자마커 선발/적용 및 genotyping 데이터 구축

사과 품종 특이적 분자마커를 선발/적용을 계속해서 수행하고, 2차년도에 선발된 마커들을 이용하여 주요 사과 대목(M.9, M.26), 접수(자홍, 홍로, 후지, 감홍 등) 품종에 대해 PCR을 수행한 후, 아가로스겔 전기영동과 캐필러리 전기영동을 수행하며, 각 품종별 다형성을 가지는 마커들에 대한 genotyping 데이터를 구축하여 품종 판별용 마커를 선발한다.

④ 분자마커를 사용한 육묘 변이 검정

마커를 사용한 조직배양묘의 변이의 검정을 위해 3차년도까지 개발된 품종 특이적인 마커들을 이용한다. 조직배양묘의 DNA를 추출하고 PCR을 수행 후 캐필러리 전기영동을 통해 육묘에 대한 genotyping을 수행하고, 각 품종별로 구축된 genotyping 데이터와 비교하여 변이를 판별한다. 또한 품종판별을 위한 최소의 마커셋을 구성하여 변이검정의 효율성을 높인다.

⑤ 육묘 단계별 변이 확인을 위한 품종 동정 시스템 구축

4년차도까지 개발된 분자마커와 genotyping 데이터를 이용하여 사과 변이 확인을 위한 품종 동정 시스템을 구축한다. 육묘의 각 단계별로 샘플을 채취 후 DNA를 추출하고, 변이 확인을 위해 품종 판별을 위한 최소한 마커셋을 이용하여 품종 동정을 수행한다. 또한 품종 동정 시스템 구축 과정 중의 문제점을 파악하여 보완하고 실질적인 품종 동정 시스템의 구축을 확립한다.

나. 시설내 사과무병종묘 안정증식 및 육묘법 개발

(1) 연차별 연구내용

○ 1차년도

연도	연구목표	연구내용
1차년도	<ul style="list-style-type: none"> 조직배양하여 순화/발근된 사과무병대목 (M.9, M.26) 재배를 위한 포트 종류 선정 	<ul style="list-style-type: none"> 조직배양하여 생산된 사과무병대목의 포트재배를 위한 연구 사과무병대목 재배에 최적화된 포트의 종류 선정 망포트와 일반포트 재배 시 사과무병대목의 수체 생육 비교·분석
	<ul style="list-style-type: none"> 조직배양하여 순화/발근된 사과무병대목 (M.9, M.26) 재배를 위한 포트 용적 선정 	<ul style="list-style-type: none"> 사과무병대목의 수체 생육 및 유통에 최적화 된 포트 용적 선정 포트 용적에 따른 사과무병대목의 수체 생육 비교·분석

○ 2차년도

연도	연구목표	연구내용
2차년도	<ul style="list-style-type: none"> 접목을 실시하여 사과묘목을 재배하기 위한 포트의 종류 선정 	<ul style="list-style-type: none"> 사과묘목 포트재배를 위한 연구 사과묘목 재배에 최적화된 포트의 종류 선정 망포트와 일반포트 재배 시 사과무병대목의 수체 생육 비교·분석
	<ul style="list-style-type: none"> 접목을 실시하여 사과묘목을 재배하기 위한 포트의 용적 선정 	<ul style="list-style-type: none"> 사과묘목의 수체 생육 및 유통에 최적화 된 포트 용적 선정 포트 용적에 따른 사과묘목의 수체 생육 비교·분석

○ 3차년도

연도	연구목표	연구내용
3차년도	<ul style="list-style-type: none"> 포트 토양환경 조성에 따른 사과무병대목의 최적생육환경 개발 	<ul style="list-style-type: none"> 사과대목 포트 토양 환경 연구 포트 내 토양 조건에 따른 사과무병대목의 수체 생육 비교·분석
	<ul style="list-style-type: none"> 포트 토양환경 조성에 따른 사과무병종묘의 최적생육환경 개발 	<ul style="list-style-type: none"> 사과묘목 포트 토양 환경 연구 포트 내 토양 조건에 따른 사과무병묘목의 수체 생육 비교·분석

○ 4차년도

연도	연구목표	연구내용
4차년도	<ul style="list-style-type: none"> 실제 토양에 정식 후 기존사과종묘와 사과무병포트종묘의 생육차이 비교·분석 	<ul style="list-style-type: none"> 포트종묘의 특성조사 및 현장실증 기존사과종묘와 포트종묘의 수체 생육 비교·분석

○ 5차년도

연도	연구목표	연구내용
5차년도	<ul style="list-style-type: none"> 실제 토양에 정식 후 기존사과종묘와 사과무병포트종묘의 과실특성 비교·분석 	<ul style="list-style-type: none"> 기존사과종묘와 포트종묘의 과실 특성 비교·분석

(2) 상세 연구내용

① 시설재배용 사과무병대목 재배를 위한 포트의 종류 및 최적 용적 개발

1차년도에는 조직배양하여 생산된 사과무병대목(M.9, M.26)을 재배하기 위한 최적의 포트 종류 및 용적을 선정하는 연구를 실시한다. 재배용 포트의 종류는 고무포트, 비닐포트, 플라스틱 포트 등이 있으며, 이 중 고무포트는 단가가 높으며 무겁고, 비닐포트는 저렴하지만 쉽게 변형되고 관리하기가 불편하기 때문에 부적합하다고 판단된다. 플라스틱 포트의 종류에는 일반포트와 망포트가 있다. 따라서 일반포트와 망포트 두 종류의 포트에 사과무병대목을 재배하여 수체 생육을 비교·분석함으로써 최적의 포트종류와 용적을 선정한다.

	
망포트	일반포트

② 사과무병종묘 재배를 위한 포트의 종류 및 최적 용적 개발

2차년도에는 1차년도에 포트재배한 사과무병대목을 이용하여 접목을 실시한 후 묘목을 재배하기 위한 포트의 종류 및 용적을 선정하는 연구를 실시한다. 포트의 종류를 선정하는 연구방법은 1차년도와 같으며 용적은 측지묘 규격에 부합하는 묘목을 재배할 수 있을 정도로 설정하여 최적의 용적을 선정한다.

③ 사과무병대목과 사과무병종묘의 포트 최적 토양 환경 개발

3차년도에는 1, 2차년도의 연구를 통해 선정된 대목용/묘목재배용 포트를 이용한 재배 시 포트 내 토양 구성에 따른 수체의 생육을 비교·분석하는 연구를 실시한다. 피트모스와 펄라이트의 비율에 따른 수체의 생육을 일반적으로 노지 재배 시 사용되는 토양과 비교·분석함으로써 사과무병대목/묘목의 포트 재배를 위한 최적의 생육 환경을 개발한다.

④ 기존사과종묘와 사과무병포트종묘와의 생육 차이 구명

4차년도에는 완성된 사과무병포트종묘를 토양에 정식한 후 실증재배를 통하여 기존사과종묘와의 수체 생육을 비교·분석하는 연구를 실시함으로써 포트재배의 우수성을 검증한다.

⑤ 기존사과종묘와 사과무병포트종묘와의 과실 특성 차이 구명

5차년도에는 완성된 사과무병포트종묘를 토양에 정식한 후 실증재배를 통하여 기존사과종묘와의 과실 특성을 비교·분석하는 연구를 실시함으로써 포트재배의 우수성을 검증한다.

2. 제 2세부과제 : 사과 왜성대목 및 상업적품종 무병종묘 대량생산 기술 개발

가. 연차별 연구내용

○ 1차년도

구분	연구목표	연구내용
1차년도	지역산업체로부터 우량 왜성대목 및 우수형질의 품종 확보	<ul style="list-style-type: none"> 과수전문농원으로부터 우량 왜성대목 품종 확보: M9, M26
	물리, 화학적 조절을 통한 왜성대목 무병주 유도 기술 개발	<ul style="list-style-type: none"> 무병화율 증진 기술 개발 -고온처리, ribavirin 등 처리농도 및 시기 구명 대량증식을 위한 품종별 무병묘 확보

○ 2차년도

구분	연구목표	연구내용
2차년도	Multiple-shoots 유도 및 기내발근 조건 최적화	<ul style="list-style-type: none"> Multiple-shoots 유도 조건 구명 - 배지조건, PGRs, 광질 등 기내발근 유도
	기내배양환경 조절을 통한 과수화 억제 조건 구명	<ul style="list-style-type: none"> 과수화 억제 조건 구명 - 배양환경 조절 : 공중습도, 배지삼투압 조절 등

○ 3차년도

구분	연구목표	연구내용
3차년도	사과 무병종묘 생산용 생물반응기 시스템 개발	<ul style="list-style-type: none"> 1~5L 공기부양식 생물반응기를 이용한 효율적 배양체계 구축 배양 vessel 내 산소 투입양 조절을 통한 건전묘 획득율 증진
	Scale-up 대용량 생물반응기 시스템을 이용한 무병종묘 대량생산	<ul style="list-style-type: none"> 과수화(Hyperhydricity) 방지 억제를 통한 건전묘 획득율 증진
	접수용 품종의 무병주 유도 및 대량증식	<ul style="list-style-type: none"> 접수용 품종의 기내증식 조건 확립 - 접수용 품종(후지 외 2품종)

○ 4차년도

구분	연구목표	연구내용
4차년도	광독립영양배양을 통한 순화용 무병종묘 육성 기술개발	<ul style="list-style-type: none"> • 광독립영양생장이 가능한 우량묘 생산 • 플러그묘화를 위한 균일묘 생산기술 개발
	Flow cytometric-based nucleic DNA 함량 분석을 통한 건전묘 조기 스크리닝	<ul style="list-style-type: none"> • Flow cytometric-based nucleic DNA 분석을 통한 변이 확인
	무병 왜성대목과 접수를 이용한 micro-grafting 기술개발	<ul style="list-style-type: none"> • 기내접목 효율 증대 - 배지조건 확립, 배양환경 조절, 대목과 접수의 규격

○ 5차년도

구분	연구목표	연구내용
5차년도	첨단환경조절실 구축	<ul style="list-style-type: none"> • 기내배양묘의 독립영양배양 및 순화용 종묘 배양을 위한 첨단환경조절실 설계 및 구축
	사과 무병종묘 대량배양 시스템 및 기술 프로토콜화 확립	<ul style="list-style-type: none"> • 기 개발한 기내배양 기술의 프로토콜화
	우량 무병종묘의 농가보급 및 관련 지역산업체에 기술보급	<ul style="list-style-type: none"> • 우량 무병종묘 농가보급 • 무병주 유도 및 생산 기술 교육과 기술이전

나. 상세 연구내용

(1) 사과 대목 품종별 성장점배양을 통한 효율적 무병종묘 유도체계 확립

지역산업체로부터 우량 왜성대목 및 우수형질의 품종 M.9과 M.26을 확보한다. 그 후 물리적, 화학적 조절을 통해 사과 왜성대목 무병종묘 생산 기술을 개발한다. 무병종묘는 성장점 배양을 통해 생산하며, 이때 물리적 처리로서는 고온을 이용하여 무병화율을 증대시킨다. 무병화율을 증가시키기 위한 화학적 처리로는 ribavirin을 농도별로 처리시기를 달리하여 처리한다. 이를 통해 대량증식을 위한 사과 대목용 품종별 무병묘를 확보한다.

(2) 배양단계별 품종별 증식조건 최적화 및 시스템화

사과 대목용 신초의 배양단계별 최적화 배양조건을 구명하고 시스템화를 이룬다. 신초의 배양 단계 중 첫 번째로 multiple-shoot를 유도하는 단계에서는 배지의 조건과 PGRs, 광질 등을 처리하여 최대로 multiple-shoot를 유도할 수 있는 조건을 확립한다. 다음 단계는 기내발근을 유도하여 기내배양체의 성장을 촉진하는 단계이다. 이때, PGRs의 종류별 농도별 처리를 통해 사과 무병종묘의 최대의 성장을 촉진한다. 기내배양에서 파생하는 심각한 문제점인 과수화(Hyperhydricity)현상은 배양체의 증식효율성을 및 기외 순화율을 감소시키는 원인이 된다. 따라서 배지 내 적정 gelrite의 농도와 광도의 구멍을 통해 과수화 현상을 억제한다. 그 후, 무병종묘를 획득하기 위한 성장점 배양과 신초증식 및 종묘의 대량증식 단계별로 배양시스템을 구축한다.

(3) 대용량 생물반응기를 이용한 무병종묘 대량생산 시스템 개발

1~5L 공기부양식 생물반응기를 이용한 효율적 배양체계를 구축하여 무병종묘의 대량생산 시스템을 개발한다. 따라서 생물반응기 배양에 적합한 배지조건과 PGRs를 구명하고 배양 vessel 내 산소 투입량을 조절하여 생장이 활발한 건전묘의 획득률을 증진시킨다. 그 후, scale-up 대용량 생물반응기 시스템을 이용하여 무병종묘의 대량생산 시스템을 개발한다. 이 때, 과수화 방지를 억제하여 건전묘의 획득률을 증진시킨다. 이와 동시에 4차년도에 수행할 기내접목을 위한 접수용 무병종묘 증식 기술을 개발한다. 접수용 무병종묘의 생산 기술은 대목용 무병종묘의 생산 기술을 이용하여 확립하며 접수용 품종은 현재 산업체에서 많이 이용 중인 후지 외 2품종을 이용한다.

(4) 광독립영양배양을 통한 순화용 무병종묘 육성 기술개발

순화 시 생존율을 증가시키기 위한 광독립영양배양을 수행한다. 이를 통해 광독립영양생장이 가능한 우량묘 생산이 가능하다. 또한 순화 시 작업의 편리성을 위해 플러그묘화를 통한 균일묘 생산기술을 개발한다. 그 후, flow cytometric-based nucleic DNA 분석을 수행하여 변이 발생 여부를 확인하고 건전묘를 조기에 스크리닝한다. 그리고 1~3차년도에 확보한 대목용 무병주묘와 접수용 무병주묘를 이용하여 micro-grafting 기술을 개발하고 재배용 사과 무병주묘를 생산한다. 접목 활착율을 증가시키기 위하여 배지조건을 확립하고 습도 및 광도 등의 배양환경을 조절한다. 또한 대목과 접수의 규격을 조절하여 micro-grafting 기술을 확립한다.

(5) 기내배양을 통한 사과 무병종묘의 대규모 생산과 보급을 위한 기반기술 시스템화

기내배양 사과 무병주의 대규모 생산과 보급을 위한 생산 기술 프로토콜화를 확립한다. 먼저, 기내접목묘와 기외접목묘의 경제성을 비교 분석하여 효율이 높은 접목 기술을 선정한다. 그리고 1~4년차 동안 개발한 기내배양 기술 및 기내접목 기술의 프로토콜을 확립하여 우량 무병종묘의 생산방법을 농가에 보급하고 지역산업체에 기술이전을 수행한다.

3. 제 3세부과제 : 기내 배양 사과 무병종묘 대량 생산을 위한 환경조절 기술 개발

가. 연차별 연구내용

○ 1차년도

구분	연구목표	연구내용
1차년도	기내 배양 사과 대목의 적정 기본 환경 조건 확립	<ul style="list-style-type: none"> • 대목 소식물체의 기본적인 재배 환경조건 구명 - 순화에 사용되는 기본 환경 정보 조사 : 온도, 습도, 광조건 - 사과 대목용 소식물체(M.9, M.26) 전용 양액개발 ✓ 기존 몇 가지 양액에서 재배 ✓ 소식물체의 이온 분석을 통해 각 원소별 비율 및 전체 농도(EC) 규명 후 최종 전용 양액 개발 - 측정항목 : 무기이온농도, 성장 특성

1차년도	기내 배양 사과 대목의 안정적인 순화 및 발근을 위한 재배 시스템 선정	<ul style="list-style-type: none"> • 대목 소식물체의 수경 재배시스템 선정 - 처리 : 배지경, 순수수경 등 - 사용 배지 : 암면, 스펀지, 압축상토, 피트모스+ 펄라이트 - 순수수경 : DFT, NFT - 측정항목 : 생장 특성
------	---	--

○ 2차년도

구분	연구목표	연구내용
2차년도	순화 및 발근 촉진을 위한 지하부 물리적 환경조건 구명	<ul style="list-style-type: none"> • 대목의 순화 및 발근촉진을 위한 물리적 환경 조절 - 처리 : 배지 수분함수율, 양액의 용존 산소량(마이크로버블) - 측정항목 : 뿌리 호흡률, 발근율, 근수, 근장, 순화율
	순화 및 발근 촉진을 위한 지하부 화학적 처리조건 구명	<ul style="list-style-type: none"> • 대목의 순화 및 발근촉진을 위한 화학적 처리 - 처리 : 옥신류, 페놀물질, 기타 생장조절제 - 측정항목 : 발근율, 근수, 근장, 순화율

○ 3차년도

구분	연구목표	연구내용
3차년도	순화 촉진을 위한 지상부 환경조건 구명	<ul style="list-style-type: none"> • 대목의 순화 촉진을 위한 지상부 환경 조건 - 처리 : 온도(15~25°C), 습도(60~95%) - 측정항목 : 광합성률, 생장특성, 엽록소 형광, 순화율
	생장 촉진을 위한 지상부 환경조건 구명	<ul style="list-style-type: none"> • 대목의 생장 촉진을 위한 지상부 환경 조건 - 처리 : 광(광도, 광질), 이산화탄소 - 측정항목 : 광합성률, 생장특성, 엽록소 형광

○ 4차년도

구분	연구목표	연구내용
4차년도	기내 배양 사과 접수의 기외 삽목률 향상을 위한 환경조건 구명	<ul style="list-style-type: none"> • 기내 배양 사과 접수의 기외 삽목률 향상을 위한 환경 조건 - 처리 : 1~3차년도 대목의 결과를 토대로 처리 조건 결정(물리적 처리조건, 화학적 처리조건) - 측정항목 : 광합성률, 생장특성, 발근율, 근수, 근장

4차년도	유경 접목을 위한 환경조건 구명	<ul style="list-style-type: none"> • 기내 배양된 사과 대목과 접수의 유경접목을 위한 환경 조건 - 처리 : 1~3차년도 대목의 결과를 토대로 처리 조건 결정(온도, 습도) - 측정항목 : 접목률, 성장특성, 광합성율, 엽록소 형광
------	-------------------	--

○ 5차년도

구분	연구목표	연구내용
5차년도	기내배양 사과 소식물체의 대량 생산을 위한 대규모 시스템 구축	<ul style="list-style-type: none"> • 향후 무병종묘의 대량생산을 위한 기내배양 소 식물체의 대규모 하드웨어 구축 - 배양실과 순화실이 연동된 생산 시스템 구축 - 최종 프로토콜을 적용하여 사과 소식물체의 대량생산 • 대량의 기내배양 소식물체를 순화 및 발근 시킬 때 발생하는 문제점 발견 및 해결 기술 개발
	전·후방 기술과의 유기적 연결을 위한 패키지 기술 개발	<ul style="list-style-type: none"> • 최종 결과와 전·후방 공정의 결과를 토대로 한 특화된 재배 패키지 기술 구축 • 인건비 절감 또는 공정효율의 증대 확인

나. 상세 연구내용

(1) 대목용 기내배양 사과 소식물체를 위한 기본 재배조건 확립 및 재배시스템 선정

대목용 기내배양 사과 소식물체(M.9, M.26)를 재배하기 위한 기본적인 재배조건을 확립하고 시스템을 선정을 위한 실험을 진행한다. 사과 소식물체의 재배를 위한 기본적인 재배 환경조건을 구명하기 위하여 먼저, 순화에 사용되는 기본적인 환경 요인들(온도, 습도, 광)에 대한 기존 정보를 조사한 후 이를 재배 환경에 적용한다. 이후, 대목용 기내배양 사과 소식물체의 전용 양액을 개발을 위하여 기존의 몇 가지 양액처방으로 사과 소식물체를 재배하고 이중 생장이 가장 좋은 처리구의 식물체를 채취하여 무기이온을 분석한다. 식물체의 무기이온농도를 분석한 뒤 각 원소 별 비율 및 전체 농도를 규명하여 최종적으로 전용 양액을 개발한다. 기본적인 재배조건이 확립된 후, 기내에서 배양된 대목용 사과 소식물체가 잘 자랄 수 있는 적정재배 시스템을 조성하기 위해 사과 소식물체를 배지경과 순수수경 2가지 방식으로 옮겨 재배한다. 배지경은 암면, 스펀지, 압축상토, 피트모스+펄라이트(4종류), 순수수경은 DFT(담액식 수경재배), NFT(박막식 수경재배)(2종류)로 나누어져 있으며, 두 가지 재배 방식으로 사과 소식물체를 각각 재배하고 그에 따른 성장 특성의 결과를 토대로 재배 시스템을 선정한다.

(2) 대목용 기내배양 사과 소식물체의 순화 및 발근 촉진을 위한 지하부 환경제어 기술 개발
대목용 기내배양 사과 소식물체(M.9, M.26)의 순화 및 발근 촉진을 위한 지하부 환경 조건을

구명하기 위한 실험을 진행한다. 순화 및 발근 촉진을 위한 처리는 물리적 처리와 화학적 처리 두 가지로 나눌 수 있는데 먼저, 물리적인 요인으로써 배지의 수분 함수율, 양액의 용존 산소량(마이크로버블처리)의 함량을 다르게 처리한 후 호흡률, 발근율, 근수, 근장, 순화율 등을 측정하여 사과 소식물체의 발근이 향상될 수 있는 환경 조건을 구명한다. 물리적 처리 이외에, 지하부에 발근 촉진 및 수세 조절을 위한 생장조절제를 이용한 화학적 처리를 통해 대목의 순화 및 발근을 촉진시키기 위한 조건을 찾는다. 여기에서는 발근을 촉진시키는 옥신류를 농도별로 처리하거나, 증산을 억제시켜 지하부의 발달을 촉진시키는 페놀물질 또는 기타생장조절제를 농도별 그리고 혼합하여 처리하고 기본적인 지하부 생육 지표로써 발근율, 근수, 근장, 순화율 등을 측정하여 순화 및 발근이 가장 잘되는 화학적 처리 조건을 구명한다. 최종적으로 물리적, 화학적 처리를 조합하여 가장 좋은 조건을 구명한다.

(3) 대목용 기내배양 사과 소식물체의 순화 및 생장 촉진을 위한 지상부 환경제어 기술 개발
대목용 기내배양 사과 소식물체(M.9, M.26)의 순화 및 생장 촉진을 위한 지상부 환경 조건을 구명하는 실험을 진행한다. 1, 2차년도에서 구명된 기본적인 재배 환경 조건과 지하부 환경 조건을 바탕으로, 순화를 촉진 시키고 광합성 증진을 통한 소식물체의 생장을 촉진시킬 수 있는 지상부 환경 조건을 3차년도에 세부적으로 구명하기 위한 실험을 진행한다. 먼저, 순화에 가장 큰 영향을 주는 요인인 온도와 습도를 단계별로 기내배양 된 사과 소식물체에 처리하였을 때의 광합성률을 측정하고, 그에 따른 생장특성과 엽록소 형광, 순화율 등을 측정하여 순화를 촉진시킬 수 있는 지상부 환경조건을 구명한다. 이후 지상부 생장을 촉진시키기 위한 환경 조건을 구명하기 위하여, 지상부 생육에 가장 영향을 미치는 광(광도, 광질) 그리고 이산화탄소를 다르게 처리하여 광합성률, 생장특성, 엽록소형광 등을 측정하여 생장을 촉진시킬 수 있는 지상부 환경조건을 구명한다.

(4) 기내배양 사과 접목묘 생산을 위한 환경제어 기술 개발
1~3년차의 대목이외에도, 접수(3품종)를 도입하여 기내배양 사과 접목묘 생산을 위한 환경 조건을 구명하기 위한 실험을 진행한다. 기내 배양된 사과 접수를 기외 삽목하여 삽목된 삽수의 발근율을 향상시키고, 균일한 삽목묘를 생산해 내기 위한 환경 조건을 구명하는 실험을 진행한다. 접수의 기외 삽목을 향상을 위해 1~3차년도에서 진행되었던 대목의 순화와 발근 촉진을 위한 환경 조건 결과를 토대로 몇 가지 처리 조건을 선정하여 실험한 후 최적 조건을 광합성률, 생장특성, 발근율, 근수, 근장 등을 측정하여 결정한다. 또한 1~3년차에 구명된 환경 조건에서 순화되고 발근된 대목에 기내배양 된 접수를 접목하는 유경접목을 위한 환경조건을 구명하는 실험을 진행한다.

(5) 기내배양 사과 소식물체의 안정적인 묘 생산을 위한 대규모 하드웨어 구축 및 패키지 기술 개발
4차년도까지 개발된 기술을 도입하여 기내배양 사과 소식물체의 안정적인 묘 생산을 위한 대규모 하드웨어 구축 및 패키지 기술 개발을 위한 실증실험을 진행한다. 향후 무병종묘의 대량생산을 위한 기내배양 사과 소식물체의 순화 및 발근을 촉진을 위한 특화된 대규모 시스템(배양실과 순화실이 연동된 생산시스템)을 구축하고, 최종적인 환경제어 프로토콜을 적용하여 사과 소식물체를 대량생산한다. 대규모 시스템으로 옮겨 4차년도까지 개발된 기술을

도입하여 사과 소식물체를 재배하였을 때 나오는 문제점을 추가적으로 보완하여 해결 기술을 개발한다. 마지막으로 전·후방 기술 공정의 결과를 토대로 특화된 재배 패키지 기술을 구축하고 인건비 절감 또는 공정효율의 증대를 확인하는 등의 과정을 통하여 경제적으로 가능한 실질적인 기술을 확립한다.

4. 제 4세부과제 : 사과무병종묘 바이러스 검정법 확립

가. 연차별 연구내용

○ 1차년도

구분	연구목표	연구내용
1차년도	채집 및 유전자은행 등을 통해 사과 바이러스 분리주 확보	<ul style="list-style-type: none"> • 주요 사과 재배지 선정 및 바이러스 검정 시료 채집 • 주요 사과 바이러스 검정 및 분리 • 분리주 유지 • 유전자은행으로부터 미확보 사과 바이러스 유전자원 추가 확보
	국내 유통 사과 묘목의 바이러스 감염 현황 조사	<ul style="list-style-type: none"> • 시중에 유통되는 사과 묘목 무작위 구입 또는 묘목생산업체로부터 분양 • 사과 주요 바이러스 검정

○ 2차년도

구분	연구목표	연구내용
2차년도	주요 사과 바이러스에 대한 각 검출법 효율 탐색 및 사과 품종에 따른 바이러스 검출감도 변화 연구	<ul style="list-style-type: none"> • ELISA와 PCR의 감도 및 경제성 비교 • 사과 품종별 바이러스 접종 및 검출 • 품종별 바이러스에 대한 반응 조사
	사과 무병대목에 발생하는 주요 사과 바이러스 감염 현황 조사	<ul style="list-style-type: none"> • 다른 세부과제로부터의 기내배양 또는 생산 무병대목 확보 • 바이러스 검정

○ 3차년도

구분	연구목표	연구내용
3차년도	검출법에 따른 주요 바이러스 검출 감도 및 속도 비교	<ul style="list-style-type: none"> • ELISA와 PCR의 dilution end point 탐색 • in vivo 검출률 비교 • 단위 시료별 검정 시간 비교

3차년도	기내배양, 발근, 순화, 육묘 등 각 묘목생산단계별 바이러스 검출법 탐색	<ul style="list-style-type: none"> • 다른 세부과제로부터 발근, 순화 등 각 생산단계의 무병대목 확보 • 위에서 선발한 최적 검출법을 이용한 바이러스의 검정 • 바이러스 검정 최적 단계 선발 및 생육단계별 바이러스 감염률 확인
------	--	---

○ 4차년도

구분	연구목표	연구내용
4차년도	사과 바이러스 oligonucleotide chip의 특이성 검정	<ul style="list-style-type: none"> • 사과 바이러스의 진단용 칩 검정 조건 확립 • 사과 바이러스 정밀진단 검정조건 확립 및 응용성 검증
	multiplex PCR 방법 확립	<ul style="list-style-type: none"> • 동시에 사용할 수 있는 primer set 선발 • 적정 PCR 조건 탐색

○ 5차년도

구분	연구목표	연구내용
5차년도	시설원에 활용 사과무병종묘 생산시스템에서 주요 바이러스 고효율검정법 확립	<ul style="list-style-type: none"> • 최적 생육단계에서 최적 검정법으로 바이러스 검출 확인 및 개선요인 탐색
	주요 사과 바이러스별, 묘목 생산단계별 검정기술 프로토콜화	<ul style="list-style-type: none"> • 주요 바이러스별로 검정의 시작부터 결과 해석까지 프로토콜 작성

나. 상세 연구내용

(1) 우리나라 사과 바이러스 유전자원 및 감염현황 조사

충주, 예산, 안동 등 주요 사과 재배지에서 가지, 잎, 열매 등을 채집하여 바이러스를 검정하고 분리주를 확보한다. 사과의 주요 바이러스 중 시료로부터 분리주를 확보할 수 없는 것은 유전자은행 등에 요청하여 유전자원을 확보한다. 한편으로는 국내에서 유통되고 있는 사과 묘목들을 무작위로 구입 또는 대목생산업체로부터 분양받아 주요 바이러스의 감염현황을 조사한다. 1차년도의 연구와는 별도로, 확보한 분리주들을 증식기주에 증식시킨 후 미리 확보하여 재배 중인 여러 품종의 사과묘목들에 접종하여 다음연도의 연구에 대비한다.

(2) 바이러스 검출법 평가

증식기주에 대하여 ELISA와 PCR 등 대표적인 바이러스 검정법들의 효용성을 조사한다. 여기서 선발된 방법을 사용하여 1차년도에 접종해 놓은 사과 묘목들을 대상으로 바이러스를 검정하여 품종별로 검출감도의 변화를 확인한다. 또한, 본 연구의 1세부와 2세부에서 생산된 묘목들 및 협동기관에서 생산하여 시중에 공급하고 있는 묘목들을 대상으로 주요 바이러스를 검정하여 무

독묘 생산율을 높이도록 한다. 또한 각 바이러스별로 가장 감염이 잘되며, 체내에서 바이러스의 증식도 활발한 사과 품종들을 선발하고 여기에 각 바이러스 접종하여 계속 유지하면서 각 단계의 연구에 사용한다. 감염된 개체들은 다른 바이러스의 추가 감염을 피하기 위하여 온실 내에서 망실에 재배하며 주기적으로 살충제를 처리하며 관리한다.

(3) 주요 사과 바이러스 및 묘목생산단계별 최적 검출법 선정

묘목 생산단계별로 사과 바이러스의 최적 검출법을 선발하기 위하여 1세부와 2세부에서 생산하고 있는 묘목들을 기내배양 상태, 발근단계, 순화단계, 육묘단계 등 생산 단계별로 제공받아 각 단계별로 바이러스를 검정하여 검출에 가장 적합한 시기를 찾아내며, 동시에 바이러스 감염률이 가장 높은 생육단계도 찾아내어 대책을 마련하도록 한다. 또한, 바이러스의 밀도를 조절하여 각 검출법별로 검출해낼 수 있는 한계치를 확인하여 비교한다.

(4) 주요 사과 바이러스 최적 검출법 생력화 연구

단기간에 많은 양을 처리하여 현장에서 바로 사용할 수 있도록 바이러스 검출법의 생력화 방안을 도출하기 위하여 몇 가지 시도를 한다. 최적 검출법, 검출을 위한 최적 생육단계 등의 선발 결과에 따라 연구의 방향이 달라질 수 있겠지만, 현재로서는 가장 가능성이 높은 방법은 여러 프라이머를 동시에 사용하여 몇 가지 바이러스를 동시에 검출해 낼 수 있는 multiplex PCR이다. 이 방법은 현재 여러 병원체에 대하여 실용화 되어 있는 방법이며, 사과의 바이러스에 대해서도 일부 적용되고 있으므로 단점을 보완하면 실제로 현장에서도 사용 가능할 것으로 생각한다.

(5) 주요 사과 바이러스별, 묘목 생산단계별 검정기술 프로토콜화

이전의 연구에서 밝혀진 결과들을 토대로 바이러스별로 최적의 검출법을 선발하고, 각 검출 단계와 방법들을 프로토콜화하여 고효율 검정법을 확립함으로써 바이러스 무독묘 생산의 효율을 높이는데 기여한다.

5. 제 1협동과제 : 사과무병종묘 최적 번식 및 유통 체계 모델화

가. 연차별 연구내용

○ 1차년도

연도	연구목표	연구내용
1차년도	• 사과무병종묘 최적 번식 방법 개발	• 사과무병종묘의 접목 방법 및 접목 시기의 비교 실험을 통해 최적 접목 방법 모색

○ 2차년도

연도	연구목표	연구내용
2차년도	• 사과무병종묘 저장 조건 개발	• 사과무병종묘의 저온 저장을 위한 저장 조건 및 저장 기간 구명

○ 3차년도

연도	연구목표	연구내용
3차년도	• 사과무병종묘 등급 규격화 및 유통체계 개발	• 사과 묘목 등급 규격화 및 사과포트묘 포장·운송 방법 개발

○ 4차년도

연도	연구목표	연구내용
4차년도	• 사과무병종묘 유통 과정 중 문제점 피드백 및 개선	• 사과포트묘 시범공급을 통한 유통 과정 중 문제점 파악 • 농가의견을 수렴하여 문제점 개선

○ 5차년도

연도	연구목표	연구내용
5차년도	• 사과무병종묘 대량생산 및 유통 체계 모델화 확립	• 사과무병종묘의 대량생산 실시 • 3, 4차년도에 개발된 유통체계 모델화

나. 상세 연구내용

(1) 사과무병종묘 최적 번식 방법 개발

① 접목방법

사과 묘목은 접목을 이용하여 번식을 하며 일반적인 접목전문가를 동원한 접목방식과 접목가위 또는 기계를 이용한 접목방식과의 비교 실험을 통해 안정적인 활착률과 인력 문제의 해결 방안을 모색한다.

② 접목장소

접목을 실시하는 장소에 따라 제자리접(Field working; 대목을 포장에 심어둔 채 접목하는 방법)과 들접(Indoor working; 대목을 포장에서 캐내어 실내에서 접목하는 방법)으로 나눌 수 있다. 현재 대부분의 경우 포장에 대목을 재식한 후 접사가 접목을 하는 제자리접을 이용하고 있으며 하우스 시설 내에서 들접을 이용하는 방법과의 비교실험을 통해 접목 활착률 및 균일도 제고 방안을 모색한다.

③ 접목시기

접목 시기는 보통 3월 하순~4월 상순에 하는 것이 일반적이거나 시설을 이용한 접목시기를 앞당기게 되면 묘목의 생육기간이 늘어나 우량묘목을 생산하는데 효과적이라 생각되며 접목 시기에 따른 수체 생육 및 균일도를 비교·분석한다.



그림1. 접사 제자리접 모습



그림2. 접목 완료 모습



그림3. 접목가위



그림4. 접목가위를 이용한 접목

(2) 사과무병종묘 저장 조건 개발

사과 묘목의 수확은 일반적으로 3월 상순에 실시하나 최근 지구온난화로 인한 기후변화로 이른 봄(2월 하순 경) 묘포장에서 묘목이 동해를 입는 경우가 발생하고 있다. 따라서 11월 낙엽 후에 묘목을 수확하여 저온저장고에 보관한 후 3월 하순~4월 상순에 농가에 공급하는 시스템이 필요하며 실험을 통하여 안정적인 묘목 수확 시기, 저장 조건, 저장 가능 기간을 구명한다.



그림5. 묘목 굴취 전 낙엽진 모습



그림5. 묘목 굴취 모습



그림6. 묘목보관용 저온저장고 외부



그림7. 묘목보관용 저온저장고 내부



그림8. 묘목 저장 모습



그림9. 묘목 저장 모습

(3) 사과무병종묘 등급 규격화 및 유통체계 개발

1, 2차년도에 최적 조건에서 생산되는 사과무병종묘는 기존의 사과 묘목과 다르게 사과무병종묘의 균일화를 통한 등급의 규격화가 가능하고 시설재배용 포트의 이용에 따른 새로운 사과포트묘의 포장 방법 및 운송 방법을 개발한다.



그림10. 묘목 등급별 표시



그림11. 묘목 재배용 포트

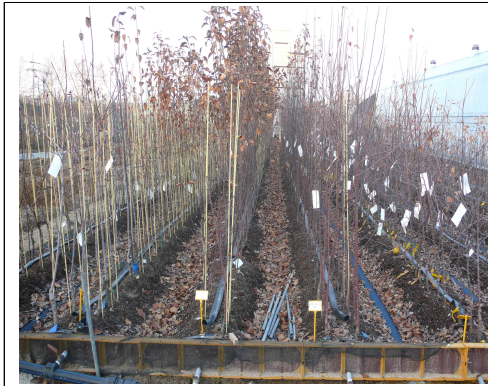


그림12. 포트를 이용한 재배



그림13. 포트를 이용한 재배

(4) 사과무병종묘 유통 과정 중 문제점 피드백 및 개선

사과무병종묘의 생산 및 시범공급을 통한 유통 과정 중 문제점을 파악하고 농가의견을 반영하여 문제점을 개선한다.

(5) 사과무병종묘 대량생산 및 유통체계 모델화 확립

1, 2, 3, 4차년도의 결과를 바탕으로 사과무병종묘의 생산, 저장 및 유통의 최적 조건을 도출하고 사과무병묘의 대량 생산 공정 및 유통 체계를 모델화한다.

6. 제 2협동과제 : 사과 바이러스 무병묘의 생육 단계별 특성검정

가. 연차별 연구내용

○ 1차년도

구분	연구목표	연구내용
1차년도	- 사과 왜성 대목(M.9 및 M.26) 및 접수별 생산 및 유통 현황 조사	<ul style="list-style-type: none"> • 대목종류 : M.9, M.26 • 접수종류 : 홍로, 후지 등 • 조사내용 : 구입처, 자가증식 여부, 연간 생산량, 사업기간 등
	- 사과 왜성 대목 및 접수의 바이러스 감염률 조사	<ul style="list-style-type: none"> • 시중 유통 묘목의 바이러스 감염정도 조사 • 조사내용 : 대목, 접수 및 지역별 바이러스 감염률 차이 등
	- 사과 바이러스 무병 묘목 식재 및 주요 바이러스 접종	<ul style="list-style-type: none"> • 무병 대목 : M.9, M.26 • 무병 접수 : 홍로(자홍), 후지 • 주요 사과바이러스 종류별 접종

○ 2차 및 3차년도

구분	연구목표	연구내용
2차년도 및 3차년도	- 사과나무 수관 부위별(눈, 결과지, 잎 등) 잠복 바이러스 발현 여부 조사	<ul style="list-style-type: none"> • 사과나무 무병 대목에 접목한 묘목의 유목기 수관 부위별 잠복 감염 바이러스 발현 여부 조사 • 조사내용 : 수관 부위별(눈, 잎 등) 바이러스 검정
	- 바이러스 접종 묘목과의 수체 생육량 비교	<ul style="list-style-type: none"> • 무병 대목에 접목한 묘목과 바이러스 접종한 묘목과의 수체 생육량 비교 • 조사내용 : 수관 생육량(엽면적, 신초장) 차이 검정

○ 4차 및 5차년도

구분	연구목표	연구내용
4차년도 및 5차년도	- 사과나무 수관 부위별(과일, 눈, 결과지, 잎 등) 잠복 바이러스 발현 여부 조사	<ul style="list-style-type: none"> • 사과나무 무병 대목에 접목한 묘목의 성과기 수관 부위별 잠복 감염 바이러스 발현 여부 조사 • 조사내용 : 수관 부위별(과일, 눈, 잎, 결과지 등) 바이러스 검정
	- 바이러스 접종 묘목과의 상품성 및 수량성 비교	<ul style="list-style-type: none"> • 무병 대목에 접목한 묘목과 바이러스 접종한 묘목과의 수체 생육량 비교 • 조사내용 : 수관 생육량 및 과일 생산량과 상품성 차이를 검정

나. 상세 연구내용

(1) 국내 유통 사과나무 대목의 바이러스 감염 실태 조사

① 사과 왜성 대목 및 접수별 생산 및 유통 현황 조사

국내에 유통되고 있는 사과 묘목의 대목(M.9 및 M.26)에 대한 원종 구입처, 보급종의 자가증식 여부, 연간 대목 생산량, 묘목 사업 시작년도 등 국내 주요 사과 묘목 또는 대목 생산업체의 현황을 조사한다.

② 사과 왜성 대목 및 접수의 바이러스 감염률 조사

국내 주요 사과 묘목 또는 대목 생산업체에서 구입한 대목에 대해 대목 종류별, 지역별, 바이러스 종류별 감염정도를 파악하여 국내 유통 사과 묘목 중 대목의 바이러스 감염 실태를 분석한다.

③ 사과 바이러스 무병 묘목 식재 및 주요 바이러스 접종

총림과수묘목영농조합법인에서 생산한 사과 무병 묘목(M.9 자홍, M.26 자홍, M.9 후지, M.26 후지)에 대해 관행재배를 하고 주요 사과바이러스를 카보랜덤 등으로 접종한다.

(2) 사과 바이러스 무병 묘목의 유목기 수체 생육 특성 검정

① 사과나무 유목기 수관 부위별 잠복 바이러스 발현 여부 조사

재배중인 사과 무병 묘목의 부위별(눈, 잎, 신초 등) 잠복 감염 바이러스의 발현 여부를 조사한다.

② 사과바이러스 접종 묘목과의 수체 생육량 비교

사과바이러스를 접종한 유목과 무병 묘목과의 수관 생육량(수고, 신초장, 엽중 등) 차이를 비교한다.

(3) 사과 바이러스 무병 묘목의 성과기 수체 생육 특성 검정

① 사과나무 성과기 수관 부위별 잠복 바이러스 발현 여부 조사

사과나무 성목에 착과를 시켜 각 부위별(과일, 눈, 잎, 결과지 등) 잠복 감염 바이러스 발현을 분석한다.

② 사과바이러스 접종 묘목과의 상품성 및 수량성 비교

사과바이러스를 접종한 성목에 착과를 시켜 수관 생육량 및 과일의 생산성과 상품성을 비교하여 무병 묘목의 유통 정착화를 도모한다.

제 5 절 기대효과

1. 제 1세부과제 : 사과무병종묘 변이검정용 마커 개발 및 시설내 안정증식 육묘법 개발

가. 기술적 측면

육묘 단계별 변이 확인을 위한 품종동정 시스템 구축을 통해 사과 조직배양묘의 조기 변이 선별을 가능케 하여 시설원예기반 사과무독묘 생산시스템의 안정화를 도모할 수 있다. 또한 분자마커의 genotyping 데이터 구축을 통해 정밀한 품종동정 연구에 기여할 것으로 기대된다.

사과무병대목/종묘의 포트 재배를 위한 기술을 개발함으로써 안정적인 시설 사과무병종묘 재배를 위한 시스템을 구축할 수 있으며 이를 통하여 지금까지 관행되어온 사과종묘 재배 기술에서 벗어나 시설 재배를 통한 사과무병종묘 생산이 가능하다. 또한 타과수의 시설 공정 육묘를 위한 재배 기술로 이용될 수 있다.

나. 경제·산업적 측면

사과 조직배양묘의 변이 확인을 위한 분자마커 개발은 묘목단계에서의 조기 선별을 통해 비용 절감 효과뿐만 아니라 6~7년 이상 소요되는 포장관리 투자비 절감에 큰 효과가 있다. 또한 육묘 단계별 변이 확인을 위한 품종동정 시스템 구축을 통해 사과 조직배양묘 생산의 안정화를 도모할 수 있으며, 우수한 품질의 묘목 육성으로 수출경쟁력 및 농가소득에 기여할 수 있다.

시설재배 사과무병종묘 포트 개발을 통한 고정육묘장 이용은 종묘생산비를 절감할 수 있으며, 시설 재배는 인건비를 절감할 수 있다. 또한 고정육묘를 통한 우량 종묘의 균일한 생산으로 고품질 과수생산 및 농가소득 향상에 기여할 수 있다.

2. 제 2세부과제 : 사과 왜성대목 및 상업적품종 무병종묘 대량생산 기술 개발

가. 기술적 측면

국내산 사과 왜성대목과 접수의 무병우량종묘 생산 기술을 개발할 수 있으며 대용량 생물반응기를 이용하여 과수화를 억제하고 우량한 건전묘의 대량생산 기술을 개발할 수 있다. 또한 사과 품종별 최적화된 우량묘 육성 배지를 개발하여 활용 가능하다.

나. 경제·산업적 측면

현재 바이러스 감염이 심각한 사과품종의 바이러스 free 우량종묘의 대량생산 보급체계를 확립하여 농가의 직접적인 소득증가를 유도할 수 있으며 기내대량배양기술을 이용하여 사과 왜성대목 및 우량 품종 무병종묘의 전략적 공급이 가능하다. 또한 농가에서 사과묘가 필요한 시기에 저렴하고 건전한 우량영양계 묘를 공급함으로써 지역 재배농가의 종묘구입비 절감 및 고품질 과수 생산에 기여할 수 있다.

3. 제 3세부과제 : 기내 배양 사과 무병종묘 대량 생산을 위한 환경조절 기술 개발

가. 기술적 측면

식물 공장 내 환경 조절 기술을 통한 사과 조직배양묘의 순화 및 발근 촉진 기술은 향후 과수 무병종묘 산업화 구축에 기술적 토대와 예시가 될 수 있으며, 사과 조직배양묘의 종묘 생산을 위한 순화 및 발근과정과 실증 실험까지의 과정은 사과 무병종묘의 공급을 위한 표준 기술공정 확립이 가능하다. 또한 발근이 잘 되지 않는 사과 조직 배양묘의 발근촉진을 위한 연구 결과의 획득은 환경제어를 통한 부가가치가 높은 조직배양묘의 순화 기술로 이어져 식물생산 분야에서 기술적 진보를 가져올 것으로 기대된다.

나. 경제·산업적 측면

사과 조직배양묘의 안정적인 순화 및 발근을 위한 환경제어 조건의 확립은 환경제어를 통한 안정적인 사과묘 생산을 가능하게 하며 시설원예 산업의 새로운 아이템으로써 충북지역의 시설원예 산업화의 원동력이 될 수 있을 것으로 기대된다. 또한 식물 공장 내의 재배 생산을 통한 묘목 연중 생산과 사과 무병종묘 생산을 위한 패키지화된 기술의 이전을 통하여 사과 우량묘목 생산이 증대되어 사과 묘목 산업 및 사과 재배와 관련된 경제·산업적 규모의 확대가 기대된다. 사과묘 생산에 적용된 기술은 쉽게 수정되어 산업적인 수요가 있는 다른 식물자원에도 쉽게 적용될 수 있어 부가적인 수입이 지속적으로 파생될 것으로 판단된다. 대규모 하드웨어의 구축에 있어서 사과 조직배양묘의 대량 재배 시, 필요한 기술 인력 양성을 통해 사과 묘 생산 산업의 새로운 시장의 창출과 발전을 이끌 수 있을 것으로 기대된다.

4. 제 4세부과제 : 사과무병종묘 바이러스 검정법 확립

가. 기술적 측면

목본식물에서는 바이러스 분리 및 검출이 어려운 것으로 알려져 있는데, 본 연구에서 사과나무에서의 바이러스 검출 감도를 향상시킨다면 목본식물 바이러스 감염진단의 정확성을 향상시키는 데 기여할 수 있다. 또한 과수바이러스의 조기진단 기술이 개발되어 병징이 나타나고 바이러스가 확산되기 전에 감염여부를 판정하고 감염원을 조기에 제거하여 병의 확산을 막을 수 있다.

나. 경제·산업적 측면

주요 바이러스의 검정시간을 단축하고 정확도를 향상시킴으로써 무독묘 생산효율을 높이고 생산단가를 낮출 수 있다. 그 결과 바이러스 감염률이 근본적으로 낮아지게 되어 과실 생산성이 향상되고 가격 안정과 소득향상에 기여할 수 있다.

5. 제 1협동과제 : 사과무병종묘 최적 번식 및 유통 체계 모델화

가. 기술적 측면

사과무병종묘의 접목, 생산, 수확, 저장, 유통의 전 단계에 대한 기술 개발 및 모델화를 통하여 시설재배 특화 사과 무병종묘 생산 체계를 확립할 수 있다.

나. 경제·산업적 측면

사과무병종묘의 접목 방법 개발은 인력난을 해소할 수 있으며, 수확 및 저장 조건 개발로 묘목의 냉해 및 동해 피해를 방지하여 고품질 우량 묘목 생산이 가능하다. 또한 유통 시스템의 확립으로 안정적이고 체계화된 방법으로 농가에 묘목을 공급할 수 있다.

6. 제 2협동과제 : 사과 바이러스 무병묘의 생육 단계별 특성검정

가. 기술적 측면

사과무병종묘와 바이러스 접종 묘목과의 생육 차이로 수관 생체량 증가 및 과일 생산량과 상품성 증대 등 초고품질 재배 기술을 확립할 수 있다.

나. 경제·산업적 측면

국내 유통되고 있는 사과 묘목에 대한 바이러스 감염 실태 파악과 현장 실증을 통한 무병 묘목의 유통 정착화로 사과 생산량과 상품성을 증대시켜 답보상태인 충북 사과산업의 새로운 전기가 마련될 수 있다. 또한 사과우량무병종묘의 유통으로 사과산업 피해를 최소화, 농가 소득 증대, 수출 확대 등 유·무형의 경제·산업적 가치 창출에 크게 공헌할 것으로 기대된다.

제 6 절 지자체 협력방안

충청북도는 후속연구과제선정시 사과무병종묘 생산·관리를 위한 시범포 운영을 지원하고 사과 무병종묘 사업이 원활히 진행될 수 있도록 사업비 지원 요청시 적극 검토하며 행정홍보 지원을 약속하였다. 또한 최근 빈번히 발생하고 있는 사과 종자 및 종묘의 불법유통 단속에 적극적으로 협조하고 사과무병종묘 사업의 중요성 인식 확대를 위한 묘목업자 교육 지원 등을 약속하였다.

검 토 의 견 서

연구과제명	시설원예 특화를 위한 사과무병종묘 산업화기반 구축	
연구책임자	충북대학교 김대일 교수	
구분	사 업 내 용	검 토 결 과
목표의 적정성	<ul style="list-style-type: none"> - 사과무병종묘 시설원예 투입 생산시스템 구축 - 시설원예를 이용한 과수류 무병종묘 생산산업의 확대 기반 구축 	<ul style="list-style-type: none"> - 종묘 식재 부지가 부족한 현실에서 시설원예 생산시스템을 통한 사과무병종묘 산업 기반 구축은 지역산업발전에 기여할 것으로 판단됨.
FTA 위기 대응	<ul style="list-style-type: none"> - 무병종묘 대량증식 기술개발 	<ul style="list-style-type: none"> - FTA에 따른 농업경쟁력의 약화위기를 극복할 뿐만 아니라 무병과실 및 묘목을 수출할 수 있는 기틀 마련에 도움이 될 수 있을 것으로 판단됨.
지역산업 발전의 기여정도	<ul style="list-style-type: none"> - 시설환경제어 건전묘 생산시스템 구축 - 시설재배 종묘생산 기반구축 	<ul style="list-style-type: none"> - 과실 품질경쟁력 제고 및 고부가가치 창출을 통한 지역 시설원예발전에 기여할 것으로 판단됨.
기타 (기관간 협조)		<ul style="list-style-type: none"> - 연구 성과물(무병묘목)을 우리 지역 과수농가에 보급할 조건으로 당 협력단의 행정적인 협조 요청시 상호 협의하여 추진하겠음.

함께하는 충북 행복한 도민



충청북도



수신자 충북대학교총장(산학협력단장)

(경유)

제목 "사과무병종묘 산업화기반 구축" 연구과제 협조 가능내용 회신

귀기관 산학협력단-4238호(2015. 3.18.)와 관련하여 농림축산식품부 R&D사업연구과제에 대한 우리 도의 협조 가능내용을 아래와 같이 회신합니다.

연구과제 개요

과 제 명 : 시설원예특화를 위한 사과 무병종묘 산업화 기반 구축

연구기관 : 충북대학교 산학협력단

※ 책임자 : 충북대학교 김대일교수

과제수행기간 : 2014.12.18~2015.02.17.

우리 도 협조 가능 내용

시범포 운영 지원	사과무병종묘 행정홍보 지원
종자, 묘목 불량유통 단속 협조	사업비 지원 요청시 적극 검토
묘목업자 교육 지원	

끝.

충청북도지사



부서장 심경만 관내유물시류과장 정경 09/25
신용수

협조자 부서장 권영목 지방농업부서 박종화

시행 관내유물시류과-3341 (2015.03.25.) 접수 산학협력단-4834 (2015.03.25.)

우 360765 충북 청주시 상당구 상당로 22(문화동) / http://www.cb21.net/

주 의

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