

발간등록번호

11-1541000-001426-01

박과채소 종자의 바이러스 무독화기술 개발

Development of Inactivation Techniques of Seed-borne Virus
in Cucurbitaceae Vegetable Seeds

연구기관

경희대학교

농림수산식품부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “박과채소 종자의 바이러스 무독화기술 개발” 과제의 보고서로 제출합니다.

2012년 4월 9일

주관연구기관명 : 경희대학교
주관연구책임자 : 최 근 원
세부연구책임자 : 최 근 원
연 구 원 : 이 정 명
연 구 원 : 황 현 정
연 구 원 : 최 병 순
연 구 원 : 임 해 봉
연 구 원 : 금 문 섭
연 구 원 : 방 성 훈
연 구 원 : 이 창 호
연 구 원 : 박 은 영
연 구 원 : 홍 지 영
연 구 원 : 장 원 경
연 구 원 : 김 희 진

협동연구기관명 : 서울여자대학교
협동연구책임자 : 홍 진 성
연 구 원 : 류 기 현
연 구 원 : 최 장 경
연 구 원 : 최 국 선
연 구 원 : 이 성 남
연 구 원 : 송 경 아
연 구 원 : 이 윤 희
연 구 원 : 권 지 연
연 구 원 : 백 이 슬
협동연구기관명 : 한국농수산대학
협동연구책임자 : 오 대 근
연 구 원 : 신 현 호
연 구 원 : 윤 진 영
연 구 원 : 우 영 회
연 구 원 : 문 자 영
연 구 원 : 전 진 우
연 구 원 : 장 옥 자
연 구 원 : 황 향 숙

요 약 문

I. 제 목

박과채소 종자의 바이러스 무독화기술 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

국내 채소에 발생하여 막대한 피해를 주는 바이러스병의 결정적 발생요인의 하나는 바이러스 이병종자 또는 이병종자가 완전하지 않게 불활성화 처리된 종자를 사용하기 때문이므로 이에 대한 종합적·근본적 대책수립을 수립하고, 이에 수반된 효과적 건열처리 및 기타 무독화기술 개발, 바이러스 활성 여부의 신속·정확한 판별 기술 개발·처리종자의 활력 제고 및 처리기술의 세계화 등을 최우선 목표로 하였다.

상기 연구목표를 효과적으로 달성하기 위한 제반 시설-기자재(종자저장고·여러 동의 온실 및 실험실·산업용 건열처리기 2대·다운도발아상(thermogradient table), LED incubator, seed brushing machine·다양한 수분측정기 및 계수기)는 주관연구기관에 완비되어 있었고, 연구 기간 중에는 다양한 UV light 조사장치 5점, 환기속도 및 효율이 뛰어나고 온도 setting 및 조절이 확실한 동일한 10대의 종자건조기를 추가 분양받아 주요 처리에 활용하였다. 기타 방사선처리나 전자현미경 검경이나, 이병종자의 생산 및 확보는 한국원자력연구원과 국립원예특작과학원의 적극적인 협조를 받아 수행하였으며 다양한 시험용 종자들은 종묘회사에 분양 받아 사용하였다. 본 연구과제의 성공적 수행에 가장 큰 이점은 축적된 경험을 보유하고 있는 연구진과 다양한 CGMMV 이병종자를 포함한 실험용 종자가 충분히 확보되어 있었다는 점이다. 아울러 세계적으로도 친환경적 종자처리기술의 중요성이 부각되고 있는 시기와 부합되고 있고, 협동연구진도 전원 본 과제와 관련된 연구에 장기간 경험이 축적된 우수한 팀으로 목표의 효과적 달성이 용이하였다.

III. 연구개발 내용 및 범위

(1) 불활성화 처리로 이용되는 건열처리 효과를 극대화 하고 건열피해를 최소화하는 기술 개발

대상작물에 따른 차등 건열처리 기술의 확립, 진단에 의한 건열처리 온도 및 기간의 재설정, 처리된 종자의 장기저장기술개발, 종자활력검정(발아세, 발아율, 수명), 유묘활력 검정 및 프라이밍 처리에 의한 활력극대화, 무독화 처리 종자의 장기 안전 저장기술 확립, 파종각도에 따른 건묘(접수 및 대목) 양산기술 확립 및 고품질 단근접목묘의 생산 기술 확립

(2) 종자전염 바이러스를 무독화 할 수 있는 건열처리 이외의 방제기술 개발

건열처리 종자 피해 극소화 방안, 전처리 및 후처리 기술의 작물별 확립, 다양한 처리에 의한 바이러스 불활성화 기술 확립(화학적, 물리적 및 혼용처리 중에서 1차 년도에 효과가 인정된 자외선 처리에 초점을 맞춤)

(3) CGMMV의 감염경로 재확인 및 활성태와 불활성태 구분 검정기술 개발

간이신속 검정방법의 개발(ELISA vs RIGS), RT-PCR 기술의 보완 및 실용화 기법 개발, 지표식물을 이용한 바이러스 활성 및 불활성 검정, 매개원 탐색 및 검정

(4) 무독화 처리된 박과류 종자의 품질향상 관련기술 개발

채종-후숙-탈종-선별과정에서의 무병충실종자 생산 및 선별, 대목 발근력 검정, 유통종자의 조사(수입종자 포함), 습열처리 기술개발

(5) 시중에 유통되고 있는 모든 대목용 박과류 종자의 수집 및 분석

처리 및 tobamovirus 감염 여부 및 정도 파악

(6) 종합적 방제대책 수립 및 이용보편화

종자생산, 건열처리, 육묘담당자를 위한 가이드북 제작, 개발된 기술의 현장 적용 시험 및 효과 검증

IV. 연구개발결과

본 실험을 통하여 얻어진 주요 결과만을 간략하게 요약하면 아래와 같다.

1. 해외 채종되어 국내로 유입되는 박과 채소 종자에서는 여전히 많은 표본에서 CGMMV 오염이 보고되어 폐기 및 반송처리가 취해지고 있었다.
2. 국내에서 시판되고 있는 대목 종자에서도 상당 비율의 CGMMV 양성반응을 보이는 것이 있었지만 그 정도는 검출방법에 따라 대단히 큰 차이를 보이고 있었다.
3. 수집된 시판 종자의 발아 및 육묘 활력 평가에서도 매우 큰 차이가 나타나고 있었는데 종래의 박 종자보다는 오히려 호박류(주로 대립종 신토좌계)와 수박(특히 3배체 수박류)에서 더 크게 나타나고 있었다.
4. 외국에서의 적극적인 건열처리 기술의 적용에 비하면 국내 종자회사 중에서는 건열처리 장치를 유효 적절하게 활용하고 있는 회사는 극히 일부분에 그치고 있었다.
5. 기존의 건열처리(35℃->50℃->72℃->50℃ 또는 24 시간 이상 기기 내에 방치 후에 종자를 꺼냄)를 그대로 적용하더라도 작물의 종류 및 종자의 상태에 따라서 종자활력 감소 및 육묘 피해증상발생의 문제점이 지속적으로 보고되고 있는 실정인데 이에 대한 원인의 추가적인 분석이 필요한 시점으로 판단된다.
6. 상기 건열처리의 문제점을 보완하기 위하여 건열처리 효과를 최대한으로 유지하면서도 종자에 최소한의 부정적 영향을 미치는 건열처리 이론을 정립하여 이에 준한 일련의 실험을 실시하여 새로운 방

법의 맞춤형(진단처방형) 건열처리기술을 개발하였다.

7. 상기의 새로운 기술을 개발하기 위한 일련의 실험들은 상한온도·처리지속기간·단계별 처리온도 상승 및 하강 program의 설정 변경하여 실시하고 일련의 실험을 통해서 처리된 종자 및 CGMMV 이병엽 내의 CGMMV의 활성은 전자현미경·ELISA·RT-PCR·생물검정(박·*Nicotiana benthamina*)로 각각 대조 확인 하였다.
8. 상기 일련의 실험에서 얻어진 결과의 일부만을 여기에 표기한다면 건열처리 상한온도를 기존의 75℃에서 60~65℃로 낮추어 처리하더라도 기간만 연장한다면 충분한 실용적 무독화 종자를 얻을 수 있어서 고온 장해를 쉽게 보이는 호박이나 오이 등에의 안전 처리로 활용될 수 있음이 증명되었다.
9. 건열처리 기간이 기존의 3일에서 5~7 일로 연장되더라도 처리된 종자의 발아나 활력에는 하등의 영향을 끼치지 않았을 뿐 더러 상당 경우 오히려 3일 처리보다도 더 좋은 종자활력을 보였다.
10. 극단적으로 심하게 오염된 박의 이병엽을 시료로 하여 다양한 건열처리를 실시하고 생검과 RT-PCR로 불활성화 정도를 검정하였을 때에는 모든 처리에서 활성을 띠는 바이러스가 검출되었다. 즉, 90℃까지의 상한온도 건열로는 모든 바이러스를 완벽하게 불활성화할 수는 없었는데 이러한 사실은 고압멸균 시에도 일부 바이러스를 증식능력을 유지한다는 기존의 연구 결과와도 유사하였다. 그러나 이러한 결과는 생물검정 방법에 따라 다소 상이하게 나타났다.
11. 강하게 오염된 박 이병엽이 아니고 채종된 이병종자로 불활성화 처리를 실시하고 이들 종자에서의 침출물로 생검 및 RT-PCR 검정을 하였을 경우에는 모두 불활성화가 이루어지는 것을 확인하였다. 이러한 상반된 결과는 이병조직 내의 바이러스의 밀도(농도) 차이에서 기인된 것으로 판단되며 아울러 침출물 내의 이물질의 존재 여부도 다소간의 영향을 끼쳤던 것으로 판단되었다.
12. 건열처리 이외에 다른 방법으로 종자에 오염된 바이러스를 불활성화 하는 기술을 기존의 연구 보고서 등을 참고 하여 실시하였는데 자외선 처리, 특히 파장이 다소 긴 UV-A 처리가 종자에 피해를 끼치지 않으면서도 불활성화를 할 수 있음이 밝혀졌으며 방사선 처리·습열처리·microwave 처리 등은 종자에 피해를 유발하여 실용성이 없음이 밝혀졌다.
13. 상기 UV-A 처리는 처리기간이 1~2 일로 짧아서 고추나 배추류와 같은 소립종자에는 효과적으로 적용될 수 있을 것으로 판단되고는 있지만, 박이나 호박과 같은 대립종자에서는 광선의 투과성 때문에 자외선 만의 단독처리로 100% 불활성화를 기대할 수는 없는 것으로 판단되었으며 따라서 자외선과 열처리의 혼용처리가 바람직한 것으로 판단되었다.
14. 본 연구를 통하여 얻어진 진단맞춤형 건열처리 기술은 종자전염 바이러스의 불활성화에 더 효과적으로 적용될 수 있을 뿐만 아니라 다른 유해한 종자전염병(과실부패병 등의 세균성병 및 시들음병이나 키다리병 등의 곰팡이병 포함)에도 효과적으로 적용될 수 있을 것으로 판단되어 이에 관한 추후 세밀한 연구도 시급히 요청된다.

15. RT-PCR을 이용한 tobamovirus 감염정도의 판별은 외피단백질(CP)과 복제효소(RdRP)를 이용하여 가능하였지만, 복제효소 검출방법이 약 1000배 정도 더 민감하였다.
16. 다양한 박과채소류의 종자에서 다양한 CGMMV 및 유사바이러스가 검출되어 실제적으로 바이러스 무병종자를 확보하는데 어려움이 많았다.
17. 종자내의 바이러스분포를 보면 외종피와 내종피에서만 검출이 되었고 내부의 떡잎(子葉: cotyledon)에서는 검출되지 않았다.
18. 심하게 오염된 박 이병엽 분말로 건열처리 한 결과 건열처리에 의해 활성 바이러스의 밀도감소가 이루어짐이 전자현미경과 생물검정으로 확인되었지만 공시된 처리조건(90℃ 상한온도) 하에서는 실험시기 및 방법에 따라 차이가 크게 나타났고, 활성바이러스가 상당수 남아 있었다.
19. RT-PCR로는 동일 샘플에서 활성태와 불활성태 바이러스의 상대적인 비율을 판별할 수 없었다. 이를 보완하기 위해 바이러스의 dsRNA를 추출하여 건열처리 전과 후의 상대비교를 한 결과 처리 온도별로 바이러스가 상대적으로 감소하는 경향을 보여 줌으로써 이 기술이 차후의 불활성화 정도의 검출기술로 이용될 수 있을 것으로 판단되었다(72℃: 1%, 78℃: 15.4%, 84℃: 32%).
20. 외관으로는 증상을 보이지 않는 개체들에서도 바이러스가 다양하게 검출되고 있었는데 대부분은 CGMMV 이었고 CFMMV와 KGMMV도 상당수의 샘플에서 확인되었다.
21. 2009~2012년 동안 46종(신토좌 22종, 박 24종) 수집하여 분석한 결과 전체의 54%에 건열처리를 한 것으로 조사되었다.
22. 박과채소 대목으로 쓰이는 유통종자의 발아율 및 유묘 출현율은 신토좌 1품종, 박 2품종을 제외하고 대부분 우수한 것으로 나타났다.
23. TTC, X선, 비중선 등의 비파괴적 선별기술은 종자의 파종 전 충실도 파악에 활용가능 할 것으로 생각되었다. 그러나 작물별로 보다 적절한 기술 보완이 요구되었다.
24. 채종과는 공시조건 하에서는 수분 31일 후 채과하고 55일간 후숙한 것으로 꽃자리 부위의 발아율이 가장 양호하였다.
25. 해외 박과채소 채종지역의 현황을 조사하고자 중국과 태국을 방문하여 조사한 결과를 보면, 대부분의 지역이 바이러스 및 기타 종자전염병 방제를 위해 청결하게 관리되고 있었다. 그러나 진단결과 tobamovirus인 ZGMMV 등이 발견되었다.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

본 연구에서 얻어진 결과에 두고 CGMMV 불활성화 및 건열처리 guide book을 발간하고 이에 준하여 종자 산업 관계자, 육묘업자, 및 재배 농민에게 폭 넓은 홍보 및 지도를 실시할 예정임.

현재도 본 연구진에서 공동 개발한 바 있는 건열처리 장치(기계)가 꾸준히 외국으로 수출되고 있는데 새로운 복합적 진단처방형 다기능 건열처리 기술이 확립되면 이러한 기기 수출은 폭발적으로 증가할 것으로 예상됨.

본 연구를 통하여 얻어진 이러한 일련의 결과는 현재까지 어느 누구로 부터도 연구-보고된 바 없는 결과로 다양한 특허 출원을 고려하고 있음.

SUMMARY

I. TITLE

Development of Inactivation Techniques of Seed-borne Virus in Cucurbitaceae Vegetable Seeds

II. OBJECTIVE AND IMPORTANCE

The major objectives of this research are to develop efficient inactivation methods of seed-borne virus in cucurbits and to establish suitable methods of identifying the degree of virus inactivation and improving vigor of the virus-contaminated seeds. The major cause of CGMMV incidence is the use of virus-contaminated seeds or improperly inactivated seeds. The spread of CGMMV has proven to be phenomenal in the last decades over the world. Various equipment have been used for this research.

These are 2 set of industrial dry heat treatment (DHT) machines (360 L capacity manufactured in the Republic of Korea), LED incubator, seed brushing machine (Seed Buro, The Netherlands), thermogradient table (Seed Buro, The Netherlands), seed moisture testers, seed counters, and many other seed-related equipment. During the period of this research, additional equipment were also supported. These include small seed-drying chambers for different DHT application, seed moisture determination apparatus, various ultraviolet (UV) light sources and frames, and greenhouse equipment for conducting several bioassays and seedling vigor testing. Positive supports were obtained from the National Horticultural & Herbal Research Institute (NHHRI) of the Rural Development Administration (RDA), Korea Atomic Energy Research Institute, and many commercial seed companies, especially Nongwoo Bio and Syngenta Seed companies. The current research was conducted by experts who had been working in this area for at least 10 or more years.

III. CONTENTS

IV. RESULTS

The major contents of this research are as follows.

1. Development of technics to maximize the efficiency of DHT and minimize DHT-induced phytotoxicity in treated seeds and subsequent seedlings
 - Testing and development of various DHT.
 - Development of diagnosis-based dry heat therapy (DB-DHT) for inactivation of

seed-borne diseases in vegetables with minimum incidence of possible phytotoxicity.

-Testing the vigor of seeds and seedlings with authorized vigor testing techniques.

-Developing safe long-term seed storage methods of dry heat treated seeds.

-Improving seed and seedling performance (including grafted transplants) by manipulating seed sowing orientation into the substrate.

2. Development of virus-inactivation methods other than DHT

-Separate or combined inactivation methods primarily using the ultraviolet lights.

3. Development of technology to distinguish active and inactive virus particles

-Development of simple and rapid detection methods (ELISA vs. RIGS)

-Bioassays using active and inactive virus-contaminated samples

-Identify possible other route of contamination

4. Enhancement of vigor of DH-treated seed and subsequent seedlings raised from the DH-treated seed also include the close examination of seed production procedures and methods including location, production managements, fruit harvesting, after-ripening, seed extraction & wet seed treatments, and various cleaning and separation.

5. Collection and evaluation of seeds currently sold in seed market in Korea and checking for virus contamination, DHT, and/or chemical treatments.

6. Development of integrated or Diagnosis-Based Dry Heat Therapy (DB-DHT) or Crop & Seed Specific Dry Heat Therapy (CSS-DHT) has been developed to maximize DHT effectiveness and minimize DHT-induced phytotoxicity or seed vigor decrease.

7. The principle of the proposed DB-DHT or CSS-DHT was mainly based on differential application of maximum temperature and duration of DHT and the efficacy was evaluated by TEM image analysis, bottle gourd bioassay, and tobacco (*N. benthamiana*) bioassay.

8. Major changes in newly developed DB-DHT include lowering the maximum DHT temperature from 75 °C to 60~65 °C and increasing the DHT duration at the maximum temperature from 3 days to 5~7 days to reduce the high-temperature-induced seed injury.

9. Extending the duration of DHT from conventional 3 days to 5~7 days showed no negative results in most tested seeds. On the contrary, many of the seeds treated for 5~7 days actually showed better performance as compared to the seeds treated for 1~3 days at the same maximum temperature.

10. When seriously contaminated bottle gourd seeds were treated with various DHT, active or

healthy-looking viruses were identified in most DHT protocols indicating that even the 90 °C treatment for 1~2 days could not completely inactivate all the viruses, as reported by others. Different bioassay results were obtained depending upon different bioassay systems.

11. When the CGMMV-contaminated seeds were used for DB-DHT or CSS-DHT and the seed extracts were tested for ELISA · RT-PCR · bioassays, all the detection methods showed negative response, indicating that the viruses in seed had been fully inactivated. These differential results are thought to be due primarily to the density of virus particles in test samples. It is also reasonable to propose that other seed components might also influence this differential response.
12. Other inactivation methods such as UV light treatment were tested to study the feasibility of replacing DHT. Favorable responses were obtained by exposing the virus-contaminated seeds to UV-A in several samples. Other methods such as gamma ray irradiation, wet heat treatments, microwave treatment, and UV-C treatments caused severe seed and seedling injury with much lower rate of virus inactivation, if any.
13. UV-A treatment may be safely applied for small-seeded vegetables such as tomato, cabbage, lettuce, and carrot. Short treatment duration of 1~2 days might also be advantageous for UV-A treatment. However, satisfactory results might not be obtained with large-seeded vegetables such as bottle gourd and pumpkins because of the short penetration depth of UV light into the seeds and thick seed coat.
14. The new DB-DHT or CSS-DHT is judged to be safe with less negative effects and also can be applied for inactivation of other noxious seed-borne diseases such as bacterial fruit blotch (*Acidovorax citrulli*), *Pseudomonas*, and fungal diseases such as *fusarium* and *gibberella*.
15. The detection of tobamovirus was possible by using RT (reversed transcript)-PCR using CP (coat protein) and RdRP (RNA-dependent RNA polymerase) methods, but RdRP method was proven to be about one thousand time more sensitive than CP method.
16. It was almost impossible to obtain virus-free seeds because most of the seeds, commercial and/or private sources, were infected with one or more of tobamoviruses and possibly other viruses.
17. Virus was detected only in the seed coat, but not in cotyledons in tested cucurbit seeds.
18. When heavily-contaminated bottle gourd leaf samples were treated with dry heat at

various temperatures for different duration, the density of active virus was greatly reduced as shown by TEM images and bioassay results. However, complete inactivation could not be accomplished mainly because of the excessively dense virus population in the leaf samples used for inoculation.

19. The proportion or relative percentage of active and inactivated viruses could not be successfully estimated in the current research. In order to minimize this problem, dsRNAs, an intermediated product of ssRNAs were extracted and compared for the density. The results clearly showed patterns of virus inactivation depending upon the dry heat temperatures suggesting that this newly developed technique could be successfully used for further inactivation research.
20. When leaf samples of healthy-looking cucurbit plant were tested for virus using ELISA and/or RT-PCR, various viruses other than CGMMV such as CFMMV and KGMMV were also identified in a considerable number of samples.
21. Among the 46 commercial rootstock cultivars were collected and checked, only about 54% of the samples were labeled as dry heat treated.
22. Most of the samples collected showed excellent seed germination and seedling vigor except for 2 bottle gourd cultivars.
23. It might be possible to evaluate the vigor of cucurbit seeds before sowing by several methods. However, precise methods and protocols should be developed first for practical applications.
24. Fruits need long period of after-ripening for production of high-quality seeds. Those seeds located near the flower end of the fruits showed better seed germination and seedling growth than the seeds from the pedicel end both in intact and dry heat treated seeds.

CONTENT

Chapter 1. Outline of research projects

Chapter 2. Status of technological development in Korea and overseas

Chapter 3. Contents and results of the research experiments

Chapter 4. Goal accomplishment and contribution to the field of disciplines related

Chapter 5. Applications of research results

Chapter 6. Oversea information collected from research and development

Chapter 7. Literature cited

목 차

- 제 1 장 연구개발과제의 개요
- 제 2 장 국내외 기술개발 현황
- 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과
- 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도
- 제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획
- 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보
- 제 7 장 참고문헌

제1장 연구개발과제의 개요

제1절 연구개발의 목적 및 필요성

박과채소 종자에 오염되어 국내외적으로 큰 문제가 되고 있는 바이러스병은 tobamovirus인 오이녹반모자이크바이러스(CGMMV; Cucumber green mottle mosaic virus)가 가장 큰 피해를 끼치고 이와 같은 바이러스인 KGMMV나 ZGMMV도 간혹 심한 발생을 보이기도 한다.

CGMMV는 TMV와 같은 전형적 종자감염 바이러스로 바이러스 입자가 종자 내부에는 없지만 종피(외종피 및 내종피)에 오염되어 있다가 종자발아 시에 오염 종자의 일부(보통 2% 내외)에서 종피로부터 유식물로의 접촉감염이 이루어져서 증상이 나타나는 경우가 대부분이다. CGMMV는 1997년에 국내에서 대발생된 후로 현재까지도 지속적으로 다양한 박과채소에서 발생이 보고되어 있는 실정이다.

또한 세계적으로도 가까운 중국을 비롯하여 동남아 지역은 물론 세계 도처에서 대 발생이 보고되면서 이에 따른 피해사례도 급증하고 있다. 우리나라에서 사용하고 있는 박과채소의 종자는 90% 이상 해외(주로 동남아 지역 국가)에서 채종되어 국내로 반입되는데 이 때 반드시 세관의 검역과정을 거치게 되어 있고, 이 검역과정 중에 상당 비율의 종자가 오염 종자로 판정되어 폐기 또는 반송되는 사례가 끊임 없이 반복되고 있다.

이론적으로는 완전한 무병종자를 생산하여 반입·보급하는 것이 가장 합리적이지만 이미 외국의 채종 지역에서도 상당한 발병이 보고되었기에 완전한 무병종자를 지속적으로 대량생산하여 국내 반입 내지는 재수출하는 것은 실제로는 거의 불가능한 실정으로 파악되고 있다. 따라서 반입되는 종자들의 오염정도가 심하지 않은 경우 적절한 건열처리(乾熱處理: dry heat treatment, DHT)를 실시하였다는 증빙자료를 갖추어 반입하는 정도로만 국가적 대책이 수립되어 있는 실정이다.

그러나 아직까지도 많은 문제점들이 해결되지 않은 채 남아 있거나 또 다른 문제점들이 발생하여 재배자인 농민과 종자 공급자인 종묘회사, 그리고 육묘업자(대개의 경우 접목육묘 업자) 사이에서 계속 분쟁이 발생하고 있다. 이러한 분쟁이 발생하게 되는 원인을 사례별로 분석하여 보면 크게 두 가지로 나눌 수 있다.

첫째는 CGMMV의 지속적 발생에 관한 것으로써

- 1) 건열처리 되지 않은 오염 종자의 이용(자가채종 종자 및 영세업자 채종 종자 포함)
- 2) 불확실하게 또는 부적합하게 건열처리 된 종자의 이용
- 3) 심하게 오염된 종자의 약한 건열처리로 인해 활성 바이러스의 밀도가 높아 종자 내에서 재감염 및 병징을 유발할 수 있을 정도로 남아있는 경우
- 4) 재배 토양이나 장소에서 재배되었던 전작물(前作物)의 잔유물에서 일부 식물이 감염되어 포장에서 확대 발병하는 경우(참외의 연장재배 등)
- 5) 기타의 직접 또는 간접적인 접촉 감염에 의해 발생하는 경우 등이 있다(CGMMV는 곤충이나 선충 등에 의해서는 전염되지 않음).

두 번째 큰 문제점은 건열 처리된 종자의 상대적으로 낮은 발아세(發芽勢: germination vigor)로 접목 시에 사용할 수 있는 건전묘(대목 및 접수)의 비율이 기대 이하로 낮아지는 것에 대한 분쟁 요인이다. 건열처리된 박과채소 종자가 부분적으로는 오히려 발아세(발아율 균일도)가 높아지는 경우도 있기는

하지만 대개의 경우 극단적인 스트레스를 받기 때문에 아래와 같은 문제점들이 발생하기 쉽다.

- 1) 발아(발아세 포함)가 늦어진다.
- 2) 발아 적온의 폭이 좁으며 적온도 무처리에 비해 높다.
- 3) 일부 저온성 박과채소인 박·호박·오이종자는 고온성 박과채소인 수박·참외·멜론 종자에 비해서 건열처리에 따른 피해증상이 유효에 나타나는 경우가 종종 발생한다.
- 4) 이상의 문제점 발생이 예상되는 경우 적절한 사후 처리(post DHT conditioning)를 실시하여야 한다.
- 5) 상대적으로 저온 다습한 상태 또는 상토에서 발아시키면서 종자의 파종 방향을 잘못 정하거나 파종 깊이를 (복토 포함) 깊게 하였을 때 활력이 낮아질 수 있다.

본 연구의 성공적인 수행을 위해서 적극적인 협조를 아끼지 않으신 다음의 기관에 대하여 이 자리를 빌어서 감사의 말씀을 드리고자 한다.

- 1) 농촌진흥청 국립원예특작과학원 원예환경과 최국선 박사님과 정봉남 박사님의 다양한 조언과 전자현미경 및 격리생검온실의 이용 알선
- 2) 한국원자력연구원 정읍방사선과학연구소 송희섭 박사님
- 3) 농우바이오 여주연구소의 양승균 소장과 허남한 병리연구팀장의 바이러스 이병종자 생산지원(CGMMV 오염종자-인도네시아 현지농장) 및 이병식물체(이병엽)의 생산 허용
- 4) 상기의 종자를 실험용으로 사용할 수 있도록 조치 및 수시 방문-점검하면서 필요한 세심한 주의를 기울여 준 농림수산검역검사본부
- 5) 한국종자협회 강상헌 전임 소장 및 신현호 부장님
- 6) 여러 차례의 해외초청 강연에 본 연구팀을 초청하여 강연 및 지도의 기회를 준 중국·이태리 여러 기관 및 해외에서 본 연구팀에 방문하여 건열처리 기술 습득, 건열처리 기계 구입 등을 하고 갔던 중국 및 태국 관련 책임자님들

제2절 연구개발의 범위

본 연구는 박과채소 종자의 바이러스 무독화기술 개발에서 유일하게 효과적으로 사용되고 있는 건열처리의 문제점을 파악하여 최대한의 보완 내지는 개선 대책을 수립하고, 건열처리 이외의 무독화 처리 기술을 적극적으로 검토하고 이의 산업적 이용 여부를 제시하고, 건열처리 된 종자에서 유발될 수 있는 다양한 문제점들을 최소화 할 수 있는 대책을 적극적으로 개발하여 ① 국내는 물론 박과채소 종자의 해외 수출 촉진과 ② 건열처리기계의 지속적 수출 증대 및 ③ 육묘기술 향상을 위한 우량묘(접수 및 대목) 육성기술과 직접적으로 연계-활용 될 수 있는 일련의 실험을 체계적으로 수행하고자 하였다.

아울러 주요한 종자전염병인 바이러스 병에서 세균성병(*Pseudomonas*, *Acidovorax*)이나 곰팡이병(*Fusarium*, *Gibberella*)에 대하여서도 동일한 건열처리를 실시하여 이들 모두를 동시에 불활성화 할 수 있는 기술을 박과채소 및 기타 채소의 종류별로 제시함으로써 대상종자의 정밀진단에 따르는 맞춤형 건열처리(Selective Dry heat Therapy)을 제시하여 최근에 대량 발생이 문제시되고 있는 박과류의 과실부패병(*Acidovorax citrulli*)이나 박 만할병(*Fusarium lagenari*) 등에 대하여도 상한온도와 처리기간을 종합하여 불활성화가 가능한 진단 처방형 건열처리요법(Diagnosis-Based Dry heat Therapy)

이론을 정립하고자 하였다.

또한 추가적으로 현재 시판되고 있는 종자들을 최대한 수집하여 이들 종자에서 발견되는 바이러스 및 기타 병의 종류나 정도를 파악하고 건열처리 여부 및 그 효과를 판별할 수 있는 활성태-비활성태 바이러스 판별기술을 개발하여 정밀진단 및 처리효과의 평가에도 적극 활용될 수 있도록 하는 세부과제도 병행하여 추진하였다.

제2장 국내외 기술개발현황

제1절 본 연구관련 국내외 기술수준 비교

개발기술명	관련기술 최고보유국	현재 기술수준		비고
		우리나라	본연구팀	
건열처리기술	일본, 화란	80%	100%	한국은 후처리 및 보완 필요
기타 불활성화 기술	미국, 일본	50%	95%	한국은 부분적 이용 중임
바이러스 검정	미국 및 EU	75%	75%	종자전염 바이러스가 전국적으로 확대중임
종자프라이밍기술	미국 및 EU	70%	80%	국내 회사 대비 수차임

제2절 특허분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

개발기술명		바이러스 불활성화	프라이밍	불활성화 신속검정
Keyword		CGMMV inactivation Dry heat treatment (DHT)	Seed Priming After-DHT conditioning	Rapid detection (ELISA vs RIGS) Bioassay
검색건수		9	115	3+15
유효특허건수		0	20	1(본연구팀)
핵심특허 및 관련성	특허명	0	priming	조기검정 A method of detecting a viability of CGMMV by using a PCR and a primer.
	보유국	0	various	한국
	등록년도	0	2005-08	2008
	관련성(%)	0	30%	80%
	유사점	0	20%	70%
	차이점	0	80%	30%

제3절 논문분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

개발기술명		CGMMV	Seed treatment & germination
Keyword		Inactivation, Detection	Seed treatment, Priming & germination
검색건수		86	364+115+86
유효논문건수		5	7
핵심논문 및 관련성	논문명	Destruction of cucumber green mottle mosaic virus by heat treatment and rapid detection of virus inactivation by RT-PCR.	Advances in seed treatments for horticultural crops. Seed treatment for cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV) in gourd (<i>Lagenaria siceraria</i>) seeds and its detection. Solid matrix priming of gourd seeds for fast and uniform germination
	학술지명	Mol. Cells 16(3):338-342.	Chronica Hort. 44(2):11-20. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 41:1-6. HortScience 34(3):481
	저자	김국형, 이정명 외	이정명 김두현, 이정명 방혜진, 이정명
	게재년도	2003	2004, 2000, 1999
	관련성(%)	50	50
	유사점	50	50
	차이점	50	50

제4절 제품 및 시장 분석

가. 생산 및 시장현황

1) 국내 제품생산 및 시장 현황

- 기술의 일부는 이미 국내에서는 보편적으로 활용되고는 있지만 기계의 종류, 성능, 조작 이용상의 부적합한 과정에 의해서 예기치 않은 피해가 계속 보고되고 있어서 국내의 고품질 박과채소의 지속적 공급에 큰 차질을 겪고 있음
- 아울러 작물의 종류 및 심지어는 품종, 그리고 종자의 속도 및 충실도의 차이에서 발생하는 문제점을 세밀 파악하여 해결함과 동시에 보완이 시급한 실정임

2) 국외 제품생산 및 시장 현황

- 해외채종 비율이 급격히 증가함에 따른 부작용이 누적되고 있는 실정이므로 본 연구결과는 채종 현장에서의 재배-과실수확-후숙-탈종-선종-정선-가공에 이르는 종합적인 제품생산 일관화 과정의 신속 개발 및 이용에 즉각적으로 이용될 것임

나. 개발기술의 산업화 방향 및 기대효과

1) 산업화 방향(제품의 특징, 대상 등)

- 기계나 장치의 보완에 추가하여 효과적인 종자전염 바이러스의 불활화 기술 개발에 연구 노력을 적극 기울일 것임

2) 산업화를 통한 기대효과

(단위 : 억원)

산업화 기준 항 목	1차년도	2차년도	3차년도	4차년도	5차년도	계
직접 경제효과	10억	20억	30억	50억	50억	160억
경제적 파급효과	100억	200억	200억	200억	200억	900억
부가가치 창출액	50억	100억	150억	150억	150억	600억
합 계	160억	320억	380억	400억	400억	1660억

제3장 연구개발수행 내용 및 결과

제1절 건열처리 효과 극대화, 건열피해 최소화 기술과 CGMMV 등 바이러스 무독화 기술 개발 및 부분 보완

1. 공시재료 확보

가. 장기보유종자의 활력검정

2009년 4월 1일부터 공식적으로 착수한 본 연구를 효율적으로 수행하기 위하여 경희대학교 종자보관실에서 장기저장 중인 주요 박과채소 종자의 활력을 검정하고, 또한 CGMMV 감염종자의 바이러스 활성 정도를 파악한 후 차등 건열처리를 적용하였다. 또한 일부 수집된 2008년산 무처리종자(건열 및 기타처리를 전혀 가하지 않은 종자)를 일부 확보하여 차등건열처리를 적용하였다. 앞으로 진행할 연구에 적합한 품종을 선별하기 위하여 총 11 품종의 박과채소 종자의 묘 출현율 검정을 실시하였으며 그 결과는 <표 1-1>과 같다.

<표 1-1> 장기보유 박과 채소종자 출현율 검정(2009년 9월 2차 파종 결과임-1개월간 후처리)

순번	품종	묘 출현율(%)		비 고
		파종 14일 후	파종 21일 후	
1	FR King II #1	0.0	17.8	세미니스 2002년 감염종자
2	FR King II #2	0.0	2.2	세미니스 2002년 감염종자
3	FR King II #3	0.0	17.8	세미니스 2002년 감염종자
4	신통력	0.0	48.9	세미니스 2001년 포장
5	흥런	0.0	11.1	세미니스 2001년 포장
6	FR-1000	0.0	40.0	동부한농 2001년 포장
7	FR단토스	0.0	17.8	동부한농 2001년 포장
8	동장군	17.8	88.9	신젠타 2008년 포장
9	수퍼FR파워	95.6	97.8	농우바이오 2008년 포장
10	조생토좌	82.2	100.0	신젠타 2008년 포장
11	올쥬키니	77.8	88.9	신젠타 2008년 포장

‘FR King II #1’, ‘#2’, ‘#3’의 경우, 2002년 세미니스에서 채종 및 포장한 종자로 CGMMV 감염을 100%에 달하는 품종으로 CGMMV 감염은 매우 강하였지만 장기저장에 따라 발아력은 크게 저하된 상태로 보였다. 이에 비해 2008년산인 ‘조생토좌’와 ‘올쥬키니’ 호박의 경우 매우 양호한 상태를 보였고, ‘동장군’과 ‘수퍼FR파워’ 박도 파종 3주 후 묘 출현율이 각각 88.9%와 97.8%를 보여 양호한 발아 상태를 보였다. 이들 종자들에 대하여는 다양한 CGMMV 무독화 처리를 실시한 후 본 실험에 공시하기도 하였고 협동과제 책임자에게도 전달하여 바로 정상적인 연구가 착수될 수 있도록 하였다.

나. 시판종 확보

국내 종자회사에 수시 문의하여 처리되지 않은 시판종을 중심으로 분양받아 2009년 11월에서 2011년 3월에 걸쳐 지속적으로 확보하여 다양한 처리에 활용하였다<표 1-2>.

<표 1-2> 2009-2011 종자분양의뢰후 받은 종자

회사명	작물명	품종명	중량	비고
신젠타 2009	호박	조생토좌	5 kg	1차 분양분(2009-5-?) 1000립중 220 g
	호박	올쥬키니	5 kg	상동 1000립중 160 g
	박	동장군	5 kg	상동 1000립중 163 g
신젠타 2010	박	불로장생	3 kg	2차분양분(2009-12-8) (1000립중 178 g)
	박	동장군	3 kg	1000립중 168 g
	호박	조생토좌	3 kg	1000립중 218 g
	호박	올쥬키니	3 kg	1000립중 160 g
	수박	단골 4.25/103	200 g	3차분양(2009-12-11) 1000립중 41.3 g
	오이	중복삼척	150 g	상동 1000립중 35.8 g
	수박	달고나골	150 g	상동 1000립중 51.1 g film-coated
	박	동장군	5 kg	2010-10 입고
	박	불로장생	5 kg	
	호박	조생토좌	5 kg	
농우 2010	호박	RS-111	5 kg	
	수박	S&G	1 kg	1000립중 43 g
	호박	오복토좌	3 kg	1000립중 90.3 g
	호박	뚝심토좌	3 kg	1000립중 134.0 g
	호박	태양쥬키니	3 kg	1000립중 158 g
	박	FR헬스	3 kg	1000립중 138 g
	박	수퍼FR파워	3 kg	1000립중 141 g
	수박	우리골	200 g	1000립중 50.4 g
	수박	Torpedo	200 g	1000립중 21.3 g
	수박	Aquila	200 g	1000립중 21.4 g
	참외	오복골	200 g	1000립중 7.4 g
	오이	설백백침	200 g	1000립중 18.2 g
	오이	청백백침	200 g	1000립중 18.2 g
	박	FR Twist F1		1차 감염종자용 (1000립중 168 g)
	박	FR Twist F2	10 kg	0.4(0) + 3.8 kg(30DAP)+3.2 kg(40)+2.5 kg(50)
	박	신화창조	700 g	오대근 F1구입종자(종자협회) 1000립중 206 g
	박	신화창조 #1	18 kg	
박	신화창조 #2	18 kg	2010-05-06 경희대 입고	
박	신화창조 #3	18 kg	인도네시아 수입박(감염종자)	
박	신화창조 #4	18 kg		
박	신화창조 #5	18 kg		
수박	금보	1 kg	2011-03 입고. 1000립중 53 g	
Monsanto 2010	박	FR Strong	1.5 kg	
	호박	T-1 골드토좌 (참외용)	6 kg	1000립중 243 g
	수박	PS 14510266	300 g	1000립중 31 g
	멜론	수퍼 VIP	300 g	1000립중 19 g
삼성종묘	오이	조은백다다기	300 g	1000립중 25 g
	수박	삼성SS골플러스	2 kg	2011-03 입고. 무처리종자. 1000립중 52.6 g

다. CGMMV 이병종자 확보

(1) ‘동장군’ 및 ‘블로장생’ 박 품종의 CGMMV 접종 및 국내 채종(격리온실)

소립 개체들의 확보 및 숙기가 지연되어 접종 확인 및 과실 수확 후 후숙하여, 일부 종자의 탈종을 마쳤으나, 발아율을 검정한 결과 30% 이하의 낮은 발아율을 보여서 처리 및 발아실험용으로는 부적합한 상태로 보관하였다<그림 1-1, 1-2>.

(2) ‘FR Twist’ 박 자가수분채종(국내 채종) 및 이병엽 생산

농우바이오 여주육종연구소 분리 포장에서 채종하였고, 공시품종은 ‘FR Twist’(수입종)로 2010년 7월 하순 파종하여 3시기에 걸쳐서 접종하고, 감염증상이 발현되는 것을 확인하고 주당 2과 착과시켜 11월 하순 채과한 후 실온에서 30일간을 과실자체를 후숙시킨 후에 탈종하였다 또한 CGMMV 병징이 확실한 이병엽을 채취하여 실내에서 상온건조하여 이병엽을 확보하였다<그림 1-3, 1-4, 1-5, 1-6>.

(3) ‘신화창조’ 박 자가수분 채종(F2)(인도네시아 채종)

협동과제 책임자 및 연구원인 한국농업대학 오대근 교수 및 한국종자협회에 의뢰하여 인도네시아 채종단지에서 격리된 장소를 물색하여 이병종자를 계약 채종하였다<표 1-3>. 채종된 종자는 총 80kg으로 식물검역원의 수차례에 걸친 확인 과정을 거쳐서 2010년 5월 10일 경희대학교 격리 저온저장고에 입고되었다(저장고 온도는 8℃로 유지함).

이 종자의 특성을 간략하게 보면 우선 외관상 강한 갈색을 띄우고 강하고, 균일하며, 크기도 고르고 외형에서도 거의 동일한 형태를 지니고 있었다<그림 1-7>.

이들 종자에서 다양한 방법으로 CGMMV 이병정도를 검사한 결과 방법에 따라서 소폭의 차이는 있었지만 대체로 50%~60%의 고른 이병율을 보이고 있어서 본 실험의 주재료로서 최적의 조건을 가지고 있었다<그림 1-8, 1-9, 1-10>, <표 1-4>.

이러한 50% 이상의 감염율을 가지는 종자들을 격리온실에 72공 cell tray 3판에 파종하여 조사한 결과 모든 종자가 발아하였고 유식물로 성장하였으나, 이들 212 개체 중 오직 2 개체에서만 CGMMV 증상이 나타나고 있어서 50%의 감염율을 감안하더라도 감염종자에서 감염개체가 발생할 확률은 2% 정도임이 확인되었는데 이는 CGMMV가 종피(외종피 및 내종피)에만 존재하고 배(자엽 포함)에는 분포하지 않기 때문이었다<그림 1-11>. 이는 상당수의 다른 바이러스류와는 달리 tobamovirus는 종자 내부(배+배유)에는 존재하지 않고, 종피에만 존재하다가 발아 시에 유식물에 virus particle이 전염되면서 그 증상이 발현되고, 또한 설혹 존재한다고 하더라도 100개 이내의 바이러스 감염 정도로는 그 증상이 대부분 나타나지 않는 특성에 기인되는 것으로 판단되었다. 종자에서 내종피의 존재는 현저하지는 않지만 발아과정 중에는 식별이 용이하였다<그림 1-11>.

아울러 이들 종자에 대하여 강도 높은 건열처리를 가한 후에 발아실험을 실시한 결과 후처리도 하지 않았는데도 거의 완벽한 종자발아를 보여서(발아율 90% 이상, 정상묘 출현율 80% 이상) 다양한 실험에 고르게 이용될 수 있을 것으로 판단되었으며 차후의 실험에 적극 이용하였다.



<그림 1-1> 경희대 비닐하우스에서의 이병종자 생산



<그림 1-2> 경희대에서 채과된 박



<그림 1-3> 여주 농우바이오에서 증식되는 이병박



<그림 1-4> 재배 후 시료로 채취된 이병엽(농우)



<그림 1-5> 농우 이병개제에서 탈종된 박 종자



<그림 1-6> 파종 후 접종시기에 따른 종자의 품질

<표 1-3> 2010 Indonesia에서 채종된 '신화창조' 감염종자(2010년 5월 11일 입고)

Package	이병종자 중량	평균중 mg/seed	감염율 (%) ELISA test ²	발아율 (%)	
				파종 3일 후	파종 12일 후
1	18 kg	143	54.4	63.3	93.3
2	18 kg	177	57.8	90.0	86.7
3	18 kg	173	63.3	96.7	80.0
4	18 kg	177	66.7	80.0	96.7
5	17 kg	177	66.7	60.0	83.3

²ELISA test는 국립원예특작과학원 탐동연구소에 의뢰한 결과임.



<그림 1-7> 인도네시아에서 채종된 감염종자



<그림 1-8> '신화창조' 감염종자의 초기 균일 발아



<그림 1-9> '신화창조' 감염종자의 왕성하고 균일한 발아 및 유묘



<그림 1-10> 감염정도를 파악하기 위한 ELISA 검정(60% positive)

<표 1-4> ELISA plate에서의 흡광도 비교

A	0.675	0.323	0.199	0.344	0.452	0.171	0.539	0.510	0.745	0.575	0.105	0.443
B	0.304	0.167	0.412	0.637	0.122	0.202	0.552	0.199	0.169	0.607	0.110	0.488
C	0.224	0.121	0.550	0.171	0.519	0.716	0.113	0.613	0.400	0.568	0.112	0.507
D	0.429	0.127	0.615	0.165	0.521	0.722	0.231	0.160	0.214	0.163	0.108	0.475
E	0.419	0.568	0.636	0.436	0.650	0.515	0.180	0.617	0.464	0.448	0.115	0.500
F	0.732	0.117	0.310	0.142	0.540	0.347	0.714	0.498	0.456	0.531	0.112	0.490
G	0.648	0.620	0.421	0.276	0.166	0.553	0.194	0.236	0.134	0.126	0.106	0.478
H	0.305	0.350	0.569	0.566	0.636	0.205	0.149	0.659	0.554	0.560	0.108	0.112



A. 박 종자 발아 및 내종피



B. 호박 종자 발아 및 외종피와 내종피

<그림 1-11> 박(A) 및 호박(B)의 발아시 내종피와 외종피의 모습

2. 건열처리종자의 발아력 향상 및 건묘육성 제고 기술 개발

가. 발아력 향상을 위한 실험연구

(1) 건열처리 후처리 기간에 따른 발아력 및 유묘활력

채소종자에서의 건열처리는 종자에 높은 열을 가함으로써 열에 불안정한 바이러스를 포함한 다양한 종자전염병균을 사멸 또는 불활성화 시키는 기술로서 국내외적으로 채소종자에 선택적으로 행해지고 있으며 특히 종피가 두껍고 종자전염병균의 불활성화가 어려운 박과채소종자에서는 거의 필수적으로 이용되고 있다. 이러한 건열처리는 가능한 높은 온도에서 장시간 처리할수록 종자전염병균의 불활성화에 유리하지만, 높은 열에 의한 종자 내 저장물질의 파괴 및 변형과 같은 건열피해로 인하여 종자활력은 물론 유묘특성에도 일시적 및 지속적인 영향을 끼치는 경우가 흔히 발생하고 있다. 따라서 채소종자의 작물별, 품종별 권장되는 건열처리의 상한온도와 처리일수가 달라지며, 또한 채종시기·탈종·후숙에 따라서도 영향을 받으며 건열처리기기의 성능에 의해서도 건열피해 정도가 달라지므로 건열처리 시 세심한 주의가 필요하다.

본 연구의 1차년도 초기단계실험에서는 2003년 경희대학교에서 제출한 농림부 출자 연구과제 결과보고서 “채소종자의 건열처리 기술 개발”에 따라 권장된 표준건열처리 방법에 준하여 실시하였다. 박과채소에서 권장되는 표준건열처리는 건열처리기기에서 35℃에서 24 시간, 50℃에서 24 시간 처리, 75℃에서 72 시간 처리한 뒤, 건열처리가 끝나는 시점에서 종자를 기기 밖으로 꺼내지 않고 그대로 두어 점차적인 온도하강시간을 두어 상온에 이르게 되면 종자를 꺼내어 상온에서 후처리하게 된다. 그러나 이러한 건열처리는 건열처리 시작시의 종자품온과 종자수분함량이 종자의 보관상태에 따라 다르며, 건열처리 후 온도하강 시 계절에 따른 온도차이로 인하여 건열피해가 발생할 것으로 예상되므로 건열처리 전후의 종자상태와 환경에 의한 영향에 대한 추가연구가 필수적인 것으로 판단되었다.

이에 따라, 속행 연구에서는 박과채소종자를 상한온도 72℃와 78℃로 설정하고 새로이 고안된 온도 상승 및 하강속도를 적용하여 건열처리한 뒤, 건열피해에 의한 발아력 감소에 대한 회복 방법으로 건열처리된 종자를 상온에서 일정기간 동안 보관하여 건조된 종자의 점진적인 수분흡수 등을 통한 종자활력을 재생시키는 후처리 기간을 두었다. 그리고 후처리 1개월과 4개월 후에 유리온실에 파종하여 묘 출현율을 비교함으로써, 후처리 기간에 따른 종자활력 회복정도를 파악하기 위한 시험을 실시하였으며, 그 결과의 일부는 <표 1-5>에서와 같다.

묘 출현율을 조사한 모든 품종에서 건열처리 직후 파종한 것에 비하여 후처리한 경우 묘 출현율이 상승하였으며, 특히 4 개월간 후처리한 경우 묘 출현율이 현저히 상승하였을 뿐만 아니라 묘소질도 크게 개선되었다.

<표 1-5> 건열처리 후처리 기간에 따른 박 및 호박 종자에서의 정상묘 출현율(72공 트레이, 바로커 상토로 실험하였음)

품종	건열처리 상한온도 (℃)	묘 출현율(%)					
		건열처리 직후 파종		1개월간 후처리		4개월간 후처리	
		7일 후	14일 후	7일 후	14일 후	7일 후	14일 후
동장군 박	72	0.0	22.2	26.7	66.7	80.0	100.0
	78	0.0	26.6	6.7	82.2	55.6	100.0
수퍼FR파워 박	72	28.8	31.1	62.2	100.0	88.9	97.8
	78	22.2	28.8	60.0	100.0	42.2	86.7
조생토좌 호박	72	86.6	93.3	100.0	100.0	95.6	97.8
	78	51.1	62.2	93.3	100.0	75.6	97.8
올쥬키니 호박	72	60.0	68.8	77.8	100.0	86.7	100.0
	78	37.7	53.3	97.8	100.0	61.1	82.2

(2) 종자크기, 종피절단, 침종용액에 따른 발아습성

박과채소종자 중 특히 박이나 3배체 수박의 종자는 종피가 다른 채소종자에 비하여 두껍고 단단하기 때문에 종자를 장기간 저장할 수 있고 병균의 침투나 물리적 피해가 적은 편이나, 오히려 이로 인하여 종자 발아 시 두터운 종피의 과도한 수분흡수가 정상적인 발아에 지장을 초래하거나 유근의 출현을 방해하며, 파종 후에 유묘가 출현하더라도 종피가 자엽에서 탈착(탈종피)되지 않아 자엽 전개에 방해가 되어 자엽이 뒤틀리거나 상처를 입어 병균이 침투하는 등 비정상묘의 발생원인이 되어 공정묘 생산에 문제를 일으키기도 하며, 상업적 이용 시 건전종자 생산을 위한 종자소독·종자코팅과 같은 종자처리 시 문제가 되기도 한다. 이에 대한 방안으로 seed brushing machine으로 박피시키거나 종피에 상처를 내어 발아를 촉진하거나 다양한 프라이밍처리를 적용하기도 한다.

이러한 박과채소종자의 발아시 문제점 중 유묘출현 이후 정상적인 자엽전개에 방해가 되는 종피의 이탈을 돕기 위한 처리를 연구하기 위하여 종자의 크기를 구분하고, 종피파상방법과 다양한 침지용액에 따른 유묘소질평가를 실시하였다.

종자크기에 따른 묘 출현율을 비교한 결과 ‘파워킹II’ 박 종자와 와 ‘동장군’ 박 종자 모두 대립종에 비하여 소립종에서 정상묘의 비율이 높은 결과를 보였다. ‘파워킹II’ 박의 경우, 대립종과 소립종간에 출현율은 비슷하였으나, 파종 2주 후 소립종의 정상묘는 70.8%인 것에 비하여 대립종의 정상묘는 54.2%로 크게 차이가 나는 것을 볼 수 있었으며 이러한 경향은 파종 3주 후에도 비슷하게 유지되었다.

‘동장군’ 박종자의 경우, 파종 2주 후 대립종의 출현율은 51.4%였고, 소립종은 73.6%로 소립종의 출현율이 높았으며 대립종에서 29.2%의 정상묘가 출현한 것에 비하여 소립종은 45.8%로 정상묘의 출현율이 크게 높았다.

‘동장군’ 박종자의 종피 부분절제처리는 57.6%의 출현율을 보여, 묘 출현에 크게 기여하지는 못하는 것으로 나타났다. 침지용액처리에서는 채소세척용수에 침종하거나 1.5% 과산화수소에 침종한 경우 출현율이 오히려 크게 떨어져 발아력에 큰 피해를 주는 것으로 나타난 것에 비하여 물에 침종한 경우 상대적으로 출현율이 상승되었다. 물에 침종한 경우 15분간 침종한 것에 비하여 60분간 침종한 것에서 출현율이 다소 높았으나 예상한 바와 같이 정상묘의 비율은 오히려 떨어지는 경향을 보였다(데이터 생략).

(3) 파종방향에 따른 종피탈착정도 및 유묘특성

종자는 원형, 타원형, 갈고리형 등 종자의 생김새가 작물에 따라 다르며 품종에 따라서도 다소 차이가 있다. 또한 그 모양에 따라 유근이나 자엽이 출현하는 발아공의 위치가 각기 다른데, 흔히 발아공의 위치와 상관없이 기계파종을 하곤 한다. 박과채소종자의 경우 채소종자 중에서도 크기가 큰 편에 속하며 발아공의 위치가 명확하고 구분하기도 쉬운데, 발아단계를 살펴보면 유근이 먼저 출현하게 되므로 종자의 형태를 고려하여 파종을 하더라도 발아공의 위치를 아랫방향(하향)으로 파종하는 경우가 대부분이다. 특히 종자를 최아파종하는 경우에는 뿌리가 돌출하는 부위를 아래쪽으로 향하게 하여 파종하는 것이 일반적이다. 본 연구에서는 발아공 위치를 기준으로 파종 시 파종방향에 따라 유묘 출현에 미치는 영향에 관하여 연구하였다. 공시된 종자는 발아율이 다소 낮아 진 건열처리된 종자를 대상으로 실험을 실시하였는데 그 결과는 <표 1-6>과 같다.

‘올쥬키니’ 호박을 제외한 모든 공시품종에서 건열처리 시 상온온도 72℃ 처리종자가 78℃ 처리종자보다 다소 높은 출현율을 보였는데, “상향” 또는 “수평”으로 파종한 것이 “하향”으로 파종한 것보다 출현율이 높았으며 정상묘의 비율도 파종방향에 따라 출현율에서의 경향과 같이 높아지는 결과를 보였다 <그림 1-12>. “하향” 파종한 경우 파종 3주 후에는 호박에서는 출현율이 “상향”이나 “수평”과 거의 같아지는 결과를 보이기는 했으나 ‘동장군’ 박에서는 파종 3주 후에도 출현율이 매우 저조하였다 <그림 1-13, 1-14>.

<표 1-6> 박 및 호박 종자에서 파종 방향에 따른 출현율(72공 트레이 바로커 상토 이용)

품종	건열처리 상온온도 (℃)	파종 방향	파종 2주 후				파종 3주 후				
			출현율 (%)	정상 (%)	비정상 (%)	미발아 (%)	출현율 (%)	정상 (%)	비정상 (%)	미발아 (%)	
박	동장군	72	상향	20.0	20.0	0.0	80.0	93.3	93.9	0.0	0.0
			하향	0.0	0.0	0.0	100.0	6.7	6.7	0.0	93.3
		수평	60.0	60.0	0.0	40.0	100.0	100.0	0.0	0.0	
		78	상향	0.0	0.0	0.0	100.0	100.0	100.0	0.0	0.0
			하향	0.0	0.0	0.0	100.0	46.7	46.7	0.0	53.3
			수평	20.0	20.0	0.0	80.0	100.0	100.0	0.0	0.0
	수퍼FR 파워	72	상향	93.3	93.3	0.0	6.7	100.0	100.0	0.0	0.0
			하향	6.7	6.7	0.0	93.3	100.0	100.0	0.0	0.0
			수평	86.7	80.7	6.0	13.3	100.0	100.0	0.0	0.0
		78	상향	86.7	86.7	0.0	13.3	100.0	100.0	0.0	0.0
			하향	6.7	6.7	0.0	93.3	100.0	93.3	6.7	0.0
			수평	86.7	66.7	20.0	13.3	100.0	100.0	0.0	0.0
호박	조생토좌	72	상향	100.0	100.0	0.0	0.0	100.0	100.0	0.0	0.0
			하향	100.0	93.3	0.7	6.0	100.0	93.3	0.7	6.0
		수평	100.0	100.0	0.0	0.0	100.0	100.0	0.0	0.0	
		78	상향	93.3	80.0	13.3	6.7	100.0	100.0	0.0	0.0
			하향	93.3	60.0	33.3	6.7	100.0	100.0	0.0	0.0
			수평	93.3	66.7	26.7	6.7	100.0	86.7	13.3	0.0
	올쥬키니	72	상향	100.0	66.7	33.3	0.0	100.0	100.0	0.0	0.0
			하향	53.3	40.0	13.3	46.7	100.0	86.7	13.3	0.0
			수평	80.0	80.0	0.0	20.0	100.0	93.3	6.7	0.0
		78	상향	100.0	93.3	6.7	0.0	100.0	86.7	13.3	0.0
			하향	93.3	26.7	66.7	6.7	100.0	100.0	0.0	0.0
			수평	100.0	60.0	40.0	0.0	100.0	100.0	0.0	0.0



좌3열:상향, 중3열:하향, 우3열:수평



좌3열:상향, 중3열:하향, 우3열:수평

<그림 1-12> 파종각도에 따른 호박(울쥬키니) 및 박(수퍼FR파워)의 출현 양상

건열처리된 박 종자는 하향, 수평에서 정상묘 출현이 현저히 지연되는데 특히 종자발아 불량 환경조건 하에서 두드러지게 나타남



동장군 파종 후 9일



동장군 파종 후 10일



동장군 파종 후 11일

<그림 1-13> '동장군' 박 종자의 파종각도에 따른 출현, 묘소질, 및 접목가능묘 예측도



좌:하향 vs.우:상향



좌:하향 우:상향



상향묘(지하경이 짧음)



상:하향 하:상향 파종임

<그림 1-14> '동장군' 박 종자의 파종각도에 따른 입고병 발생(좌), 묘소질, 및 하배축 길이와 굵기(우)

(4) 건열처리후 다운도발아상(thermogradient table : TGT)을 이용한 발아습성의 비교

본 연구의 연구수행에 단계에 따라 2009년 12월말 해외채종된 박과채소종자가 분양됨에 따라 기본적인 종자발아능 검정과 더불어 앞으로 진행될 종자 프라이밍과 인공노화촉진 처리에 대한 적합성 판단을 위하여 다운도발아상을 이용하여 다운도발아상 내 라인별로 온도를 달리 설정하여 입고된 박 7품종의 종자발아검정을 실시하였는데 그 결과는<표 1-7, 1-8, 1-9>, <그림 1-15>와 같다.

'FR Twist'를 제외한 모든 품종이 25℃에서 파종 4일 후에 발아율이 100%에 달하였고, '수퍼FR파워', '신화창조'의 경우 25℃보다 30℃에서 파종 4일 후 발아율이 90% 이하로 나타나 발아가 약간 지연

되는 경향을 보였다.

<표 1-7> 종묘사로부터 분양 받은 주요 시판종 박 종자의 다운도 발아상에서 발아온도에 따른 발아율

품종	발아율(%)							
	파종 4일 후				파종 7일 후			
	20℃	23℃	26℃	30℃	20℃	23℃	26℃	30℃
동장군A (신젠타)	87.5	100.0	100.0	100.0	93.8	100.0	100.0	100.0
동장군B (신젠타)	37.5	81.3	100.0	93.8	81.3	96.9	100.0	100.0
수퍼FR파워 (농우)	100.0	100.0	100.0	75.0	100.0	100.0	100.0	100.0
불로장생 (신젠타)	71.9	87.5	100.0	100.0	93.8	100.0	100.0	100.0
신화창조 (농우)	34.4	87.5	100.0	84.4	93.8	100.0	100.0	100.0
FR헬스 (농우)	93.8	90.6	100.0	96.9	93.8	87.5	100.0	100.0
FR Twist (농우)	0.0	21.9	81.3	87.5	31.3	81.3	90.6	96.9

<표 1-8> 수집된 박 종자의 다운도발아상에서의 종자발아 및 유묘 생육

품종	최종 발아율(%)				생체중 (mg/seedling)			
	20℃	23℃	25℃	30℃ ^y	20℃	23℃	25℃	30℃
FR-헬스	93.8	90.6	100.0	100.0	788	821	849	777
수퍼FR파워	100.0	100.0	100.0	100.0	638	637	708	714
신화창조 ^z	93.8	100.0	100.0	100.0	915	1010	1054	923
FR Twist	40.6	81.3	90.6	96.9	553	746	859	833
동장군 A	93.8	100.0	100.0	100.0	695	676	695	864
불로장생	93.8	100.0	100.0	100.0	675	657	851	839
동장군 B	81.3	96.9	100.0	100.0	615	632	726	847

^z신화창조는 하배축의 굵기가 처음부터 굵고 단단하였음.

^y실험기간 중 30℃에서는 실험 초기에 TGT 상에서 다소간의 수분 stress가 있었음.

<표 1-9> 수집된 박 종자의 다운도발아상에서의 유묘에서 관찰된 부위별 비정상 개체수

품종	비정상묘수/전체출현묘수 (파종 후 14일)							
	하배축비정상				뿌리 비정상			
	20℃	23℃	26℃	30℃ ^z	20℃	23℃	26℃	30℃*
FR-헬스	3/32	3/29	4/32	6/32	8/32	5/29	5/32	11/32
수퍼FR파워	4/32	2/32	1/32	7/32	4/32	1/32	3/32	13/32
신화창조	3/30	2/32	3/32	3/32	0/30	0/32	4/32	10/32
FR Twist	0/13	2/26	4/29	11/31	0/13	2/26	5/29	11/31
동장군 A	3/30	0/32	4/32	11/32	6/30	4/32	8/32	11/32
불로장생	3/30	7/32	5/32	7/32	4/30	7/32	5/32	8/32
동장군 B	2/26	5/31	6/32	8/32	3/32	4/31	4/32	8/32
총계	18/193	21/214	27/221	53/223	25/199	23/214	34/221	72/223

^z실험기간 중 30℃에서는 실험 초기에 다소간의 수분 stress가 있었음.



TGT 발아온도(좌열로부터 20-23-26-30℃)

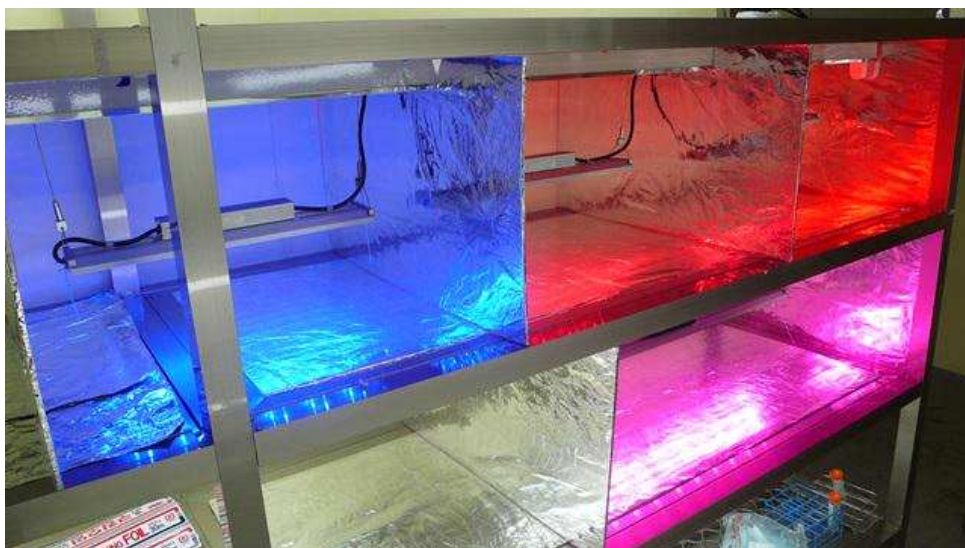


정상유묘(상)와 부분적 비정상유묘(하)의 비교

<그림 1-15> 다양한 박 수집종자의 TGT 발아온도에 따른 종자발아 및 묘소질

(5) 건열처리된 종자의 LED 광질에 따른 발아습성의 비교

광은 작물의 생장·형태 형성 및 색소 형성 등에 대한 에너지원으로서 뿐만 아니라, 조절인자로서 작용하고 있다고 알려져 있는데, 적색광은 식물체의 광합성에 관여하고 청색광은 형태적으로 식물체의 건전한 생장에 효과적이며, 종자발아 단계에서의 청색광 조사는 광수용성 단백질인 phytochrome의 효과를 더욱 증폭시키는 것으로 알려져 있다. 이에 따라 건열처리 후 건열피해에 의한 종자활력 감소를 극복하기 위한 방안으로 광질에 따른 박과채소종자발아의 변화를 살펴보기 위하여 실험하였다. 이러한 실험을 수행하기 위해 가시광선 영역 중 청색광에 해당하는 450nm 파장대의 빛을 조사하는 LED와 적색광에 해당하는 632nm와 660nm 파장대의 빛을 조사하는 LED, 그리고 청색광과 적색광의 파장대를 혼합하여 빛을 조사하는 LED 조사장치를 구매하여 <그림 1-16>과 같이 설치하였고 아래와 같은 일련의 실험을 진행하였다.

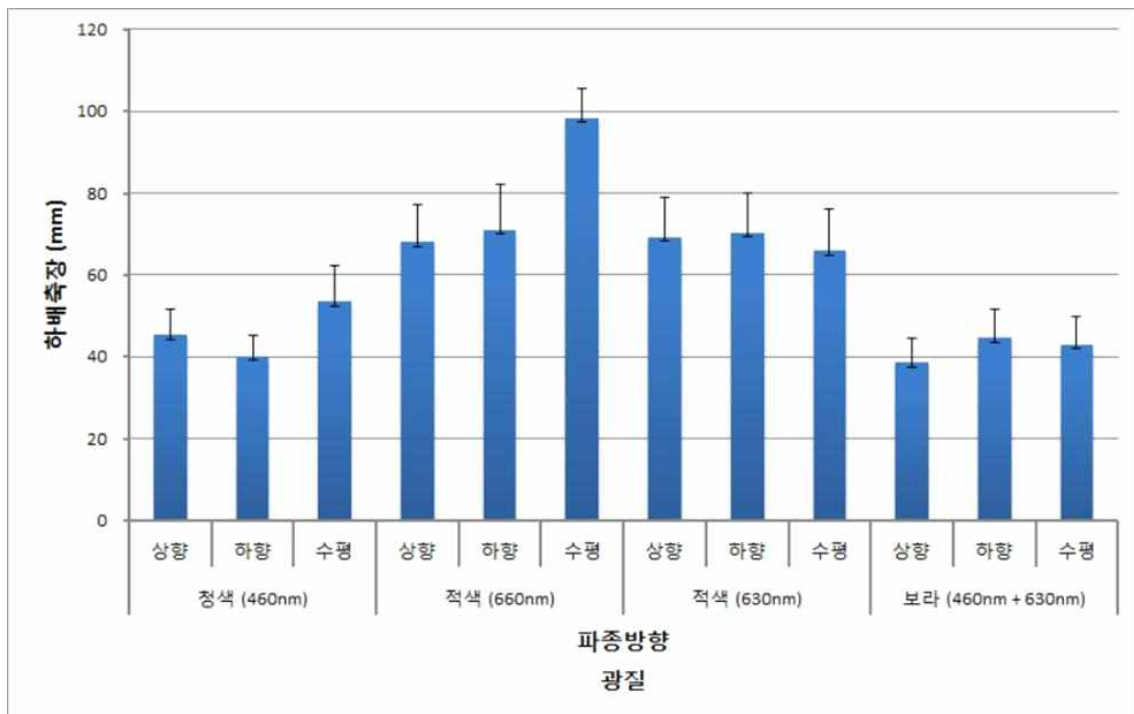


<그림 1-16> LED 조사장치

2010년 5월 4일 ‘동장군’ 박 종자를 72공 트레이에 파종방향을 상향, 하향, 수평으로 하여 24립씩 파종하여 (주)다인바이오에서 제공하는 LED조사장치를 원예생명공학과온실 LED실 선반에 배치하고 칸막이를 이용하여 다른 광질간의 영향을 최소화하여 청색광(460nm), 적색광(660nm), 적색광(630nm), 혼합광(660nm+460nm)의 광질하에서 2주간 발아 및 생육시켰다.

LED 광질에 따른 ‘동장군’ 박의 묘 출현을 살펴보면, 파종 5일 후에는 630nm 적색광에서 묘 출현이 가장 빨랐으나 파종 7일 후부터는 청색광에서 가장 높은 출현율을 보였다. 파종 13일 후에는 94.44%~100%의 출현율을 보인 다른 광질에 비하여 보라색광에서의 출현율은 88.89%로 다소 낮은 출현율을 보였다. 출현한 묘중에서 종피를 벗지 못한 묘의 비율은 청색광에서 가장 적었으며, 660nm 적색광, 보라색광, 630nm 적색광 순으로 낮았다. 하배축의 길이는 660nm 적색광에서 가장 길었으며, 630nm 적색광에서 비교적 짧았다. 청색광이나 보라색광에서의 하배축장은 적색광의 2/3 수준을 보였다. 그러나 보라색광에서의 생체중은 생육이 빨랐던 적색광에서와 비슷한 수준을 보였다.

이상의 결과를 종합하여 보면, 묘의 출현이나 생육은 적색광에서 빠른 경향을 보였고, 청색광이나 보라색광에서는 다소 낮은 하배축장을 보였으나 보라색광의 자엽이 다른 광질보다 커지는 경향을 보였으며(데이터 생략) 생체중이 높은 것으로 보아 조직이 더 치밀한 것으로 판단되었다. 그러나 적색광이나 보라색광에서 종피 미탈립율이 40%에 달하여 청색광보다 비정상묘의 발생율이 높아질 것으로 판단되었다. 이러한 결과는 다소 부적합한 환경조건일수록 종자 파종방향의 효과가 현저하게 나타날 수 있음을 명확하게 지적해 주고 있어 이에 대한 대책 내지는 기술 보완이 시급한 실정이다. 따라서 묘 출현이 빠르고 도장하지 않으며 비정상묘의 출현이 적을수록 유리한 대목생산에 있어 적색광 또는 보라색광보다 청색광이 더 효과적일 것으로 판단되었다. 또한 비교적 낮은 광도 하에서 진행된 실험이었기에 실제에 서와 같이 더 높은 광도와 균일한 광조건 하에서의 추가실험이 실시되는 것이 바람직하다고 판단되었다.



<그림 1-17> LED 광질하에서 파종방향 및 광질에 따른 ‘동장군’ 박의 하배축장의 변화

<표 1-10> LED 광질하에서 ‘동장군’ 박 종자의 유효출현 및 유효생육 결과(2010.05.04.)

광질	파종 방향	묘 출현율 (%)			종피 미탈립율 (%)			하배축장 (mm)		생체중 /주 (g)
		파종 5일 후	파종 7일 후	파종 13일 후	파종 5일 후	파종 7일 후	파종 13일 후	평균	표준 편차	
청색 (460 nm)	상향	87.50	100.00	100.00	9.52	4.17	0.00	45.25	12.46	1.65
	하향	83.33	95.83	100.00	65.00	52.17	12.50	40.09	10.63	1.85
	수평	87.50	95.83	100.00	19.05	8.70	4.17	53.46	17.96	2.39
	평균	86.11	97.22	100.00	31.19	21.68	5.56	46.27	13.68	1.96
적색 (660 nm)	상향	95.83	100.00	100.00	17.39	16.67	16.67	68.04	18.28	2.69
	하향	70.83	75.00	83.33	64.71	61.11	55.00	71.11	21.85	2.48
	수평	100.00	100.00	100.00	54.17	50.00	29.17	98.25	14.37	2.73
	평균	88.89	91.67	94.44	45.42	42.59	33.61	79.13	18.17	2.63
적색 (630 nm)	상향	95.83	100.00	100.00	26.09	25.00	12.50	69.13	19.92	3.40
	하향	87.50	91.67	100.00	95.24	90.91	83.33	70.30	19.65	2.38
	수평	95.83	95.83	100.00	56.52	56.52	54.17	65.87	20.72	2.63
	평균	93.06	95.83	100.00	59.28	57.48	50.00	68.43	20.10	2.81
혼합광 (460 nm + 630nm)	상향	75.00	91.67	91.67	27.78	27.27	13.64	38.50	11.91	3.48
	하향	66.67	75.00	75.00	68.75	55.56	61.11	44.61	13.73	2.75
	수평	100.00	100.00	100.00	58.33	58.33	50.00	43.08	13.22	3.13
	평균	80.56	88.89	88.89	51.62	47.05	41.58	42.06	12.95	3.12
총평균		87.15	93.40	95.83	46.88	42.20	32.69	58.97	16.23	2.63



파종 5일 후

파종 7일 후

파종 11일 후

<그림 1-18> LED 광질하에서 ‘동장군’ 박의 생육 비교

(6) 건열처리 후처리기간 및 파종 방향이 박과채소 종자의 유효 출현율 및 묘소 질에 미치는 영향

국내에서 소비량이 많은 수박, 참외, 멜론과 같은 박과채소는 육묘장에서 기계화된 공정묘 생산을 통하여 대목과 접수를 따로 파종하여 육묘한 뒤, 이를 농가가 구입하여 쓰는 경우가 대부분으로 육묘장에서의 대량생산기술 시스템화가 매우 발달되어 있는 편이다. 이러한 육묘과정은 대규모로 이루어지기 때문에 위조병이나 마름병과 같은 전염병을 막기 위한 노력이 필요하며 육묘의 도장을 막고 건전묘 생산을 위한 통풍, 관수, 온도 등과 같은 많은 요인의 조절이 필요한데, 이를 위해 성장조절제이용 등을 포함한 다양한 재배기술을 적용하기도 한다. 또한 종자전염병균의 불활성화를 위하여 넬리 이용되는 종자

건열처리의 경우 종자가 장시간 고열에 노출되기 때문에 건열에 의한 발아율과 묘소질의 감소가 문제시 되기도 하는데, 이를 위하여 실내에서 1~3개월간 따로 후처리기간을 두어 종자활력을 회복시키기도 한다. 따라서 본 연구는 친환경적인 건전묘 육성을 위하여 박과채소 종자를 건열처리 후 후처리기간과 파종방향에 따른 유묘 출현율과 묘소질에 미치는 영향을 구명하고자 실시하였다.

공시재료로는 박 종자인 ‘동장군’(신젠타)와 ‘수퍼FR파워’(농우바이오) 그리고 호박 종자인 ‘조생토좌’(신젠타)와 ‘올쥬키니’(신젠타)를 이용하였다. 건열처리는 35℃에서 24 시간, 50℃에서 24 시간, 최종 상한온도 72℃ 또는 78℃에서 72 시간 처리하였으며, 이후에는 또한 단계적으로 온도를 하강시켰는데 온도상승 및 하강속도는 10분당 1℃로 조절하였다. 건열처리가 끝난 후에는 실험실에서 실내 저장하면서 후처리하였다. 파종은 건열처리직후 파종, 1개월 후 파종, 4개월 후 파종으로 3차에 걸쳐 72공 트레이에 바로키상토를 채워 파종방향을 발아공 부위를 상향·하향·수평으로 하여 15립씩 3반복 파종하여 발아 검정 및 출현검정을 실시하였다.

후처리 기간에 따른 유묘 출현율은 모든 품종에서 건열처리 직후 파종한 것에 비하여 후처리한 경우 유묘 출현율이 상승하였으며, 특히 4개월간 후처리한 경우 유묘 출현율이 현저히 상승하였을 뿐만 아니라 묘소질도 크게 개선되었다(데이터 생략). 건열처리 상한온도에 따른 유묘 출현율은 ‘올쥬키니’ 호박을 제외한 모든 품종에서 상한온도 72℃가 78℃보다 다소 높은 출현율과 묘소질을 보였다. 또한 파종방향에 따라 ‘상향’ 또는 ‘수평’으로 파종한 것이 ‘하향’으로 파종한 것보다 발아세와 출현율이 높게 나타났으며, 특히 ‘상향’ 파종한 것에서 정상묘 비율이 가장 높게 나타났다. 또한 모든 품종에서 ‘상향’ 또는 ‘수평’ 파종한 것이 ‘하향’ 파종한 것에 비하여 하배축장이 짧고, 굽었으며, 자엽의 크기가 크고 도장이 억제되었고 ‘하향’ 파종한 것에서 나타난 후기의 입고병 발생도 전혀 나타나지 않았다.

이상의 결과를 종합하여 보면, 건열처리 상한온도가 78℃보다 72℃에서, 후처리 기간이 길수록 유묘 출현율과 묘소질이 상승하는 경향을 보였고, 파종방향에 따라 발아세, 출현율, 묘소질, 그리고 정상묘 비율의 차이가 커지는 것으로 미루어 보아 대립종인 박과채소 종자의 파종시 ‘상향’ 파종하는 것이 공정육묘를 위한 건전묘 육성에 크게 이바지 할 수 있을 것이다. 파종방향에 따르는 이러한 묘소질 제고특성은 종피 비율이 매우 높은 박 종자나 씨없는 수박의 종자뿐만 아니라 종피가 얇고 발아도 용이한 호박류에서도 현저하게 인정되었다<표 1-11>.

<표 1-11> 건열처리와 파종방향에 따른 박 및 호박 종자의 유묘소질(건열처리 후 1개월간 후처리)

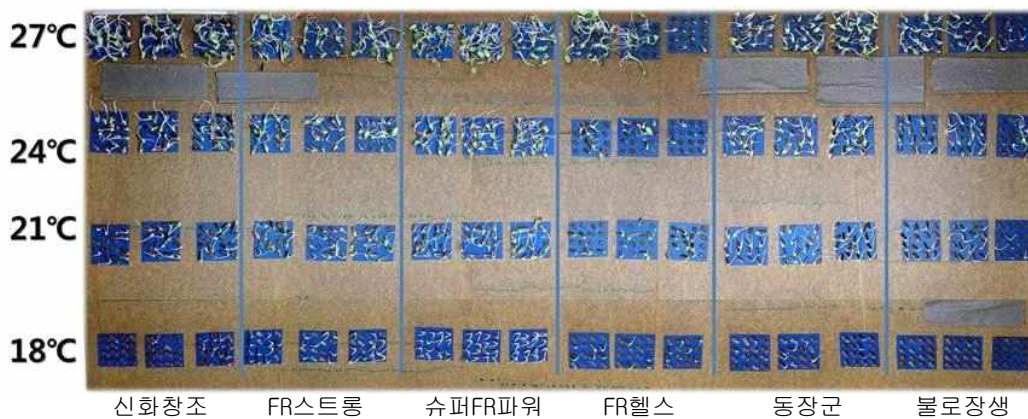
품종	상한 온도 (°C)	파종 방향	하배측					자엽크기 (mm)		생체중 / 5주 (g)		건물중 / 5주 (g)		
			길이(mm)			굵기(mm)		폭	길이	지상부	뿌리	지상부	뿌리	
			지상부	지하부	계	자엽 아래	상토 위							
동장군 (박)	72	상향	82.14	8.14	90.29	4.02	5.34	33.14	57.14	12.52	2.33	0.50	0.08	
		하향	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		수평	86.60	15.33	101.93	3.90	5.05	33.33	55.67	13.72	2.32	0.50	0.07	
		평균	84.37	11.74	96.11	3.96	5.19	33.24	56.40	13.12	2.32	0.50	0.08	
	78	상향	82.60	10.27	92.87	4.11	5.37	33.73	55.40	14.79	2.88	0.58	0.06	
		하향	66.00	29.25	95.25	3.64	4.43	31.25	49.25	4.46	0.73	0.14	0.02	
		수평	79.33	13.53	92.87	4.08	5.11	35.00	58.53	15.35	2.40	0.67	0.07	
		평균	75.98	17.68	93.66	3.94	4.97	33.33	54.39	11.53	2.00	0.46	0.05	
	총 평균		79.34	15.31	94.64	3.95	5.06	33.29	55.20	12.17	2.13	0.48	0.06	
	수퍼FR 파워 (박)	72	상향	97.53	9.07	106.60	4.07	5.21	33.87	53.67	14.45	2.11	0.59	0.07
			하향	60.20	31.10	91.30	3.67	4.11	30.00	47.30	5.77	0.61	0.17	0.02
			수평	84.64	13.57	98.21	3.91	5.15	35.14	54.14	13.40	1.63	0.51	0.05
평균			80.79	17.91	98.70	3.89	4.82	33.00	51.70	11.21	1.45	0.43	0.05	
78		상향	77.27	10.53	87.80	3.99	4.68	32.00	50.33	11.34	1.75	0.46	0.05	
		하향	64.00	31.33	95.33	3.87	4.38	31.78	49.22	6.63	0.56	0.24	0.02	
		수평	84.00	16.92	100.92	4.19	5.22	34.92	54.58	11.73	1.79	0.51	0.17	
		평균	75.09	19.59	94.68	4.02	4.76	32.90	51.38	9.90	1.37	0.40	0.08	
총 평균		77.94	18.75	96.69	3.95	4.79	32.95	51.54	10.55	1.41	0.41	0.06		
조생 토좌 (호박)		72	상향	77.73	8.60	86.33	4.79	5.06	44.87	61.53	4.59	0.75	1.03	0.11
			하향	95.83	27.83	123.67	4.81	4.70	40.92	56.83	4.66	0.50	0.91	0.07
			수평	79.69	14.69	94.38	5.05	4.96	46.92	65.00	5.18	0.81	1.27	0.12
	평균		84.42	17.04	101.46	4.88	4.91	44.24	61.12	4.81	0.69	1.07	0.10	
	78	상향	75.07	9.27	84.33	4.87	5.09	47.60	62.60	23.02	3.59	1.01	0.13	
		하향	84.33	27.00	111.33	4.84	4.67	41.53	57.53	22.96	2.47	0.98	0.02	
		수평	74.83	19.08	93.92	5.33	4.86	45.67	63.67	22.13	3.41	1.12	0.10	
		평균	78.08	18.45	96.53	5.02	4.87	44.93	61.27	22.70	3.16	1.04	0.08	
	총 평균		81.25	17.75	98.99	4.95	4.89	44.58	61.19	13.76	1.92	1.05	0.09	
	올쭈 키니 (호박)	72	상향	56.91	6.18	63.09	5.05	5.07	44.36	71.45	24.58	3.23	0.78	0.10
			하향	67.09	21.73	88.82	4.88	4.68	41.55	63.36	19.13	2.40	0.71	0.07
			수평	48.00	10.17	58.17	5.32	5.13	43.50	67.08	6.40	1.13	0.92	0.13
평균			57.33	12.69	70.03	5.09	4.96	43.14	67.30	16.70	2.25	0.81	0.10	
78		상향	55.29	9.21	64.50	4.67	4.88	41.64	67.21	25.27	2.88	0.95	0.14	
		하향	72.60	22.67	95.27	4.72	4.48	40.00	62.20	23.91	2.04	0.90	0.10	
		수평	52.40	14.13	66.53	5.22	4.81	43.87	71.60	28.95	3.00	1.28	0.19	
		평균	60.10	15.34	75.43	4.87	4.72	41.84	67.00	26.04	2.64	1.05	0.14	
총 평균		58.71	14.02	72.73	4.98	4.84	42.49	67.15	21.37	2.45	0.93	0.12		

(7) 건열처리 상한온도가 박 대목품종 종자의 저온발아에 미치는 영향

종자건열처리는 종자전염하는 다양한 병균의 친환경적 및 복합적 불활성화에 가장 효과적이고 안정하게 적용할 수 있는 종자처리기술로서, 대부분의 해외채종을 통해 엄격한 검역단계를 거쳐서 들어오는 박과채소종자에 주로 이용되고 있다. 특히, 건열처리는 방제약제나 치유방법이 전혀 없는 종자전염 바이러스의 고열에 대한 불안정성을 이용하여 처리하는 기술로서 불활성화 시키고자 하는 바이러스의 종류에 따라 최고 상한온도와 지속시간의 세밀한 조절이 필요하다. 본 연구는 건열처리 상한온도에 따른 박 대목 품종의 초기발아에 미치는 영향을 알아보고 대목품종별로 종자발아에 건열피해를 최소화하면서 바이러스를 효과적으로 불활성화하는 적정 건열처리방법을 체계화하고자 실시하였다.

본 실험에 이용한 박 품종은 화학물질처리나 코팅처리가 되지 않은 ‘불로장생’(신젠타), ‘동장군’(신젠타), ‘FR헬스’(농우바이오), ‘슈퍼FR파워’(농우바이오), ‘신화창조’(농우바이오), ‘FR스트롱참박’(몬산토) 총 6 품종을 이용하였다. 건열처리는 점진적인 온도상승과 하강을 위하여 본처리로 20℃-30℃-40℃-50℃-60℃-70℃-최종 상한온도 72℃ 또는 78℃까지 8 시간 단위로 온도를 상승시켰으며, 상한온도에서는 72 시간 동안 온도를 유지하였다. 그리고 후처리로 60℃-50℃-40℃-30℃-25℃까지 6 시간 단위로 온도를 하강시켰으며, 온도상승 및 하강속도는 10 분당 1℃로 조절하였다. 건열처리가 끝난 뒤, 저온에서 고온까지의 발아특성을 살펴보기 위하여 다운도발아상의 온도를 18℃, 21℃, 24℃, 27℃로 조절하여 각 처리당 16립씩 3반복으로 파종하여 발아검정을 실시하였다.

‘슈퍼FR파워’와 ‘FR헬스’의 경우 매우 높은 발아세를 보였고 ‘동장군’, ‘불로장생’, ‘FR스트롱참박’, ‘신화창조’ 순으로 높은 발아세를 보였다. 그리고 품종에 따라 다소 차이가 있었으나, 발아온도에 따른 최종발아율은 크게 차이가 없었던 것에 비하여 건열처리 상한온도가 높을수록 저온에서의 발아세가 현저히 감소하는 경향을 볼 수 있었다. 또한 건열처리 상한온도가 높을수록 유묘의 생체중도 다소 낮아지는 경향을 보였다. 이상의 결과를 종합하여 보면, 건열처리 상한온도가 상승함에 따라 저온하에서의 발아세와 생체중이 감소하는 경향은 있었으나 품종에 따라 그 민감도가 크게 차이가 나므로 대목의 품종 및 때로는 seed lot에 따라 처리조건 및 발아온도를 선별적으로 적용할 필요가 있다고 판단되었다<그림 1-19 및 표 1-12, 1-13, 1-14>.



<그림 1-19> 다운도발아상 발아검정 모습(파종 7일 후)(촬영일: 2010.04.30.)

<표 1-12> 다양한 온도조건하에서의 박 품종의 종자 발아 검정 결과(무처리, 건열처리 72, 78℃의 데이터 평균치)(2010.03.28)

품종	온도 (℃)	발아율 (%)			T ₅₀	평균발아 소요일수
		파종 5일 후	파종 7일 후	파종 14일 후		
불로장생	27	79.16	91.67	97.92	3.21	4.11
	24	79.17	100.00	100.00	3.44	4.00
	21	33.33	95.83	95.83	5.32	5.52
	18	2.08	27.08	85.42	8.06	8.68
	평균	48.44	78.65	94.79	5.01	5.58
동장군	27	81.25	100.00	100.00	2.50	3.27
	24	75.00	100.00	100.00	3.29	3.71
	21	45.83	93.75	93.75	4.01	4.69
	18	2.08	54.17	75.00	5.91	7.39
	평균	51.04	86.98	92.19	3.93	4.76
FR헬스	27	81.25	100.00	100.00	2.53	3.29
	24	79.17	95.83	95.83	2.83	3.70
	21	50.00	77.08	77.08	3.63	4.16
	18	12.50	58.33	75.00	5.53	6.72
	평균	55.73	82.81	86.98	3.63	4.47
수퍼FR파워	27	93.75	95.83	97.92	2.62	3.36
	24	93.75	97.92	97.92	2.75	3.40
	21	85.42	100.00	100.00	3.47	3.96
	18	56.25	100.00	100.00	3.89	4.77
	평균	82.29	98.44	98.96	3.18	3.87
FR스트롱	27	79.17	87.50	87.50	2.49	3.17
	24	75.00	79.17	79.17	3.10	3.63
	21	68.75	79.17	85.42	3.55	4.46
	18	27.08	75.00	77.08	4.46	5.11
	평균	62.50	80.21	82.29	3.40	4.09
신화창조	27	97.92	100.00	100.00	3.26	3.71
	24	77.08	100.00	100.00	3.63	4.27
	21	20.83	91.67	100.00	5.48	6.02
	18	4.17	50.00	68.75	6.47	7.39
	평균	50.00	85.42	92.19	4.71	5.35

<표 1-13> 박 종자의 건열처리에 따른 발아검정 결과(4가지 온도조건 실험구의 평균치)(2010.03.28)

품종	건열처리 상한온도 (°C)	발아율 (%)			T ₅₀	평균발아 소요일수
		파종 4일 후	파종 7일 후	파종 14일 후		
블로장생	무처리	67.18	89.06	95.31	3.26	4.30
	72	46.88	75.00	95.31	4.44	5.77
	78	31.25	71.88	93.75	5.59	6.35
	평균	48.44	78.65	94.79	4.43	5.47
동장군	무처리	59.38	87.50	89.06	3.38	3.77
	72	46.88	84.38	90.63	4.12	4.86
	78	46.88	89.06	96.88	4.14	5.08
	평균	51.04	86.98	92.19	3.88	4.57
FR헬스	무처리	62.50	79.69	81.25	2.83	3.69
	72	57.81	85.94	92.19	3.37	4.49
	78	46.88	82.81	87.50	3.99	4.77
	평균	55.73	82.81	86.98	3.40	4.32
수퍼FR파워	무처리	90.63	98.44	100.00	3.04	3.67
	72	82.81	96.88	96.88	3.16	3.81
	78	73.44	100.00	100.00	3.42	4.16
	평균	82.29	98.44	98.96	3.21	3.88
FR스트롱	무처리	54.69	65.63	67.19	3.26	3.84
	72	70.31	92.19	95.31	3.32	4.10
	78	62.50	82.81	84.38	3.53	4.22
	평균	62.50	80.21	82.29	3.37	4.05
신화창조	무처리	59.38	89.06	92.19	3.73	4.59
	72	46.88	84.38	93.75	4.50	5.42
	78	43.75	82.81	90.63	5.17	5.52
	평균	50.00	85.42	92.19	4.47	5.18

<표 1-14> 건열처리된 박 종자의 다양한 온도조건하에서의 발아 검정 결과(2010.03.28)

품종	상한온도 (℃)	온도 (℃)	발아율 (%)			T ₅₀	평균발아 소요일수	생체중 (g)
			파종 4일후	파종 7일후	파종 14일후			
불로장생	무처리	27	93.75	100.00	100.00	2.46	3.00	1.12
		24	87.50	100.00	100.00	2.62	3.31	1.03
		21	81.25	100.00	100.00	3.62	4.31	0.81
		18	7.69	69.23	100.00	5.92	7.08	0.61
		평균	67.55	92.31	100.00	3.65	4.43	0.89
	72	27	81.25	93.75	100.00	3.44	4.38	1.24
		24	87.50	100.00	100.00	3.57	4.13	0.95
		21	20.00	100.00	100.00	5.50	5.80	0.71
		18	0.00	14.29	100.00	9.00	9.21	0.56
		평균	47.19	77.01	100.00	5.38	5.88	0.86
	78	27	66.67	86.67	100.00	3.72	5.00	1.03
		24	62.50	100.00	100.00	3.80	4.56	0.80
		21	0.00	100.00	100.00	6.06	6.53	0.69
		18	0.00	14.29	100.00	9.33	9.64	0.56
		평균	32.29	75.24	100.00	5.73	6.43	0.77
	총평균			49.01	81.52	100.00	4.92	5.58
동장군	무처리	27	87.50	100.00	100.00	1.62	2.50	0.85
		24	81.25	100.00	100.00	2.17	2.94	0.96
		21	71.43	100.00	100.00	3.67	4.36	0.80
		18	9.09	90.91	100.00	5.44	6.09	0.63
		평균	62.32	97.73	100.00	3.22	3.97	0.81
	72	27	75.00	100.00	100.00	3.33	3.69	0.97
		24	68.75	100.00	100.00	3.57	4.06	0.89
		21	46.67	100.00	100.00	4.10	4.73	0.67
		18	0.00	63.64	100.00	6.50	7.91	0.64
		평균	47.60	90.91	100.00	4.38	5.10	0.79
	78	27	81.25	100.00	100.00	3.29	3.63	0.95
		24	75.00	100.00	100.00	3.60	4.13	0.75
		21	31.25	100.00	100.00	4.38	4.94	0.81
		18	0.00	64.29	100.00	6.50	8.00	0.66
		평균	46.88	91.07	100.00	4.44	5.17	0.79
	총평균			52.27	93.24	100.00	4.01	4.75
FR헬스	무처리	27	87.50	100.00	100.00	2.57	3.31	0.96
		24	73.33	100.00	100.00	2.68	3.87	0.80
		21	76.92	100.00	100.00	1.93	3.08	0.89
		18	62.50	87.50	100.00	3.80	5.13	0.69
		평균	75.06	96.88	100.00	2.75	3.85	0.84
	72	27	75.00	100.00	100.00	2.50	3.38	0.85
		24	87.50	100.00	100.00	2.62	3.38	0.90
		21	83.33	100.00	100.00	3.60	4.33	0.76
		18	6.67	73.33	100.00	5.65	7.00	0.51
		평균	63.13	93.33	100.00	3.59	4.52	0.75
	78	27	81.25	100.00	100.00	2.50	3.19	0.84
		24	86.67	100.00	100.00	3.39	3.87	0.80
		21	33.33	100.00	100.00	5.00	5.17	0.75
		18	0.00	76.92	100.00	6.30	7.38	0.56
		평균	50.31	94.23	100.00	4.30	4.90	0.74
	총평균			62.83	94.81	100.00	3.54	4.42

(계속) <표 1-14> 건열처리된 박 종자의 다양한 온도조건하에서의 발아 검정 결과(2010.03.28)

품종	상한온도 (°C)	온도 (°C)	발아율 (%)			T ₅₀	평균발아 소요일수	생체중 (g)
			파종 4일후	파종 7일후	파종 14일후			
수퍼FR파워	무처리	27	93.75	93.75	100.00	2.80	3.75	0.96
		24	93.75	100.00	100.00	2.54	3.13	0.91
		21	87.50	100.00	100.00	3.14	3.69	0.76
		18	87.50	100.00	100.00	3.57	4.13	0.59
		평균	90.63	98.44	100.00	3.01	3.67	0.80
	72	27	93.33	100.00	100.00	2.58	3.27	0.64
		24	100.00	100.00	100.00	2.68	3.27	0.74
		21	87.50	100.00	100.00	3.50	4.00	0.56
		18	62.50	100.00	100.00	3.80	4.63	0.53
		평균	85.83	100.00	100.00	3.14	3.79	0.62
	78	27	100.00	100.00	100.00	2.53	3.06	0.83
		24	93.75	100.00	100.00	3.22	3.81	0.73
		21	81.25	100.00	100.00	3.62	4.19	0.72
		18	18.75	100.00	100.00	5.33	5.56	0.67
		평균	73.44	100.00	100.00	3.68	4.16	0.74
총평균	83.30	99.48	100.00	3.28	3.87	0.72		
FR스트롱	무처리	27	83.33	100.00	100.00	2.00	3.08	0.96
		24	100.00	100.00	100.00	2.63	3.11	0.86
		21	92.31	92.31	100.00	3.45	4.31	0.78
		18	44.44	100.00	100.00	4.25	4.89	0.75
		평균	80.02	98.08	100.00	3.08	3.85	0.84
	72	27	93.75	100.00	100.00	2.50	3.13	0.91
		24	93.33	100.00	100.00	3.19	3.67	0.84
		21	71.43	92.86	100.00	3.57	4.50	0.76
		18	37.50	93.75	100.00	4.33	5.13	0.69
		평균	74.00	96.65	100.00	3.40	4.10	0.80
	78	27	92.86	100.00	100.00	2.67	3.29	0.85
		24	92.86	100.00	100.00	3.33	3.93	0.83
		21	78.57	92.86	100.00	3.64	4.57	0.87
		18	25.00	100.00	100.00	4.75	5.25	0.73
		평균	72.32	98.21	100.00	3.60	4.26	0.82
총평균	75.45	97.65	100.00	3.36	4.07	0.82		
신화창조	무처리	27	100.00	100.00	100.00	2.73	3.31	1.32
		24	81.25	100.00	100.00	3.55	4.06	1.11
		21	43.75	93.75	100.00	4.33	5.25	1.04
		18	18.18	90.91	100.00	5.70	6.27	0.92
		평균	60.80	96.16	100.00	4.08	4.72	1.09
	72	27	93.75	100.00	100.00	3.36	3.88	1.19
		24	75.00	100.00	100.00	3.67	4.31	1.09
		21	18.75	87.50	100.00	5.50	6.19	1.00
		18	0.00	66.67	100.00	6.67	7.92	0.82
		평균	46.88	88.54	100.00	4.80	5.57	1.02
	78	27	100.00	100.00	100.00	3.47	3.94	1.13
		24	75.00	100.00	100.00	3.67	4.44	1.05
		21	0.00	93.75	100.00	5.89	6.63	0.99
		18	0.00	60.00	100.00	6.80	8.00	0.65
		평균	43.75	88.44	100.00	4.96	5.75	0.95
총평균	50.47	91.05	100.00	4.61	5.35	1.02		

(8) 상한온도 84℃로 처리된 박과 종자의 발아·유묘생육 및 건묘육성을

2010년 10월에 다시 입고된 종자(‘동장군’ 및 ‘블로장생’ 박 종자는 2010년도 생산, ‘RS-111’ 및 ‘조생토좌’ 호박은 2009년 생산)를 기본 건열처리과정을 거치되 그 상한온도를 각각 72, 78, 그리고 84℃로 설정하여 건열처리를 실시한 후 즉시 파종하거나 일정기간의 후처리를 거쳐 파종하여 실험하였다. 실험은 다운도발아상을 이용하여 실험하되 온도를 20, 25, 및 30℃로 설정하고 blue blotter paper에 각각 20립씩 치상하여 각각 2반복으로 실험하였다<그림 1-20, 1-21>.

실험은 후처리기간에 따라서 1차 및 2차 실험을 진행하였으며, 얻어진 결과는 <표 1-15>에서 보이고 있다.

먼저 1차 실험에서의 유묘생체중에서 보면 건열처리에 의해 생체중의 감소가 현저하였는데 그 감소정도는 20℃에서 발아시키는 경우 박(68.9%)보다는 호박(41.8%와 56.1%)에서 훨씬 심하게 나타났다. 그러나 고온인 30℃에서 발아시키면 생체중의 상대적인 감소폭이 현저히 줄어들었는데 특히 72℃ 상한온도에서 건열처리하는 경우에는 거의 생체중의 감소는 나타나지 않았다. 정상묘율은 대체적으로 유묘생체중에서와 유사한 결과를 보였지만 건열처리 상한온도 72℃에서는 박이나 호박에서 모두 큰 감소가 없었고, 84℃ 상한온도에서는 심한 감소를 보여 상한온도가 높을수록 후처리가 필수적이고, 그 기간도 상대적으로 더 길어져야 함을 보여 주었다.

이어서 실시된 2차 실험에서는 TGT의 설정온도와 외부 실내온도와 큰 차이를 보여 TGT 상에서의 온도변이가 다소 심하게 나타났는데 특히 30℃에서의 온도가 균일하게 유지되지 않아 오히려 1차 실험에 비하여 그 결과가 다소 낮거나 변화폭이 심하게 나타났다. 그러나 20℃와 25℃에서는 결과가 고르게 나타났는데 건열처리 후 20일간만 후처리하여도(2차 실험) 건열처리 직후에 파종하는 1차 실험에 비해 유묘생체중 및 건묘율의 감소폭이 현저하게 줄어든 것을 확인할 수 있었다.

결론적으로 수박이나 참외 등의 고온성 박과작물과는 달리 저온성인 호박류에서는 건열처리 상한온도를 72℃ 정도로 조정하거나 아니면 건열처리 후의 후처리에 상당한 배려를 하는 것이 필수적인 것으로 판단되었다.

<표 1-15> 상한온도를 달리한 건열처리 후 TGT의 3가지 온도 수준에서의 박과류 종자발아, 유묘생체중 및 건묘율(2010년 10월 입수 종자)

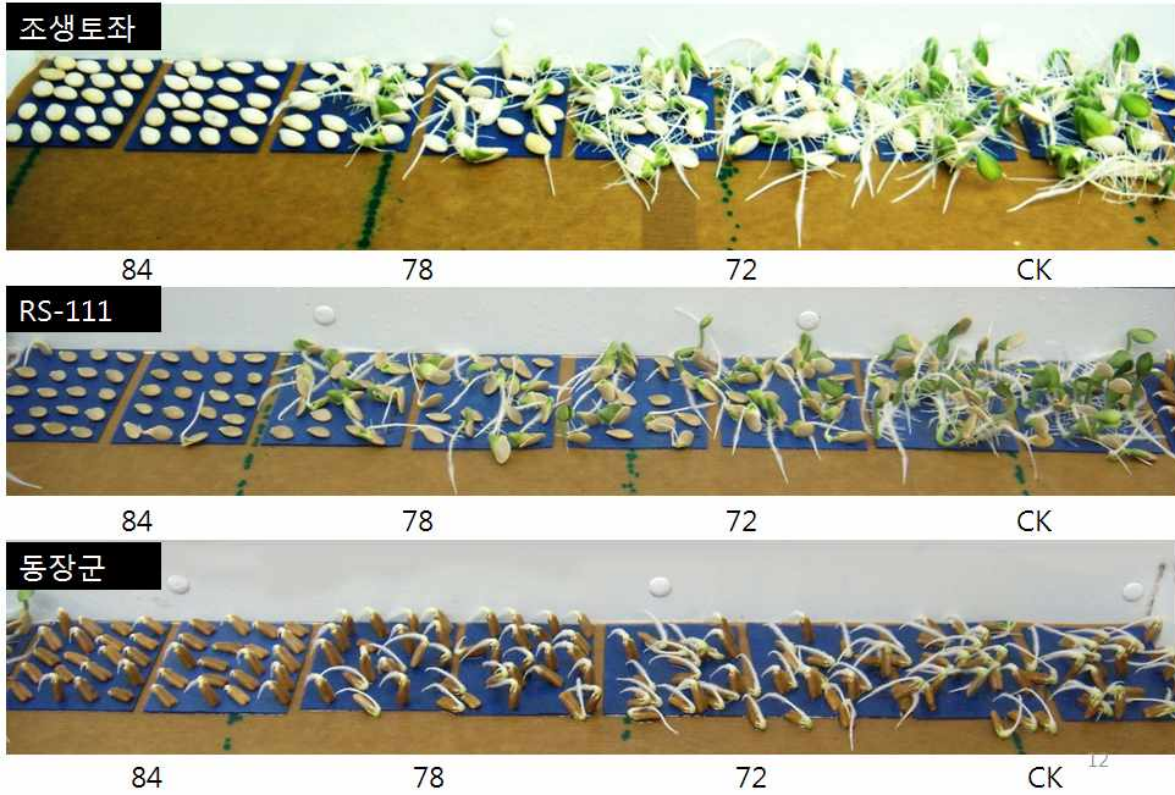
1차실험 (11월 11일~11월 22일)

품종(작물)	건열처리 상한온도	유묘생체중 (mg/주)			건묘율 (%)		
		20℃	25℃	30℃	20℃	25℃	30℃
불로장생(박) (Brushed) <i>Lagenaria siceraria</i>	Control	964	1,041	1,225	87.5	95.0	77.5
	72℃	732	1,000	1,220	82.5	95.0	67.5
	78℃	725	942	1,210	27.5	85.0	67.5
	84℃	664	900	950	7.5	57.5	47.5
	% Value (CK-84℃)	68.9 %	86.5 %	77.6 %	8.6 %	60.5 %	61.3 %
RS-111 호박 <i>Cucurbita moschata</i>	Control	1,290	1,331	1,402	80.0	72.5	87.5
	72℃	1,078	1,013	1,367	52.5	67.5	82.5
	78℃	884	912	1,202	45.0	52.5	62.5
	84℃	539	578	645	5.0	7.5	2.5
	% Value (CK-84℃)	41.8 %	43.4 %	46.0 %	6.3 %	10.3 %	2.9 %
조생토좌 호박 <i>Cucurbita maxima x</i> <i>C. moschata</i>	Control	1,970	1,991	2,223	50.0	75.0	92.5
	72℃	1,816	1,871	2,084	30.0	65.0	82.5
	78℃	1,664	1,773	1,852	25.0	32.5	65.0
	84℃	1,105	1,044	1,715	0.0	6.0	25.0
	% Value (CK-84℃)	56.1 %	52.4 %	77.1 %	0.0 %	8.0 %	27.0 %

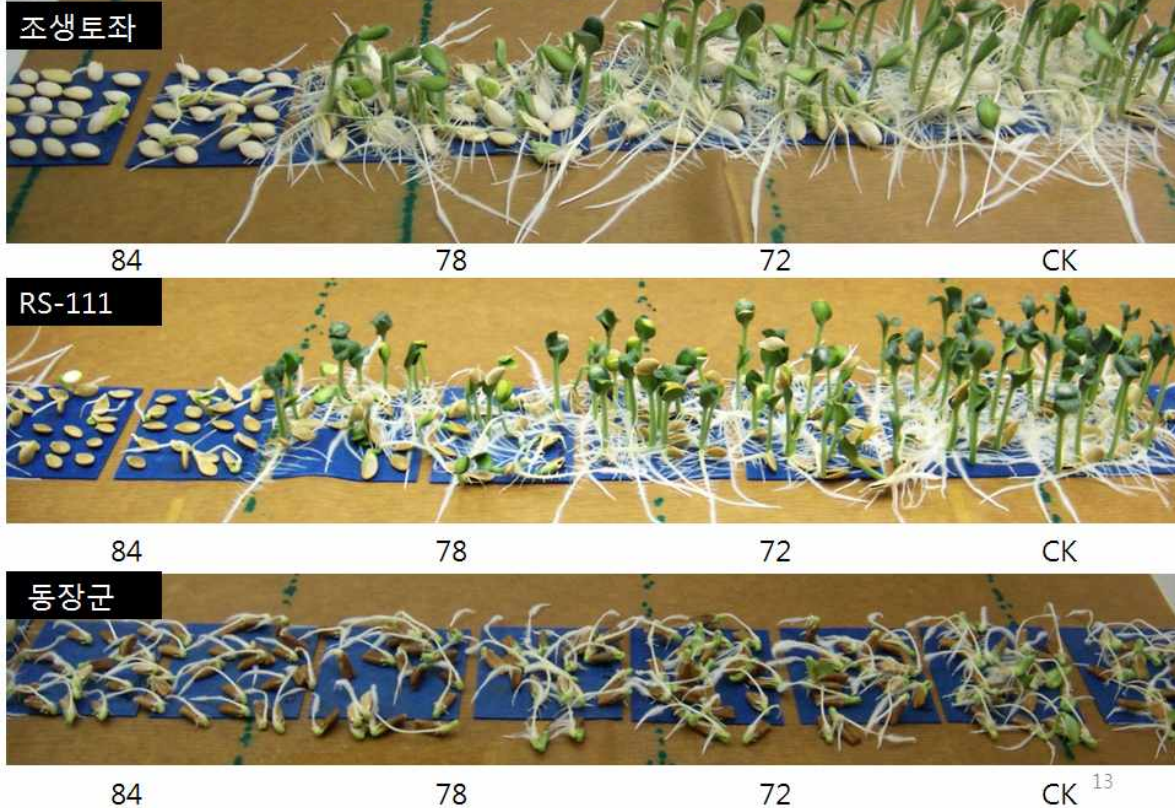
2차실험 (12월 1일~12월 12일)

품종(작물)	건열처리상한온도	유묘생체중 (mg/주)			건묘율 (%)		
		20℃	25℃	30℃	20℃	25℃	30℃
불로장생(박) (Brushed) <i>Lagenaria siceraria</i>	Control	833	958	998	17.5	70.0	67.5
	72℃	626	883	958	20.0	62.5	65.0
	78℃	562	731	969	15.0	50.0	47.5
	84℃	465	707	754	2.5	37.5	47.5
	% Value (CK-84℃)	55.8 %	73.8 %	75.6 %	14.3 %	53.6 %	70.4 %
RS-111 호박 <i>Cucurbita moschata</i>	Control	863	1,317	1,254	47.5	75.6	60.0
	72℃	663	1,019	1,223	32.5	67.5	62.5
	78℃	641	809	1,088	32.5	45.0	40.0
	84℃	625	342	324	2.5	2.5	5.0
	% Value (CK-84℃)	72.4 %	26.0 %	25.8 %	5.3 %	3.3 %	8.3 %
조생토좌 호박 <i>Cucurbita maxima x</i> <i>C. moschata</i>	Control	1,690	2,055	2,328	62.5	70.0	95.0
	72℃	1,337	1,871	2,132	25.0	55.0	77.5
	78℃	1,044	1,825	1,877	17.5	45.0	65.0
	84℃	966	1,180	1,742	0.0	5.0	27.5
	% Value (CK-84℃)	57.2 %	57.4 %	74.8 %	0.0 %	7.1 %	28.9 %

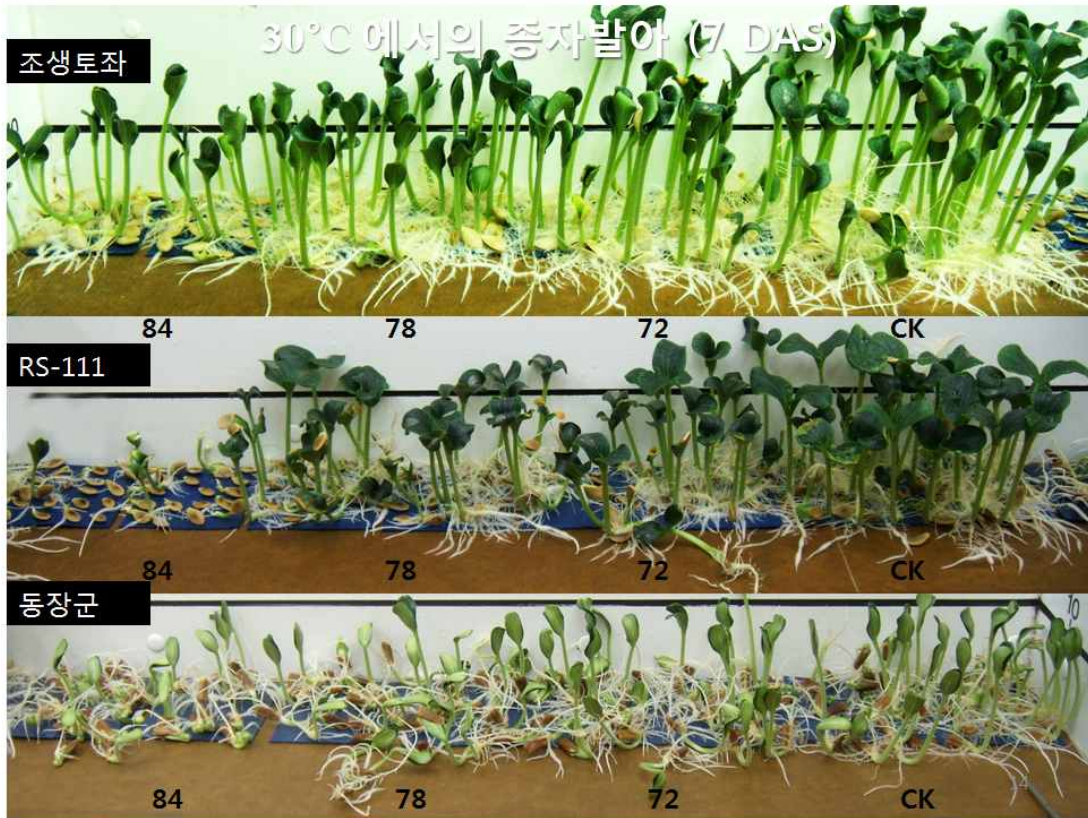
20°C 에서의 종자발아 (7 DAS)



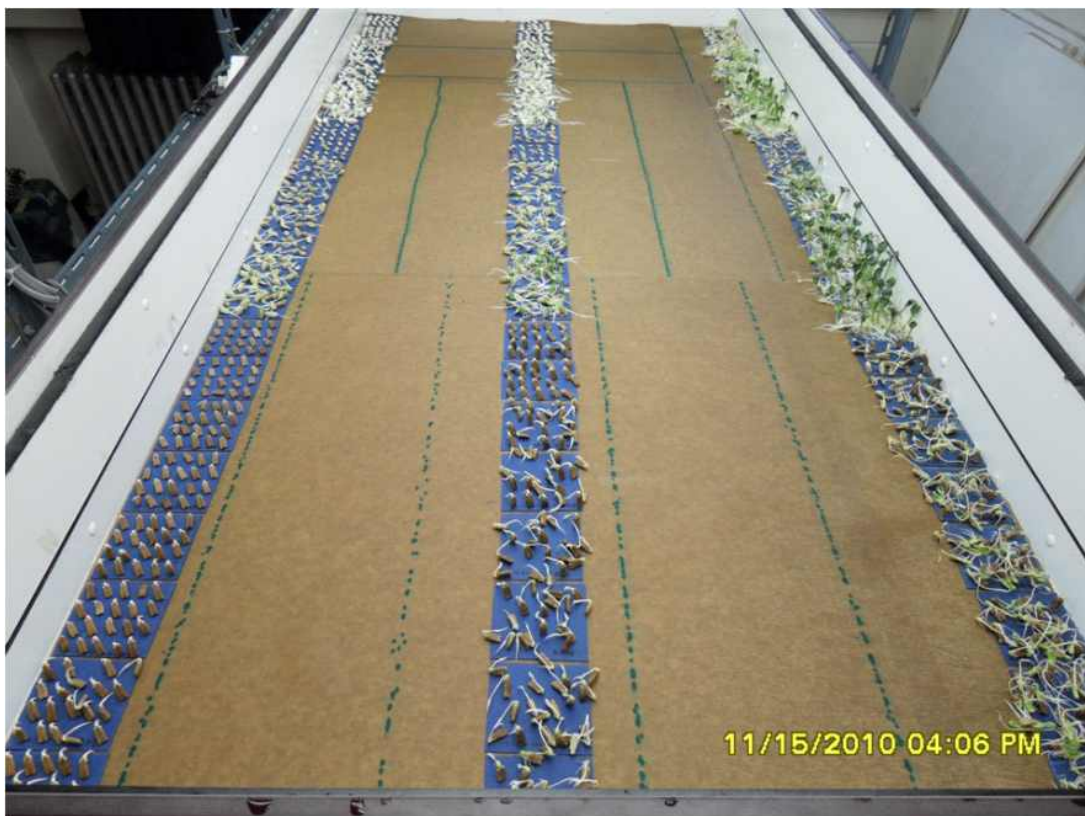
25°C 에서의 종자발아 (7 DAS)



<그림 1-20> 2010년 입고종자의 건열처리 후 다운도발아상에서의 종자발아



(계속) <그림 1-20> 2010년 입수종자의 건열처리 후 다운도발아상에서의 종자발아



<그림 1-21> 다운도발아상에서의 종자발아(우: 30°C, 중: 25°C, 좌: 20°C). (전면: 박, 중 RS-111 호박, 후면: 조생토좌 호박)

(9) 2010년 10월 입고종자(동장군, 불로장생, 조생토좌, RS-111)의 종자특성에 따른 묘 출현검정

본 연구사업의 지속적인 수행을 위해 2010년 10월에 (주)신젠타코리아로부터 약제처리나 코팅처리가 되지 않은 박 종자 ‘동장군’과 ‘불로장생’, 호박 종자 ‘조생토좌’와 ‘RS-111’ 총 4품종을 입수하였고, 진행될 실험에 앞서 묘 출현 검정을 통하여 종자활력을 검사 수행하였다.

경희대학교 원예생명공학과에서 보유하고 있는 건열처리 2대를 이용하여 2010년 10월 25일 개선된 건열처리 방법(본처리: 20℃(8시간)-30℃(8시간)-40℃(8시간)-50℃(8시간)-60℃(8시간)-70℃(8시간)-최종 상한온도 72℃ 또는 78℃ 또는 84℃(72시간), 후처리: 60℃(6시간)-50℃(6시간)-40℃(6시간)-30℃(6시간)-25℃(6시간))에 따라, 상한온도 72℃와 84℃ 건열처리를 먼저 처리한 뒤, 이어서 상한온도 78℃ 건열처리를 실시하였으며, 처리가 끝난 뒤에는 실험실내에서 후처리를 실시하였다. 파종은 50공 트레이에 바로커 상토를 채운 뒤, 실험 결과의 다양성을 위하여 각 처리당 30립씩 3반복으로 수평 파종 하였다.

2010년 10월에 입고된 종자의 건열처리 완료 후 실내에서의 후처리 기간에 따른 묘 출현검정의 결과, 박 종자가 호박 종자보다 건열피해가 적은 것으로 나타났다. 특히 ‘불로장생’의 경우 건열처리 상한온도 84℃에서도 출현율이 저하되지 않았다. ‘동장군’은 건열처리 직후 파종하였을 때 84℃ 상한온도 처리시 출현율이 감소하였으나 3주간 후처리 한 뒤에는 출현율이 회복되었다. 호박 종자의 경우 건열처리 상한온도가 증가할수록 건열피해가 심하게 나타났고, 3주 후 파종하였을 때 다소 출현율이 회복되었으나 84℃ 상한온도 처리구의 경우 거의 회복되지 못하였다. 유묘특성 조사 결과, 박에 비하여 호박의 생장속도가 빨랐고, 특히 ‘조생토좌’ 호박의 유묘생장이 가장 빨랐다. 박의 경우 ‘불로장생’이 ‘동장군’에 비하여 생장이 빨랐고, 특히 ‘불로장생’ 유묘의 지면 위 하배축의 굵기는 더 굵어서 환경조건의 불량 시 도장에 의한 도복에 더 강할 것으로 예상되었다. 그런데 호박 종자의 경우 건열 무처리 종자에서도 건열피해와 유사한 증상을 보이는 개체가 비록 5% 미만의 소수 비율이지만 나타나고 있었는데 이 원인에 대해서는 추후 연구의 필요성이 있을 것으로 판단되었다<표 1-26, 1-27>.

상기의 결과를 종합하여 보면, 2010년 10월 입고된 종자의 활력이 매우 좋은 것으로 판단되며, 앞으로의 연구에 적합한 공시재료로 사용가능할 것으로 판단되었다.



<그림 1-22> 2010년 10월 입고된 종자의 출현검정 모습(건열처리 3주 후처리, 파종 10일 후)

<표 1-16> 2010년 10월 입고종자의 건열처리 후처리 기간에 따른 묘 출현율의 변화

품종	상한온도 (°C)	건열처리 직후 파종				3주 후 파종				
		묘 출현율 (%)		평균출현 소요일수	T ₅₀	묘 출현율 (%)		평균출현 소요일수	T ₅₀	
		파종 7일후	파종 14일후			파종 7일후	파종 14일후			
박	동장군	무처리	9.47	97.22	6.69	5.91	71.11	95.56	6.88	6.04
		72°C	9.94	96.67	6.61	6.02	80.00	92.22	6.84	6.22
		78°C	9.18	97.78	6.96	6.08	51.11	82.22	7.65	6.73
		84°C	39.10	68.89	7.98	7.25	34.44	94.44	7.96	7.35
		평균	16.92	90.14	7.06	6.31	59.17	91.11	7.33	6.58
불로장생	무처리	무처리	6.78	99.44	6.22	5.60	91.67	97.78	6.12	5.51
		72°C	7.70	98.89	6.59	5.95	86.67	98.89	6.36	5.65
		78°C	6.31	100.00	6.31	5.67	84.44	94.44	6.37	5.68
		84°C	8.32	98.89	7.20	6.64	83.33	100.00	7.18	6.57
		평균	7.28	99.31	6.58	5.97	86.53	97.78	6.50	5.85
호박	조생토좌	무처리	5.07	100.00	5.07	4.52	96.67	100.00	5.02	4.41
		72°C	22.61	83.33	5.95	5.38	80.00	86.67	5.70	4.92
		78°C	31.43	74.44	5.87	5.18	53.33	77.78	6.62	5.85
		84°C	84.48	23.33	7.81	7.14	22.22	36.67	7.42	6.42
		평균	35.90	70.28	6.17	5.56	63.06	75.28	6.19	5.40
RS-111	무처리	무처리	11.39	93.89	5.28	4.63	87.22	96.11	5.43	4.55
		72°C	21.56	84.44	6.01	5.44	86.67	91.11	5.79	5.15
		78°C	29.10	76.67	5.77	5.15	76.67	85.56	5.96	5.28
		84°C	80.10	27.78	7.88	7.20	22.22	47.78	7.65	7.10
		평균	35.54	70.69	6.23	5.61	68.19	80.14	6.21	5.52

<표 1-17> 2010년 10월 입고종자 출현검정 유묘생육 특성 조사 결과(건열처리 직후 파종)

품종	건열처리 상한온도	자엽			하배축		생체중/주 (g)	
		폭 (mm)	길이 (mm)	길이 (mm)	지름 (mm)			
					자엽아래	지면위		
박	동장군	무처리	28.57	50.47	112.80	3.74	4.94	3.18
		72°C	29.67	52.13	123.40	3.73	5.05	3.36
		78°C	29.13	51.27	99.73	3.56	4.89	3.05
		84°C	26.40	49.00	105.40	3.37	4.69	2.59
		평균	28.44	50.72	110.33	3.60	4.89	3.05
불로장생	무처리	무처리	29.40	52.33	128.90	3.46	4.79	3.53
		72°C	29.07	53.33	138.47	3.51	5.11	3.56
		78°C	27.07	49.47	106.73	3.53	4.77	3.18
		84°C	29.47	54.93	123.47	3.64	5.06	3.53
		평균	28.75	52.52	124.39	3.54	4.93	3.45
호박	조생토좌	무처리	44.67	65.77	144.10	5.27	5.58	7.06
		72°C	45.20	64.93	134.47	5.51	5.48	7.26
		78°C	46.07	69.47	119.80	4.97	5.27	6.62
		84°C	44.57	57.71	109.14	4.80	5.00	5.79
		평균	45.13	64.47	126.88	5.14	5.33	6.68
RS-111	무처리	무처리	38.43	53.00	107.03	4.25	4.54	4.37
		72°C	39.00	52.40	99.93	4.39	4.46	3.99
		78°C	37.20	50.87	101.60	4.33	4.67	4.46
		84°C	31.90	44.40	89.90	3.83	4.40	2.90
		평균	36.63	50.17	99.62	4.20	4.52	3.93

(10) 박과 호박 종자의 brushing 후 묘 출현 검정

(가) 건열처리 전후의 brushing 처리가 ‘동장군’ 박 종자의 묘 출현 및 유묘소질에 미치는 영향

종자 brushing 처리는 종피가 물리적으로 두껍거나 탈종시 과실의 젤라틴 물질 또는 외종피에 분포하고 있는 발아억제물질에 의해 수분흡수나 가스교환이 원활하지 못한 종자의 외부를 깎아내어 문제점을 해결하는 방법으로, 특히 박과채소종자에서 많이 이용하는 방법이다. 건열피해를 최소화하고 건전묘 생산을 위한 건열처리기술의 부분 개선을 위하여 종자의 brushing 실험을 아래와 같이 수행하였다.

공시재료로는 2010년 10월 입고된 ‘동장군’을 이용하였으며, 개선건열처리방법에 따라 상한온도를 72℃, 78℃, 84℃로 처리하였다. 종자의 brushing은 경희대학교 원예생명공학과에서 보유하고 있는 <그림 1-24>의 brushing machine(Westup Co., LA-H, 1997)을 이용하여 500rpm에서 10분간 실시하였는데, 이때 brushing 시간을 길게하여 종자의 brushing 피해를 유발하여 다소 극단적인 실험 결과를 유도하고자 하였다. 파종은 50공 트레이에 바로커 상토를 채운 뒤 30립 3반복 수평 방향 파종하였다.

건열처리 하지 않은 ‘동장군’ 박 종자를 brushing하여 파종한 결과, 묘 출현율이 파종 14일 후 97.22% 였던 대조구인 무처리 종자에 비하여 77.78%로 묘 출현율이 감소하였고 비정상묘의 비율이 높았는데, 3주간 후처리 후 파종하자 56.67%로 더욱 심하게 감소되긴 하였으나 출현한 유묘 중 비정상묘의 비율은 감소하였다.

또한 건열처리 전 brushing한 종자의 경우에도 brushing하지 않은 건열처리구에 비하여 묘 출현율이 감소함과 동시에 비정상묘의 비율이 증가하는 경향을 관찰할 수 있었다. ‘동장군’ 박 종자의 경우, 높은 상한온도로 건열처리 하더라도 후처리를 통해 어느 정도 묘 출현율을 회복시킬 수가 있는데, 이 실험에서도 상한온도 84℃에서 건열처리한 경우 묘 출현율이 회복된 것을 확인할 수 있었다.

그러나 brushing 처리 후 건열처리를 실시한 경우, 3주간 후처리과정을 거쳐 파종한 처리구의 묘 출현율은 건열처리 상한온도와 상관없이 50% 초반의 묘 출현율을 나타내었으며, 그 중 낮은 상한온도에서 건열처리한 경우 비정상묘의 비율은 다소 감소하는 경향을 보였다. 그러나 상한온도 84℃에서 건열처리를 먼저 실시하고 brushing을 한 처리구에서는 처리 직후 파종시 매우 저조한 묘 출현율을 보인 것이 반하여, 3주간 후처리과정을 거치자 비정상묘 비율이 상당히 높긴 하였으나 최종 출현율이 73.33%로 상당히 증가된 것을 볼 수 있었다.

상기의 결과를 종합하여 볼 때, 500rpm에서 10분간 brushing할 경우 묘 출현율은 감소하며, 특히, 건열처리 전 brushing 처리를 하게 되면 후처리 과정에 의해 오히려 종자 활력이 심하게 저하되나, 건열처리 후 brushing 처리를 통해 어느 정도 피해를 감소시킬 수 있을 것으로 판단되었다. 또한, brushing 후 종자의 저장방법에 따른 다양한 결과가 예상되므로 차후 연구가 필요할 것으로 생각된다. 다만 brushing 방법에서 회전속도, 종자량, 처리시간 등에서 기존의 실험과는 달랐기 때문에 나타나고 있는 data 들이 많이 보여서 편의상 data 나열은 생략하고자 한다.

(나) ‘불로장생’ 박 종자의 brushing 후 종피 마모 정도에 따른 묘 출현 검정

상기 실험결과에서 세분화하여 brushing machine의 설정값에 따른 박 종자의 종피 마모정도와 마모 정도에 따른 출현율의 변화를 살펴보기 위해 아래와 같은 실험을 진행하였다.

공시재료는 박 종자 중에서 종피의 비율이 높은 ‘불로장생’ 박을 이용하였고, brushing 1회당 100립에

서 200립을 brushing machine의 종자투입구에 투입하여 배출구를 막은 채로 처리를 한 뒤, 정해진 시간이 경과한 후 동작을 멈추어 brushing drum내의 종자를 꺼내었다.

처리가 끝난 종자의 종피 마모정도에 따라 0단계에서 4단계까지의 기준을 나누어 <그림 1-24>와 같이 분류하여 비율을 조사하고, 각 종피마모 단계별로 파종상에 파종하여 출현검정을 실시하였다.



<그림 1-23>
Brushing machine



<그림 1-24> 박 종자의 brushing 후 종피 마모정도에 따른 분류기준

- 0: 종피 외부의 젤라틴 물질만 제거된 종자
- 1: 종피의 가장자리 부위가 살짝 마모되어 형태가 온전한 종자
- 2: 종피의 가장자리 부위가 적당히 마모되어 각진 곳이 없는 종자
- 3: 종피의 가장자리 부위가 상당히 마모되어 둥근 형태가 된 종자
- 4: 종피의 일부분이 파괴되거나, 심하게 마모되어 자엽이 노출된 종자

brushing 처리중 분당 회전수에 따른 종피 마모 정도를 살펴보면, 종피마모 2단계의 비율이 85.87%로 가장 높았고, 이어서 3단계, 4단계, 1단계, 0단계 순으로 비율이 높게 나타났다. 처리시간에서도 시간이 길어질수록 종피의 마모정도가 더 많이 진행되는 경향을 보였으나 500rpm에서 10분간 brushing 처리한 경우와 같이 처리시간이 지나치게 길어질 경우 종피가 손상되는 종피 마모 4단계의 비율이 높아지는 것을 확인할 수 있었다(데이터 생략).

이어서 박 종자의 brushing 처리를 통해 얻어진 종자들을 마모단계별로 분류하여 파종상에 파종하여 출현율을 조사한 결과, brushing이 아주 약하게 되어 종피 외부의 젤라틴 물질만 제거된 0단계 종자의 출현율이 가장 높게 나타났다. 그리고 마모가 더 진행이 될수록 출현율도 다소 감소하는 경향을 보이는 듯 하였으나, 종피마모 3단계의 경우 발아세는 0단계보다 늦었으나 최종출현율은 0단계보다 높아지는 결과를 보이기도 하였다<표 1-18>.

상기의 결과를 종합하여 보면, 박 종자의 brushing 처리 시 brushing machine의 배출구를 막지 않고 자동적으로 배출시킴으로서 종피의 손상을 최소한으로 하고 종피에 말라 붙어있는 젤라틴 물질만 물리적으로 파괴시키는 것이 효과적임을 확인할 수 있었다.

<표 1-18> Brushing 처리된 ‘불로장생’ 박의 종피 마모정도에 따른 묘 출현검정

박피정도	파종 9일 후 (%)			파종 17일 후(%)			평균발아소 요일수	T ₅₀
	정상	비정상	미출현	정상	비정상	미출현		
0	55.56	0.00	44.44	72.22	20.83	6.94	10.44	9.86
1	18.06	0.00	81.94	33.33	5.56	61.11	12.12	10.48
2	11.11	0.00	88.89	34.72	1.39	63.89	12.78	11.83
3	31.94	0.00	68.06	79.17	4.17	16.67	11.42	10.54
4	8.33	0.00	91.67	43.06	8.33	48.61	12.92	12.44

나. 종자프라이밍을 이용한 건묘육성 제고기술 개발

(1) 대목용 박 품종에 따른 종자 특성 검정

같은 박이라고 하더라도 품종별로 종자내의 배 및 자엽부분과 종피의 크기, 종자 내에서 차지하는 비율, 수분함량 등이 다를 수 있어 이를 고려한 적절한 프라이밍 처리가 적용되어야 할 것으로 생각되어, 본 연구기관에서 2009년부터 2010년까지 해외 또는 국내 채종하여 확보한 접목용 박 7 품종을 대상으로 각 품종별 종자의 길이, 폭, 두께, 무게, 수분 함량과 배 및 자엽부분의 길이, 폭, 두께, 무게, 수분 함량 등의 특성을 비교하였다. 공시품종은 ‘동장군’(신젠타), ‘불로장생’(신젠타), ‘FR 헬스’(농우), ‘수퍼FR파워’(농우), ‘FR Twist’(농우-국내 위탁채종, 바이러스 감염), ‘FR 스트롱’(동부한농), ‘신화창조’(농우-인도네시아 위탁채종, 바이러스 감염)의 7품종이었다.

공시 품종 중 ‘신화창조’와 ‘불로장생’은 비교적 대립종으로 볼 수 있었는데, ‘신화창조’는 종자의 두께를 제외하고 종자의 길이, 폭, 무게 및 수분함량이 가장 높은 것으로 나타났으며, ‘불로장생’은 특히 종자의 두께가 가장 두텁고, 무게도 많이 나가는 편이었으나 길이와 폭은 상대적으로 낮았다. 이에 비해 ‘수퍼FR파워’의 경우 수분함량을 포함, 조사된 모든 종자 특성에서 가장 낮은 수치를 나타내었다<표 1-19>.

박 종자 내의 배 및 자엽 부분의 특성은 대부분의 공시품종에서 종자 전체의 특성과 매우 유사한 경향을 나타내었다. 그리고 종자 중에서 종피의 비율은 ‘불로장생’, ‘신화창조’, ‘동장군’, ‘FR Twist’, ‘FR 스트롱’, ‘수퍼FR파워’, ‘FR 헬스’ 순으로 높았다<표 1-19>.

<표 1-19> 대목용 박 종자의 품종별 형태적 특성

품종	종자					자엽 (배 포함)					종피	
	길이 (mm)	폭 (mm)	두께 (mm)	중량 (mg/seed)	수분 함량 (%)	길이 (mm)	폭 (mm)	두께 (mm)	중량 비율 (%)	수분 함량 (%)	중량 비율 (%)	수분 함량 (%)
동장군	14.60	6.72	2.90	151.7	4.59	11.90	5.56	1.62	46.73	3.27	53.27	6.11
FR Twist	15.54	7.24	2.86	167.3	4.69	12.87	5.88	1.84	47.71	3.11	52.29	6.83
FR 스트롱	13.65	6.96	2.82	141.0	4.01	11.46	5.79	1.84	48.29	3.31	51.71	7.35
FR 헬스	13.91	7.11	2.81	139.0	3.62	11.42	5.95	1.82	50.89	3.37	49.11	7.12
수퍼FR파워	13.45	6.85	2.61	129.3	3.00	11.42	5.77	1.74	50.39	2.79	49.61	6.06
불로장생	14.31	7.02	3.43	172.7	4.26	12.14	5.73	1.85	41.18	4.00	58.82	7.56
신화창조	16.27	7.22	3.15	179.7	5.26	12.73	5.68	1.76	45.84	4.28	54.16	5.81

(2) 프라이밍 물질에 따른 반응성 검정

프라이밍 처리에는 다양한 삼투용액을 이용한 osmotic priming과 고형물질을 이용한 solid matrix priming(SMP)로 크게 구분되어진다. 이미 사용 중이거나 앞으로 사용이 가능할 것으로 생각되는 고형물질로는 calcium silicate류인 Micro-Cel E, arosil, vermiculite, clay 등이 있는데 이 SMP의 장점은 처리 시 각종 농약, 생장조절물질, 영양물질 등을 혼합처리 할 수 있다는 것과 osmotic priming과는 달리 그 효과가 상당기간 지속되어 종자의 저장이 가능하다는 것이다. 따라서 박과채소와 같은 대립종에

서는 일반적으로 SMP를 이용한 프라이밍 처리가 이용되고 있다.

본 연구에서는 2010년 5월 해외채종된 박 종자인 ‘신화창조’가 입고됨에 따라 이 품종을 대상으로 먼저 건열처리를 실시하였으며, 건열처리된 종자를 대상으로 Micro-Cel E, hydroxymethyl cellulose, carboxymethyl cellulose, methyl cellulose, sigmacell cellulose, vermiculite를 이용하여 SMP 물질의 종류에 따른 반응성을 살펴보고자 하였다.

SMP 물질로 사용되어질 공시재료들의 기본적인 특성들은 <표 1-20>과 같다.

Micro-Cel E의 수분함량은 0.01%로 가장 적었으나, 수분흡수정도는 550%로 상당히 높은 편이었다. 입자의 크기는 hydroxymethyl cellulose, carboxymethyl cellulose, methyl cellulose가 매우 미세하고 점성도도 5% 이하로 상당히 높은 것으로 나타났다. 이에 비해 vermiculite는 입자가 매우 굵고 점성도는 거의 없었지만 국내산이어서 성분함량은 구체적으로 밝혀지지 않았다.

<표 1-20> SMP에 사용된 각종 물질들의 물리적 특성

물질	수분함량 (% by wt.)	수분흡수정도 (% by wt.)	입자크기		무게 (g/m ³)	pH (1% slurry)	점성도 (%)
			(% particles retained by mesh)				
			325	100			
Micro-Cel E	0.01	550	6.05	14.57	43.26	5.64	8
Sigmacell cellulose	8.64	296	6.60	24.78	323.78	4.57	15
Hydroxymethyl cellulose	6.12	426	3.55	76.73	535.23	5.21	5
Carboxymethyl cellulose	5.52	570	20.58	53.51	689.19	6.63	1
Methyl cellulose	4.51	447	10.92	83.45	296.28	6.40	2
Vermiculite	5.98	167	0.00	1.00	190.87	8.82	no data

SMP 물질과 혼합되는 종자 및 수분량은 종자:SMP:수분의 무게비율로 10:1:4, 10:1:5 및 10:1:6의 3 수준으로 하여 총 72 시간동안 프라이밍을 실시한 후 프라이밍 물질을 털어내고 종자를 25℃에서 파종하여 총 14 일간 발아정도를 관찰하였으며 그 결과는 아래와 같다(자세한 data 생략).

무건열처리 및 건열처리 72℃ 종자 모두에서 sigmacell cellulose를 이용해 10:1:6의 비율로 프라이밍 시키는 경우 프라이밍 처리를 하는 도중 발아하는 종자가 일부 있어 sigmacell cellulose와 같이 수분 함량이 비교적 높고, 점성도가 거의 없는 물질을 이용하는 경우 첨가되는 수분비율은 타 물질에 비해 낮추는 것이 바람직할 것으로 사료되었다. 공시된 프라이밍 물질 중에서 최종발아율 차이는 물질 별로 뚜렷이 나타나지 않았으나 Micro-Cel E의 경우 MGT와 T₅₀ 모두에서 가장 빠르고 균일한 발아정도를 나타내었으며, 프라이밍 처리를 하지 않은 것에 비해서도 상당히 양호한 발아정도를 나타내었다. 그 외 vermiculite, sigmacell cellulose, hydroxymethyl cellulose, carboxymethyl cellulose와 methyl cellulose 등은 물질간 차이가 명확히 나타나지 않았다.

파종 14일 후에 조사된 유묘의 생육정도를 살펴보면, 유묘의 하배축장은 무건열처리와 건열처리한 종자 모두에서 vermiculite를 사용하여 프라이밍을 하였을 때 하배축이 7cm 이상으로 자라난 경우가 많

았으나, 생체중의 경우 무건열처리 종자에서는 프라이밍 물질 및 비율간 유의차가 명확하지 않았고, 건열처리 72℃를 실시한 종자를 사용한 경우 Micro-Cel E 10:1:4, 10:1:5 및 10:1:6, sigmacell cellulose 10:1:6, vermiculite 10:1:4와 10:1:5에서 무처리구와 같은 수준의 결과를 나타내었다.

따라서 ‘신화창조’ 박 종자의 파종에 있어서는 Micro-Cel E로 프라이밍 처리를 하는 것이 무건열처리 및 건열처리구 모두에서 빠른 발아세 및 고른 발아정도와 양호한 생육정도를 나타낼 수 있어 가장 바람직할 것으로 생각되었다.

본 실험에서 나타난 특이한 현상의 하나는 주 공시품종인 2010년산 CGMMV 오염 ‘신화창조’에서는 종자의 충실도가 매우 높고 발아율도 높았을 뿐만 아니라 72℃ 상한온도로 건열처리를 하더라도 전혀 발아세와 발아율에서의 감소가 없었고 유묘생육에서도 정상적이었다. 즉 ‘신화창조’ 또는 ‘신화창조’ 중 본 실험에 공시된 seed lot은 통상적인 건열처리를 할 경우 후처리를 하지 않더라도 바로 파종할 수 있다는 것이고, 이러한 건열처리 내성 특성은 차후의 대목 육성에 중요한 고려사항으로 취급하여야만 할 것이다. 아울러 건열피해를 완화하기 위한 프라이밍 처리는 그 효과가 미미하여서 이 또한 주목할 만한 특성이라고 강조할 수 있었다.

(3) 다양한 박 품종에 따른 프라이밍 반응성 검토

본 연구기관에서 확보한 다양한 접목용 박을 대상으로 각 품종에 상한온도를 72℃ 및 78℃로 건열처리를 실시 한 후 3개월 이상 상온보관한 종자를 대상으로 앞서의 결과에서 가장 양호한 효과를 나타내었던 프라이밍 물질인 Micro-Cel E를 이용하여 프라이밍 처리를 하였다. 프라이밍 비율은 무게를 기준으로 종자:Micro-Cel E:수분을 10:1:4, 10:1:5, 10:1:6으로 하였으며, 공시품종은 ‘동장군’(신젠타), ‘블로장생’(신젠타), ‘FR 헬스’(농우), ‘수퍼FR파워’(농우), ‘FR Twist’(농우-국내 위탁채종, 바이러스 감염), ‘FR 스트롱’(동부한농), ‘신화창조’(농우-인도네시아 위탁채종, 바이러스 감염)의 7품종이었다.

‘동장군’, ‘블로장생’, ‘신화창조’, ‘수퍼FR파워’는 파종 7일 후부터 발아율이 평균 96% 이상으로 매우 높았으며, ‘FR 헬스’와 ‘FR 스트롱’은 평균 78% 정도로 다소 낮았고, ‘FR Twist’의 경우 파종 14일 후에도 발아율이 23% 정도에 머물러 발아가 매우 불량하였다. 대부분의 품종에서 72℃ 및 78℃ 건열처리구와 무건열처리구 간의 발아율 차이는 나지 않아 건열처리에 의한 피해가 크지 않은 것으로 생각되었으나, ‘블로장생’ 및 ‘FR 스트롱’의 경우 무건열처리구에 비해 건열처리구의 MGT 및 T₅₀이 다소 증가하여 건열처리에 의해 발아가 영향을 받았음을 알 수 있었다<표 1-21>(일부 데이터만 제시).

대부분의 품종에서 프라이밍 처리에 의해 MGT와 T₅₀이 향상되는 것을 관찰할 수 있었으나, 평균발아율이 다소 낮았던 ‘FR 헬스’, ‘FR Twist’의 경우 프라이밍 효과가 나타나지 않았으며, 오히려 발아가 전혀 되지 않는 등의 피해를 보이기도 하여, 비교적 건전하지 못한 것으로 생각되는 종자를 사대상으로 하는 경우 프라이밍 처리를 하더라도 종자의 발아율이 크게 향상되지 못함을 알 수 있었다.

파종 14일 후 품종에 따른 유묘 생육 정도를 살펴보면, 유묘의 하배축장은 ‘블로장생’과 ‘신화창조’ 및 ‘동장군’의 경우 7cm 이상 자라나는 경우가 평균 51.94%, 35.56% 및 28.61%로 타 품종에 비해 상당히 긴 것을 볼 수 있었다. 생체중도 이들 3품종이 ‘FR 스트롱’, ‘FR 헬스’, ‘수퍼FR파워’에 비해 0.1g 이상 더 나가 비교적 종자의 크기가 크고, 발아율이 높은 품종들이 유묘의 생육도 왕성할 수 있음을 추측할 수 있었다. 특히 ‘블로장생’의 경우 무건열처리구와 건열처리구 모두 프라이밍 처리 후 유묘의 하배축이 훨씬 길고 자엽도 크게 성장하는 것을 볼 수 있었다.

따라서 품종별 최적 프라이밍 비율은 품종 및 건열처리 상한온도별로 상이하였지만, 대체적으로 ‘동장군’은 10:1:4 또는 10:1:5, ‘불로장생’ 10:1:4 이상, ‘신화창조’ 10:1:5, ‘FR 스트롱’과 ‘수퍼FR파워’는 10:1:6이 적합할 것으로 판단되었다.

<표 1-21> 건열처리된 박 종자의 프라이밍 조건에 따른 발아 검정(데이터 일부 생략)

프라이밍 처리	건열처리 상한온도	발아율(%)						MGT	T ₅₀		
		프라이밍 중		파종 7 일 후		파종 14 일 후					
동장군											
무처리	무건열	0.00	a	100.00	a	100.00	a	3.27	a	2.66	a
	72℃	0.00	a	100.00	a	100.00	a	3.50	a	3.00	a
	78℃	0.00	a	100.00	a	100.00	a	3.43	a	2.90	a
MCE 10:1:4	무건열	0.00	a	100.00	a	100.00	a	2.97	a	2.47	a
	72℃	0.00	a	100.00	a	100.00	a	2.30	b	1.76	b
	78℃	0.00	a	100.00	a	100.00	a	2.00	b	1.50	b
MCE 10:1:5	무건열	0.00	a	100.00	a	100.00	a	2.73	a	2.29	a
	72℃	0.00	a	96.67	a	96.67	a	2.47	a	1.87	b
	78℃	0.00	a	100.00	a	100.00	a	2.07	b	1.54	c
MCE 10:1:6	무건열	3.33	a	86.67	a	86.67	a	2.99	a	2.68	a
	72℃	3.33	a	100.00	a	100.00	a	2.67	a	1.96	b
	78℃	0.00	a	90.00	a	93.33	a	2.78	a	2.00	b
평균		0.56		97.78		98.06		2.76		2.22	
불로장생											
무처리	무건열	0.00	a	100.00	a	100.00	a	3.00	c	2.50	c
	72℃	0.00	a	100.00	a	100.00	a	3.80	b	3.30	b
	78℃	0.00	a	100.00	a	100.00	a	4.17	a	3.58	a
MCE 10:1:4	무건열	0.00	a	100.00	a	100.00	a	2.20	b	1.63	b
	72℃	0.00	a	100.00	a	100.00	a	2.73	a	2.22	a
	78℃	0.00	a	100.00	a	100.00	a	2.93	a	2.19	a
MCE 10:1:5	무건열	0.00	a	96.67	a	96.67	a	2.18	a	1.79	a
	72℃	0.00	a	96.67	a	96.67	a	2.56	a	2.02	a
	78℃	0.00	a	100.00	a	100.00	a	2.57	a	2.06	a
MCE 10:1:6	무건열	0.00	a	93.33	a	93.33	a	2.33	b	1.83	b
	72℃	0.00	a	86.67	a	90.00	a	3.37	a	2.49	a
	78℃	0.00	a	100.00	a	100.00	a	2.37	b	1.81	b
평균		0.00		97.78		98.06		2.85		2.29	
신화창조											
무처리	무건열	0.00	a	93.33	a	93.33	a	3.39	a	2.85	a
	72℃	0.00	a	100.00	a	100.00	a	3.03	b	2.52	b
	78℃	0.00	a	100.00	a	100.00	a	3.17	c	2.60	b
MCE 10:1:4	무건열	0.00	a	90.00	a	90.00	a	3.21	a	2.90	a
	72℃	0.00	a	100.00	a	100.00	a	2.60	a	1.87	b
	78℃	0.00	a	93.33	a	93.33	a	1.79	b	1.06	c
MCE 10:1:5	무건열	0.00	a	96.67	a	96.67	a	2.75	a	2.22	a
	72℃	0.00	a	100.00	a	100.00	a	2.77	a	2.15	a
	78℃	0.00	a	96.67	a	96.67	a	2.03	b	0.94	b
MCE 10:1:6	무건열	6.67	a	100.00	a	100.00	a	2.73	a	2.30	a
	72℃	0.00	a	96.67	a	100.00	a	2.70	a	1.78	a
	78℃	0.00	a	90.00	a	93.33	a	2.18	a	1.11	b
평균		0.56		96.39		96.94		2.70		2.03	

(4) SMP 처리기간 중 LED 조사가 발아 및 묘 출현에 미치는 영향

(가) ‘동장군’ 박 종자의 SMP 기간 중 광질 조사가 발아 및 묘 출현에 미치는 영향

건열처리 후 건열피해에 의한 발아율 저하와 비정상묘의 출현을 최대한 억제시키기 위하여 SMP를 실시하는 것이 효과적이라 판단되며, 선행 연구결과 유묘 출현과 유묘 생육에 있어서 LED 광질이 효과적인 조절인자로 작용함을 확인하였기에 SMP 처리기간 중에 LED 광질을 처리함으로써 박 대목 종자의 발아와 출현 및 유묘소질에 미치는 영향을 파악하고자 ‘동장군’과 ‘신화창조’ 박을 공시재료로 사용하여 다음과 같은 실험을 수행하였다.

지금까지 수행하였던 실험결과와의 연관성을 높이기 위하여 ‘동장군’ 박 대목 종자에 개선된 건열처리(본처리: 20℃(8시간)-30℃(8시간)-40℃(8시간)-50℃(8시간)-60℃(8시간)-70℃(8시간)-최종 상한온도 72℃ 또는 78℃(72시간), 후처리: 60℃(6시간)-50℃(6시간)-40℃(6시간)-30℃(6시간)-25℃(6시간))를 2010년 2월 초에 실시하였고 4개월 이상 실내에서 후처리 후 공시재료로 이용하였다. 그리고 SMP는 선행 연구결과에 따라 종자:고형물질(Micro-Cel E):수분의 비율을 각각 10:1:4와 10:1:5로 혼합하여 특수 제작한 LED 성장상내에서 25℃에서 72 시간동안 백색광, 청색 LED, 적색 LED, 그리고 대조구로 암흑상태에서 SMP 처리하였다. SMP 처리가 끝난 후에는 발아검정을 위해 발아전용용지에 처리당 10립 5반복으로 파종하였으며, 출현검정을 위해 50공 트레이에 15립 3반복으로 상향 파종하여 2주간 발아검정, 출현검정, 유묘소질 평가를 실시하였다.

SMP 처리된 ‘동장군’ 박 종자의 건열처리 상한온도에 따른 발아검정 결과, 상한온도가 증가할수록 발아율이 다소 감소하는 경향을 보였다. 그런데 유묘의 생체중, 근장, 하배축장은 상한온도 72℃ 처리구가 높았다. 그리고 SMP 처리시 종자:Micro-Cel E:수분의 비율에 따른 발아검정 결과 수분의 비율이 높을수록 발아율이 높고, 생체중, 근장, 하배축장이 증가하는 결과를 보였다. SMP 처리시 LED 광을 조사한 결과, 암흑처리한 경우 초기발아율과 생체중, 근장, 하배축장이 다소 낮은 경향을 보였다.

SMP 처리된 ‘동장군’ 박 종자의 건열처리 상한온도에 따른 출현검정 결과, SMP 처리되지 않은 대조구에 비하여 SMP 처리구가 초기 출현율이 높게 나타났고, 평균출현소요일수도 짧았다. 그리고 자엽의 크기는 큰 차이를 보이지 않았으나 생체중, 하배축의 길이와 지름이 상대적으로 높은 수치를 나타내었다. SMP 처리구간에는 무건열처리구가 건열처리구보다 초기 출현율이 높았으며 평균출현소요일수가 짧았다. 그런데 파종 2주 후 유묘 생육조사에서 상한온도 72℃ 건열처리구가 다른 처리구에 비하여 생체중과 하배축장이 더 높은 측정치를 보이는 등 가장 빠른 생육상태를 보였다. SMP 처리시 종자:Micro-Cel E:수분의 비율에 따른 출현검정 결과, 대조구에 비하여 SMP 처리구의 초기 출현율과 생육이 더 활발하였는데, 특히 10:1:5 처리구의 초기 출현율이 가장 높았다. 마지막으로, SMP 처리시 LED 광을 조사한 결과, 대조구에 비하여 SMP 처리구의 초기 출현율과 평균출현소요일수, 그리고 하배축의 길이와 지름이 더 높게 나타났다. LED 광질 처리간 초기 출현율은 백색광, 청색광, 적색광, 암흑순으로 높았고, 유묘 생육에서는 백색광이 하배축장이 다소 높은 경향을 보였으나 생체중과 하배축의 지름은 청색광이 다소 높은 경향을 보였다<표 1-22~1-27><그림 1-25, 1-26>.

상기의 결과를 종합하여 보면, 건열처리 후 초기 발아율 또는 출현율과 유묘소질이 다소 감소하는 경향을 보였으나, SMP 처리에 의하여 거의 비슷한 수준으로 발아율을 향상시킬 수 있었다. 그리고 SMP 처리시 수분의 비율이 과다하면 발아해버리는 경우가 있는데, 발아하지 않으면서 높은 발아세를 보인 10:1:5의 비율이 가장 적합할 것으로 판단되었다. 또한, 일반적으로 암흑상태에서 SMP 처리를 하는데,

처리기간중에 오히려 광을 처리함으로써 발아율과 유효소질을 더 향상시킬 수 있으며, 도장하지 않고 튼튼한 대목을 얻기 위한 SMP 종자처리시 청색광선을 처리함으로써 그 효과를 증가시킬 수 있을 것으로 생각된다.

<표 1-22> 건열처리 상한온도에 따른 SMP 처리 ‘동장군’ 박 종자의 발아검정 결과(SMP 비율, LED 광질 측정치 평균값으로 pleated paper를 이용한 실내실험임)

건열처리 상한온도 (℃)	발아율 (%)		평균발아 소요일수	T ₅₀	생체중 /10주 (g)	뿌리		하배축	
	파종 2일 후	파종 7일 후				근장 (mm)	근밀도	하배축장 (mm)	굵기 (mm)
무처리	97.75	99.50	1.80	1.34	10.93	199.1	4.97	72.09	3.73
72	93.50	99.25	1.77	1.25	11.06	202.0	4.94	77.54	3.68
78	80.00	96.75	2.03	1.55	9.81	198.5	4.79	65.65	3.68
평균	90.42	98.50	1.87	1.38	10.60	199.84	4.90	71.76	3.69

<표 1-23> SMP 처리시 종자, Micro-cel E, 수분 비율에 따른 ‘동장군’ 박 종자의 발아검정 결과(건열처리, LED 광질 측정치 평균값)(Pleated paper를 이용한 실내실험임)

종자: MCE: 수분	발아율 (%)		평균발아 소요일수	T ₅₀	생체중 /10주 (g)	뿌리		하배축	
	파종 2일 후	파종 7일 후				근장 (mm)	근밀도	하배축장 (mm)	굵기 (mm)
10:1:4	86.83	97.67	1.95	1.44	10.45	197.573	4.88	70.84	3.71
10:1:5	94.00	99.33	1.78	1.32	10.74	202.113	4.92	72.57	3.68
평균	90.42	98.50	1.87	1.38	10.60	199.84	4.90	71.71	3.69

<표 1-24> SMP 처리시 LED 광질에 따른 ‘동장군’ 박 종자의 발아검정 결과(건열처리, SMP 비율 측정치 평균값)(Pleated paper를 이용한 실내실험임)

LED 광질	발아율 (%)		평균발아 소요일수	T ₅₀	생체중 /10주 (g)	뿌리		하배축	
	파종 2일 후	파종 7일 후				근장 (mm)	근밀도	하배축장 (mm)	굵기 (mm)
White	91.67	98.00	1.78	1.28	10.45	197.7	4.85	72.83	3.62
Blue	93.00	98.67	1.81	1.43	10.78	202.3	4.93	73.03	3.69
Red	92.33	99.33	1.73	1.20	10.85	201.2	4.95	72.99	3.74
Dark	84.67	98.00	2.15	1.61	10.32	198.2	4.87	67.88	3.72
평균	90.42	98.50	1.87	1.38	10.60	199.84	4.90	71.68	3.69

근밀도 측정기준 :

0 - 유근의 미출현

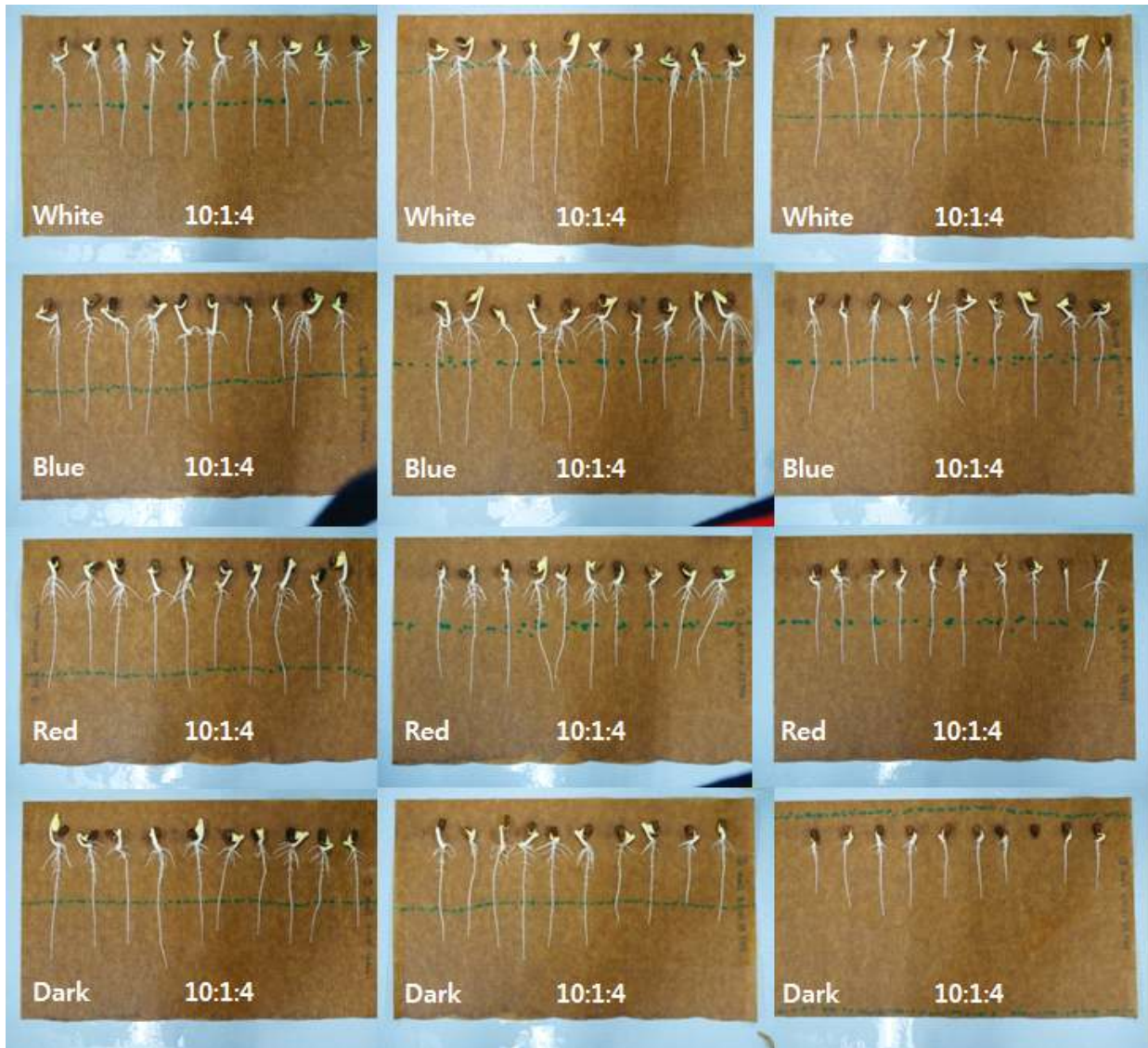
1 - 유근의 출현

2 - 5cm 이하 주근 출현 또는 이차근이나 부정근의 발생

3 - 5cm 이상 주근 출현

4 - 주근의 출현과 함께 약간의 이차근이나 부정근의 발생

5 - 주근의 출현과 함께 충분한 이차근이나 부정근의 발생



건열 미처리 건열처리 상한온도 72℃ 건열처리 상한온도 78℃
 <그림 1-25> Solid matrix priming 처리기간 중 LED 광질 처리에 의한 '동장군' 박 종자의 발아

<표 1-25> 건열처리 상한온도에 따른 SMP 처리 '동장군' 박 종자의 묘 출현검정 결과
 (SMP 비율, LED 광질 측정치 평균값)(LED SMP 실시: 2010.06.21., 출현검정: 2010.06.25.-2010.07.09, 14일간 실시)
 (대조구 출현검정: 2010.07.05.-2010.07.21. 육묘실 공간부족으로 본실험과 별개로 실시함)

건열처리 상한온도 (℃)	출현율 (%)		평균출현 소요일수	T ₅₀	생체중 /10주 (g)	자엽			하배축	
	파종 6일후	파종 14일후				폭 (mm)	길이 (mm)	길이 (mm)	지름 (mm)	
									자엽아래	지면위
무건열	77.80	99.17	2.10	5.48	51.26	33.7	61.25	136.00	4.19	6.12
72	58.30	95.00	2.45	5.82	51.29	32.8	60.13	137.44	4.16	6.16
78	59.20	96.94	2.42	5.83	46.59	34.1	60.09	131.64	4.08	5.82
대조구 (Non-SMP)	37.80	100.00	3.00	6.24	45.03	33.90	59.60	129.80	4.01	5.73
평균	58.28	97.78	2.50	5.84	48.54	33.61	60.27	133.72	4.11	5.96

<표 1-26> '동장군' 박 종자의 묘 특성에 미치는 SMP 처리 효과

(건열처리, LED 광질 측정치 평균값)(LED SMP 실시: 2010.06.21., 출현검정: 2010.06.25.-2010.07.09, 14일간 실시)
 (대조구 출현검정: 2010.07.05.-2010.07.21. 육묘실 공간부족으로 본실험과 별개로 실시함)

종자: MCE: 수분	출현율 (%)		평균출현 소요일수	T ₅₀	생체중 /10주 (g)	자엽			하배축	
	파종 6일후	파종 14일후				폭 (mm)	길이 (mm)	길이 (mm)	지름 (mm)	
									자엽아래	지면위
10:1:4	58.33	97.41	2.46	5.86	50.10	33.98	61.79	134.83	4.19	6.07
10:1:5	71.85	96.67	2.19	5.56	49.33	33.04	59.18	135.23	4.10	5.99
대조구 (Non-SMP)	37.78	100.00	3.00	6.24	45.03	33.90	59.60	129.80	4.01	5.73
평균	55.99	98.02	2.55	5.89	48.15	33.64	60.19	133.28	4.10	5.93

<표 1-27> '동장군' 박 종자의 묘 특성에 미치는 SMP 처리시의 LED 조명효과

(건열처리, SMP 비율 측정치 평균값)(LED SMP 실시: 2010.06.21., 출현검정: 2010.06.25.-2010.07.09, 14일간 실시)
 (대조구 출현검정: 2010.07.05.-2010.07.21. 육묘실 공간부족으로 본실험과 별개로 실시함)

광질	출현율 (%)		평균출현 소요일수	T ₅₀	생체중 /10주 (g)	자엽			하배축	
	파종 6일후	파종 14일후				폭 (mm)	길이 (mm)	길이 (mm)	지름 (mm)	
									자엽아래	지면위
White	81.11	98.89	2.03	5.41	50.53	33.25	60.73	137.88	4.14	6.08
Blue	78.89	97.78	2.01	5.45	51.57	33.83	61.17	137.02	4.18	6.13
Red	59.26	97.78	2.38	5.74	47.33	32.75	59.93	132.67	4.10	5.90
Dark	41.11	93.70	2.89	6.24	49.42	34.22	60.12	132.53	4.17	6.03
대조구 (Non-SMP)	37.78	100.00	3.00	6.24	45.03	33.90	59.60	129.80	4.01	5.73
평균	59.63	97.63	2.46	5.82	48.78	33.59	60.31	133.98	4.12	5.97

무건열처리 건열처리 건열처리
상한온도 72℃ 상한온도 78℃



백색광



적색광

무건열처리 건열처리 건열처리
상한온도 72℃ 상한온도 78℃



청색광



암흑

종자:MCE:수분=10:1:4



백색광



적색광



청색광



암흑

종자:MCE:수분=10:1:5

<그림 1-26> Solid matrix priming 처리기간 중 LED 광질 처리에 의한 '동장군' 박 종자 출현검정 결과(파종 6일 후)

(나) ‘신화창조’ 박 종자의 SMP 기간 중 광질 조사가 발아에 미치는 영향

상기의 실험에 이어서 본 연구에서는 프라이밍 시 다양한 광의 조사가 프라이밍 종료 후 파종했을 때 발아 및 유묘의 생장에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위해 ‘신화창조’ 박 종자를 대상으로 10:1:5의 비율로 Micro-Cel E를 이용, 프라이밍을 실시할 때 백색형광등, 적색광(660nm), 청색광(460nm)의 LED, 암상태 하에서 총 72 시간 연속 조사하였다.

광질에 따른 최종 발아율 차이는 크게 두드러지지 않았으나, 파종 2일 후와 MGT의 경우 청색광 조사시 발아가 다소 느려지는 것을 관찰할 수 있었으며, 건열처리 78℃를 처리한 종자를 사용한 경우 적색광의 발아촉진 및 청색광의 저하를 MGT와 T₅₀을 통해 알 수 있었다. 그러나 유묘생육 정도는 광질별 차이가 뚜렷이 나타나지 않았다(데이터 생략).

위의 처리 중 청색광의 처리효과를 보다 명확히 알기 위해 총 총 3일간의 프라이밍 기간을 각 24 시간씩 분할하여 청색광→암조건→암조건, 암조건→청색광→암조건, 암조건→암조건→청색광, 청색광→청색광→암조건, 암조건→청색광→청색광, 청색광→청색광→청색광, 암조건→암조건→암조건인 총 7조건으로 하고, 공시재료는 ‘신화창조’ 박 종자를 대상으로 10:1:5의 비율로 Micro-Cel E를 이용 프라이밍을 실시하였다.

광 분할조명에 따른 초기 및 최종발아율, MGT와 T₅₀ 모두에서 뚜렷한 경향성을 나타내지 않았다. 유묘생육 정도는 무건열처리구의 뿌리길이와 78℃ 건열처리구의 생체중에서 연속 암조건보다는 청색광을 조사한 경우 그 생육이 향상되는 것이 확인되었으나, 그 외 72℃ 건열처리구 및 기타 조사항목에서는 그 차이가 명확히 나타나지 않았다(데이터 생략).

이러한 결과들은 ‘동장군’ 박을 이용한 상기의 실험에서 암조건에서는 발아가 저하되고 청색광에서 우수한 유묘생육 정도를 나타내었던 결과와는 상이한 것이었는데, 이는 ‘신화창조’ 품종의 종자건전도가 매우 우수하여 광질의 영향을 적게 받기 때문인 것으로 사료되었다.

(5) 프라이밍 지속기간에 따른 반응성 검증

일반적으로 박과채소 종자에 있어 고형물질을 이용한 프라이밍 처리는 통상 72 시간을 실시하고 있는데, 이는 종자가 물리적으로 수분을 흡수하여 수분평형을 이루고, 종자가 발아를 위하여 종자 내 각종 저장물질의 분해 및 효소활성 및 호흡증가 등 생리, 화학적 대사가 이루어지는데 걸리는 시간을 고려한 것이다.

그러나 이러한 프라이밍 조건이 유효하다고 하더라도 박과채소 종자에 있어 프라이밍 시 시간대별 수분흡수정도를 조사하여 수분평형을 이루는 기간 및 발아개시시점을 알아보고, Micro-Cel E로 프라이밍 시의 변화정도를 일반 증류수에 침종한 종자와 비교 분석하여 향후 이를 고려한 적절한 프라이밍 처리가 적용되어야 할 것으로 생각되어 ‘신화창조’ 박 종자를 대상으로 프라이밍 후 2 시간부터 120 시간까지 수분함량의 변화를 측정하였다.

박 종자의 경우 종피가 매우 두터워 발아를 위해 수분을 첨가해주는 경우 대부분을 종피가 흡수하고 종자 내부로 들어가는 실제 종자의 발아에 이용되는 수분량은 적기 때문에 정확한 유효수분양의 측정을 위해서 본 연구에서는 종자를 프라이밍 시킨 후 종피는 제거하고 그 안의 배 및 자엽부분만을 추출, 종

자수분측정기(FD-720, Kett Co., Japan)을 사용하여 수분함량을 측정하였다.

또한 ‘신화창조’ 종자를 Micro-cel E로 0, 24, 48, 72, 120 시간 프라이밍 처리하는 경우의 반응성을 조사하였으며, 이때 광질의 영향도 함께 조사하고자 암흑 및 백색광의 2가지 광질조건에서 실시하였다.

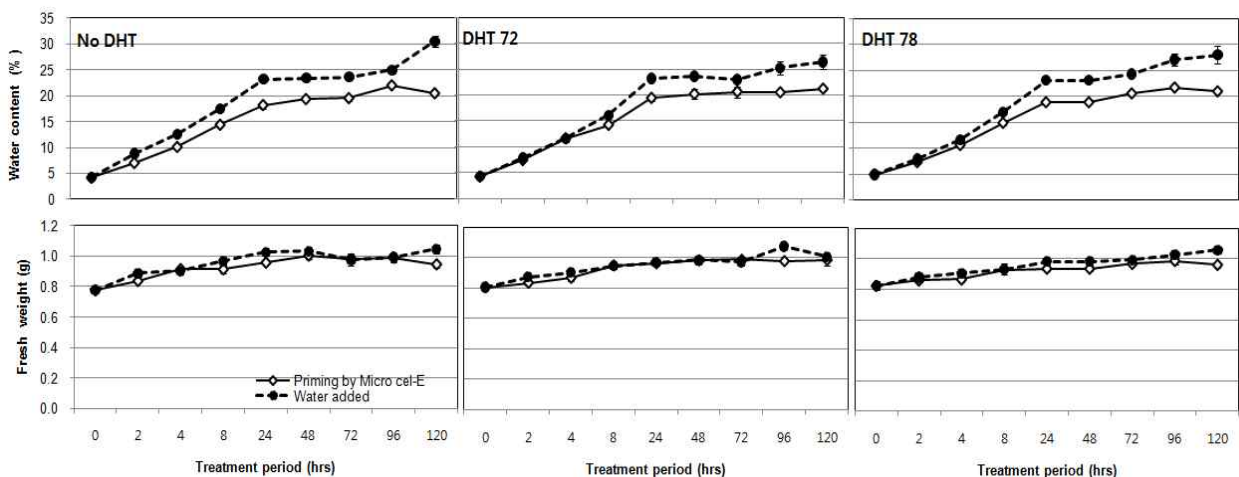
<그림 1-27>과 같이 종자 내 수분함량 변화는 Micro-Cel E로 프라이밍 시 대체적으로 24 시간까지는 증가하였으나, 이 후로는 별다른 변화없이 20% 전후에서 수분평형을 이루었다. 하지만 증류수 침종구는 24 시간 이후에도 종자 내 수분함량이 완만하게 증가하는 것을 볼 수 있었다. 증류수 침종구의 경우 처리 48 시간 후부터 일부 종자에서 유근이 돌출하기 시작하였고, 72 시간 후에는 대부분의 종자에서 발아가 시작되어 96 시간 후 수분함량이 30% 정도로 크게 향상되는 것을 관찰할 수 있었다. 건열처리하지 않은 종자와 상한온도 72℃ 및 78℃ 건열처리한 종자를 비교해 보면, 건열처리 후 종자 내로 유입되는 수분함량이 무처리 종자에 비해 약간 적어지기는 하였으나 크게 차이는 나지 않았다. 종자의 무게는 프라이밍 물질 및 프라이밍 시간, 건열처리 유무에 따른 차이가 나타나지 않았다.

<표 1-28>은 ‘신화창조’ 종자를 Micro-cel E로 프라이밍 시 프라이밍 시간별 발아정도를 나타낸 것이다. 파종 7일 및 14일 후의 발아율은 처리구간 차이가 두드러지지 않았으나 파종 2일 후 발아율에서는 건열처리 유무와 상관없이 프라이밍 72 시간 처리가 가장 양호한 결과를 나타내었다.

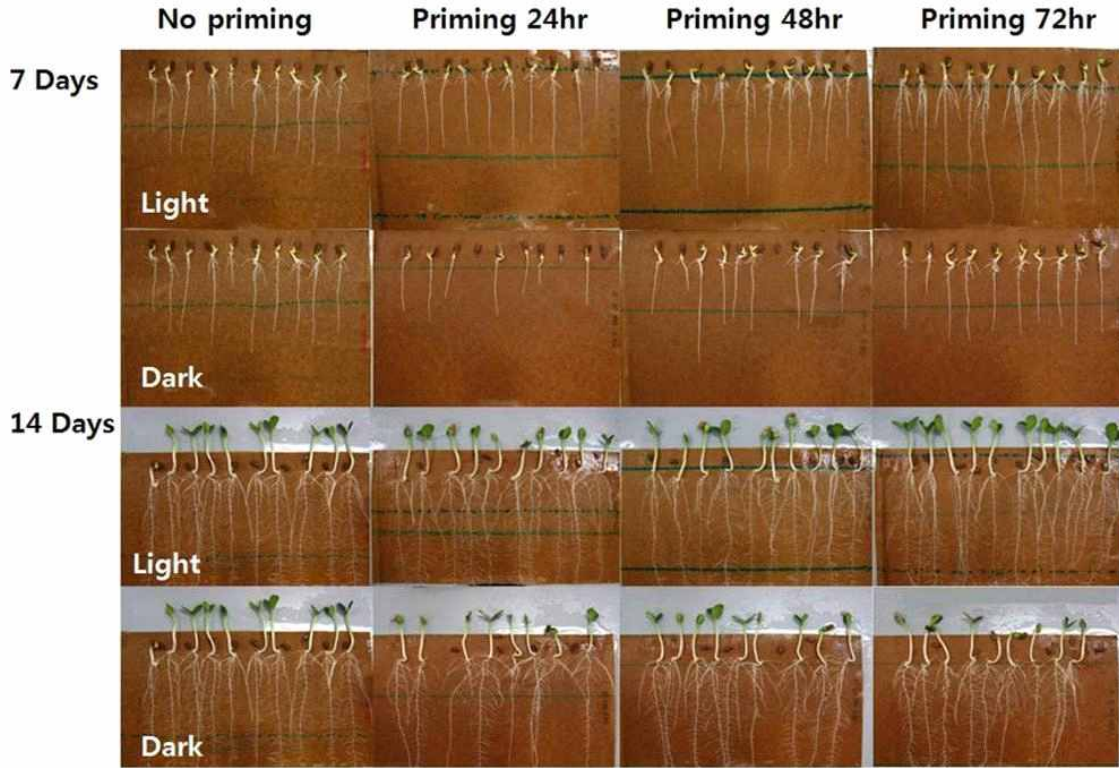
<표 1-29>에서와 같이 유묘생육정도는 프라이밍을 72 시간 처리할 때 72℃ 및 78℃ 건열처리구의 경우 근장이 227mm 이상으로 가장 양호하였고, 생체중 또한 프라이밍 72 시간 처리시 무건열처리 및 72℃ 건열처리구에서 유의차가 있게 증가하였다.

프라이밍을 연속광 및 암조건 하에서 실시하는 경우 최종발아율과 유묘생육정도는 앞서의 연구에서와 같이 현저한 차이를 나타내지 않았지만, 파종 7일 후 뿌리의 발달정도는 프라이밍 처리시간 차이에 관계없이 암조건보다는 광조건 하에서 주근 및 측근의 발달이 훨씬 빠르고 왕성함을 알 수 있었으며, 이러한 경향은 78℃ 건열처리된 종자를 사용하는 경우 더욱 두드러졌다<그림 1-28>.

따라서 박 종자를 프라이밍 하는 경우 적절한 프라이밍 시간은 72 시간 정도이며, 암조건보다는 광조건 하에서 실시하는 것이 가장 빠른 발아 및 균일하고 건전한 유묘획득에 도움이 될 것으로 생각되었다.



<그림 1-27> ‘신화창조’ 박 종자의 프라이밍 처리 시 시간대별 수분함량 변화



<그림 1-28> 78℃ 건열처리 된 ‘신화창조’ 박을 광 및 암조건하에서 프라이밍 하였을 때 파종 7일 및 14일 후의 유묘생육정도

<표 1-28> 건열처리된 ‘신화창조’ 박 종자의 프라이밍 시간에 따른 발아율의 변화

종자처리/프라이밍 시간	발아율 (%)				MGT	T ₅₀
	파종2일후	파종4일후	파종14일후	파종7일후		
무건열						
무처리	0.00 d	86.67 a	100.00 a	100.00 a	3.73 a	3.22 a
Priming 24 hrs	23.33 c	96.67 a	100.00 a	100.00 a	2.90 b	2.40 b
Priming 48 hrs	46.67 b	90.00 a	93.33 a	93.33 a	2.59 bc	2.08 bc
Priming 72 hrs	76.67 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	2.20 c	1.65 c
Priming 96 hrs	53.33 b	86.67 a	90.00 a	93.33 a	2.73 bc	1.92 bc
Priming 120 hrs	43.33 bc	90.00 a	96.67 a	96.67 a	2.55 bc	2.11 bc
평균	35.05	79.14	83.86	85.33	2.78	2.23
DHT 72℃						
무처리	0.00 d	66.67 c	100.00 a	100.00 a	4.33 a	3.76 a
Priming 24 hrs	30.00 c	93.33 a	96.67 a	96.67 a	2.82 b	2.34 b
Priming 48 hrs	60.00 b	100.00 a	100.00 a	100.00 a	2.43 bc	1.88 c
Priming 72 hrs	96.67 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	2.03 cd	1.52 cd
Priming 96 hrs	56.67 b	83.33 b	83.33 b	90.00 b	2.81 b	1.90 c
Priming 120 hrs	86.67 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	1.70 d	1.14 d
평균	55.00	90.56	96.67	97.78	2.69	2.09
DHT 78℃						
무처리	0.00 d	83.33 a	100.00 a	100.00 a	4.17 a	3.60 a
Priming 24 hrs	3.33 d	86.67 a	93.33 a	93.33 a	3.33 b	2.74 b
Priming 48 hrs	60.00 c	100.00 a	100.00 a	100.00 a	2.40 c	1.85 c
Priming 72 hrs	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	2.00 c	1.50 c
Priming 96 hrs	73.33 bc	93.33 a	96.67 a	96.67 a	2.19 c	1.63 c
Priming 120 hrs	93.33 ab	96.67 a	96.67 a	96.67 a	1.96 c	1.50 c
평균	55.00	93.33	97.78	97.78	2.68	2.14

<표 1-29> 건열처리된 ‘신화창조’ 박 종자의 프라이밍 시간에 따른 유묘생육의 변화

종자처리/프라이밍 시간	길이 (mm)		하배축경 (mm)	생체중 (g)				
	근장	하배축장						
무건열								
무처리	217.59	a	71.36	a	3.91	ab	1.50	bc
Priming 24 hrs	219.97	a	68.90	ab	4.06	a	1.65	ab
Priming 48 hrs	224.37	a	70.26	ab	3.64	b	1.54	bc
Priming 72 hrs	223.00	a	76.50	ab	4.06	a	1.73	a
Priming 96 hrs	212.46	a	67.22	ab	3.73	b	1.36	c
Priming 120 hrs	224.69	a	65.43	b	3.91	ab	1.43	c
평균	221.23		71.75		3.92		1.61	
DHT 72°C								
무처리	222.10	b	75.17	ab	3.76	bc	1.56	b
Priming 24 hrs	219.73	b	72.28	ab	3.78	bc	1.58	b
Priming 48 hrs	224.00	b	70.43	b	3.97	abc	1.65	b
Priming 72 hrs	231.17	a	72.07	ab	4.30	a	1.83	a
Priming 96 hrs	218.52	b	76.24	a	3.57	c	1.35	c
Priming 120 hrs	220.67	b	69.67	b	4.18	ab	1.62	b
평균	224.25		72.49		3.95		1.65	
DHT 78°C								
무처리	224.16	ab	69.79	a	3.65	b	1.54	ab
Priming 24 hrs	223.39	ab	69.46	a	4.03	a	1.60	ab
Priming 48 hrs	216.33	b	71.80	a	4.01	a	1.72	a
Priming 72 hrs	227.50	a	69.80	a	4.10	a	1.70	a
Priming 96 hrs	218.50	b	73.68	a	3.85	ab	1.38	b
Priming 120 hrs	222.70	ab	70.72	a	3.91	ab	1.49	ab
평균	222.85		70.21		3.95		1.64	

(6) 프라이밍 후 저장 기간에 따른 반응성 검정

SMP는 미세한 미립자를 종피표면의 미세한 골에 침투시키면서 프라이밍 처리를 하기 때문에 프라이밍 처리를 한 종자를 건조하기 쉽고, 일단 건조된 종자는 장기저장이 용이할 뿐더러 살균제 등의 혼용 처리도 가능하고 프라이밍 효과와 함께 흡수촉진물질의 작용에 의한 발아촉진효과까지 이용할 수 있다. 본 연구에서는 이러한 SMP의 처리효과가 건열처리된 종자를 대상으로도 가능하며, 그 지속기간 및 박과채소 종자에서 프라이밍 후 장기저장 시 가장 적합한 프라이밍 물질 및 비율 등을 알아보하고자 하였다. 공시재료는 ‘신화창조’ 박 종자를 대상으로 하였으며, 프라이밍 물질로는 앞서 실험에서 사용하였던 Micro-Cel E, sigmacell cellulose, hydroxymethyl cellulose, methyl cellulose, carboxymethyl cellulose, vermiculite의 6종류였으며, 프라이밍 처리시 captan 0.1%를 함께 혼용하였다. 프라이밍 처리된 종자는 35°C에서 24 시간 건조한 후 실리카겔과 함께 각각 30일, 60일간 저장하다가 꺼내어 실험에 사용하였다.

또한 여러가지 물질 중 Micro-Cel E를 선택, 10:1:5의 비율로 백색광, 청색광, 암흑 하에서 3일간 접목용 호박인 ‘조생토좌’(2009년산)를 이용해 프라이밍 실시 후 건조하였다. 이 종자를 60일간 저장하였다가 꺼내어 20, 24, 27, 30°C에서 파종하는 경우 그 반응성을 조사하였다.

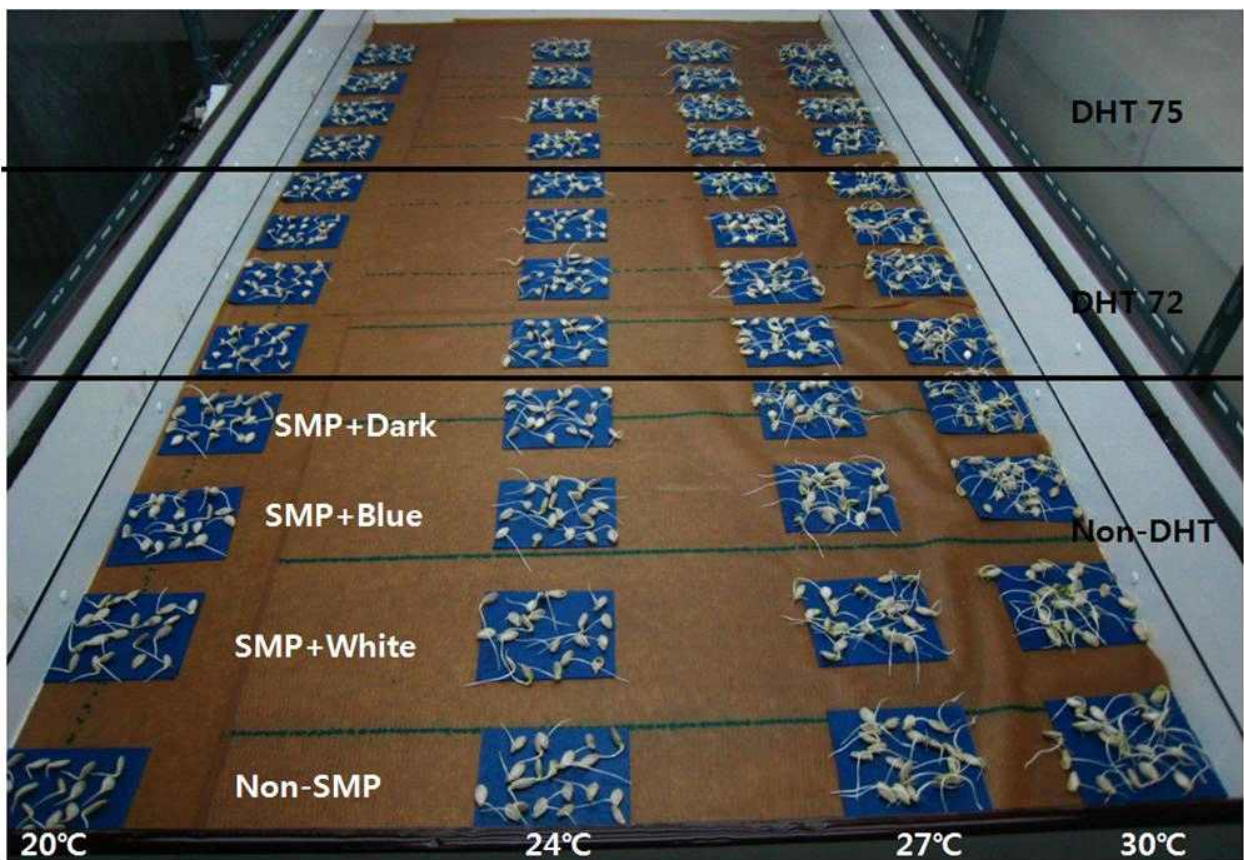
건열처리 되지 않은 종자를 대상으로 프라이밍 처리하고 재건조하여 각각 30일, 60일 후에 저장하였다가 파종한 결과, Micro-Cel E로 프라이밍 처리한 경우 10:1:6의 비율에서는 60일 저장 후 발아율과 MGT 및 T₅₀이 다소 저하되었으나 10:1:4 및 10:1:5로 처리한 경우 저장 60일 후에도 프라이밍 무처리 구에 비해 평균 1일 이상 빠른 MGT와 T₅₀ 결과를 보여주어 프라이밍 효과가 지속되고 있음을 알 수

있었다. 그러나 기타 물질들은 sigmacell cellulose와 같이 저장 60일 후 T_{50} 이 다소 상승한 경우를 제외하고는 저장기간의 경과에 따른 최종발아율 및 MGT와 T_{50} 또한 무처리구에 비해 크게 개선되지 않았거나 오히려 역효과를 나타내었다(데이터 생략).

72°C로 건열처리된 종자를 사용하여 프라이밍 후 일정기간 저장 시 발아율의 변화는 앞에서와 같이 Micro-Cel E로 프라이밍 처리한 경우 10:1:6의 비율을 제외하고는 저장 60일 후에도 프라이밍 무처리구에 비해 향상된 발아정도를 보여주어 프라이밍 효과가 지속되고 있음을 알 수 있었다. 그러나 기타 물질들은 대체적으로 저장기간의 경과에 따라 파종 4일 후부터 Micro-Cel E에 비하여 발아율이 다소 떨어졌으며, 이러한 발아율 저하 현상은 프라이밍 처리시 수분함량이 높을수록 더 심해졌다. 특히 vermiculite로 처리한 경우 10:1:4 비율을 제외하고는 최종발아율이 50% 이하에 그치는 등 발아가 매우 불량해졌다(데이터 생략).

대목용 호박인 ‘조생토좌’의 프라이밍 시 광질 및 일정기간 저장 후 발아온도별 발아정도는 <그림 1-29>와 같다. 2009년산 ‘조생토좌’의 경우 프라이밍 후 저장기간에 따른 발아억제현상 및 프라이밍 시 광질에 따른 차이가 두드러지게 나타나지 않았다. 다만 파종 4일 후 발아 및 유묘 생육정도를 살펴보면, 건열처리 상한온도가 상승할수록 발아세가 다소 감소하였으며, 파종온도에 따라 저온인 20°C에서는 발아가 느려졌으나, 파종온도가 30°C로 올라갈수록 발아가 빨라지는 것이 관찰되었다.

따라서 박 및 종자를 프라이밍 하여 장기간 저장하는 경우, Micro-Cel E로 프라이밍 처리 하는 것이 무건열처리 및 건열처리구 모두에서 그 효과가 상당기간 지속될 수 있어 바람직할 것으로 생각되었고 프라이밍 비율은 10:1:4 또는 10:1:5가 무난할 것으로 생각되었다.



<그림 1-29> 건열처리 된 ‘조생토좌’ 호박의 광질별 프라이밍 후 60일간 저장 시 파종온도별 반응성

(7) 대목용 박 및 호박의 건열처리 직후 프라이밍 효과 검증

건열처리는 종자에 높은 열을 가함으로써 열에 불안정한 바이러스를 포함한 다양한 종자전염병균을 사멸 또는 불활성화 시키는 기술로서 특히 종피가 두껍고 종자전염병균의 불활성화가 어려운 박과채소 종자에서는 거의 필수적으로 이용되고 있다. 이러한 처리는 가능한 높은 온도에서 장시간 처리할수록 종자전염병균의 불활성화가 유리해지지만, 높은 열에 의한 종자 내 저장물질의 파괴 및 변형과 같은 다양한 변화가 일어나, 종자활력은 물론 유묘특성에도 영향을 미칠 수 있는데, 이러한 피해는 작물별, 품종별, 건열처리의 상한온도와 처리시간 등 다양한 조건에 따라 일시적 및 지속적으로 나타날 수 있다. 따라서 건열처리의 피해를 극복하기 위한 후처리로서 프라이밍 처리가 이용될 수 있다.

종자 내 수분함량은 종자의 품질을 추측해 볼 수 있는 요인으로서, 특히 저장 중 종자의 품질에 큰 영향을 미치는데, 이는 종자 내의 수분함량이 높을 경우 종자의 호흡을 증가시키고, 병균의 활동을 조장하여 결국 종자의 발아능력을 상실하게 만들기 때문이다. 일반적으로 종자가 활력이 떨어져 종자 내 죽은 세포가 많은 경우 세포막의 탄성이 줄어 수분흡수에 따른 팽압에 약해져 결국 파괴되어 물의 투과를 돕고, 세포내용물이 물에 용출되어 결과적으로 전기전도율을 증가시킨다. 이러한 이론을 바탕으로 종자의 발아능력을 측정하는데 종자 내 수분함량 및 전기전도도(electrical conductivity; EC)가 이용될 수 있다.

본 연구에서는 박 및 호박 종자를 대상으로 건열처리 직후 프라이밍을 실시하는 경우 발아 및 유묘활력 뿐만 아니라 수분함량 및 전기전도도를 측정함으로써 건열처리 및 프라이밍 후 종자 내 변화를 다방면으로 알아보고자 하였다.

공시재료로는 신젠탄종묘의 접목용 박인 ‘동장군’과 호박인 ‘조생토좌’(2010년산)로 하였고, 건열처리는 종자의 고온피해를 최소화하기 위해 기존에 사용하던 온도단계를 변형하여 25→30→40→60→70℃까지는 각각 8 시간 간격으로 점차 예건 후 설정된 상한온도인 72℃ 및 78℃에서는 72 시간을 유지하였으며 다시 70→60→50→40→30℃까지 각각 6 시간 간격으로 온도를 하강시켰다. 건열처리된 종자는 Micro-Cel E를 이용하여 프라이밍을 실시하였다. 프라이밍 기간은 총 72 시간으로 하였으며, 환경조건은 25℃, 24 시간 광주조건을 유지되도록 실시하였다.

발아율을 살펴보면 ‘동장군’ 박의 경우 72℃ 건열처리구는 무건열처리구와 큰 차이를 보이지 않았지만, 78℃ 건열처리구의 경우 최종발아율, MGT와 T₅₀ 모두 다소 저하되는 것을 볼 수 있었다. 하지만 10:1:5 및 10:1:6의 비율로 프라이밍 하는 경우 건열처리하지 않은 종자 뿐만 아니라 72℃ 및 78℃ 건열처리구 모두에서 1 일 이상 MGT와 T₅₀이 빨라졌다. ‘조생토좌’ 호박의 경우 건열처리에 의해 발아가 극히 불량해져 최종발아율이 10% 정도에 그쳤고, MGT도 5일 이상으로 늘어났지만 프라이밍의 수분비율이 증가함에 따라 최종발아율 및 MGT가 향상되는 것을 관찰할 수 있었다. 그러나 건열처리에 의한 피해가 프라이밍에 의해 다소 극복되더라도 최종발아율이 여전히 평균 50% 이하에 머물러 있어 ‘조생토좌’ 호박의 경우 ‘동장군’ 박에 비해 열처리에 매우 민감함을 알 수 있었다(데이터 생략).

유묘의 생육정도를 보면, ‘동장군’ 박의 경우 건열처리 상한온도가 78℃로 높아짐에 따라 하배축장은 30mm 이상, 생체중도 0.6g 이상으로 50% 이상 감소되었으나, 프라이밍 처리 시 수분비율이 상승함에 따라 점차 개선되는 것을 볼 수 있었다. ‘조생토좌’ 호박은 발아율과 동일하게 유묘의 생육도 건열처리에 의해 극히 불량해졌으며, 프라이밍에 의해 하배축장은 상승하였지만, 하배축경 및 생체중은 크게 회복되지 않았다.

수분함량은 배 및 자엽부분 보다는 종자전체를 측정할 경우 5% 이상 높게 나타났는데, 박과채소종자의 경우 Micro-Cel E를 이용한 프라이밍 시 많은 양의 수분이 종피에 머물러 있고, 프라이밍 비율을 10:1:6으로 높여도 종자 내부는 수분함량이 25% 미만으로 유지됨을 알 수 있었다. 건열처리 직후 수분함량은 배 및 자엽부분의 경우 '동장군' 박은 평균 0.8%, '조생토좌' 호박은 0.5%로 기존의 무건열처리 '동장군' 박 2% 및 '조생토좌' 호박 4%에 비해 상당히 낮아졌음을 확인할 수 있었다. 하지만 프라이밍 비율이 증가함에 따라 종자 내·외부의 수분함량 모두 크게 상승하였다. 건열처리 후 프라이밍 시 두 작물 모두 건열처리 후 프라이밍 시키는 경우가 무건열종자를 사용하여 프라이밍 하는 것보다 수분함량이 다소 낮게 나와 건열처리에 의해 종자의 수분흡수능이 영향을 받았음을 알 수 있었다. 그러나 프라이밍 비율을 10:1:6으로 했을 때 배 및 자엽부분의 수분함량은 건열처리 유무 및 상한온도에 따른 차이가 매우 적어졌다.

종자를 프라이밍 처리 후 증류수에 25℃에서 24 시간 동안 침종한 후 나온 침출수의 전기전도도를 측정할 결과, '동장군' 박과 '조생토좌' 호박 모두에서 프라이밍 처리하지 않은 종자에 비해 프라이밍 시 전기전도도가 100 μ S/cm 이상 감소하였으며, 전기전도도는 프라이밍 수분비율이 증가함에 따라 점차 더 감소하는 것을 볼 수 있었다. 건열처리 유무에 따른 차이는 '동장군' 박에 비해 '조생토좌' 호박에서 약간 나타나기도 하였지만 그 폭이 오차범위를 벗어나지 않았다. 전체적으로 '동장군' 박에 비해 '조생토좌' 호박의 전기전도도가 높게 나타난 것은 종자의 크기가 2배 정도 차이가 나기 때문인 것으로 사료되었다.

상기 결과를 종합해 보면 박 및 호박 종자의 건열처리 반응성은 종피가 두터운 박에 비해 얇은 종피를 가진 호박이 더 크게 피해를 받으며, 건열처리 직후 피해증상도 심하게 나타날 수 있음을 알 수 있었다. 따라서 박과채소 종자의 건열처리 시 건열처리 직후 종자를 파종하는 것은 바람직하지 않으며, 프라이밍 처리에 의해 다소 극복되기는 하지만, 그 향상정도가 만족할 만큼 크지는 않아 작물별, 품종별, 건열처리의 상한온도와 처리일수, 건열처리 후 후처리 방법 및 기간 등 그 방법을 보다 세분화한 연구가 요구되고 있다.

(8) 광질별 프라이밍 후 다양한 발아온도 조건에 따른 반응성 검정

건열처리된 종자는 무처리 종자에 비해 건열피해를 받아서 종자 내의 효소 활력이라든지 생리대사과정에 변화를 받을 수 있다. 이것은 직접, 간접으로 종자활력에도 영향을 미칠 수 있으며, 이러한 영향에 의해 무처리 종자에 비해 발아적은 및 발아가능범위 등이 변화될 수 있다. 따라서 본 연구에서는 변화된 발아적은 및 다양한 발아온도에 따른 프라이밍 효과를 비교하고자 여러 단계의 온도 설정이 가능한 다운도발아상을 이용하여 파종온도 20℃, 25℃, 30℃에서 실험하였다. 공시재료로는 '신화창조' 박을 사용하였으며, 78℃로 건열처리 직후의 종자와 무처리 종자, 또한 Micro-Cel E, 10:1:5 비율로 3일간 백색광, 적색, 청색 및 암흑 하에서 프라이밍 처리된 종자를 사용하였다.

<표 1-30>은 종자의 발아반응성을 나타낸 것이다. 최종발아율은 건열처리유무, 발아온도, 프라이밍 및 광질 등의 조건에 상관없이 96% 이상으로 매우 양호하게 나타났다. 그러나 MGT와 T₅₀은 발아온도가 낮을수록 불량해지는 것을 관찰할 수 있었으며, 건열처리 종자에서 그 현상이 더욱 뚜렷이 나타났다. 프라이밍 처리를 한 경우 MGT와 T₅₀이 무처리구에 비해 1일 이상 빨라져 프라이밍 처리에 의한 발아세 향상 및 발아기간 단축 효과가 확실히 관찰되었고 이러한 효과는 발아온도가 저온일수록 더욱

두드러졌다. 프라이밍 시 광질별 차이는 크게 나타나지 않았으나, 발아온도 25℃ 건열처리구의 경우 암흑조건에서의 T₅₀은 타 광질에 비해 다소 낮게 조사되었다.

<그림 1-30>은 파종 4일 후 및 7일 후 종자의 발아정도를 관찰한 것이다. 발아온도가 30℃로 올라갈수록 발아가 빠르게 진행되지만, 20℃에서는 다소 느렸는데, 건열처리구에서 이러한 경향이 더 크게 나타났다. 무처리종자와 비교해 프라이밍에 의한 발아향상 효과는 잘 나타났으나 프라이밍 시 광질별 차이는 크게 나타나지 않았다. 다만 건열처리된 종자로 20℃에서 파종한 경우 파종 4일 후까지는 청색광에서 유근 출현이 다소 빠르게 나타났으나, 시일이 경과함에 따라 이러한 광질별 차이는 상쇄되었다.

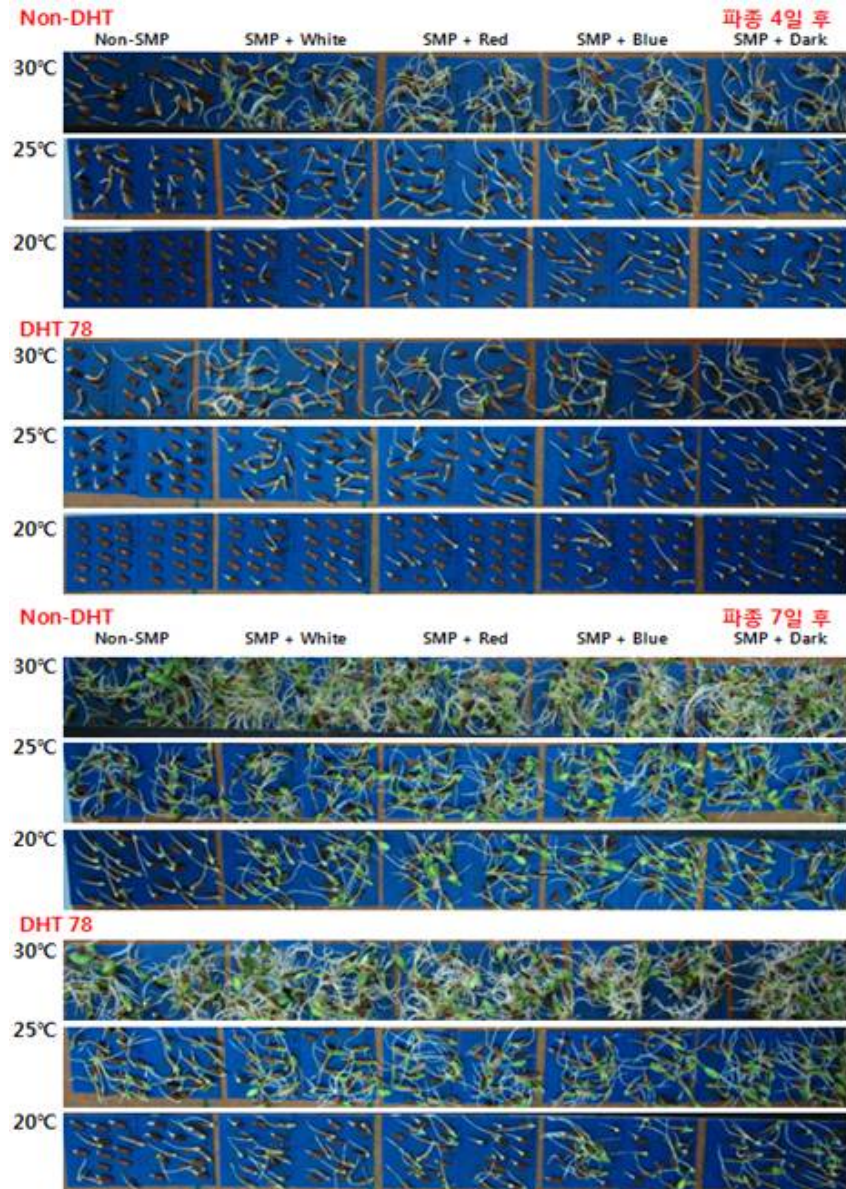
<표 1-31>은 파종 7일 후 유묘의 생육정도를 총 6등급으로 나누어 조사한 것이다. 등급은 <그림 1-31>과 같이 5: 자엽전개 및 하배축 3cm 이상, 4: 자엽출현 및 하배축 3cm 미만, 3: 자엽 및 하배축 출현, 2: 종피 내 자엽만 출현, 1: 발아, 0: 미발아로 구분하였다. 등급별 구성비를 보면, 발아온도가 30℃로 높을수록 5등급의 유묘가 무건열 종자에서는 평균 40%, 건열처리종자에서도 26% 이상 관찰되었으나, 발아온도가 20℃인 경우 무건열 종자는 대부분 0등급인 발아 또는 1등급인 종피 내 자엽만 출현한 정도였고, 특히 건열처리구의 경우 발아온도가 20℃에서는 파종 7일이 경과하였음에도 무처리 종자는 93%, 프라이밍 처리 종자도 70% 이상 0등급에 머물렀다. 프라이밍 시 광질별 반응성은 일정한 경향을 보이지 않았다.

<표 1-30> 건열처리된 ‘신화창조’ 박 종자의 광질별 프라이밍 후 다양한 발아온도에서의 발아반응성 검정(파종 7일 후)

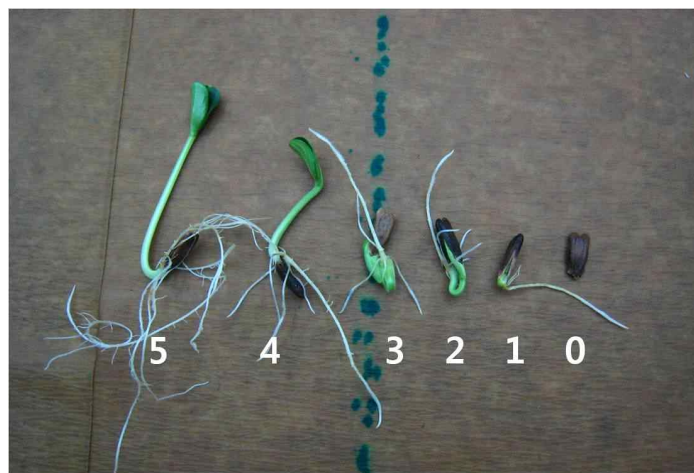
처리	발아율 (%)		MGT		T ₅₀	
	무건열	DHT 78℃	무건열	DHT 78℃	무건열	DHT 78℃
20℃						
무처리	100.00	93.33	4.80	5.27	4.37	4.90
White	100.00	93.33	2.37	3.43	1.72	2.88
Red	100.00	96.67	2.27	3.92	1.67	3.19
Blue	96.67	100.00	2.18	3.40	1.67	2.58
Dark	96.67	96.67	2.31	3.38	1.67	3.00
25℃						
무처리	100.00	96.67	2.93	3.77	2.15	3.33
White	93.33	90.00	1.79	2.22	1.41	1.61
Red	96.67	100.00	1.76	2.73	1.33	1.78
Blue	100.00	93.33	1.77	2.68	1.35	1.84
Dark	100.00	96.67	1.90	2.75	1.44	2.03
30℃						
무처리	96.67	96.67	2.79	3.93	2.02	3.12
White	100.00	100.00	1.53	2.00	1.06	1.43
Red	100.00	96.67	1.47	2.17	0.95	1.54
Blue	100.00	96.67	1.47	2.22	0.95	1.69
Dark	100.00	100.00	1.60	2.03	1.16	1.52

<표 1-31> 건열처리된 ‘신화창조’ 박 종자의 프라이밍 기간 중 광질조사 후 다양한 발아온도에서의 상대적 유묘생육 검정

처리	파종 7일 후 유묘의 상대적 차이 (%)						생체중 (g)
	자엽전개 및 하배축 3cm 이상	자엽출현 및 하배축 3cm 미만	자엽 및 하배축 출현	종피 내 자엽만 출현	발아	미발아	
무건열							
20℃							
무처리	0.00	0.00	0.00	0.00	96.67	3.33	1.07
White	0.00	16.67	3.33	26.67	53.33	0.00	1.02
Red	0.00	20.00	3.33	30.00	46.67	0.00	1.07
Blue	0.00	13.33	23.33	30.00	30.00	3.33	1.14
Dark	0.00	0.00	16.67	36.67	43.33	3.33	1.02
25℃							
무처리	0.00	13.33	6.67	26.67	53.33	0.00	1.11
White	0.00	10.00	33.33	20.00	30.00	6.67	1.18
Red	6.67	20.00	23.33	36.67	13.33	0.00	1.05
Blue	3.33	33.33	33.33	20.00	10.00	0.00	1.17
Dark	0.00	20.00	33.33	20.00	26.67	0.00	1.11
30℃							
무처리	23.33	10.00	10.00	3.33	50.00	3.33	1.30
White	53.33	20.00	16.67	10.00	0.00	0.00	1.43
Red	50.00	40.00	10.00	0.00	0.00	0.00	1.46
Blue	33.33	33.33	33.33	0.00	0.00	0.00	1.25
Dark	43.33	33.33	23.33	0.00	0.00	0.00	1.48
DHT 78℃							
20℃							
무처리	0.00	0.00	0.00	0.00	93.33	6.67	0.92
White	0.00	0.00	0.00	6.67	93.33	0.00	0.88
Red	0.00	0.00	0.00	6.67	86.67	6.67	0.89
Blue	0.00	6.67	6.67	13.33	70.00	3.33	0.95
Dark	0.00	0.00	13.33	10.00	76.67	0.00	1.12
25℃							
무처리	0.00	0.00	6.67	23.33	70.00	0.00	1.16
White	0.00	16.67	16.67	10.00	50.00	6.67	0.99
Red	0.00	10.00	23.33	6.67	53.33	6.67	1.05
Blue	0.00	10.00	13.33	10.00	66.67	0.00	1.00
Dark	0.00	10.00	36.67	13.33	40.00	0.00	1.14
30℃							
무처리	0.00	23.33	40.00	30.00	0.00	6.67	1.33
White	36.67	26.67	30.00	6.67	0.00	0.00	1.41
Red	33.33	23.33	36.67	6.67	0.00	0.00	1.30
Blue	23.33	10.00	63.33	3.33	0.00	0.00	1.08
Dark	40.00	33.33	26.67	0.00	0.00	0.00	1.33



<그림 1-30> 건열처리된 '신화창조' 박 종자의 프라이밍 시 파종 4일 및 7일 후 광질 별, 파종온도별 종자발아 및 유묘생육 정도



<그림 1-31> 파종 7일 후 등급별 유묘생육정도 판별 기준 (5: 자엽전개 및 하배축 3cm 이상, 4: 자엽출현 및 하배축 3cm 미만, 3: 자엽 및 하배축 출현, 2: 종피 내 자엽만 출현, 1: 발아, 0: 미발아)

(9) 박과 호박 종자의 저온흡습저장 시 LED 조명이 종자발아, 유묘출현 및 유묘소질에 미치는 영향

(가) 박 종자의 저온흡습저장 시 LED 조명이 종자발아, 유묘출현 및 유묘소질에 미치는 영향

임목류나 화훼류 종자 중에서 종피가 두꺼워 수분흡수가 어려운 경우, 종자를 모래와 같이 수분을 함유하고 통기가 용이한 배지사이에 종자를 넣고 수분을 공급한 뒤, 발아하지 않도록 저온에서 일정기간 저장한 뒤, 파종하여 발아율을 증가시키는 저온흡습저장법을 많이 이용한다. 3배체 수박과 같은 박과 채소종자의 경우에도 외종피의 두께가 다른 채소종자에 비하여 두꺼워 종자의 발아가 쉽지 않다. 박대목 종자의 경우 종피가 두꺼워도 종피의 조직이 치밀하지 않아 수분흡수에 큰 지장은 없으나 박과채소종자에의 저온흡습저장 적용 가능성을 검토하고, 저온흡습저장시 LED 조명이 종자 발아에 미치는 영향을 알아보하고자 다음과 같은 실험을 수행하였다.

공시재료는 상한온도 72℃와 78℃에서 개선건열처리된 ‘동장군’ 박 종자를 사용하였으며, 소형 투명 플라스틱 박스에 빛이 투과할 수 있는 얇은 종이를 넣고 captan 0.1% 증류수를 공급한 뒤, 종자를 감싸 넣어 2주, 3주간 8℃에서 저온흡습저장하였다. 광질조사처리는 백색광, 청색광, 적색광, 그리고 암흑 상태에서 72 시간 동안 8℃ LED 성장상에서 실시하였다. 발아검정은 발아전용용지를 이용하여 각 처리당 10립 3반복 파종하여 2주 동안 검정조사하였다.

‘동장군’ 박 종자의 저온흡습저장 기간에 따른 발아율은 저온흡습저장하지 않은 대조구에 비하여 상당히 빠른 발아세를 보였는데, 저장기간이 늘어날수록 발아율이 다소 감소하는 경향을 보였다. 건열처리 상한온도에 따라서는 72℃ 상한온도 처리구의 발아율이 다른 처리구보다 높게 나타났다. 저온흡습저장시 광질에 따른 발아율은 백색, 청색, 적색, 암흑 순으로 발아율이 높았다<표 1-32, 1-33, 1-34>.

상기의 결과를 종합하여 보면, ‘동장군’ 박 종자의 저온흡습저장을 통하여 발아세를 향상시킬 수 있으나, 저장기간을 늘릴수록 최종발아율이 감소하는 경향을 보이므로 주의해야 할 것으로 판단되었다. 그리고 저온흡습저장도 앞서 진행한 SMP 실험과 동일하게 광처리를 함으로써 종자의 발아능을 향상시킬 수 있음을 확인하였는데, 백색, 청색, 적색 순으로 광처리의 효과가 좋았다.

<표 1-32> 저온흡습저장기간에 따른 ‘동장군’ 박 종자의 발아(건열처리, 광질처리 측정치 평균값)(Pleated paper를 이용한 실내 실험임)

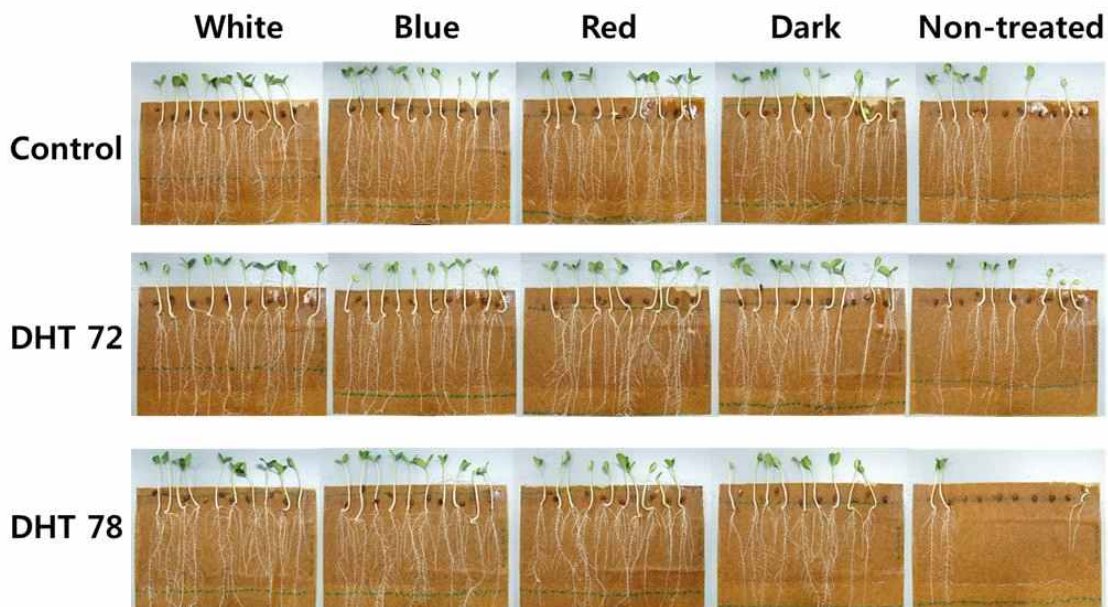
저장기간	발아율 (%)		평균발아 소요일수	T ₅₀
	파종 3일 후	파종 7일 후		
2주	90.83	99.17	2.97	2.42
3주	86.39	96.67	3.15	2.58
대조구	12.22	58.33	4.84	4.28
평균	63.15	84.72	3.65	3.09

<표 1-33> 건열처리에 따른 ‘동장군’ 박 종자의 2주 저온흡습저장 발아검정 결과(광질처리 측정치 평균값)

저장	건열처리 상한온도	발아율 (%)		평균발아 소요일수	T ₅₀
		파종 3일 후	파종 7일 후		
저온흡습	무건열	96.67	100.00	2.92	2.40
	72℃	90.83	99.17	3.08	2.54
	78℃	85.00	98.33	2.92	2.31
	평균	90.83	99.17	2.97	2.42
무처리	무건열	23.33	66.67	4.13	3.39
	72℃	10.00	65.00	5.07	4.56
	78℃	3.33	43.33	5.33	4.89
	평균	12.22	58.33	4.84	4.28
총평균		48.43	75.42	3.95	3.37

<표 1-34> 광질에 따른 ‘동장군’ 박 종자의 2주 저온흡습저장 발아검정 결과(건열처리 측정치 평균값)

광질	발아율 (%)		평균발아 소요일수	T ₅₀
	파종 3일 후	파종 7일 후		
백색	98.89	100.00	2.69	2.17
청색	96.67	100.00	2.88	2.37
적색	94.44	100.00	2.98	2.44
암흑	73.33	96.67	3.34	2.69
대조구	12.22	58.33	4.84	4.28
평균	75.11	91.00	3.35	2.79



<그림 1-32> 2주 저온흡습저장시 LED 광질에 따른 발아율의 변화(파종 14일 후)

(나) 박과 호박 종자의 흡습처리 시 LED 조명이 묘 출현에 미치는 영향

상기 연구에서는 흡습처리 시 LED 조사처리는 2주, 3주간 저장하다가 저장처리가 끝나기 전 72시간 동안 처리하였는데, 흡습저장기간이 박과채소종자에는 다소 기간이 길어 적합하지 않았다. 따라서 흡습처리기간과 LED 광질 조사 기간을 동일하게 1주일로 설정하여, 박과 호박 종자의 묘 출현에 미치는 영향을 살펴보았다.

공시재료로 ‘동장군’ 박 종자와, ‘조생토좌’ 호박을 사용하였으며, 무처리종자와 함께, 표준건열처리 [35℃(24시간)-50℃(24시간)-75℃(24시간)]된 종자를 준비하여, 상기 실험과 거의 동일하게 투명 플라스틱 박스에 whatman 1 filter paper 2매를 깔아 종자를 고르게 배치한 뒤, 얇아서 빛의 투과가 용이한 kimwipes paper 1매를 종자 위에 덮고 0.2% captan 증류수 20mL을 부어서 충분히 적신 뒤, 5℃로 설정된 원예생명공학온실 흡습처리실에서 1주일간 LED 광질 조사처리를 하였다. 흡습저장처리가 끝난 후에는 72공 트레이에 종자의 발아공의 기준으로 각각 상향, 하향, 수평 파종하였다.

LED 광원장치는 ㈜다인바이오에서 연구용으로 제작된 red, blue LED를 사용하였으며, 추가로 green LED도 사용하여, 종자샘플과의 거리가 10cm를 유지하도록 설치하였다. 그리고 백색광 처리는 일반 형광등을 이용하였고, 암처리는 플라스틱박스를 알루미늄호일로 감싸서 빛을 차단한 뒤에 같은 장소에 두어 처리하였다.

이 실험은 총 4차에 걸쳐 진행되었는데, 1차 실험에서는 LED 광질처리간 샘플의 온도가 다른 처리구에 비하여 4~5℃ 상승하여 발아세에 영향을 미쳤고, 박을 제외한 신토좌로만 진행한 2차 실험에서는 파종시의 문제로 불규칙한 결과를 얻었으며, 3차에서는 기상악화로 온실의 온도가 낮아져 출현일수가 지나치게 상승하여 모두 좋지 않은 결과를 얻었기에, 1차 실험의 결과와 4차 실험의 결과만 아래와 같이 나열하였다.

1차 실험에서 흡습저장처리 중 건열처리 유무에 따른 묘 출현율은 ‘동장군’ 박과 ‘조생토좌’ 호박 모두 건열처리구에 비하여 무처리구의 묘 출현율, 평균출현일수, 그리고 T₅₀의 값이 높게 나타났다. 출현묘중 비정상묘의 비율은 ‘조생토좌’ 호박 무처리구가 45.08%로 가장 높게 나타났다. 그리고 흡습저장처리 중 LED 광질 조사에 따른 묘 출현율은 ‘동장군’ 박은 청색광에서 ‘조생토좌’ 호박은 적색광에서 묘 출현율과 발아세가 높고, 평균출현일수도 짧은 것으로 나타났는데, ‘동장군’ 박에서 출현묘 중 비정상묘의 비율이 23.07%로 다소 높게 나타났다. 파종방향에 따른 묘 출현율은 ‘동장군’ 박과 ‘조생토좌’ 호박 모두 상향파종한 것이 높았으며, 비정상묘는 전혀 나타나지 않았으나, 하향파종한 경우, ‘동장군’ 박에서는 77.18%, ‘조생토좌’ 호박에서는 21.92%로 상당히 높은 비정상묘율을 나타냈다.

4차 실험에서 흡습저장처리 중 건열처리 유무에 따른 묘 출현율은 무처리구가 90.00%인 것에 비하여 건열처리구가 70.28%로 약 20% 정도의 묘 출현율 감소를 보였고, 평균발아소요일수와 T₅₀, 그리고 출현묘 중 비정상묘의 비율이 증가하였다.

흡습저장처리 중 광질조사에 따른 묘 출현율을 살펴보면, 적색광, 무처리, 백색광, 청색광, 녹색광, 암처리 순으로 최종 출현율이 높게 나타났고, 평균출현소요일수는 청색광, 녹색광, 적색광, 무처리, 암처리, 백색광 순으로, T₅₀은 녹색광, 청색광, 적색광, 무처리, 백색광, 암처리 순으로 짧았다. 출현묘 중 비정상묘의 비율은 청색광 암처리, 백색광, 적색광, 녹색광, 무처리 순으로 높게 나타났다.

파종방향에 따른 묘 출현은 수평, 상향, 하향 순으로 묘 출현율이 높고 평균발아소요일수와 T₅₀이 작았다. 또한, 출현묘 중 비정상묘의 비율은 수평, 상향, 하향 순으로 높게 나타났는데 이는 ‘조생토좌’ 호박의 특성상 비정상묘의 출현빈도가 높고 확률이 제각각이어서 조사자가 비정상묘의 구별시 다소 혼동

이 있었을 것으로 판단되었다.

상기의 결과를 종합하여 보면, 앞의 실험결과와 유사하게 흡습저온저장처리 기간중 광처리를 함으로써 종자의 발아능을 향상시킬 수 있음을 재확인 할 수 있었다.

■ 특수목적 및 연구용 (실험실, 온실, 실내보광 등), 40W용

품 목 (다인 고휘도 LED)	파장 (nm)	PPFD값 (100mm 거리)	Flux (unit:lm or mw)	표준발광면적 (50cm 높이 설치기준)	용도 및 기능
Red (적색)	630	340umol/m ² .s	3,300(lm)	1m ²	광합성 촉진, 발아 조절, 개화 조절, 엽면적 확대, 생육 촉진, 과실의 당도 향상, 절화수명 연장
Red660 (적색)	660	220umol/m ² .s	200(lm)	3m ²	광합성 촉진, 발아 조절, 개화 조절, 엽면적 확대, 생육 촉진, 과실의 당도 향상, 절화수명 연장
Blue (청색)	460	160umol/m ² .s	8,000(mw)	1m ²	출엽속도 조절, 광합성 촉진, 형태형성 조절, 웃자람 방지, 굴광성, 버섯류 자실체 유도, 착색
Red+Blue (혼합광)	R:630 B:460	290umol/m ² .s	2,700(lm)	1m ²	태양광 대체, 건실한 식물 성장
Green (녹색)	530	140umol/m ² .s	3,300(lm)	1m ²	병해충 방제
Yellow (황색)	590	120umol/m ² .s	2,400(lm)	1m ²	해충 방제
White (흰색)	6500K	340umol/m ² .s	4,500(lm)	1m ²	일반 조명
F-Red (근적외선)	740	N/A	3,600(mw)	1m ²	개화 조절, 생육 억제
n-UV (근자외선)	405	N/A	2,000(mw)	N/A	생리활성물질 유도, 웃자람 방지, 착색

- 480(W) × 80(D) × 20(H)mm, 220V / 40W (근자외선 : 260(W) × 80(D) × 30(H)mm, 220V / 10W)
- 3W 고휘도 LED 소자를 장착하여 충분한 광량을 내도록 설계. (PPFD값 참조)
- 콤팩트한 사이즈 (등길이 46.5cm)로 소형 Incubator에서부터 대형 온실까지 설치 용이.
- 스위치 On/Off 기능 탑재 (혼합광의 경우 별도의 적색, 청색 및 혼합광 선택 사용)
- 정밀한 방열설계 및 정전류 방지 구동회로를 탑재하여 사용 기간에 따른 광도 저하가 없고, 안정적인 조도 유지.

<그림 1-33> 연구에 사용된 LED 광원장치 설명(출처: ㈜다인바이오)

<표 1-35> ‘동장군’ 박과 ‘조생토좌’ 호박 종자의 흡습저온저장 시 건열처리에 따른 묘 출현 (1차: 2011.11.08., 4차: 2012.03.08)(광질처리구, 파종방향 처리구를 모두 포함한 결과값)

품종	처리	출현율(%)		평균출현 소요일수	T ₅₀	비정상묘율(%) (비정상묘/출현묘*100)
		파종 7일후	파종 14일후			
동장군 박	건열	2.08	45.49	10.53	9.84	29.48
	무처리	13.19	75.00	9.20	8.50	29.28
조생토좌 호박 (1차)	건열	43.06	82.64	8.01	7.33	28.48
	무처리	84.03	91.67	6.12	5.50	45.08
조생토좌 호박 (4차)	건열	29.17	70.28	8.35	7.64	58.92
	무처리	59.17	90.00	7.54	6.78	36.33

<표 1-36> ‘동장군’ 박과 ‘조생토좌’ 호박 종자의 흡습저온저장 시 LED 조사에 따른 묘 출현
(1차: 2011.11.08., 4차: 2012.03.08)

품종	처리	출현율(%)		평균출현 소요일수	T ₅₀	비정상묘율(%) (비정상묘/출현묘*100)
		파종 7일후	파종 14일후			
동장군 박	백색광	0.00	43.75	10.72	9.95	0.00
	적색광	8.33	71.53	9.52	8.83	18.53
	청색광	21.53	88.19	8.67	8.12	23.07
	암처리	0.69	37.50	10.60	9.80	18.53
	무처리	0.00	67.36	11.07	10.59	22.23
조생토좌 호박 (1차)	백색광	43.75	79.86	8.25	7.69	9.83
	적색광	84.03	96.53	6.08	5.43	6.93
	청색광	79.86	93.06	6.23	5.56	4.67
	암처리	46.53	79.17	7.70	6.99	6.63
	무처리	20.14	86.81	8.82	8.15	8.63
조생토좌 호박 (4차)	백색광	42.36	84.03	8.28	7.51	48.92
	적색광	52.78	88.89	7.78	7.07	39.57
	청색광	45.14	81.25	7.68	7.03	56.96
	녹색광	45.83	74.31	7.77	6.89	39.18
	암처리	34.72	72.22	8.21	7.54	53.49
	무처리	36.11	88.19	8.24	7.47	24.02

<표 1-37> ‘동장군’ 박과 ‘조생토좌’ 호박 종자의 흡습저온저장 시 파종방향에 따른 묘 출현
(1차: 2011.11.08., 4차: 2012.03.08)

품종	처리	출현율(%)		평균출현 소요일수	T ₅₀	비정상묘율(%) (비정상묘/출현묘*100)
		파종 7일후	파종 14일후			
동장군 박	상향	5.42	74.58	9.87	9.23	0.00
	하향	0.83	41.25	10.82	10.11	77.18
	수평	12.08	69.17	9.67	9.05	1.12
조생토좌 호박 (1차)	상향	62.92	89.17	7.19	6.48	0.00
	하향	45.83	87.08	7.79	7.16	21.92
	수평	55.83	85.00	7.27	6.65	3.74
조생토좌 호박 (4차)	상향	52.92	84.58	7.48	6.74	50.17
	하향	17.08	67.92	9.20	8.43	44.19
	수평	62.50	87.92	7.15	6.45	50.70



<그림 1-34> '조생토좌' 호박의 흡습저온저장 시 LED 광질 조사가 묘 출현에 미치는 영향(4차, 2012.03.08.)

다. 건열처리 후 장기저장된 박 대목종자의 종자활력검정

(1) 건열처리 후 장기저장된 'Power King' 박 대목종자의 발아 및 묘 출현검정

건열처리는 고온 건조한 상태에 종자를 노출시킴으로써 열에 약한 대부분의 종자전염성병균을 불활성화 시키는 종자처리기술로서 종자에 큰 스트레스를 주게 되어 체계적인 건열처리가 되지 않으면 심한 건열피해를 입게 된다. 따라서 이를 극복하기 위한 방법으로 수많은 방법들이 연구되어 지고 있는데, 그 중에서 건열처리된 종자를 일반적인 실내조건에서 저장하면서 종자의 활력을 되살리는 후처리방법은 다른 특별한 처리를 하지 않으면서도 그 효과가 매우 뛰어나다. 하지만, 시일이 많이 걸리고, 종자특성과 맞지 않는 조건에서 후처리를 하게 되면 오히려 피해를 보는 경우가 발생할 수 있다. 한편, 박과채소종자의 경우 종피가 두껍고 저장성이 뛰어난 장명종자이므로 알맞은 저장조건하에서는 10년 이상 저장이 가능하다. 그러나 박과채소종자에서 문제시 되는 바이러스 병균 또한 수명이 길기 때문에 저장 전 또는 저장 후 건열처리와 같은 종자전염성 불활성화 처리가 필수적인데, 이전의 연구결과에 의하면 건열처리한 경우 발아율이 현저히 감소한다고 알려져 있다. 장기 저장이 용이한 박과채소종자의 이점을 살리기 위해서는 이에 대한 연구가 필요할 것으로 판단되어 건열처리 후 장기저장된 박 대목종자의 발아 및 출현 검정을 아래와 같이 실시하였다.

35℃(24시간)-50℃(24시간)-75℃(72시간) 건열처리된 'Power King' 종자를 2 dL와 1 L 용량의 알루미늄캔과 알루미늄팩 용기를 사용하여 2002년 5월 31일 밀봉 포장하였고<그림 1-35>, 경희대학교 원예생명공학온실 종자보관실(온도 5~8℃)에 저장하였다가 2010년 12월 27일 본 실험을 위하여 사용하였다. 개봉 즉시 종자수분측정기(FD-720, (주)한국케트엔지니어링)를 이용하여 30립 3반복으로 종자수분함량을 측정하였고, 측정이 끝난 후 바로 발아검정과 출현검정을 실시하였다. 발아검정은 발아전용 용지에 각 처리당 10립씩 3반복 파종하여 25℃ 생장상에서 발아시켰고, 출현검정은 50공 트레이에 바로 커 상토를 채운 뒤 각 처리당 50립씩 상향, 하향, 수평 방향으로 파종하여 원예생명공학온실 육묘실에 배치하여 조사하였다.

종자수분함량을 측정한 결과 무처리 종자는 6.86%에서 6.97%의 종자수분함량을 보였던 반면, 건열처리 종자는 5.00%에서 5.29%로 건열처리되어서 밀봉된 종자가 약 1.5% 이상 종자수분함량이 낮았다.

최종발아율은 알루미늄 2 dL 캔의 무처리종자를 제외한 대부분의 밀봉처리구가 90% 이상의 높은 발아율을 보였다. 다른 결과에서도 알루미늄 2 dL 캔의 무처리종자가 비정상적으로 낮은 출현율을 보였는데, 공시재료 선정 시 불량한 밀봉상태의 알루미늄캔을 선택했거나, 포장 당시 밀봉환경이나 외부조건이 달랐을 다양한 가능성도 있을 것으로 생각된다.

무처리 종자와 건열처리 종자간의 발아에 있어서 큰 차이는 없었으나 건열처리종자의 발근과 하배축장의 신장이 더 양호한 경향을 보였다. 또한, 알루미늄캔 포장보다 알루미늄팩에 밀봉되었던 종자의 발아생육이 다소 활발한 경향을 보였다.

출현검정에서는 발아검정과 마찬가지로 알루미늄캔보다 알루미늄팩이, 2 dL 포장보다 1 L 포장, 건열처리종자보다 무처리종자가 다소 출현율이 높고 유묘생육이 양호한 경향을 보였다<표 1-38, 1-39>.



<그림 1-35> 2001년 생산되어 2002년에 건열처리하여 9년간 장기저장한 종자도 장상발아를 보임

<표 1-38> 장기저장 박 종자 'Power King' 의 저장용기에 따른 발아검정 결과 (pleated paper를 이용한 실내실험임) (파종일: 2010.12.28.)

종류	크기	처리	종자수분 함량 (%)	발아율 (%)		평균발아 소요일수	T ₅₀	근장 (mm)	하배축장 (mm)	생체중/ 10주 (g)
				파종 4일 후	파종 14일 후					
팩	2 dL	무처리	6.97	90.00	96.67	4.07	3.54	196.55	71.34	10.07
		건열처리	5.00	90.00	93.33	4.30	3.52	199.86	72.81	10.57
	1 L	건열처리	5.14	96.67	96.67	4.00	3.50	212.48	78.38	11.61
	평균	5.70	92.22	95.56	4.12	3.52	202.96	74.18	10.75	
캔	2 dL	무처리	6.86	13.33	86.67	5.29	4.92	133.31	53.81	7.11
		건열처리	5.29	93.33	100.00	4.10	3.54	199.37	72.10	10.82
	1 L	무처리	6.97	86.67	90.00	3.21	2.59	180.22	65.44	9.27
		건열처리	5.25	83.33	93.33	3.54	2.71	195.50	61.21	8.90
	평균	6.10	69.17	92.50	4.04	3.44	177.10	63.14	9.03	

<표 1-39> 장기저장 박 종자 ‘Power King’의 저장용기에 따른 출현검정 결과(온실 육묘상에서의 결과임)
(파종일: 2010.12.29.)

종류	크기	처리	출현율 (%)		평균출현 소요일수	T ₅₀	파종 14일 후			하배 축장 (mm)	자엽크기 (mm)		생체중 /주 (g)
			파종 7일후	파종 14일후			정상	비정상	미출 현		폭	길이	
팩	2 dL	무처리	2.00	88.67	9.45	8.73	56.67	32.00	11.33	62.85	21.66	38.10	1.44
		건열처리	24.00	80.67	8.38	7.76	66.00	14.67	19.33	72.60	24.05	44.38	1.79
	1 L	건열처리	32.67	92.00	8.43	7.72	72.67	19.33	8.00	74.79	27.67	51.44	2.05
		평균	19.56	87.11	8.75	8.07	65.11	22.00	12.89	70.08	24.46	44.64	1.76
캔	2 dL	무처리	0.00	19.33	11.44	10.88	10.00	9.33	80.67	56.25	15.60	28.95	0.91
		건열처리	17.33	86.67	9.07	8.39	60.67	26.00	13.33	66.43	21.61	39.14	1.30
	1 L	무처리	7.33	86.00	9.51	8.63	50.00	36.00	14.00	71.37	23.29	42.32	1.64
		건열처리	10.00	85.33	8.85	8.16	65.33	20.00	14.67	68.60	25.63	47.05	1.79
		평균	11.56	86.00	9.14	8.39	46.50	22.83	30.67	65.66	21.53	39.36	1.41

1차 실험에 이어 장기저장된 ‘Power King’ 박 대목 종자에 대한 종자수분측정 및 묘 출현 검정을 실시하였는데, 이번 실험에서는 개봉 후 후처리 기간에 따른 종자활력의 검정을 위해 5일 후와 22일 후 2차에 걸쳐 파종상에 파종하여 묘 출현 검정을 실시하였다.

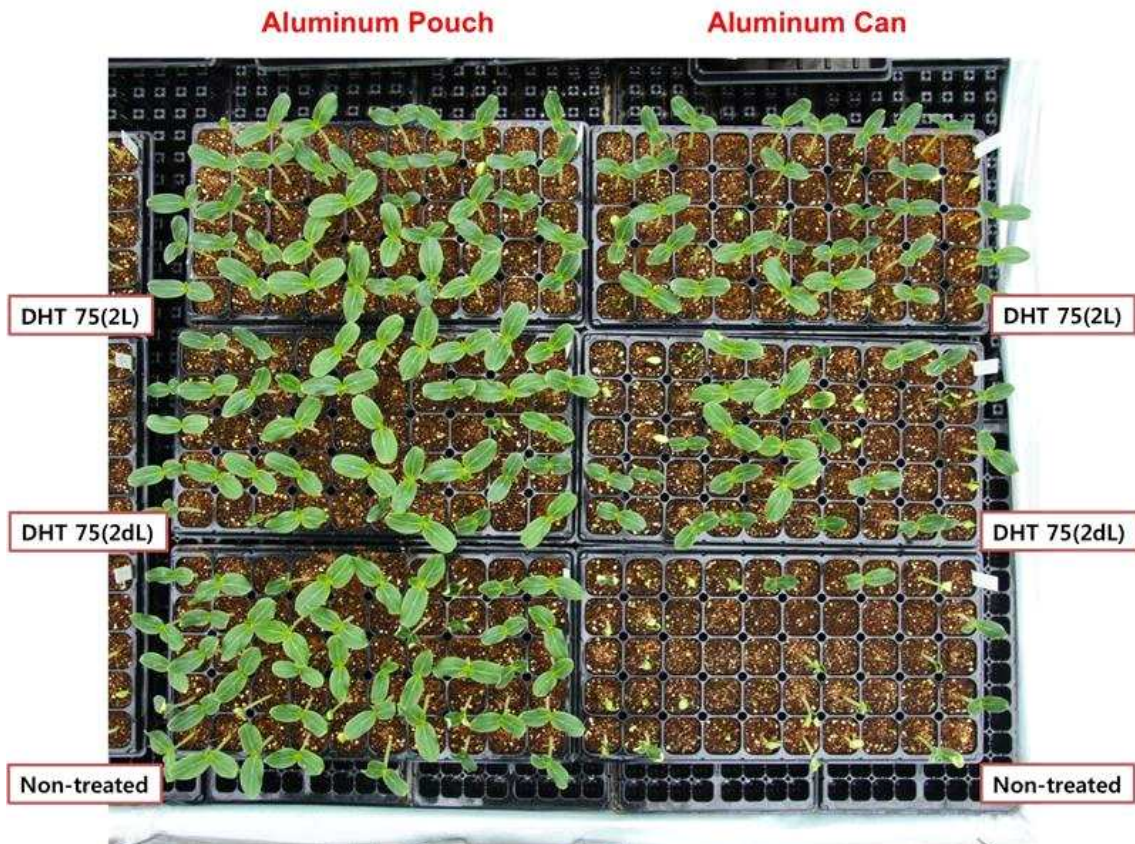
종자수분함량은 1차 실험과 유사하게 전체적으로 캔포장된 종자에서 0.29%에서 0.59% 높은 것으로 나타났는데, 건열처리된 종자에 비해 무처리종자의 종자수분함량이 1.98%에서 2.02% 높은 것으로 나타났다.

출현율은 팩포장한 것이 캔포장한 것에 비하여 높은 편이었고, 팩포장에서는 무처리종자가 건열처리종자보다 높은 출현율을 보였다. 2차 실험에서는 캔포장에서는 개봉 5일 후 파종구의 경우 무처리종자가 건열처리종자에 비해 낮은 출현율을 보였는데, 개봉 22일 후 파종구에서는 건열처리 1 L 포장, 무처리 2 dL포장, 건열처리 2 dL포장 순으로 묘 출현율이 높았다. 이 결과는 2차년도 수행한 실험결과에서 무처리 2 dL 캔포장에서 다른 처리구에 비해 묘 출현율이 심하게 떨어진 것에 비하여 다소 높은 묘 출현율을 보이긴 했으나, 유사한 결과로서 포장 당시 활력이 떨어진 종자를 포장하였을 가능성이 있음을 다시 확인할 수 있었다. 그리고 비정상묘의 출현은 팩포장에 비하여 캔포장에서 더 높은 비율로 나타났다.

이상의 결과를 종합하여 보면, 팩포장이 캔포장에 비하여 묘 출현에 다소 유리한 결과를 보였고, 캔포장에서 소형포장보다는 대형포장용기가 종자활력의 유지에 유리한 결과를 보였으며, 따라서 건열처리된 종자라 할지라도 적합한 환경에서 장기간 저장이 충분하다는 결론을 내릴 수 있었다.

<표 1-40> 장기저장 박 종자 'Power King' 의 저장용기에 따른 묘 출현(2차 파종분)

종류	크기	처리	종자 수분함량 (%)	출현율 (%)		평균 출현 소요 일수	T ₅₀	파종 14일 후			하배축장 (mm)	자엽크기(mm)		생체중/주 (g)
				파종 7일 후	파종 14일 후			정상	비정상	미출현		폭	길이	
개봉 5일 후 파종														
팩	2 dL	무처리	6.70	20.00	90.00	8.60	7.90	84.00	6.00	10.00	78.07	25.47	46.73	1.78
		건열	4.68	10.70	71.30	8.80	8.10	68.67	2.67	28.67	86.07	26.13	48.00	1.94
	1 L	건열	4.72	4.00	78.00	9.10	8.40	74.00	4.00	22.00	79.33	26.40	47.93	2.00
		평균	5.37	11.57	79.77	8.83	8.13	75.56	4.22	20.22	81.16	26.00	47.56	1.90
캔	2 dL	무처리	7.01	0.00	64.70	11.00	10.40	48.67	16.00	35.33	79.73	19.60	34.53	1.30
		건열	5.27	3.30	68.70	10.00	9.10	58.00	10.67	31.33	85.07	25.07	45.40	1.79
	1 L	건열	5.03	6.00	82.00	9.50	8.70	80.00	2.00	18.00	84.73	24.40	45.40	1.73
		평균	5.77	3.10	71.80	10.17	9.40	62.22	9.56	28.22	83.18	23.02	41.78	1.60
개봉 22일 후 파종														
팩	2 dL	무처리	-	12.67	88.67	8.39	7.78	87.33	1.33	11.33	66.87	50.07	28.40	1.86
		건열	-	14.00	67.33	8.14	7.62	62.67	4.67	32.67	68.53	51.93	29.87	2.16
	1 L	건열	-	2.00	84.67	8.84	8.18	79.33	5.33	15.33	62.67	50.80	29.33	1.92
		평균	-	9.56	80.22	8.46	7.86	76.44	3.78	19.78	66.02	50.93	29.20	1.98
캔	2 dL	무처리	-	0.67	68.00	10.28	9.86	56.67	11.33	32.00	44.73	42.20	25.53	1.33
		건열	-	11.33	61.33	8.64	8.13	57.33	4.00	38.67	65.27	51.93	29.27	1.99
	1 L	건열	-	4.00	82.67	8.80	8.14	79.33	3.33	17.33	57.87	49.33	28.93	1.68
		평균	-	5.33	70.67	9.24	8.71	64.44	6.22	29.33	55.96	47.82	27.91	1.67



<그림 1-36> 장기저장된 'Power King' 의 저장용기에 따른 출현검정 결과(개봉 5일 후 파종분)

(2) 장기저장된 종자의 프라이밍 시 광질별 반응성 검정

상기 실험에서 장기저장된 'Power King' 박 종자의 발아검정과 묘 출현 검정을 실시한 것에 이어서 프라이밍 기간중 광질 조사가 종자 발아에 미치는 영향을 알아보려고 아래와 같은 실험을 실시하였다.

프라이밍은 Micro-Cel E를 이용, 10:1:5의 비율로 72 시간 백색, 적색, 청색광 및 암흑 하에서 실시하였으며, 프라이밍 및 발아온도는 25℃를 유지하였다.

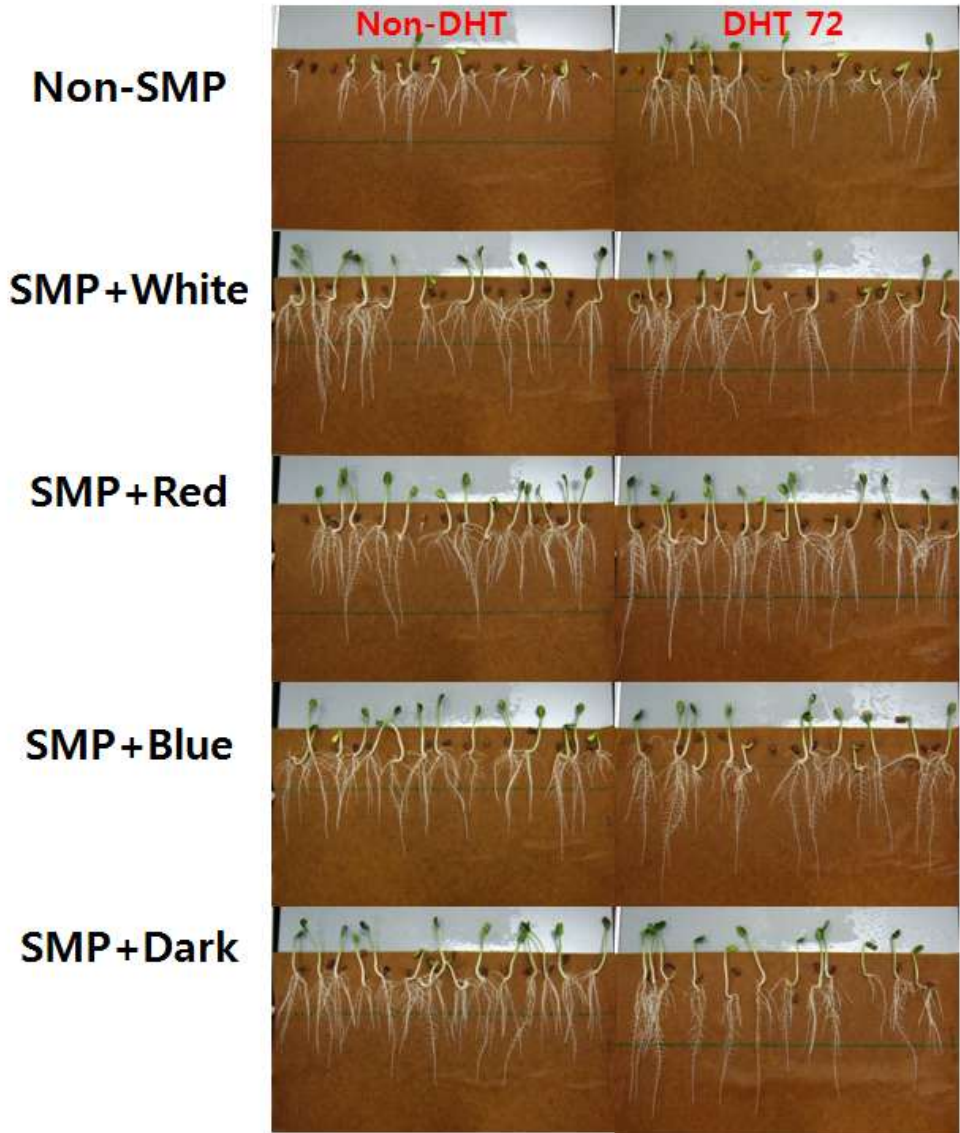
<표 1-41>는 장기저장된 종자의 발아정도를 나타낸 것이다. 무건열처리구의 경우 파종 14일 후 최종 발아율은 평균 92%였고 건열처리구는 87.19%로 조사되었다. 프라이밍 처리에 의해 발아율은 크게 향상되지 않았으나, MGT 및 T₅₀은 평균 1.4일 이상 향상되었다. 프라이밍 시 광질별 차이는 무건열종자의 경우 암흑 보다는 백색 및 적색광이 다소 발아가 빠르게 이루어졌으며, 건열처리구의 경우 청색광에 의해 T₅₀이 약간 느려지는 경향이 있었다. 건열처리에 의한 발아율 저하는 크게 나타나지 않았다.

<그림 1-37>는 파종 7일 후 유효생육정도를 나타낸 것이다. 전체적으로 프라이밍에 의해 빠른 자엽 전개 및 왕성한 뿌리 발육을 관찰할 수 있었다. 건열처리구의 경우 무처리구 대비 유효발육정도가 심하게 저하되지는 않았으나 시일이 지나면서 오염이 나타나는 경우가 다소 있었다.

따라서 종자를 건열처리 후 10년 이상 장기저장 하더라도 적정 방법에 준하여 저장한다면 향후 사용 가능하였으며, 이러한 종자들의 활력이 다소 떨어졌다 하더라도 프라이밍 처리에 의해 발아속도 및 균일성이 다시 향상될 수 있음을 알 수 있었다.

<표 1-41> 장기저장된 'Power King' 박 종자의 프라이밍 기간 중 광질 조사가 종자 발아에 미치는 영향

처리	발아율 (%)		MGT		T ₅₀	
	무건열	DHT 72℃	무건열	DHT 72℃	무건열	DHT 72℃
무처리	88.89	88.89	3.54	3.40	3.10	2.92
White	91.11	86.67	1.48	1.65	1.06	1.19
Red	91.11	93.33	1.49	1.54	1.03	0.88
Blue	95.56	86.67	1.65	1.85	1.13	1.44
Dark	93.33	95.56	1.77	1.73	1.37	1.17
평균	92.00	87.19	1.99	2.03	1.54	1.52



<그림 1-37> 다양한 광질하에서 프라이밍 처리된 장기저장종자 'Power King' 박의 파종 7일 후 유묘생육

라. 신토좌계 호박 24종의 유묘특성 조사

박과채소 대목류 중에서 호박대목의 경우 뿌리의 활력이 참박류에 비해 뛰어나서 흡비력과 흡수력 증강에 따른 과실의 안정적 생산이 가능하며, 다양한 특성의 유전자원이 풍부하여 고품질 박과채소 생산을 위한 대목류 육성에 큰 가능성을 가지고 있다. 그러나 현재까지 개발된 호박대목품종 중 일부에서는 출현단계에서 자엽의 뒤틀림이나 상처, 또는 얼룩등과 같은 증상으로 인하여 이병종자로 의심을 받거나 형태적으로 균일하지 못하여 접목작업간에 애로사항이 되는 등 몇 가지 문제점이 제기되고 있다. 따라서 제2협동연구기관인 농수산대에서 수집한 대목류 박과채소종자에서 특히 문제점이 두드러지고 있는 신토좌 품종류를 중심으로 파종상에 파종하여 유묘특성을 조사하였다.

호박 종자의 특성 상 다른 박과채소종자에 비해 출현이 빠르게 진행되므로, 이번 실험에서는 유리온실 천장의 차광커튼을 쳐놓고, 다소 습하게 관리하여 품종 내에서도 종자상태에 따라 묘 출현의 편차가 크게 나도록 환경을 조절하여 유묘특성이 확연하게 차이가 나도록 설정하였다.

비정상묘의 판단은 <그림 1-38>과 같이 불량종자로 판단될 수 있는 자엽내의 얼룩, 빠른 접목작업에

걸림돌이 될 수 있을 정도의 자엽뒤틀림, 그리고 대목으로의 사용이 불가한 자엽 내 상처의 유무의 크게 3가지 기준으로 분류하여 조사하였다.

24종의 호박 대목류의 파종 14일 후 출현율은 52%에서 100%까지 품종별로 다양한 결과를 보였는데, 대부분의 품종은 80% 이상의 출현율을 보였다. 그 중에서 'RS-333'이나 '다조아토좌', 'T-1골드토좌'(DHT78)의 경우, 파종 14일 후의 출현율은 양호한 편이나 파종 7일 후의 출현율은 다소 낮아 발아세를 뜻하는 T_{50} 의 값이 7일 이상으로 나타났고, 묘의 균일도도 상당히 떨어졌다. 그리고, 대체로 발아세가 낮거나 출현율이 떨어지는 품종에서 묘의 균일도도 떨어지는 경향을 보였는데, 건열처리를 실시한 '조생토좌'와 '뚝심토좌', 그리고 'RS-111', 'RS과워', '활력토좌골드'와 같은 시판종자의 경우 출현율은 높았으나 묘의 균일도는 다소 떨어지는 결과를 보이기도 하였다.

전체 호박품종들의 비정상묘의 평균비율은 31.3%로 상당히 높은 수치를 보였는데, 전체 출현묘에서 '뒤틀림'증세가 14.2%로 가장 높았고, '얼룩' 증세가 12.6%, '상처'가 4.5%로 나타났다.

비정상묘의 비율이 35% 이상인 품종은 'RS-333'을 포함하여 11개 품종이었고, 특히, '홍농신토좌'의 경우 시판종자임에도 불구하고 비정상묘의 비율이 72%에 이르렀다. 반면에 출현율은 98%이상, 비정상묘의 비율 10%이내, 묘균일도가 우수한 품종은 '친구토좌', 'RS과워', 그리고 '오복토좌'였다.

이어서 실험에 사용된 신토좌계 호박 24종 중에서 10종을 선발하여 <그림 1-41>과 같이 TGT에서 다운로드 조건하에서 파종하여 발아시킨 뒤 14일 후에 유묘의 생체중을 조사하였다<표 1-42><그림 1-42>.

그 결과를 살펴보면, '조생토좌'의 경우 2009년 2월 seed lot에서 무처리구에 비하여 건열처리구의 묘생체중이 낮았고, 2009년 2월 seed lot에 비하여 2009년 12월과 2010년 10월 seed lot의 묘생체중이 모든 온도조건에서 높게 나타났다. 그리고 '뚝심토좌'의 경우 무처리 종자가 건열처리된 종자에 비해 묘생체중이 높게 나타났는데, 고온일수록 그 격차가 심했다. 또한 시판종의 경우에는 무처리종자와 비슷한 수준의 묘생체중을 보였다.

그리고 '조생토좌'의 경우, 채종일에 따라 종자의 크기뿐만 아니라 비정상묘의 비율에서도 다소 차이가 났는데, 이는 채종시 lot 분포에 따른 차이로 판단되었다. 또한, 2010년 10월 채종한 '조생토좌'를 <그림 1-43>과 같이 종자의 생김새에 따라 세분하여 파종한 뒤, 출현한 유묘를 살펴보았는데, 같은 때, 같은 장소에서 채종한 종자라 할지라도 종자의 생김새에 따라 비정상묘의 출현에도 크게 영향을 미칠 수 있음을 알 수 있었다.



정상 자엽



뒤틀림



상처



얼룩



기타 비정상묘



기타 비정상묘



기타 비정상묘

↑ 자엽이 상토속에 박힌 채로 출현하지 못하고, 배측 또는 근부가 상토 밖으로 출현함. 상향파종시 종종 나타남

← 자엽의 일부분의 색이 연노란색을 띠는데, 생육 후기에 정상으로 회복되는 경우도 많음.

<그림 1-38> 신토좌계 호박류에서 비정상자엽의 구분

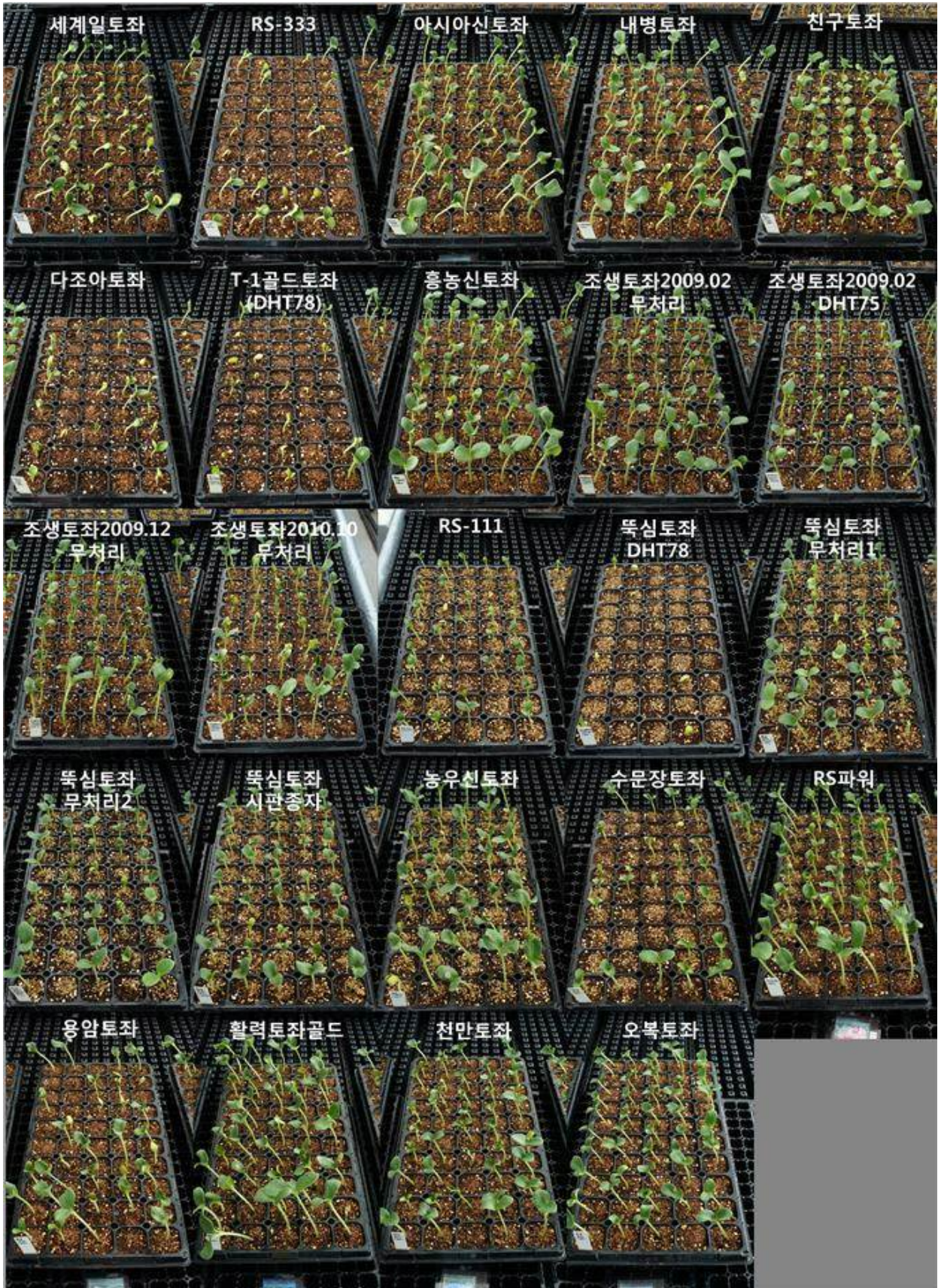


<그림 1-39> 신토좌 24종의 종자사진

(상단좌측부터: 세계일토좌, RS-333, 아시아신토좌, 내병토좌, 친구토좌, 다조아토좌, T-1골드토좌(DHT78), 흥농신토좌, 조생토좌(무처리, 2009.02.), 조생토좌(DHT75), 조생토좌(무처리, 2009.12.), 조생토좌(무처리, 2010.10.), RS-111, 독심토좌(DHT78), 독심토좌(무처리-1), 독심토좌(무처리-2), 독심토좌(시판종), 농우신토좌, 수문장토좌, RS파워, 용암토좌, 활력토좌골드, 천만토좌, 오복토좌)

<표 1-4> 신토좌계 호박 24종의 발아 및 유묘특성

품종(회사)	처리	출현율 (%)		평균 출현 소일 수	T ₅₀	생체중 /주(g)	자엽(mm)		하배축(mm)			비정상묘율(%) (비정상묘 /출현묘*100)									
		파종 7 일 후	파종 14 일 후				길이	폭	길이	지름		총 계	얼 룩	상 처	뒤 틀림						
										자엽아 래	지면위										
세계일토좌(사카타)	시판종자	66	100	7.34	6.75	2.41	efg	47.83	fgh	32.70	hij	118.40	gh	3.97	bc	4.16	cd	24.0	4.0	4.0	16.0
RS-333(삼성)	시판종자	20	78	8.23	7.56	2.18	gh	47.90	efgh	33.83	e-i	106.90	i	3.56	fgh	3.81	i	40.5	8.1	8.1	24.3
아시아신토좌(아시아)	시판종자	88	98	7.00	6.46	2.45	ef	47.23	fghi	33.93	efgh	128.17	de	3.75	de	3.99	efgh	43.8	27.1	2.1	14.6
내병토좌(동부한농)	시판종자	80	96	7.15	6.54	2.40	efg	47.10	ghi	33.83	e-i	134.90	bc	3.70	ef	4.07	def	52.1	31.3	6.3	14.6
친구토좌(제일종묘)	시판종자	94	100	7.00	6.50	2.80	cd	52.70	bc	34.80	defg	120.97	fg	4.09	b	4.42	b	0.0	0.0	0.0	0.0
다조아토좌(제일종묘)	시판종자	24	76	8.55	7.64	1.89	ij	43.97	j	32.07	ij	97.57	jk	3.47	gh	3.83	hi	54.5	18.2	0.0	36.4
T-1골드토좌(세미니스)	DHT78	6	94	8.81	8.14	2.61	de	49.67	def	35.10	cdef	104.33	ij	4.07	b	4.33	bc	32.6	9.3	14.0	9.3
흥농신토좌(흥농)	시판종자	92	100	7.02	6.49	3.01	bc	49.57	defg	36.43	bcd	145.87	a	3.90	cd	4.30	bc	72.0	48.0	12.0	12.0
조생토좌(신젠타)	(2009.02)무처리	92	98	6.65	6.17	2.49	e	45.93	hij	32.43	hij	140.13	abc	3.95	bc	4.20	cd	36.7	20.4	2.0	14.3
조생토좌(신젠타)	(2009.02)DHT75	72	98	7.27	6.62	2.19	gh	44.70	ij	31.10	jk	125.67	ef	3.70	ef	4.03	defg	32.7	12.2	0.0	20.4
조생토좌(신젠타)	(2009.12)무처리	94	100	6.84	6.37	2.75	d	47.20	fghi	32.97	hi	138.00	bc	4.11	b	4.30	bc	42.0	18.0	6.0	18.0
조생토좌(신젠타)	(2010.10)무처리	80	96	7.10	6.54	3.11	b	50.30	de	33.57	e-i	139.93	abc	4.37	a	4.69	a	39.6	10.4	4.2	25.0
RS-111(신젠타)	시판종자	68	100	7.52	6.70	1.35	l	40.57	k	29.73	k	77.90	m	3.09	j	3.24	k	25.0	2.1	2.1	20.8
독심토좌(농우)	DHT78	0	52	9.38	8.43	1.76	ijk	44.94	ij	33.12	ghi	86.94	l	3.46	h	3.87	ghi	20.0	0.0	5.0	15.0
독심토좌(농우)	무처리2	68	98	7.37	6.68	1.86	ij	43.80	j	33.13	ghi	103.67	ij	3.48	gh	3.91	fghi	16.7	0.0	4.2	12.5
독심토좌(농우)	무처리1	72	92	7.26	6.61	1.98	hi	44.47	j	33.47	fghi	103.10	ij	3.62	efg	4.17	cd	23.9	2.2	8.7	13.0
독심토좌(농우)	시판종자	92	92	6.96	6.48	2.22	fg	45.43	hij	35.33	cde	113.90	h	3.67	ef	4.12	de	26.1	8.7	6.5	10.9
농우신토좌(농우)	시판종자	84	98	7.12	6.56	3.17	ab	54.13	ab	37.40	ab	136.10	bc	4.05	bc	4.41	b	44.9	22.4	12.2	10.2
수문장토좌(농우)	시판종자	48	84	7.83	6.85	1.69	jk	40.90	k	33.33	fghi	101.77	ij	3.41	hi	3.76	i	10.3	5.1	0.0	5.1
RS파워(농우)	시판종자	96	100	6.86	6.41	3.35	a	56.00	a	38.03	ab	141.03	ab	4.37	a	4.64	a	8.0	4.0	0.0	4.0
용암토좌(농우)	시판종자	50	88	7.82	6.87	2.63	de	50.50	cd	36.57	bc	127.93	de	3.77	de	4.19	cd	46.3	29.3	2.4	14.6
활력토좌골드(농우)	시판종자	86	98	7.02	6.50	3.16	ab	54.50	ab	38.37	a	133.50	cd	4.02	bc	4.39	b	38.8	20.4	6.1	12.2
천만토좌(농우)	시판종자	86	88	6.75	6.32	1.62	k	40.37	k	32.33	hij	97.87	jk	3.43	h	3.78	i	18.2	0.0	2.3	15.9
오복토좌(농우)	시판종자	94	98	6.82	6.34	1.35	l	38.83	k	30.17	k	91.90	kl	3.27	i	3.43	j	2.0	0.0	0.0	2.0



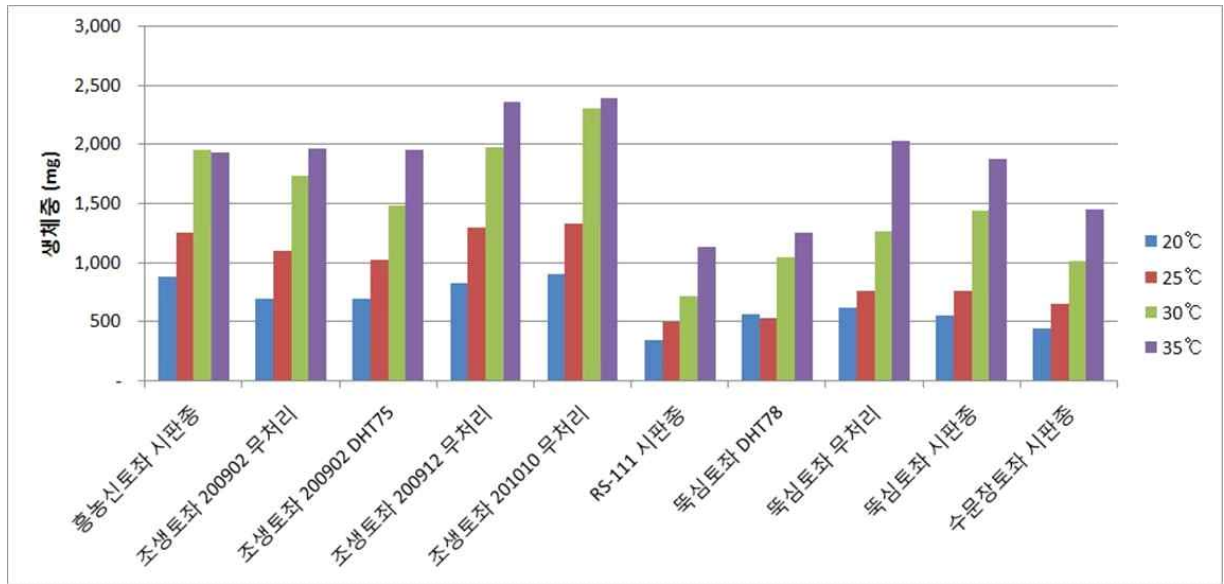
<그림 1-40> 신토좌계 호박 24종의 파종 8일 후 묘 출현 상태



<그림 1-41> 다운도발아상을 이용한 다양한 호박 종자의 다운도 조건 시기별 발아 상태

<표 1-43> 선발된 신토좌계 호박 10종의 다운도 조건하에서 파종 14일 후 유묘 생체중의 변화

품종	처리여부	생체중 (mg)			
		20° C	25° C	30° C	35° C
흥농신토좌(흥농)	시판종자	882	1,253	1,956	1,934
조생토좌(신젠타)	(2009.02)무처리	696	1,100	1,737	1,968
조생토좌(신젠타)	(2009.02)DHT75	695	1,020	1,485	1,949
조생토좌(신젠타)	(2009.12)무처리	825	1,294	1,980	2,355
조생토좌(신젠타)	(2010.10)무처리	906	1,328	2,302	2,388
RS-111(신젠타)	시판종자	348	498	720	1,131
독심토좌(농우)	DHT78	561	529	1,042	1,256
독심토좌(농우)	무처리	620	764	1,261	2,031
독심토좌(농우)	시판종자	551	759	1,440	1,873
수문장토좌(농우)	시판종자	440	652	1,014	1,447



<그림 1-42> 선발된 신토좌계 호박 10종의 다운도 조건하에서 파종 14일 후 유묘 생체중의 변화



<그림 1-43> '조생토좌' 호박의 종자형태에 따른 출현묘 상태

3. 종자전염 바이러스 무독화를 위한 건열처리 이외의 방제기술 개발 연구

종자전염 바이러스의 무독화를 위하여 화학물질처리 또는 건열처리를 많이 이용하고 있으나, 화학물질 처리 시 100% 불활성화가 되지 않는다는 점에 추가하여 폐기물에 의한 환경오염 문제가 심각하고 통상적인 방법으로 건열처리 시 발아율 및 발아세 저하 및 종자수명단축 등과 같은 단점들이 발생할 수 있으므로 이를 보완하기 위한 새로운 방제기술 개발과 확립이 시급하다. 이에 의료, 설비, 환경 분야에서 광범위하게 이용되고 있는 다양한 친환경적인 소독방법들을 종자처리에 도입하여 종자에 미치는 영향과 적용가능성을 검토하기 위하여 시험연구를 실시하였다.

가. 자외선 처리에 따른 묘 출현율 검정

자외선(ultraviolet light ; UV light)은 일반적으로 적외선이나 가시광선과는 달리 단파장의 경우에는 X-ray와 같이 일부 대상물질에 대한 투과성도 있을 뿐더러, 단백질이나 핵산에 최대한으로 흡수되면서 이들을 파괴시키는 능력도 있으므로 각종 식품의 살균에 사용되고 있기도 하다. 자외선은 빛의 파장대에 따라 그 효과가 다소 상이한데, UV-B의 경우 식물의 광합성을 억제하고 호르몬을 분해시키며 DNA에 직접적인 피해를 주며, 지질의 산화를 유발시키며 작물의 수량을 감소시킨다고 알려져 있기도 하지만 식물생장의 효과적인 친환경적 제어와 같은 긍정적인 효과도 널리 인정되고 있다. 파장이 가장 짧고 투과성이 높은 UV-C의 경우 공기, 물질 표면, 물의 살균효과가 있으며 박테리아, 바이러스, 균류, 포자 등과 같은 세균류의 광범위한 살균효과를 가지고 있다. 이러한 짧은 파장의 자외선 살균효과를 종자처리에 적용시킴으로서 건열처리의 단점을 보완할 대안으로 연구될 필요성이 있다. 따라서 UV-A, UV-B, UV-C를 조사하는 조사장치를 <그림 1-44>과 같이 주문 제작하여 ‘동장균’ 박 품종의 종자발아에 미치는 영향을 평가하였다.



<그림 1-44> 자외선 조사 장치(왼쪽부터 UV-B, UV-C 조사장치 그리고 휴대용 UV-A lamp)

자외선 처리는 파장과 조사시간을 달리하여 처리하였으며, 50공 트레이에 바로커 상토를 채운 뒤, 상향, 하향, 수평으로 파종방향을 달리하여 각각 15립씩 파종하였으며, 파종 2주 후와 3주 후에 출현율을 조사하고, 파종 3주 후에 유효소질을 비교 평가하였다.

실험에서 얻어진 주요 결과는 <표 1-44>, <표 1-45>와 같다.

자외선 처리에 따른 묘 출현율은 <표 1-44>에서 보는 바와 같이, 자외선의 종류·조사시간의 변화에 따라 일정한 경향을 보이지 않았으나, 대조구인 무처리구에 비하여 파종 2주 후와 3주 후의 출현율이 대체적으로 높게 나타났다. 파종 2주 후의 묘 출현율은 UV 처리 종류 및 기간에 따른 영향은 미미하고, 파종 방향에 따른 차이만 두드러지게 관찰되었다. 파종 3주 후의 묘 출현율에서도 UV 처리 종류 및 기간에 따르는 차이는 현저하지 않았으며 파종 방향에 따른 차이만 현저하게 나타났다.

UV-C 처리구에서는 조사기간이 길수록 비정상 출현묘의 비율이 다소 높게 나타났다. 이와 같이 나타난 비정상묘의 출현은 하향파종 처리구에서 두드러져 나타난 결과로 상향 파종한 경우 비정상묘의 출현이 크게 억제되는 것을 볼 수 있었다.

자외선 처리에 따른 유묘소질은 <표 1-45>에서 보는 바와 같이, 무처리구에 비하여 UV-B 처리구를 제외한 UV-A와 UV-B 처리구에서 하배축장이 다소 감소하는 경향을 보였는데, 하배축굽기와 건물중은 대부분의 자외선 처리구에서 증가하는 경향을 보이기는 하였으나 대부분 통계적 유의성은 인정되지 않았다.

상기의 결과를 종합하여 볼 때, 박 종자에 자외선 처리는 묘 출현을 촉진시키고, 도장을 억제하며 배축은 굽게 만들어 접목용 대목 생산에 매우 긍정적인 영향을 미치는 것으로 판단되었다.

<표 1-44> 자외선 처리된 '동장군' 박 종자에서의 파종 방향에 따른 유묘 출현율 (파종일: 2009.08.12.)

파장	출력 (W)	조사 시간	파종 방향	파종 2주 후				파종 3주 후			
				출현율 (%)	정상 (%)	비정상 (%)	미발아 (%)	출현율 (%)	정상 (%)	비정상 (%)	미발아 (%)
UV-A 365 nm	150	1분	상향	66.7	66.7	0.0	33.3	100.0	93.3	6.7	0.0
			하향	13.3	0.0	13.3	86.7	100.0	46.7	53.3	0.0
			수평	60.0	60.0	0.0	40.0	100.0	60.0	40.0	0.0
			평균	46.7	42.2	4.4	53.3	100.0	66.7	33.3	0.0
		5분	상향	13.3	13.3	0.0	86.7	93.3	93.3	0.0	6.7
			하향	0.0	0.0	0.0	100.0	53.3	6.7	46.7	46.7
			수평	20.0	20.0	0.0	80.0	80.0	80.0	0.0	20.0
			평균	11.1	11.1	0.0	88.9	75.6	60.0	15.6	24.4
		10분	상향	80.0	80.0	0.0	20.0	93.3	93.3	0.0	6.7
			하향	6.7	0.0	6.7	93.3	100.0	66.7	33.3	0.0
			수평	80.0	80.0	0.0	20.0	100.0	100.0	0.0	0.0
			평균	55.6	53.3	2.2	44.4	97.8	86.7	11.1	2.2
UV-B 312 nm	40	5분	상향	46.7	46.7	0.0	53.3	100.0	100.0	0.0	0.0
			하향	0.0	0.0	0.0	100.0	100.0	93.3	6.7	0.0
			수평	73.3	73.3	0.0	26.7	100.0	80.0	20.0	0.0
			평균	40.0	40.0	0.0	60.0	100.0	91.1	8.9	0.0
		1시간	상향	66.7	66.7	0.0	33.3	93.3	93.3	0.0	6.7
			하향	0.0	0.0	0.0	100.0	93.3	80.0	13.3	6.7
			수평	40.0	40.0	0.0	60.0	100.0	100.0	0.0	0.0
			평균	35.6	35.6	0.0	64.4	95.6	91.1	4.4	4.4
		1일	상향	60.0	60.0	0.0	40.0	100.0	100.0	0.0	0.0
			하향	0.0	0.0	0.0	100.0	100.0	86.7	13.3	0.0
			수평	33.3	33.3	0.0	66.7	100.0	100.0	0.0	0.0
			평균	31.1	31.1	0.0	68.9	100.0	95.6	4.4	0.0
UV-C 254 nm	75	5분	상향	33.3	33.3	0.0	66.7	80.0	80.0	0.0	20.0
			하향	0.0	0.0	0.0	100.0	100.0	73.3	26.7	0.0
			수평	60.0	60.0	0.0	40.0	100.0	100.0	0.0	0.0
			평균	31.1	31.1	0.0	68.9	93.3	84.4	8.9	6.7
		1시간	상향	66.7	66.7	0.0	33.3	100.0	100.0	0.0	0.0
			하향	46.7	0.0	46.7	53.3	100.0	40.0	60.0	0.0
			수평	60.0	53.3	6.7	40.0	100.0	86.7	13.3	0.0
			평균	57.8	40.0	17.8	42.2	100.0	75.6	24.4	0.0
		1일	상향	33.3	33.3	0.0	66.7	100.0	100.0	0.0	0.0
			하향	26.7	0.0	26.7	73.3	100.0	20.0	80.0	0.0
			수평	73.3	66.7	6.7	26.7	100.0	93.3	6.7	0.0
			평균	44.4	33.3	11.1	55.6	100.0	71.1	28.9	0.0
무처리			상향	13.3	13.3	0.0	86.7	100.0	100.0	0.0	0.0
			하향	6.7	0.0	6.7	93.3	66.7	46.7	20.0	33.3
			수평	33.3	26.7	6.7	66.7	100.0	93.3	6.7	0.0
			평균	17.8	13.3	4.4	82.2	88.9	80.0	8.9	11.1

<표 1-45> 자외선 처리한 '동장군' 박 종자의 유묘소질 평가(파종 3주 후)(파종일: 2009.08.12.)

파장	조사 시간	파종 방향	하배축장 (mm)		자엽 (mm)		하배축굽기 (mm)		생체중 (g)		건물중 (g)	
			지면위	지면아래	폭	길이	상단	하단	지상부	뿌리	지상부	뿌리
UV-A 365 nm 150 W	1분	상향	89.33	5.80	33.27	56.33	4.35	6.63	3.58	0.56	0.1597	0.0168
		하향	82.67	22.33	32.22	51.11	4.17	5.02	2.95	0.31	0.1315	0.0094
		수평	73.50	8.71	32.14	54.50	4.35	5.78	3.18	0.55	0.1607	0.0191
		평균	81.83	12.28	32.54	53.98	4.29	5.81	3.24	0.47	0.1506	0.0151
	5분	상향	72.00	7.29	29.00	49.21	3.70	4.92	2.06	0.54	0.1123	0.0202
		하향	46.00	32.75	24.75	41.75	3.49	3.94	1.80	0.49	0.0900	0.0164
		수평	77.92	12.33	31.75	53.42	3.95	5.12	2.60	0.57	0.1409	0.0195
		평균	65.31	17.46	28.50	48.13	3.71	4.66	2.15	0.53	0.1144	0.0187
	10분	상향	84.93	6.86	33.00	54.64	4.41	5.80	3.55	0.69	0.1605	0.0226
		하향	73.50	31.00	30.50	51.25	3.74	4.60	2.53	0.38	0.1001	0.0128
		수평	90.27	13.67	33.00	56.20	4.13	5.29	3.47	0.69	0.1676	0.0224
		평균	82.90	17.17	32.17	54.03	4.09	5.23	3.18	0.58	0.1427	0.0193
UV-B 312 nm 40 W	5분	상향	100.53	5.60	32.47	55.40	4.23	6.36	3.32	0.67	0.0871	0.0160
		하향	74.75	31.17	29.00	45.17	3.99	4.48	2.50	0.36	0.0630	0.0080
		수평	62.54	14.85	28.15	45.69	3.92	4.97	2.29	0.48	0.0749	0.0115
		평균	86.06	17.98	31.21	51.53	4.10	5.36	3.00	0.54	0.0976	0.0144
	1시간	상향	99.00	8.93	33.57	58.43	4.22	6.09	3.56	0.65	0.1010	0.0146
		하향	82.09	32.73	32.36	52.82	3.87	4.62	2.90	0.44	0.0717	0.0129
		수평	97.47	13.67	34.13	57.00	4.20	5.27	3.46	0.54	0.0897	0.0125
		평균	92.85	18.44	33.36	56.08	4.10	5.33	3.31	0.54	0.0875	0.0133
	1일	상향	84.80	8.40	31.80	53.13	4.20	6.11	3.06	0.51	0.0855	0.0123
		하향	78.00	37.08	30.00	51.33	3.76	4.53	2.59	0.38	0.0534	0.0079
		수평	90.20	15.27	33.87	55.80	4.20	5.36	3.33	0.55	0.0890	0.0091
		평균	84.33	20.25	31.89	53.42	4.05	5.34	2.99	0.48	0.0760	0.0098
UV-C 254 nm 75 W	5분	상향	75.82	9.91	32.09	51.73	4.00	5.47	2.81	0.58	0.0725	0.0141
		하향	58.11	33.67	26.89	46.22	3.92	4.34	2.24	0.45	0.0565	0.0087
		수평	66.07	15.07	29.64	47.93	3.92	4.90	2.41	0.52	0.0835	0.0137
		평균	66.67	19.55	29.54	48.63	3.94	4.90	2.49	0.51	0.0709	0.0121
	1시간	상향	86.27	9.00	32.60	52.40	4.09	5.67	2.98	0.64	0.0782	0.0137
		하향	73.20	27.40	32.20	52.60	4.27	4.76	2.87	0.47	0.0957	0.0130
		수평	87.93	14.64	33.71	57.71	4.19	5.33	3.39	0.64	0.3750	0.0115
		평균	78.52	17.65	32.01	52.84	4.12	5.17	2.93	0.57	0.1549	0.0126
	1일	상향	70.80	7.33	29.93	49.93	4.05	5.48	2.47	0.60	0.0734	0.0138
		하향	67.33	27.83	27.00	41.50	3.74	4.45	2.12	0.31	0.0569	0.0080
		수평	81.00	14.93	32.14	54.79	4.08	5.18	3.09	0.77	0.0926	0.0153
		평균	73.04	16.70	29.69	48.74	3.95	5.04	2.56	0.56	0.0743	0.0124
무처리	상향	92.33	9.33	32.67	55.87	3.89	5.73	2.95	0.40	0.0649	0.0079	
	하향	80.75	30.75	30.25	50.25	3.59	4.61	2.52	0.26	0.0569	0.0056	
	가로	85.23	16.31	33.00	56.46	4.09	5.15	2.85	0.45	0.0759	0.0108	
	평균	86.10	18.80	31.97	54.19	3.86	5.16	2.77	0.37	0.0659	0.0081	

나. 감마선 처리에 따른 묘 출현율 검정

감마선의 식물체에 대한 정확한 기작은 자세히 밝혀진 바는 없지만, 감마선 조사에 따른 유전자의 변이를 통한 식물체의 표현형의 변화가 두드러져 식물 육종분야에서 많은 연구가 이루어지고 있는데 이 또한 감마선처리에 의한 종자와 유묘활력에 미치는 영향을 실험하기 위하여 2009년 8월 10일 전남 정읍 원자력연구소에서 박 종자에 감마선 처리를 실시하였다.

이들 종자를 이용한 실험은 2009년 9월 8일에 50공 트레이에 바로커 상토를 채운 뒤에 파종방향을 상향, 하향, 수평으로 하여 각각 15립씩 파종하였고 파종 2주 후와 3주 후에 묘 출현율과 유묘소질을 분석하였으며 그 결과는 <표 1-46>, <표 1-47>과 같다.

‘동장군’ 박과 ‘조생토좌’ 호박 모두 선량이 증가함에 따라 출현율의 감소와 동시에 정상 출현묘의 비율이 감소하였으나, 미발아한 묘와 비정상출현묘의 비율은 오히려 증가하는 경향을 보였다<표 1-46>. 특히 ‘동장군’ 박의 경우 선량 증가에 따른 묘 출현율이 매우 크게 떨어졌으며, 파종 3주 후에도 2000 Gy의 경우 51.1%에 불과한 출현율을 보였으며 그중 절반정도가 비정상적으로 출현하였다. ‘조생토좌’ 호박의 경우에는 ‘동장군’ 박에 비하여 출현율은 크게 감소하지 않았으며, 파종 3주 후에도 90% 이상의 출현율을 보이기는 했으나, 2000 Gy 선량에서는 95.6%의 비정상 출현묘가 관찰되어서 극단적인 피해를 보여 높은 선량에서의 실용가치는 없는 것으로 추정되었다.

감마선 처리된 박 및 호박 종자에서의 파종방향에 따른 유묘 출현율을 비교하여 보면, 상향 파종한 것이 하향 파종한 종자에 비하여 정상묘의 비율이 높은 것을 관찰할 수 있었다. 또한, 2000 Gy의 높은 선량의 감마선에 노출된 종자의 경우, 상향 파종한 것이 하향 파종한 것에 비하여 정상묘 출현이 많은 것으로 보아 감마선과 같은 높은 외부 스트레스에 노출된 종자의 정상적인 유묘 출현에 파종방향이 큰 역할을 할 것으로 판단되었다.

감마선 처리한 ‘동장군’ 박과 ‘조생토좌’ 호박의 유묘소질을 평가한 결과 두 품종 모두 감마선 선량이 증가함에 따라 하배축장, 자엽크기, 하배축 굵기, 생체중, 그리고 건물중 모두 감소하는 경향을 보였다 <표 1-47>. ‘조생토좌’ 호박의 경우 자엽은 500 Gy에서, 하배축 굵기와 생체중, 건물중은 250 Gy에서 다소 높은 수치를 보였는데, 이는 호박의 유묘 생육 특성상 제한적인 트레이 공간에서 유묘 생육이 이루어졌기 때문에 조사시기인 파종 3주 후에는 초기 생육이 빨랐던 낮은 선량처리구의 유묘의 생육이 후반에 들어서는 억제되었기 때문으로 판단되었다. 그리고 두 품종 모두 뿌리의 생체중과, 하배축 및 뿌리의 건물중이 대조구인 무처리구에 비하여 높은 수치를 보였는데, 이는 감마선 처리에 의해 근부의 생육이 더욱 왕성해지고, 조직이 더욱 치밀해진 것으로 판단되었다.

파종방향에 따라 감마선 처리된 ‘동장군’ 박과 ‘조생토좌’ 호박의 유묘소질을 살펴보면, 상향 파종한 경우 하향 파종이나 수평 파종한 것에 비하여 지면위의 하배축장이 길고 지면아래의 하배축장은 짧았으며, 하배축의 굵기가 굵고, 생체중 및 건물중이 증가하는 경향을 보였다. 이는 다른 파종방향 실험과 동일한 결과로 추후 육묘환경 등의 악화에 따른 입고병과 같은 질병에 견딜 수 있는 유묘 생육 특성을 갖추어 묘 생육이 유리할 것으로 판단되었다.

위의 결과를 종합하여 보면, 박 종자가 호박 종자에 비하여 감마선에 의하여 출현율에 크게 영향을 받으나, 높은 감마선 선량에 영향을 받은 종자의 경우 정상적인 묘로 생육하는 개체가 매우 적어서 실용성이 없고 250 Gy 정도의 선에서는 이용 가능성이 있다고 판단되었다.



<그림 1-45> 감마선 처리에 따른 파종 7일 후 ‘조생토좌’ 호박의 유묘생육 상태
(좌로부터 2000, 1000, 500, 250, 150 Gy 처리구)

<표 1-46> 감마선 처리된 박 및 호박 종자에서의 파종 방향에 따른 묘 출현율

품종	선량 (Gy)	파종 방향	파종 2주 후				파종 3주 후			
			출현율 (%)	정상 (%)	비정상 (%)	미발아 (%)	출현율 (%)	정상 (%)	비정상 (%)	미발아 (%)
동장군 박	150	상향	33.3	33.3	0.0	66.7	93.3	93.3	0.0	6.7
		하향	13.3	0.0	13.3	86.7	100.0	73.3	26.7	0.0
		수평	46.7	40.0	6.7	53.3	86.7	86.7	0.0	13.3
		평균	31.1	24.4	6.7	68.9	93.3	84.4	8.9	6.7
	250	상향	80.0	80.0	0.0	20.0	100.0	100.0	0.0	0.0
		하향	13.3	0.0	13.3	86.7	93.3	73.3	20.0	6.7
		수평	13.3	13.3	0.0	86.7	93.3	93.3	0.0	6.7
		평균	35.6	31.1	4.4	64.4	95.6	88.9	6.7	4.4
	500	상향	53.3	53.3	0.0	46.7	100.0	100.0	0.0	0.0
		하향	13.3	0.0	13.3	86.7	100.0	86.7	13.3	0.0
		수평	40.0	40.0	0.0	60.0	100.0	93.3	6.7	0.0
		평균	35.6	31.1	4.4	64.4	100.0	93.3	6.7	0.0
	1000	상향	0.0	0.0	0.0	100.0	93.3	93.3	0.0	6.7
		하향	0.0	0.0	0.0	100.0	93.3	93.3	0.0	6.7
		수평	6.7	6.7	0.0	93.3	86.7	66.7	20.0	13.3
		평균	2.2	2.2	0.0	97.8	91.1	84.4	6.7	8.9
	2000	상향	0.0	0.0	0.0	100.0	40.0	40.0	0.0	60.0
		하향	0.0	0.0	0.0	100.0	73.3	6.7	66.7	26.7
		수평	0.0	0.0	0.0	100.0	40.0	33.3	6.7	60.0
		평균	0.0	0.0	0.0	100.0	51.1	26.7	24.4	48.9
	무처리	상향	13.3	13.3	0.0	86.7	100.0	100.0	0.0	0.0
		하향	6.7	0.0	6.7	93.3	66.7	46.7	20.0	33.3
		수평	33.3	26.7	6.7	66.7	100.0	93.3	6.7	0.0
		평균	17.8	13.3	4.4	82.2	88.9	80.0	8.9	11.1
조생토좌 호박	150	상향	100.0	100.0	0.0	0.0	100.0	100.0	0.0	0.0
		하향	100.0	53.3	46.7	0.0	100.0	100.0	0.0	0.0
		수평	100.0	100.0	0.0	0.0	100.0	100.0	0.0	0.0
		평균	100.0	84.4	15.6	0.0	100.0	100.0	0.0	0.0
	250	상향	100.0	100.0	0.0	0.0	100.0	100.0	0.0	0.0
		하향	93.3	80.0	13.3	6.7	100.0	100.0	0.0	0.0
		수평	100.0	93.3	6.7	0.0	100.0	100.0	0.0	0.0
		평균	97.8	91.1	6.7	2.2	100.0	100.0	0.0	0.0
	500	상향	100.0	100.0	0.0	0.0	93.3	93.3	0.0	6.7
		하향	86.7	73.3	13.3	13.3	93.3	86.7	6.7	6.7
		수평	93.3	93.3	0.0	6.7	93.3	93.3	0.0	6.7
		평균	93.3	88.9	4.4	6.7	93.3	91.1	2.2	6.7
	1000	상향	86.7	80.0	6.7	13.3	86.7	86.7	0.0	13.3
		하향	86.7	60.0	26.7	13.3	100.0	86.7	13.3	0.0
		수평	93.3	93.3	0.0	6.7	100.0	86.7	13.3	0.0
		평균	88.9	77.8	11.1	11.1	95.6	86.7	8.9	4.4
	2000	상향	53.3	53.3	0.0	46.7	100.0	6.7	93.3	0.0
		하향	100.0	6.7	93.3	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0
		수평	80.0	46.7	33.3	20.0	100.0	6.7	93.3	0.0
		평균	77.8	35.6	42.2	22.2	100.0	4.4	95.6	0.0
	무처리	상향	100.0	100.0	0.0	0.0	100.0	100.0	0.0	0.0
		하향	53.3	33.3	20.0	46.7	100.0	93.3	6.7	0.0
		수평	93.3	86.7	6.7	6.7	100.0	93.3	6.7	0.0
		평균	82.2	73.3	8.9	17.8	100.0	95.6	4.4	0.0

<표 1-47> 감마선 처리한 박 및 호박 종자의 유묘소질 평가(파종 3주 후)

품종	선량 (Gy)	파종 방향	하배축장 (mm)		자엽 (mm)		하배축굽기 (mm)		생체중 (g)		건물중 (g)	
			지면위	지면아래	폭	길이	상단	하단	지상부	뿌리	지상부	뿌리
동장군 박	150	상향	81.79	5.29	33.86	57.07	4.21	5.84	2.90	0.58	0.0974	0.0128
		하향	85.57	22.14	33.29	54.86	3.78	4.80	2.88	0.41	0.0771	0.0086
		가로	84.58	13.50	34.83	57.33	3.81	5.33	2.98	0.49	0.0878	0.0117
		평균	83.98	13.64	33.99	56.42	3.93	5.32	2.92	0.49	0.0874	0.0110
	250	상향	82.67	7.67	33.53	54.40	3.99	5.73	2.94	0.67	0.0981	0.0172
		하향	70.40	32.60	30.80	52.60	3.70	4.41	2.35	0.42	0.0872	0.0092
		가로	69.29	15.79	31.29	52.14	3.70	4.75	2.30	0.53	0.0979	0.0128
		평균	74.12	18.68	31.87	53.05	3.80	4.96	2.53	0.54	0.0944	0.0130
	500	상향	57.29	5.36	30.86	50.93	4.05	5.06	2.46	0.61	0.1019	0.0145
		하향	46.50	19.33	27.00	44.00	3.72	4.63	1.91	0.31	0.0783	0.0072
		가로	53.71	13.00	30.07	49.79	4.11	5.06	2.44	0.52	0.1108	0.0137
		평균	52.50	12.56	29.31	48.24	3.96	4.91	2.27	0.48	0.0970	0.0118
	1000	상향	28.77	7.31	25.00	42.46	3.67	4.79	1.55	0.37	0.0855	0.0101
		하향	29.00	20.17	24.83	41.17	3.71	4.07	1.69	0.35	0.0883	0.0083
		가로	30.20	15.70	26.10	43.60	3.69	4.46	1.77	0.36	0.0903	0.0094
		평균	29.32	14.39	25.31	42.41	3.69	4.44	1.67	0.36	0.0880	0.0093
	2000	상향	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		하향	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		가로	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		평균	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	무처리	상향	92.33	9.33	32.67	55.87	3.89	5.73	2.95	0.40	0.0649	0.0079
		하향	80.75	30.75	30.25	50.25	3.59	4.61	2.52	0.26	0.0569	0.0056
		가로	85.23	16.31	33.00	56.46	4.09	5.15	2.85	0.45	0.0759	0.0108
		평균	86.10	18.80	31.97	54.19	3.86	5.16	2.77	0.37	0.0659	0.0081
조생토좌 호박	150	상향	84.33	10.87	44.87	62.87	5.27	5.61	5.61	0.76	0.2431	0.0290
		하향	101.80	29.00	41.73	58.13	5.04	5.02	5.05	0.73	0.1766	0.1609
		가로	82.80	15.33	43.20	57.80	5.93	5.59	5.50	0.63	0.2292	0.0252
		평균	89.64	18.40	43.27	59.60	5.41	5.41	5.39	0.71	0.2163	0.0717
	250	상향	78.40	7.73	43.53	59.67	6.18	5.95	5.35	0.78	0.2166	0.0234
		하향	100.64	25.86	42.21	57.43	6.14	5.67	6.39	0.71	0.2507	0.0205
		가로	74.29	14.57	43.14	59.07	6.10	5.61	5.53	0.64	0.2534	0.0203
		평균	84.44	16.05	42.96	58.72	6.14	5.74	5.76	0.71	0.2402	0.0214
	500	상향	56.79	8.00	46.00	62.64	5.20	5.24	5.63	1.12	0.2462	0.0366
		하향	65.00	23.85	44.23	60.00	5.28	5.03	5.16	0.77	0.2071	0.0223
		가로	60.00	12.15	45.08	61.46	5.34	5.34	5.35	0.85	0.2604	0.0304
		평균	60.60	14.67	45.10	61.37	5.27	5.20	5.38	0.91	0.2379	0.0297
	1000	상향	24.62	4.15	35.69	54.46	4.41	5.01	3.20	0.91	0.1465	0.0339
		하향	32.08	27.69	37.08	53.85	4.15	4.14	3.40	0.81	0.1673	0.0249
		가로	27.31	14.46	37.54	55.38	4.34	4.53	3.61	0.96	0.1875	0.0287
		평균	28.00	15.44	36.77	54.56	4.30	4.56	3.40	0.89	0.1671	0.0291
	2000	상향	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		하향	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		가로	10.00	4.00	22.00	34.00	4.74	4.89	1.98	0.16	0.1657	0.0059
		평균	10.00	4.00	22.00	34.00	4.74	4.89	1.98	0.16	0.1657	0.0059
	무처리	상향	71.46	12.00	44.15	63.54	5.24	5.65	4.90	0.59	0.2170	0.0235
		하향	89.33	31.08	42.75	59.33	5.12	4.79	4.93	0.59	0.1794	0.0186
		가로	79.64	16.64	45.07	59.57	5.24	5.12	5.45	0.77	0.2177	0.0254
		평균	80.15	19.91	43.99	60.81	5.20	5.19	5.09	0.65	0.2047	0.0225

다. Microwave 처리에 따른 묘 출현율 검정

Microwave는 파장의 범위가 1 mm에서 1 m 사이 또는 300 MHz에서 300 GHz 사이의 빈도수를 가진 전자기파를 가리키는데, 그 파장이 짧으므로 빛과 거의 비슷한 성질을 가지고 있으며 살균력이 강하다는 특징이 있다. 이 또한 자외선 처리와 비슷하게 종자에 미치는 영향을 확인해 보기 위하여 microwave oven에 종자를 각기 다른 시간 간격으로 처리하여 유리온실에 파종하였으며 묘 출현율을 조사하여 <표 1-48>에서와 같은 결과를 얻었다.

Microwave oven에서 10초간 종자를 처리하였을 경우 묘 출현율은 100%였으나 20초간 처리하였을 경우 73.3%로 묘 출현율이 감소하였다. Microwave oven에 종자를 넣고 작동시키면 전자파로 인하여 종자를 이루고 있는 이온화되는 물질들의 진동에 의해 열이 발생하게 되는데, 처리시간이 늘어날수록 발생하는 열이 축적되어 이로 인한 열피해도 예상되었다. 따라서 장시간처리에 의한 열피해를 최소화하기 위하여 연속적인 처리를 피하고 시간간격을 두어 10초간 2회에 걸쳐 처리한 결과 묘 출현율이 심하게 떨어지지 않도록 처리할 수 있었다. 그러나 이 이상의 처리는 피해유발이 심하여 차후의 처리는 중단되었다.

<표 1-48> ‘동장군’ 박 종자의 Microwave 처리에 따른 묘 출현율의 변화

발진주파수	정격주파출력	처리시간	묘 출현율(%)	
			파종 14일 후	파종 21일 후
2450 MHz	620 W	10초	66.7	100.0
		20초	11.1	73.3
		10초 × 2회	46.7	80.0

라. 온탕처리에 따른 묘 출현율 검정

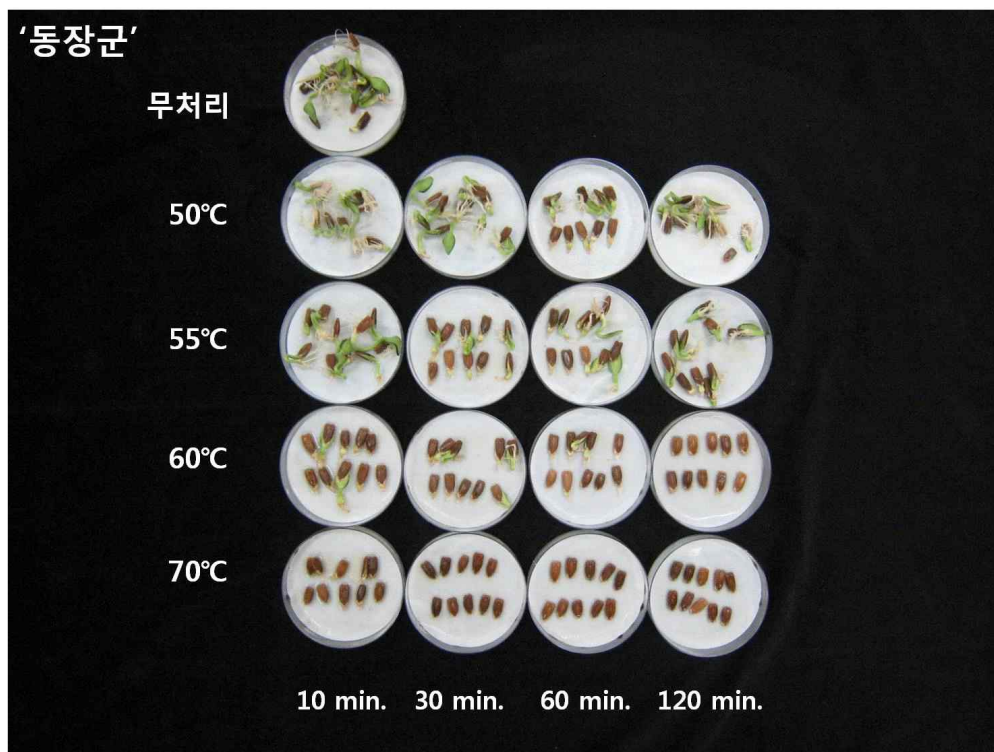
종자의 온탕침지처리는 다양한 종자의 소독용으로 사용되고 또한 지속적으로 증가추세인 벼키다리병 방제 방법 중 친환경적인 방법으로도 많이 쓰이고 있다. 볍씨에서의 온탕처리는 벼종자를 염수선한 뒤 1 시간 이내에 온탕처리를 하게 되는데 저비용 고효율, 살균효과와 발아촉진효과가 있다. 또한 의료계에서도 일반적인 기구 등의 소독방법으로 쓰이고 있어 그 살균효과가 입증된 바 있다. 따라서 종자에서도 건열처리와 더불어 온탕처리에 의한 바이러스 불활성화에 대한 효과를 알아보기 위하여 박 종자인 ‘동장군’ 품종에 종자 침지 온도와 시간을 달리하여 처리한 직후, 50공 트레이에 바로커 상토를 채운 뒤 파종방향을 상향, 하향, 수평으로 설정하여 각각 15립씩 파종하였다. 묘 출현조사는 파종 2주 후와 3주 후에 실시하였으며, 유묘소질조사는 파종 3주 후 실시하였으며 그 결과는 <표 1-49>, <표 1-50>, <그림 1-46>과 같다.

‘동장군’ 박을 온탕침지처리 한 결과, 55℃에서 90분간 처리한 처리구까지 대조구인 무처리구에 비하여 출현율이 향상되는 결과를 보였고, 60℃에서 30분간 처리한 처리구에서는 대조구와 비슷한 수준을 보였으며, 65℃ 처리구에서는 침지시간과 상관없이 출현율이 크게 떨어졌다. 그런데 60℃에서 온탕침지 처리하였을 때 60분간 침지한 처리구의 경우, 파종 2주 후까지 전혀 출현이 되지 않았으나 파종 3주 후

에는 출현율이 대조구보다 높은 것으로 관찰되었다. 그러나 온탕침지시간이 줄어들면 비정상묘의 비율이 다소 감소하기는 하나 모든 온탕침지처리구가 무처리구에 비하여 비정상출현묘의 비율이 높은 것으로 나타났다. 그러나 과중시 상향과중할 경우 비정상묘의 발생이 현저하게 억제되는 것으로 나타났다.

과중 3주 후 유묘소질을 평가한 결과, <표 1-50>에서 보는 바와 같이 55℃에서 60분간 처리한 구를 제외한 대부분의 처리구의 하배축장의 길이가 다소 감소하는 경향을 보였고, 55℃ 이상의 처리구에서 하배축장과 자엽크기가 크게 감소하는 경향을 보였으나, 온탕침지처리구가 무처리구에 비하여 건물중이 크게 나타난 것으로 보아 종자의 온탕침지처리에 의하여 유묘의 조직이 더욱 치밀해진 것으로 판단되었다.

위의 결과를 종합하여 보면, 55℃에서 90분간의 온탕침지 처리후 상향과중하는 것에서 출현율이 가장 높았으며 비정상묘의 출현도 거의 없어서 강건한 유묘를 얻을 수 있을 것으로 판단되었다.



<그림 1-46> ‘동장군’ 박 종자의 온탕처리 온도, 처리시간에 따른 발아

<표 1-49> 온탕 처리된 ‘동장군’ 박 종자에서의 파종 방향에 따른 주요 출현율

온도 (℃)	시간 (분)	파종 방향	파종 2주 후				파종 3주 후			
			출현율 (%)	정상 (%)	비정상 (%)	미발아 (%)	출현율 (%)	정상 (%)	비정상 (%)	미발아 (%)
50	30	상향	33.3	33.3	0.0	66.7	80.0	80.0	0.0	20.0
		하향	0.0	0.0	0.0	100.0	93.3	26.7	66.7	6.7
		수평	66.7	60.0	6.7	33.3	100.0	93.3	6.7	0.0
		평균	33.3	31.1	2.2	66.7	91.1	66.7	24.4	8.9
	60	상향	46.7	46.7	0.0	53.3	66.7	66.7	0.0	33.3
		하향	6.7	6.7	0.0	93.3	86.7	20.0	66.7	13.3
		수평	40.0	33.3	6.7	60.0	86.7	80.0	6.7	13.3
		평균	31.1	28.9	2.2	68.9	80.0	55.6	24.4	20.0
	90	상향	46.7	46.7	0.0	53.3	46.7	46.7	0.0	53.3
		하향	46.7	0.0	46.7	53.3	40.0	13.3	26.7	60.0
		수평	66.7	66.7	0.0	33.3	93.3	86.7	6.7	6.7
		평균	53.3	37.8	15.6	46.7	60.0	48.9	11.1	40.0
55	30	상향	6.7	6.7	0.0	93.3	100.0	100.0	0.0	0.0
		하향	6.7	0.0	6.7	93.3	66.7	46.7	20.0	33.3
		수평	33.3	33.3	0.0	66.7	100.0	100.0	0.0	0.0
		평균	15.6	13.3	2.2	84.4	88.9	82.2	6.7	11.1
	60	상향	60.0	60.0	0.0	40.0	86.7	73.3	13.3	13.3
		하향	6.7	0.0	6.7	93.3	93.3	13.3	80.0	6.7
		수평	66.7	66.7	0.0	33.3	100.0	100.0	0.0	0.0
		평균	44.4	42.2	2.2	55.6	93.3	62.2	31.1	6.7
	90	상향	46.7	46.7	0.0	53.3	100.0	100.0	0.0	0.0
		하향	86.7	0.0	86.7	13.3	100.0	0.0	100.0	0.0
		수평	73.3	66.7	6.7	26.7	100.0	93.3	6.7	0.0
		평균	68.9	37.8	31.1	31.1	100.0	64.4	35.6	0.0
60	30	상향	33.3	33.3	0.0	66.7	100.0	100.0	0.0	0.0
		하향	0.0	0.0	0.0	100.0	100.0	53.3	46.7	0.0
		수평	20.0	13.3	6.7	80.0	100.0	86.7	13.3	0.0
		평균	17.8	15.6	2.2	82.2	100.0	80.0	20.0	0.0
	60	상향	0.0	0.0	0.0	100.0	100.0	100.0	0.0	0.0
		하향	0.0	0.0	0.0	100.0	93.3	20.0	73.3	6.7
		수평	0.0	0.0	0.0	100.0	100.0	93.3	6.7	0.0
		평균	0.0	0.0	0.0	100.0	97.8	71.1	26.7	2.2
	90	상향	0.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	0.0	100.0
		하향	0.0	0.0	0.0	100.0	33.3	13.3	20.0	66.7
		수평	0.0	0.0	0.0	100.0	26.7	26.7	0.0	73.3
		평균	0.0	0.0	0.0	100.0	20.0	13.3	6.7	80.0
65	30	상향	0.0	0.0	0.0	100.0	13.3	13.3	0.0	86.7
		하향	0.0	0.0	0.0	100.0	53.3	13.3	40.0	46.7
		수평	0.0	0.0	0.0	100.0	60.0	13.3	46.7	40.0
		평균	0.0	0.0	0.0	100.0	42.2	13.3	28.9	57.8
	60	상향	0.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	0.0	100.0
		하향	0.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	0.0	100.0
		수평	0.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	0.0	100.0
		평균	0.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	0.0	100.0
	90	상향	0.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	0.0	100.0
		하향	0.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	0.0	100.0
		수평	0.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	0.0	100.0
		평균	0.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	0.0	100.0
무처리	상향	13.3	13.3	0.0	86.7	100.0	100.0	0.0	0.0	
	하향	6.7	0.0	6.7	93.3	66.7	46.7	20.0	33.3	
	수평	33.3	26.7	6.7	66.7	100.0	93.3	6.7	0.0	
	평균	17.8	13.3	4.4	82.2	88.9	80.0	8.9	11.1	

<표 1-50> 온탕 처리한 '동장군' 박 종자의 유효소질 평가(파종 3주 후)

온도 (℃)	시간 (분)	파종 방향	하배축장 (mm)		자엽 (mm)		하배축굵기 (mm)		생체중 (g)		건물중 (g)	
			지면위	지면아래	폭	길이	상단	하단	지상부	뿌리	지상부	뿌리
50	30	상향	84.67	8.83	33.33	58.58	3.94	5.87	3.34	0.54	0.1367	0.0138
		하향	82.75	27.00	28.25	47.00	3.77	4.53	2.37	0.33	0.0804	0.0087
		수평	77.07	13.00	31.64	51.93	4.00	5.05	3.01	0.58	0.1174	0.0136
		평균	81.50	16.28	31.08	52.50	3.90	5.15	2.91	0.48	0.1115	0.0120
	60	상향	83.30	9.90	34.40	57.30	4.01	6.11	3.45	0.63	0.1318	0.0160
		하향	68.75	30.25	29.25	46.25	3.54	4.51	3.39	0.36	0.1214	0.0111
		수평	85.17	14.83	39.58	56.83	4.16	5.56	3.55	0.46	0.1318	0.0129
		평균	79.07	18.33	34.41	53.46	3.90	5.39	3.46	0.49	0.1283	0.0133
	90	상향	77.50	6.08	33.17	57.08	3.96	5.32	3.10	0.71	0.1267	0.0181
		하향	75.00	30.00	33.00	58.00	3.95	4.50	2.73	0.58	0.1094	0.0155
		수평	96.40	11.53	33.87	56.67	3.94	5.42	3.37	0.69	0.1331	0.0184
		평균	82.97	15.87	33.34	57.25	3.95	5.08	3.07	0.66	0.1231	0.0173
55	30	상향	71.29	6.43	31.43	52.86	3.73	5.38	2.48	0.71	0.1072	0.0204
		하향	76.00	28.00	28.50	50.00	3.58	4.60	4.01	0.71	0.1754	0.0194
		수평	78.08	12.38	32.46	55.00	3.83	5.26	2.81	0.56	0.1191	0.0141
		평균	75.12	15.60	30.80	52.62	3.71	5.08	3.10	0.66	0.1339	0.0180
	60	상향	99.13	10.20	34.93	58.67	4.06	5.96	3.57	0.57	0.1399	0.0134
		하향	83.14	29.57	33.43	56.00	3.98	4.99	2.83	0.38	0.1114	0.0095
		수평	92.67	11.93	35.33	58.87	4.04	5.73	3.56	0.50	0.1445	0.0127
		평균	91.65	17.23	34.57	57.84	4.03	5.56	3.32	0.48	0.1320	0.0119
	90	상향	72.86	5.36	30.43	51.36	3.77	5.22	2.38	0.54	0.1125	0.0188
		하향	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		수평	86.93	10.79	31.86	52.93	3.80	5.25	2.86	0.53	0.1258	0.0170
		평균	79.89	8.07	31.14	52.14	3.79	5.23	2.62	0.53	0.1191	0.0179
60	30	상향	81.79	8.57	32.36	53.07	4.13	5.92	3.06	0.61	0.1433	0.0213
		하향	65.77	12.54	30.08	48.62	3.89	5.17	2.37	0.52	0.1221	0.0191
		수평	58.86	32.86	28.57	44.57	3.71	4.21	2.04	0.29	0.0911	0.0101
		평균	68.80	17.99	30.34	48.75	3.91	5.10	2.49	0.48	0.1188	0.0168
	60	상향	60.07	9.71	29.07	47.07	3.80	5.23	2.10	0.48	0.1052	0.0158
		하향	56.50	31.50	28.00	48.00	3.76	4.31	4.66	0.52	0.1920	0.0197
		수평	71.23	14.46	30.54	51.69	3.90	5.23	2.64	0.51	0.1204	0.0168
		평균	62.60	18.56	29.20	48.92	3.82	4.92	3.13	0.50	0.1392	0.0175
	90	상향	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		하향	47.00	18.50	23.00	38.00	3.25	4.42	1.40	0.35	0.0699	0.0119
		수평	46.00	13.00	28.50	28.50	3.54	4.74	1.72	0.42	0.1650	0.2086
		평균	46.50	15.75	25.75	33.25	3.40	4.58	1.56	0.38	0.1175	0.1103
65	30	상향	38.00	5.00	23.00	40.00	3.58	4.81	1.47	0.47	0.0816	0.0184
		하향	37.50	25.00	24.50	40.50	3.60	4.15	1.71	0.32	0.0908	0.0113
		수평	-	-	24.00	42.00	3.94	5.43	-	-	-	-
		평균	37.75	15.00	23.83	40.83	3.71	4.80	1.59	0.39	0.0862	0.0149
	60	상향	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		하향	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		수평	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		평균	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	90	상향	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		하향	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		수평	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		평균	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
무처리	상향	92.33	9.33	32.67	55.87	3.89	5.73	2.95	0.40	0.0649	0.0079	
	하향	80.75	30.75	30.25	50.25	3.59	4.61	2.52	0.26	0.0569	0.0056	
	가로	85.23	16.31	33.00	56.46	4.09	5.15	2.85	0.45	0.0759	0.0108	
	평균	86.10	18.80	31.97	54.19	3.86	5.16	2.77	0.37	0.0659	0.0081	

4. 종자전염 바이러스 무독화처리의 효과 검정

건열처리, 광선처리, 온탕처리 등과 같은 종자전염병균의 불활성화 기술은 각 처리를 통하여 종자활력의 유지와 바이러스의 불활성화라는 두 가지 요소를 함께 충족시켜야 하므로, 앞서 제시한 각 처리들이 종자활력에 미치는 영향에 대한 연구와 더불어 종자전염병균의 불활성화 정도를 파악할 수 있는 검정과 정도 필수적이다. 종자전염병균에는 해충, 선충, 진균, 세균, 바이러스와 같은 다양한 종류가 포함되어 있는데 이 중에서 가장 작은 단위이면서 불활성화가 가장 어려운 바이러스의 불활성화가 본 과제의 주된 내용이다.

현재 종자바이러스 진단 기술은 ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay) · HDLPAT(high density latex particle agglutination test) · RIPA(rapid immunofilter paper assay) · RIGS(rapid immuno gold strip test) · RT-PCR(reverse transcription-polymerase chain reaction) · TEM(transmission electron microscopy) · bioassay · NASBA(real-time nucleic acid sequence-based amplification) 등과 같이 수많은 검정기술이 개발되어 이용되어 지고 있는데, 현재까지 가장 확실한 검정방법으로 알려진 투과전자현미경(transmission electron microscopy; TEM) 검정과 생물검정(bioassay)으로 종자바이러스 불활성화 기술의 효능을 검정하였다.

가. 전자현미경을 이용한 CGMMV 입자 검정

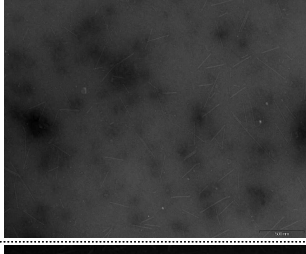
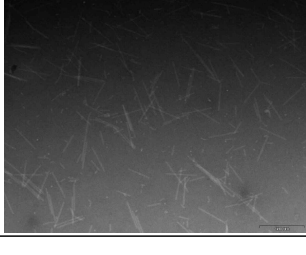
TEM(transmission electron microscopy) 검정은 <그림 1-47>과 같은 투과전자현미경을 이용한 검정방법으로 식물체 시료에 염색을 한 뒤 전자현미경 내에서 투과되는 전자들의 정도를 이미지화하여 바이러스의 실체를 직접 확인하는 검정방법이다. 바이러스 RNA의 분절(分切) 정도와 시료내의 분포 등을 직접적으로 확인 할 수 있으나, 시료의 전처리 단계에서의 숙련도가 매우 중요하다. 따라서 본 연구의 각각의 무독화 처리기술의 효능을 검정하기 위하여 CGMMV에 심하게 감염된 'FR Twist' 박 식물체의 잎을 채취하여 건조시킨 뒤, 다양한 CGMMV 불활성화 처리를 하였으며, 처리된 시료를 국립원예특작과학원에 의뢰하여 TEM 검정을 실시하여 <표 1-51>에서와 같은 결과를 얻었다.



<그림 1-47> 투과전자현미경

<표 1-51> TEM을 이용한 바이러스 무독화처리의 CGMMV 불활성화 검증

처 리	처리시간	결 과	TEM 검증 사진
무처리		분절된 CGMMV 입자 찾기 힘들	
건열처리	85℃ 48 시간	CGMMV 입자가 대부분 분절되었으며, 타처리와 현저한 차이를 보임	
건열처리	80℃ 48 시간	건열처리 85℃에 비하면 분절되지 않고 남아 있는 입자수가 상당수 관찰됨. 75℃와 분절정도가 다소 적거나 비슷하였음	
건열처리	75℃ 48 시간	CGMMV 입자가 절반 이상 부러졌으나 원상의 입자도 많이 관찰됨 (일반적으로 행하는 처리시간은 72시간임)	
건열처리	70℃ 48 시간	소수의 분절 CGMMV 입자가 관찰되었고 다수의 입자는 원형을 유지	
자외선 처리	A 150W 30 분	부러진 CGMMV 입자가 다수 발견되었음	

자외선 처리	C 75W	6 시간	자외선 B 처리보다 부러진 입자 많았으나 차이는 크지 않았음	
자외선 처리	B 40W	6 시간	약간만의 분절된 입자를 보였으나 무처리 수준과 비슷할 정도로 적게 분절됨	
온탕처리 (1:10)	65℃	30 분	온탕처리 60℃보다 부서진 입자가 다소 많았으나 전체적으로는 차이가 미미함	
온탕처리 (1:10)	60℃	30 분	거의 효과가 없는 수준임	
시판 항바이러스제 Bigvirus (1:10)	5g/L	1 시간	거의 효과가 없는 수준임	

나. 생물검정을 이용한 CGMMV 불활성 정도 검정

생물검정은 바이러스의 항혈청을 이용한 ELISA 분석이나 외피단백질 또는 복제효소 분석을 기초로 한 PCR 기반 분석 검정에 비하여 노지재배에 있어 복합적인 환경요인에 따른 바이러스의 활성 검정에 가장 적합한 진단 방법으로 권장되고 있다. 그러나 대부분의 이들 조기신속검정방법은 건열처리 등에 의해 바이러스가 불활성화 되더라도 양성반응으로 나타나므로 가장 정확한 최종적 결론은 역시 생물검정에 의존할 수밖에 없다. 또한 추가적으로 장기간의 검정기간, 노동력, 검정시기와 환경요인 제어 등과 같은 문제점도 가지고 있다.

본 연구에서는 CGMMV 무독화 처리기술의 최종적인 검정을 위하여 다양한 소재를 이용하여 생물검정을 실시하였다.

(1) 지표식물에 따른 CGMMV 병징 및 민감도 검정

(가) 지표식물 박, 담배, 오이를 이용한 생물검정

CGMMV 생물검정에 지표식물로 담배(*Nicotiana benthamiana*), 박, 오이, 명아주를 주로 이용하는 데 생물검정 기간의 효율성을 위하여 가장 적합한 지표식물 선발을 위하여 박, 오이, 담배를 후보 지표식물로 정하고, CGMMV에 심하게 감염된 박잎(FR Twist)을 실내 자연건조하여 접종원을 제작한 뒤, 무독화 처리기술을 적용한 뒤 지표식물에 접종하여 병징시기와 감염정도를 조사하였다<그림 1-48>.

무독화 처리로 일차적으로 건열처리와 자외선처리를 선행하였는데, 건열처리는 상한온도 75℃에서 48시간 동안 처리하였고, 자외선처리는 UV-A(365nm) 광선 150W 출력에서 6시간 조사시켜 처리하였으며, 처리된 시료는 접종 전까지 상온에서의 바이러스 변형을 막기 위하여 초저온고에 보관하였다. 접종원은 무독화 처리된 CGMMV 이병박 엽분말을 PBS buffer에 희석하여 10⁻¹, 10⁻³, 10⁻⁵, 10⁻⁷, 10⁻⁹으로 제작하였으며, 희석비율별로 박과 오이에 각각 5주에 접종하였고, 정식시기 및 접종시기가 늦어졌던 담배는 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵의 비율로 희석하여 각각 6주씩 접종하였다. 지표식물 박과 오이는 자엽이 모두 전개되고 본엽이 돌출되기 시작하는 시점에 자엽에 카보란덤으로 상처를 내어 접종하였으며, 담배의 경우 본엽이 4~5매 전개되었을 때 본엽 3매에 카보란덤으로 상처를 내어 접종하였다.

그 과정을 경시적으로 살펴보면 <표 1-52>에서 보는 바와 같이 박과 오이의 경우 파종 12일 후에 자엽이 모두 전개하고 본엽이 돌출되어 접종가능한 시점이 되었으며 병징발현이 육안으로 관찰가능한 시점은 파종 28일 후 전후였다. 박의 경우에는 잎에 얼룩이 생겨 병징을 파악하기가 용이하였던 것에 비하여 오이는 잎이 울퉁불퉁 하게 되거나 주름이 지는 등과 같은 병징을 보여 다른 생리적 이상과 구분하기가 쉽지 않았다. 담배는 파종 14일 이후에 정식하였으며 정식 26일 후 본엽 4~5매가 전개되어 접종가능한 시점이 되었고, 정식 44일 전후에 얼룩이 지거나 잎이 오그라드는 병징을 관찰할 수 있었다.

<표 1-52> CGMMV 접종 후 지표식물에 따른 주요 검정단계 대조표(겨울 기준)

지표식물	파종	정식	접종	최초 병징발현	최종조사
박	2009. 12. 30	-	2010. 01. 12. 파종 13일 후	2010. 01. 27. 파종 28일 후	2010. 02. 08. 파종 40일 후
오이	2009. 12. 30	-	2010. 01. 12. 파종 13일 후	2010. 01. 27. 파종 28일 후	2010. 02. 08. 파종 40일 후
담배	2009. 12. 30	2010. 01. 13 파종 14일 후	2010. 02. 28 파종 40일 후	2010. 02. 18. 파종 58일 후	2010. 03. 08. 파종 76일 후



박



오이



담배

<그림 1-48> 지표식물에 따른 CGMMV 병징

지표식물에 따른 CGMMV 생물검정 결과는 <표 1-53>와 같다.

앞서 언급한 바와 같이 오이나 담배보다 박에서 CGMMV 병징이 뚜렷하게 관찰되었으며, 10^{-7} 의 높은 희석배율에서도 병징이 관찰되었다. 건열처리와 UV-A 처리한 경우 무처리 접종원으로 접종한 것에 비하여 병징이 적게 관찰이 되었으며 특히 건열처리에서 병징이 나타난 개체가 적었다. 이와 같은 결과로 미루어 볼 때, 상업적으로 이용되고 있는 건열처리 방법인 상한온도 75℃에서 72 시간 처리한 것보다 48 시간의 적은 시간을 처리한 건열처리구에서도 CGMMV 활성을 감소시키는 것을 관찰할 수 있지만 100% 불활성화는 되지 않음을 확인하기에 이르러 차후 건열처리 적용에 중요한 자료로 활용되어야 할 것이다. 이 연구결과는 또한 본 연구 후미의 불활성화 기초이론 수립 연구로 속행되었다. 또한 UV-A의 처리시간을 150 W에서 6 시간만 조사하여 처리하였을 때 바이러스 입자의 분절이나 생물검정에 효과적이었기에 추후 연구에 소형 UV-A 1kW 조사장치를 추가 주문제작하여 활용하였다.

<표 1-53> 지표식물에 따른 CGMMV 생물검정 결과
(박과 오이 최종조사: 2010.02.08., 담배 최종조사: 2010.03.08.)

엽:용액 희석율 (w:w)	박-병징출현 개체수			오이-병징출현 개체수			엽:용액 희석율	담배-병징출현 개체수		
	무처리	건열 처리 ^z	UV-A 처리	무처리	건열 처리 ^z	UV-A 처리		무처리	건열 처리*	UV-A 처리
10^{-1}	5/5	3/5	5/5	5/5	1/5	5/5	10^{-1}	6/6	2/6	6/6
10^{-3}	5/5	3/5	5/5	5/5	0/5	5/5	10^{-2}	6/6	1/6	6/6
10^{-5}	5/5	0/5	2/5	1/5	0/5	0/5	10^{-3}	6/6	0/6	6/6
10^{-7}	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	10^{-4}	3/6	0/6	4/6
10^{-9}	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	10^{-5}	2/6	0/6	0/6

^z건열처리기간은 상한온도 75℃에서 통상적인 72 시간이 아니고 48 시간만 처리하였음.

(나) 박과 호박류를 지표식물로 이용한 생물검정

박이나 호박류와 같은 대목류는 같은 박과채소에 속하며 접수인 수박이나 참외, 멜론류에 비해 뿌리의 활력이 뛰어나고 병해충에 대한 내성이 높으며 과실의 품질을 극대화 시키는 등의 이점이 높기에 대목으로 활용에 적극 이용되고 있다. 또한 이들 대목류에 따라 병해충에 대한 내성에 차이가 나는데, 이 과제의 주요 대상인 CGMMV에 대한 민감도를 파악하기 위하여 박·신토좌호박·쥬키니호박·애호박에 CGMMV 이병박 엽분말 접종원을 접종하여 병징발현의 정도를 조사하였다.

접종원은 이전 생물검정 방법과 동일하게 CGMMV 이병박 엽분말을 PBS buffer와 혼합하여 10^{-1} 부터 10^{-10} 까지 10단계 희석배율로 희석하여 지표식물의 자엽이 전개되고 본엽이 돌출되기 시작하는 시점에 희석배율당 10개체에 일괄적으로 접종하였고 접종 4주 후에 병징조사와 함께, 처리구당 제2본엽과 제4본엽을 각각 2엽씩 채취하여 ELISA 검정을 실시하였다.

지표식물 4작물에 대한 생물검정 결과, ‘동장군’ 박에서만 CGMMV 병징이 파악되었고, 희석배율이 낮을수록 병징이 강하게 발현되는 경향을 보였으나, 나머지 신토좌호박, 쥬키니호박, 애호박에서는 뚜렷한 병징을 관찰할 수 없었다. 이는 수박이나 박에서는 CGMMV의 병징이 확실하게 발현되나, 호박류에서는 그 병징의 발현이 잘 이루어지지 않는다는 보고들과 유사한 결과를 보인 것으로 판단되었다. 그러나 ELISA 검정 결과, ‘동장군’ 박에서 10^{-6} 접종구에서도 한 개의 샘플이 양성결과를 보였고, 애호박을 제외한 쥬키니호박, 신토좌호박에서도 각각 3개, 1개의 샘플에서 양성결과를 보였다. 그리고 제2본엽이 제4본엽에 비하여 높은 O.D. 값을 보이는 경향이 있었는데, 병징은 제4본엽에서 더욱 강하게 나타나는 것과 대조적인 결과를 보였다.

<표 1-54> 지표식물 4작물에 대한 생물검정 결과

품종	희석율	A	B	C	C/B	C/A	품종	희석율	A	B	C	C/B	C/A
동장군 박	10 ⁻¹	10	24	52	2.17	5.20	쭈키니호박	10 ⁻¹	0	0	0	-	-
	10 ⁻²	9	27	70	2.59	7.78		10 ⁻²	0	0	0	-	-
	10 ⁻³	9	15	41	2.73	4.56		10 ⁻³	0	0	0	-	-
	10 ⁻⁴	8	15	36	2.40	4.50		10 ⁻⁴	0	0	0	-	-
	10 ⁻⁵	2	3	5	1.67	2.50		10 ⁻⁵	0	0	0	-	-
	10 ⁻⁶	0	0	0	-	-		10 ⁻⁶	0	0	0	-	-
	10 ⁻⁷	0	0	0	-	-		10 ⁻⁷	0	0	0	-	-
	10 ⁻⁸	0	0	0	-	-		10 ⁻⁸	0	0	0	-	-
	10 ⁻⁹	0	0	0	-	-		10 ⁻⁹	0	0	0	-	-
	10 ⁻¹⁰	0	0	0	-	-		10 ⁻¹⁰	0	0	0	-	-
신토좌호박	10 ⁻¹	0	0	0	-	-	애호박	10 ⁻¹	0	0	0	-	-
	10 ⁻²	0	0	0	-	-		10 ⁻²	0	0	0	-	-
	10 ⁻³	0	0	0	-	-		10 ⁻³	0	0	0	-	-
	10 ⁻⁴	0	0	0	-	-		10 ⁻⁴	0	0	0	-	-
	10 ⁻⁵	0	0	0	-	-		10 ⁻⁵	0	0	0	-	-
	10 ⁻⁶	0	0	0	-	-		10 ⁻⁶	0	0	0	-	-
	10 ⁻⁷	0	0	0	-	-		10 ⁻⁷	0	0	0	-	-
	10 ⁻⁸	0	0	0	-	-		10 ⁻⁸	0	0	0	-	-
	10 ⁻⁹	0	0	0	-	-		10 ⁻⁹	0	0	0	-	-
	10 ⁻¹⁰	0	0	0	-	-		10 ⁻¹⁰	0	0	0	-	-

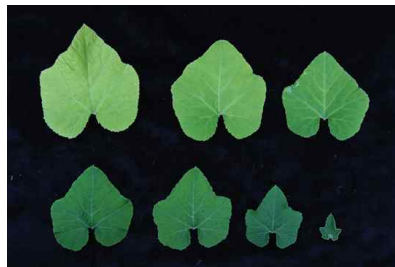
A: CGMMV 병징 발현 주수

B: 병징을 보이는 총 엽수

C: 병징정도(0: 병징없음, 1: 병징 의심 또는 약한 증상, 2: 중간정도의 병징, 3: 강한 병징)



'동장군' 박



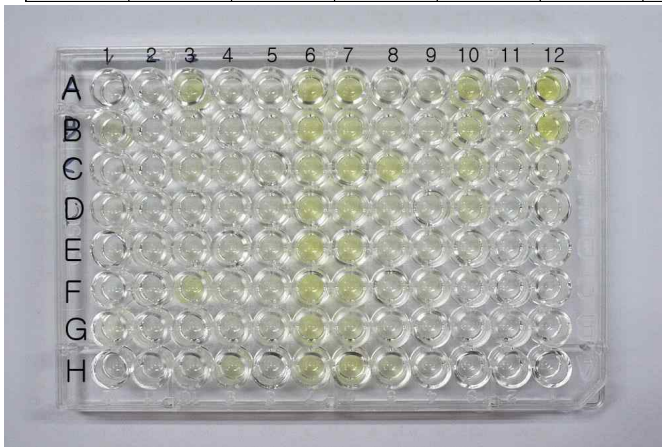
애호박



쭈키니호박

<그림 1-49> CGMMV 접종한 지표식물의 엽상태(희석율: 10⁻², 접종 4주 후)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	애호박 10 ⁻² -2nd -1	애호박 Cont-2nd -1	쭈키니 10 ⁻² -2nd -1	신토좌 10 ⁻² -2nd -1	신토좌 Cont-2nd -1	동장군 10 ⁻¹ -2nd -1	동장군 10 ⁻³ -2nd -1	동장군 10 ⁻⁵ -2nd -1	동장군 10 ⁻⁷ -2nd -1	접종원 10 ⁻¹	접종원 10 ⁻⁹	Positive
B	애호박 10 ⁻² -2nd -2	애호박 Cont-2nd -2	쭈키니 10 ⁻² -2nd -2	신토좌 10 ⁻² -2nd -2	신토좌 Cont-2nd -2	동장군 10 ⁻¹ -2nd -2	동장군 10 ⁻³ -2nd -2	동장군 10 ⁻⁵ -2nd -2	동장군 10 ⁻⁷ -2nd -2	접종원 10 ⁻²	접종원 10 ⁻¹⁰	Positive
C	애호박 10 ⁻² -4th -1	애호박 Cont-4th -1	쭈키니 10 ⁻² -4th -1	신토좌 10 ⁻² -4th -1	신토좌 Cont-4th -1	동장군 10 ⁻¹ -4th -1	동장군 10 ⁻³ -4th -1	동장군 10 ⁻⁵ -4th -1	동장군 10 ⁻⁷ -4th -1	접종원 10 ⁻³	접종원 10 ⁻¹¹	Negative
D	애호박 10 ⁻² -4th -2	애호박 Cont-4th -2	쭈키니 10 ⁻² -4th -2	신토좌 10 ⁻² -4th -2	신토좌 Cont-4th -2	동장군 10 ⁻¹ -4th -2	동장군 10 ⁻³ -4th -2	동장군 10 ⁻⁵ -4th -2	동장군 10 ⁻⁷ -4th -2	접종원 10 ⁻⁴	접종원 10 ⁻¹²	Negative
E	애호박 10 ⁻³ -2nd -1	쭈키니 Cont-2nd -1	쭈키니 10 ⁻³ -2nd -1	신토좌 10 ⁻³ -2nd -1	동장군 Cont-2nd -1	동장군 10 ⁻² -2nd -1	동장군 10 ⁻⁴ -2nd -1	동장군 10 ⁻⁵ -2nd -1	동장군 10 ⁻⁸ -2nd -1	접종원 10 ⁻⁵	접종원 10 ⁻¹³	Blank
F	애호박 10 ⁻³ -2nd -2	쭈키니 Cont-2nd -2	쭈키니 10 ⁻³ -2nd -2	신토좌 10 ⁻³ -2nd -2	동장군 Cont-2nd -2	동장군 10 ⁻² -2nd -2	동장군 10 ⁻⁴ -2nd -2	동장군 10 ⁻⁵ -2nd -2	동장군 10 ⁻⁸ -2nd -2	접종원 10 ⁻⁶	접종원 10 ⁻¹⁴	GEB 사용
G	애호박 10 ⁻³ -4th -1	쭈키니 Cont-4th -1	쭈키니 10 ⁻³ -4th -1	신토좌 10 ⁻³ -4th -1	동장군 Cont-4th -1	동장군 10 ⁻² -4th -1	동장군 10 ⁻⁴ -4th -1	동장군 10 ⁻⁵ -4th -1	동장군 10 ⁻⁸ -4th -1	접종원 10 ⁻⁷	접종원 10 ⁻¹⁵	GEB 미사용
H	애호박 10 ⁻³ -4th -2	쭈키니 Cont-4th -2	쭈키니 10 ⁻³ -4th -2	신토좌 10 ⁻³ -4th -2	동장군 Cont-4th -2	동장군 10 ⁻² -4th -2	동장군 10 ⁻⁴ -4th -2	동장군 10 ⁻⁵ -4th -2	동장군 10 ⁻⁸ -4th -2	접종원 10 ⁻⁸	접종원 10 ⁻¹⁶	PBST



<그림 1-50> 지표식물 4작물에 대한 ELISA 검정 결과

<표 1-55> 지표식물 4작물에 대한 CGMMV 생물검정 후 제 2,4분업 샘플에 대한 ELISA 검정 결과

품종	희석율	샘플	O.D. 값	품종	희석율	샘플	O.D. 값	품종	희석율	O.D. 값	
애호박 (0/8)	10 ⁻²	2nd	0.189	동장군 박 (18/32)	10 ⁻¹	2nd	0.897	접종원	10 ⁻¹	0.857	
		4th	0.148			4th	0.603		10 ⁻²	0.559	
	10 ⁻³	2nd	0.131		10 ⁻²	2nd	0.965		10 ⁻³	0.506	
		4th	0.196			4th	0.605		10 ⁻⁴	0.359	
	무접종	2nd	0.113		10 ⁻³	2nd	0.693		10 ⁻⁵	0.189	
		4th	0.095			4th	0.580		10 ⁻⁶	0.130	
	쭈키니 호박 (3/8)	10 ⁻²	2nd		0.468	10 ⁻⁴	2nd		0.594	10 ⁻⁷	0.126
			4th		0.179		4th		0.427	10 ⁻⁸	0.087
10 ⁻³		2nd	0.355	10 ⁻⁵	2nd	0.178	10 ⁻⁹	0.110			
		4th	0.144		4th	0.499	10 ⁻¹⁰	0.080			
무접종		2nd	0.144	10 ⁻⁶	2nd	0.139	10 ⁻¹¹	0.139			
		4th	0.147		4th	0.197	10 ⁻¹²	0.079			
신토좌 호박 (1/8)		10 ⁻²	2nd	0.140	10 ⁻⁷	2nd	0.161	10 ⁻¹³	0.082		
			4th	0.158		4th	0.114	10 ⁻¹⁴	0.119		
	10 ⁻³	2nd	0.155	10 ⁻⁸	2nd	0.158	10 ⁻¹⁵	0.134			
		4th	0.237		4th	0.148	10 ⁻¹⁶	0.085			
	무접종	2nd	0.167	무접종	2nd	0.152	Positive	2.141			
		4th	0.155		4th	0.117	Negative	0.175			
	PBST(washing buffer)		0.077	GEB3(general extract buffer3)		0.089	dH ₂ O(증류수)	0.084			

*접종원을 제외한 지표식물 샘플에 대한 O.D. 값은 샘플 2개체에 대한 평균값임.

(다) 박과채소작물 19종에 대한 CGMMV 생물검정 ELISA 검정

선행연구인 지표식물 4작물에 대한 생물검정 결과에 미루어 볼 때, 육안으로 관찰되는 병징이 없더라도 CGMMV 이병 가능성은 충분이 있다는 사실을 알 수 있었다. 따라서 박과채소작물의 범위를 더 넓혀 박과채소작물 19종에 대한 CGMMV 생물검정과 ELISA 검정을 실시하였다.

박과채소작물 19종의 파종은 2011년 4월 8일 실시하였고, 지표식물의 자엽이 전개되고 본엽이 돌출되는 시점인 2011년 4월 18일에 1차 접종을 실시하였고, 병징의 발현을 확실하게 하기 위하여 2011년 5월 3일에 2차 접종을 실시하였다.

접종 4주 후 병징을 관찰한 결과, 박을 포함하여 별오이·강대(대목용 수박)·이란멜론·수세미·오이에서 CGMMV 감염이 의심되는 병징을 확인하였는데<그림 1-52>, 병징이 뚜렷한 박에 비하여 그 병징의 양상이나 정도가 약하여 엽을 채취하여 ELISA 검정을 실시하였다.

19종 박과채소작물 생물검정 후 ELISA 검정을 실시한 결과, 생물검정시 병징이 의심되었던 오이·박·이란멜론·별오이·강대(대목용 수박)에서 양성반응이 나왔고, 수세미는 음성반응으로 나왔다. 그리고 병징을 관찰할 수 없었던 참외·멜론·쭈키니·단추호박·안동오이·동아도 ELISA 검정결과 양성반응으로 보였고, 또한 접종하지 않은 오이에서도 약한 양성반응을 보이기도 하였다. 앞의 실험에서 사용되었던 신토좌는 이번 생물검정 결과에서는 음성반응으로 나타났는데, 이는 앞의 실험에서 양성반응이 샘플 8개 중 1개의 샘플에서만 나왔는데 이번에는 적은 접종주수로 실험을 진행하였기에 양성반응을 보이지 않은 것으로 생각된다.

위의 결과를 종합하여 보면, CGMMV가 유전적 변화가 적고 높은 열에도 파괴되기 쉽지 않은 매우 안정적인 바이러스이므로 그 이병성 또한 매우 강할 것으로 판단되나, 다양한 박과채소작물에서의 생물검정을 통해 어느 정도의 내병성을 갖는 작물이 있음을 확인할 수 있었다. 그러나 적은 지표식물로 진행한 실험이므로 추가적인 후속 실험이 필요할 것으로 판단되었다.

<표 1-56> CGMMV 생물검정에 이용된 19종 박과채소작물

번호	품종	영명	학명	품종명	종자분양	포장년월
1	수박	Watermelon	<i>Citrullus lanatus</i>	SS꿀플러스	삼성	2011-03
2	애호박	Summer squash	<i>Cucurbita moschata</i>	진한 애호박	농우	2007-12
3	흑종호박	Figleaf gourd	<i>Cucurbita ficifolia</i>		흥농	2008-01
4	오이	Cucumber	<i>Cucumis sativus</i>	은성백다다기오이	흥농	1993-03
5	참외	Oriental melon	<i>Cucumis melo</i> var. <i>makuwa</i>	금싸라기은천참외	중앙	2003-01
6	멜론	Melon	<i>Cucumis melo</i>	VIP메론	신젠타	2009-02
7	박	Bottle gourd	<i>Lagenaria siceraria</i>	동장군	신젠타	2009-02
8	신토좌호박	Shintoza	<i>C. maxima</i> × <i>C. moschata</i>	조생도좌	신젠타	2009-12
9	쭈키니호박	Zucchini	<i>Cucurbita pepo</i> L.	쭈키니호박	신젠타	2010-10
10	홍도좌호박	Hongtoza	<i>Cucurbita</i> spp.	RS-111	신젠타	2008-01
11	단추호박	Pumpkin	<i>Cucurbita pepo</i>		국립원예특작과학원	2008-05
12	이란멜론	Iran melon, 'kahtooni'	<i>Cucumis inodorus</i>		KHATOONI	2008
13	쓴오이(여주)	Balsam pear	<i>Momordica charantia</i>		국립원예특작과학원	2008-05
14	별오이	Horned melon	<i>Cucumis metuliferus</i>		국립원예특작과학원	2008-05
15	안동오이	Bur cucumber	<i>Sicyos angulatus</i>		국립원예특작과학원	2008-05
16	강대(대목용 수박)	Watermelon	<i>Citrullus lanatus</i>		국립원예특작과학원	2008-05
17	수세미	Sponge gourd	<i>Luffa cylindrica</i>		국립원예특작과학원	2008-05
18	동아	White gourd	<i>Benincase hispida</i>		국립원예특작과학원	2008-05
19	단호박	Squash ?	<i>Cucurbita maxima</i>	메르헨 단호박	사카타	2008-02



<그림 1-51> 19종 박과채소종자

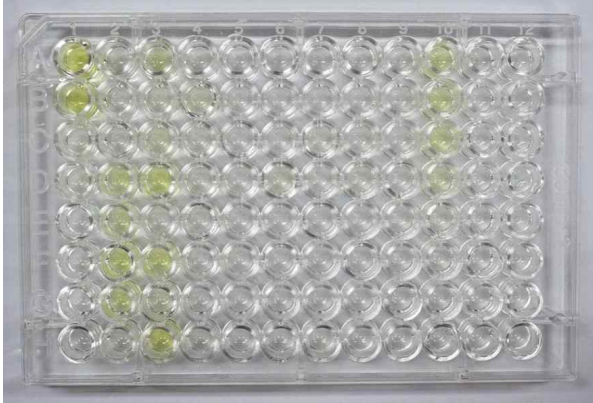


<그림 1-52> CGMMV 접종 후 병징 의심 개체

<표 1-57> 박과채소 19품종에 대한 CGMMV 접종 후 본엽 샘플에 대한 ELISA 검정 결과

품종	O.D. 값		병징의심 개체수
	무접종	접종	
수박	0.095	0.105	0/3
애호박	0.084	0.085	0/3
흑종호박	0.078	0.083	0/3
오이	0.217	0.760	1/3
참외	0.094	0.643	2/3
멜론	0.087	1.107	3/3
박	0.094	0.793	3/3
신토좌호박	0.104	0.122	0/3
쥬키니호박	0.087	0.565	0/3
홍도좌호박	0.087	0.177	0/3
단추호박	0.142	0.296	0/3
이란멜론	0.084	1.102	3/3
쓴오이	0.109	0.073	0/1
별오이	0.104	0.978	1/2
안동오이	0.093	0.240	0/1
강대(대목용 수박)	0.125	1.274	3/3
수세미	0.076	0.125	2/2
동아	0.133	0.261	0/3
단호박	0.108	0.106	0/3
Positive	2.141	GEB3	0.089
Negative	0.175	dH ₂ O	0.084
PBST	0.077	Blank	0.082

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Positive	수박	쭈키니	수세미		수박 cont	쭈키니 cont	수세미 Cont		접종원 10-1	접종원 10-9	
B	Positive	애호박	홍토좌	동아		애호박 Cont	홍토좌 cont	동아 Cont		접종원 10-2	접종원 10-10	
C	Negative	흑종호박	단추호박	단호박		흑종호박 Cont	단추호박 cont	단호박 Cont		접종원 10-3	접종원 10-11	
D	Negative	오이	이란멜론	홍토좌-2		오이 Cont	이란멜론 Cont	오이-2 Cont		접종원 10-4	접종원 10-12	
E	PBST	참외	쓴오이			참외 Cont	쓴오이 cont			접종원 10-5	접종원 10-13	
F	GEB3 사용	멜론	C.metu			멜론 Cont	C.metu cont			접종원 10-6	접종원 10-14	
G	GEB3 미사용	박	안동오이			박 Cont	안동오이 cont			접종원 10-7	접종원 10-15	
H	dH ₂ O	신토좌	강대			신토좌 cont	강대 cont			접종원 10-8	접종원 10-16	



<그림 1-53> 19종 박과채소작물의 CGMMV 생물검정 후 본엽 샘플에 대한 ELISA 검정 결과

(2) 무처리 CGMMV 이병박 엽분말의 바이러스 활성과 ‘동장군’ 박에 대한 민감도 파악

선행연구에서와 같이 지표식물 박, 오이, 담배 중에서 박의 CGMMV에 대한 민감도가 가장 높고, 병징파악이 용이하며, 검정기간도 상대적으로 짧았기에 앞으로 진행될 CGMMV 무독화 처리 생물검정의 지표식물을 박으로서 설정하였다. 그리고 접종원으로 이용하는 CGMMV에 심각하게 감염되었던 박에서 채취한 건조된 박 엽분말의 바이러스 활성 정도를 파악하고, 접종원을 PBS buffer에 희석한 후 바로 접종한 것과 하루밤동안 냉장보관한 후 접종한 것의 차이를 비교하기 위한 생물검정을 실시하였으며 그 결과는 <표 1-58>과 같다.

지표식물은 보유하고 있는 무처리종자 중 발아력이 좋고 건전유묘 출현이 우수하며 무병종자인 ‘동장군’ 박 품종을 작은 비닐 포트 당 1립씩 파종한 뒤, 자엽이 모두 전개된 뒤 본엽이 돌출되기 시작한 파종 7일 후(2010년 3월 23일)에 접종하였다. 접종원은 CGMMV 이병박 엽분말을 PBS buffer에 희석하여 10^{-1} 에서부터 10^{-10} 까지 제작하였으며, 희석비율별로 각각 10주씩 ‘동장군’ 자엽에 카보란덤으로 상처를 낸 뒤 접종하였다. 최종 병징조사는 접종일로부터 31일 후에 실시하였다.

무처리 CGMMV 이병박 엽분말 접종원을 제작한 후 바로 접종한 것과 1일 후에 접종한 결과, 낮은 희석비율에서 병징이 나타나는 개체수와 병징의 발현정도가 높은 경향을 보였는데, 10^{-10} 의 매우 높은 희석비율로 접종한 개체에서도 병징이 발현되었다. 특히 바로 접종한 처리구의 10^{-10} 희석율로 접종한 10개체 중에 5개의 개체에서 병징이 발현되었다. 그리고 바로 접종구와 1일 후 접종구 사이에서 병징의 발현정도는 큰 차이를 보이지 않았으나, 병징이 발현된 엽수와 병징의 정도를 점수로 환산하여 평가한 결과에서 바로 접종한 경우 다소 높게 나타났다.

위의 결과를 종합하여 볼 때, 심하게 감염된 잎의 경우 이를 100억배로 희석하여 접종하더라도 병징이 발현될 수 있는 질병이자 고농도임을 확인하기에 이르렀고 이러한 사실은 발병포장에 후작물을 심을 때 적극적으로 고려하지 않으면 비록 무병 종자를 사용하거나 무병 건전묘를 사용하더라도 성공적인 재배를 할 수 없음을 명백하게 지적해 주고 있다.

<표 1-58> 무처리 CGMMV 이병박 엽분말 접종원 생검결과(접종: 2010.03.23~24, 최종조사: 2010.04.23~24.)

희석율	병징출현 개체수		병징발현 엽수		병징점수 합계	
	바로 접종	1일 후 접종	바로 접종	1일 후 접종	바로 접종	1일 후 접종
10 ⁻¹	10/10	9/10	34	29	57	46
10 ⁻²	10/10	10/10	28	24	39	41
10 ⁻³	10/10	10/10	21	25	29	44
10 ⁻⁴	5/10	7/10	6	7	10	7
10 ⁻⁵	7/10	3/10	9	4	9	4
10 ⁻⁶	5/10	8/10	9	13	14	18
10 ⁻⁷	2/10	9/10	4	13	7	17
10 ⁻⁸	4/10	4/10	7	4	11	4
10 ⁻⁹	2/10	3/10	2	3	2	3
10 ⁻¹⁰	5/10	1/10	9	1	13	1
합계	60/100	64/100	129	123	191	186

병징점수 = 무병징 : 0점, 감염의심 : 1점, 미미한 증세 : 2점, 심각한 증세 : 3점

(3) 건열처리된 CGMMV 이병박 엽분말의 생물검정

상기 실험에서 보는 바와 같이 CGMMV 이병박 엽분말을 건열처리 시 CGMMV 활성을 효과적으로 억제시킬 수 있음이 확인되었다. 이에 따라 상업적으로 이용되는 건열처리효과를 생물검정을 통하여 확인하고, 건열처리 시 다양한 상한온도에 따른 박과채소 종자의 발아력과 유묘소질에 미치는 효과를 CGMMV 활력에 건열처리가 미치는 효과와 연관시키기 위하여, 다양한 건열처리 상한온도 하에서 CGMMV 이병박 엽분말을 건열처리한 후 생물검정을 실시하였다.

지표식물로 ‘동장군’ 박을 이용하였으며 파종 14일 후(2010년 6월 15일; 강우 및 흐린 날 지속으로 인한 기상악화로 인하여 생육지연)에 이전 실험과 동일한 방법으로 접종하였다. 접종원은 상한온도 75℃, 80℃, 85℃, 90℃에서 72 시간 건열처리한 뒤, 10⁻¹에서 10⁻¹⁰ 까지 10배 단위로 희석하여 각각 10주씩 접종하였다.

CGMMV 이병박 엽분말로 생물검정한 결과 무처리구에서는 모든 개체수가 감염증세를 보였으나, 상한온도 75℃, 80℃, 85℃, 90℃에서 72 시간 건열처리된 CGMMV 이병박 엽분말로 접종한 처리구에서는 전혀 감염증세가 나오지 않았다<표 1-59>.

위의 결과를 종합하여 보면, 건열처리가 CGMMV 불활성화에 매우 효과적이며, 이전의 상한온도 75℃에서 48 시간 처리된 경우 어느 정도 감염 증세가 나온 결과와 비교해 볼 때, 건열처리시 상한온도 지속시간 또는 처리 적산온도에 의한 바이러스 불활성화 효과로 예상하여 볼 수 있으며, 이에 대해서는 좀 더 세밀한 지속시간 및 상한온도 조절을 통한 바이러스 불활성화 생물검정과 체계적인 불활성화 이론 확립이 필요할 것으로 판단되었다.

<표 1-59> 건열처리된 CGMMV 이병박 엽분말 생물검정 결과(접종: 2010.06.15., 최종조사: 2010.07.06.)

희석율	무처리	건열처리*~병징출현 개체수			
	병징출현개체수	상한온도 75℃	상한온도 80℃	상한온도 85℃	상한온도 90℃
10 ⁻¹	10/10	0/10	0/10	0/10	0/10
10 ⁻²	-	0/10	0/10	0/10	0/10
10 ⁻³	-	0/10	0/10	0/10	0/10
10 ⁻⁴	-	0/10	0/10	0/10	0/10
10 ⁻⁵	-	0/10	0/10	0/10	0/10
10 ⁻⁶	-	0/10	0/10	0/10	0/10
10 ⁻⁷	-	0/10	0/10	0/10	0/10
10 ⁻⁸	-	0/10	0/10	0/10	0/10
10 ⁻⁹	-	0/10	0/10	0/10	0/10
10 ⁻¹⁰	-	0/10	0/10	0/10	0/10

*건열처리는 각각의 상한온도에서 72 시간 처리하였음.

(4) 감마선 처리된 CGMMV 이병박 엽분말 생물검정

감마선 처리의 CGMMV 불활성화에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 2010년 6월 28일 정읍 방사선 연구소에서 CGMMV 이병박 엽분말에 감마선을 조사시켜 생물검정과 함께 ELISA test 실시하였고 그 결과는 <표 1-60>, <표 1-61>과 같다.

지표식물은 ‘동장군’ 박을 이용하였으며, 접종원은 CGMMV 이병박 엽분말에 감마선을 각각 150 Gy, 250 Gy, 500 Gy, 1000 Gy, 2000 Gy로 조사시켰으며, 엽분말을 PBS buffer에 희석하여 10⁻¹에서 10⁻¹⁰ 까지 10배 단위로 희석하여 각각 5주씩 접종하였다. 150 Gy와 250 Gy 처리구는 자엽이 모두 전 개되고 본엽이 돌출되기 시작한 과중 10일 후(2010년 7월 20일)에, 500 Gy, 1000 Gy, 2000 Gy 처리구는 2010년 8월 9일에 카보란덤으로 자엽에 상처를 내어 접종하였고, 각각 접종 3주 후에 최종조사 하였다.

ELISA 검정은 생물검정 최종조사 때 각 개체에서 병징이 가장 강하게 나타났던 4본엽을 채취해 초 저온고 보관하였다가 2011년 1월 13일 실시하였다. ELISA 검정은 (주)기산바이오텍에서 제공하는 DAS ELISA 방법에 따라 진행하였다. 샘플에서의 바이러스 추출은 잎의 생체중 0.1 g을 채취하여 2 mL 튜브에 넣어 액체질소에 얼린 뒤 추출버퍼(GEB3, general extraction buffer 3) 1 mL과 쇠구슬을 추가로 넣어 vortex 마쇄한 뒤, 하루 동안 냉장고에 두어 추출하였다.

감마선 처리된 CGMMV 이병박 엽분말 생물검정 결과를 살펴보면, 총선량이 증가할수록 희석율의 증가와 함께 병징을 보이는 개체수가 감소하였고, ELISA 결과도 생물검정과 동일한 결과를 보였다. 이와 같은 결과로 미루어 볼 때, 감마선 처리가 CGMMV 활성 억제에 대한 효과를 인정할 수 있을 것으로 판단되었다. 그러나 감마선 처리된 박과 호박의 묘소질 평가에서 1000 Gy 이상의 선량에서 묘소질이 상당히 악화된 결과로 비추어 볼 때, 건진묘 생산을 위한 박 또는 호박 종자의 감마선 조사 선량의 적절한 조정이 필요할 것으로 판단되었다. 다만 식물체에 피해증상을 보이지 않는 처리선량에서는 CGMMV가 완전하게 불활성화 되지 않은 것이 확인되기에 이르러 방사선 단독처리만으로는 종자전염 CGMMV의 불활성화에는 부적합하다고 판단되었다.

<표 1-60> 감마선 처리된 CGMMV 이병박 엽분말 생물검정 결과
 150, 250 Gy; 접종: 2010.07.20., 최종조사: 2010.08.10.
 500, 1000, 2000 Gy; 접종: 2010.08.09, 최종조사: 2010.08.30.

희석율	감마선처리-병징출현 개체수				
	150 Gy	250 Gy	500 Gy	1000 Gy	2000 Gy
10 ⁻¹	5/5	5/5	3/5	5/5	5/5
10 ⁻²	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
10 ⁻³	5/5	5/5	5/5	4/5	2/5
10 ⁻⁴	5/5	3/5	1/5	0/5	0/5
10 ⁻⁵	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5

<표 1-61> 감마선 처리된 CGMMV 이병박 엽분말 ELISA 검정 결과
 (샘플채취: 2010.08.10.(150, 250 Gy), 2010.08.30.(500, 1000, 2000 Gy), ELISA test: 2010.01.13.)

처리	희석율	생검양성 반응	양성 O.D. 값 평균	음성 O.D. 값 평균	처리	희석율	생검양성 반응수	양성 O.D. 값 평균	음성 O.D. 값 평균
150	10 ⁻¹	5/5	1.449	-	1000	10 ⁻¹	5/5	1.686	-
	10 ⁻²	5/5	1.542	-		10 ⁻²	5/5	1.278	-
	10 ⁻³	5/5	1.613	-		10 ⁻³	4/5	1.132	-
	10 ⁻⁴	5/5	1.831	-		10 ⁻⁴	0/5	-	0.074
	10 ⁻⁵	1/5	1.670	0.240		10 ⁻⁵	0/5	-	0.078
250	10 ⁻¹	5/5	1.592	-	2000	10 ⁻¹	5/5	1.138	-
	10 ⁻²	5/5	1.565	-		10 ⁻²	5/5	0.942	-
	10 ⁻³	5/5	1.681	-		10 ⁻³	2/5	1.311	0.170
	10 ⁻⁴	3/5	1.846	0.248		10 ⁻⁴	0/5	-	0.073
	10 ⁻⁵	0/5	-	0.112		10 ⁻⁵	0/5	-	0.081
500	10 ⁻¹	5/5	1.380	-	Control	접종	5/5	1.582	-
	10 ⁻²	5/5	1.619	-		무접종	0/5	-	0.162
	10 ⁻³	5/5	1.889	-		Positive	6/6	2.305	-
	10 ⁻⁴	1/5	-	0.256		Negative	0/6	-	0.078
	10 ⁻⁵	0/5	2.056	0.218		Blank	0/2	-	0.065
PBST buffer	0/3	-	0.063	GEB3	0/3	-	0.070		

(5) 자외선 A로 처리된 CGMMV 이병박 엽분말의 생물검정

종자전염 바이러스 무독화를 위한 건열처리 이외의 방제기술 개발 계획에 따라 과제 1년차에 자외선, 감마선, microwave, 온탕처리 등을 실시한 결과, 몇 가지 처리구에서는 종자활력의 감소를 최소화한 적정처리수준을 확립하였다. 그 중에서 바이러스에 심각하게 감염된 'FR-Twist' 박에서 채취한 감염 박잎을 이용하여 바이러스 무독화 방제 처리를 실시한 결과, 자외선(특히, UV-A) 처리를 통해 바이러스 입자의 분절효과를 전자현미경으로 확인하였고, 생물검정을 통해서도 바이러스 무독화 가능성을 확인하였다. 따라서 UV-A의 효과를 극대화시키기 위하여 2009년 10월 19일 (주)LKTEC에서 UV-A 1kW 고압수은램프를 장착한 소형 UV-A 처리기기를 추가 주문제작하여 종자 및 CGMMV 이병박 엽분말 처리를 실시하였다.



<그림 1-54> 소형 자외선 처리장치(좌측부터 UV-A, UV-B, UV-C)

<표 1-62> 소형 자외선 처리장치 상세정보

Item	Description		
	UV-A	UV-B	UV-C
UV Lamp Spec.	UV-A	UV-B	UV-C
UV Lamp Q' TY	1 SET (A TYPE)	2 SET (B TYPE)	3 SET (C TYPE)
Module Capacity	1kW (A TYPE)	20W (B TYPE)	25W (C TYPE)
UV System Total Capacity	1kW (A TYPE)	40W (B TYPE)	75W (C TYPE)
Light wave length pick	340-460 nm	300-310 nm	252-270 nm

UV-A 처리장치의 경우 램프전력은 1kW이고 극간거리가 10cm인 고압수는 UV램프(high pressure mercury UV lamp)를 사용하였는데, 365nm 파장대의 자외선을 풍부하게 방사하는 램프이지만, 고압수는 UV램프의 특성상 자외선을 발생시키기 위한 메커니즘으로 입력 에너지의 70~80%에 해당하는 열이 발생하므로, 샘플을 처리하는데 있어 높은 열로 인한 피해가 우려된다. 따라서 UV-A 1kW 처리장치를 켜놓고 약 두 시간 뒤에 적외선 온도계(Infrared thermometer AR842A, China)를 이용하여 내부온도를 측정하였다.

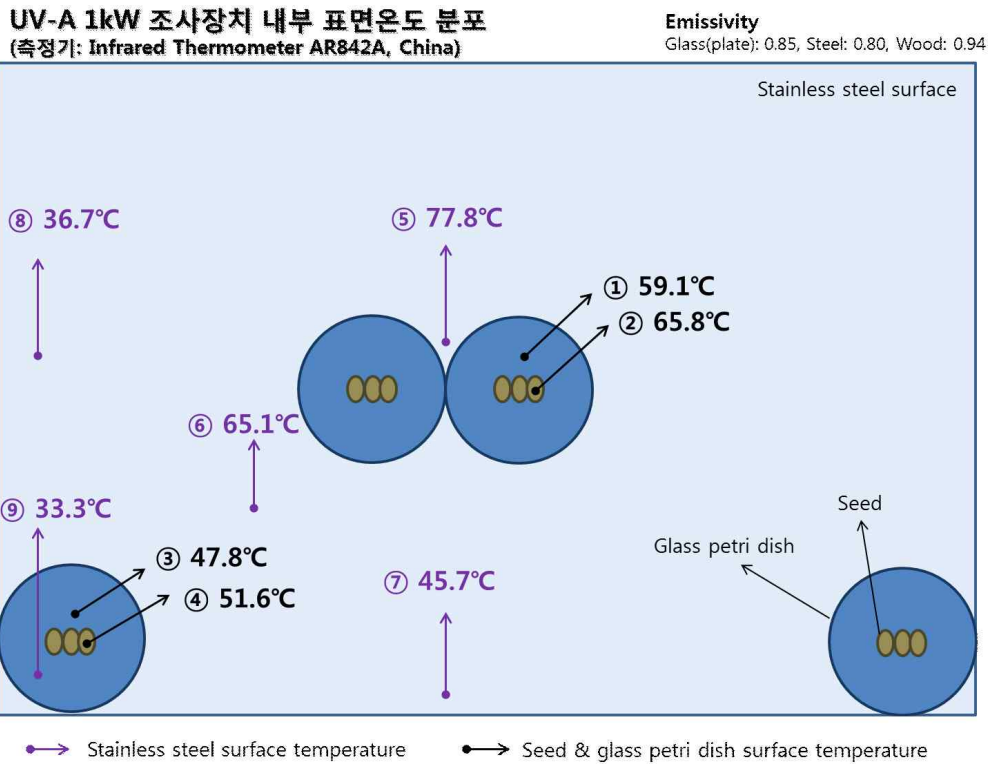
UV-A 램프에서 처리장치 바닥과의 직선거리는 30cm로, 스테인리스스틸 표면의 방사율 0.80으로 설정하여 측정한 결과, 77.8℃~33.3℃의 온도 분포를 보였고, 방사율 0.94로 설정한 종자샘플의 표면온도는 65.8℃~51.6℃의 온도 분포를 보였다. 이어서 UV-A 램프로부터 12cm 거리에 A4용지를 올려놓고 방사율을 0.94로 설정하여 측정한 결과, UV-A 램프에 가장 근접한 위치에서 115~119℃의 표면온도를 보였고, 가장 낮은 부분은 60~66℃로 UV-A 램프와의 거리에 따라 큰 온도차를 보였다.

샘플의 UV 처리는 램프와의 거리가 가까울수록 자외선의 처리효과가 커지기 때문에, 샘플의 온도상승이 허용되는 범위 내에서 최대한 근접하여 처리하는 것이 효과적이므로, 채소종자에 UV-A 1kW 램프로 자외선 처리 시 표면온도측정과 묘 출현검정을 통해 허용 범위를 조사하였다.

먼저 UV-A 조사가 종자발아에 미치는 영향을 조사하기 위하여 UV-A 램프로부터 12cm 거리에 호박, 박, 고추, 배추 종자를 배치하여 표면온도를 측정하였고<표 1-62>, UV-A 램프로부터 각각 12cm, 30cm 거리에서 24 시간 처리된 채소종자들을 파종상에 파종하여 출현정도를 살펴보았다<그림 1-55>.

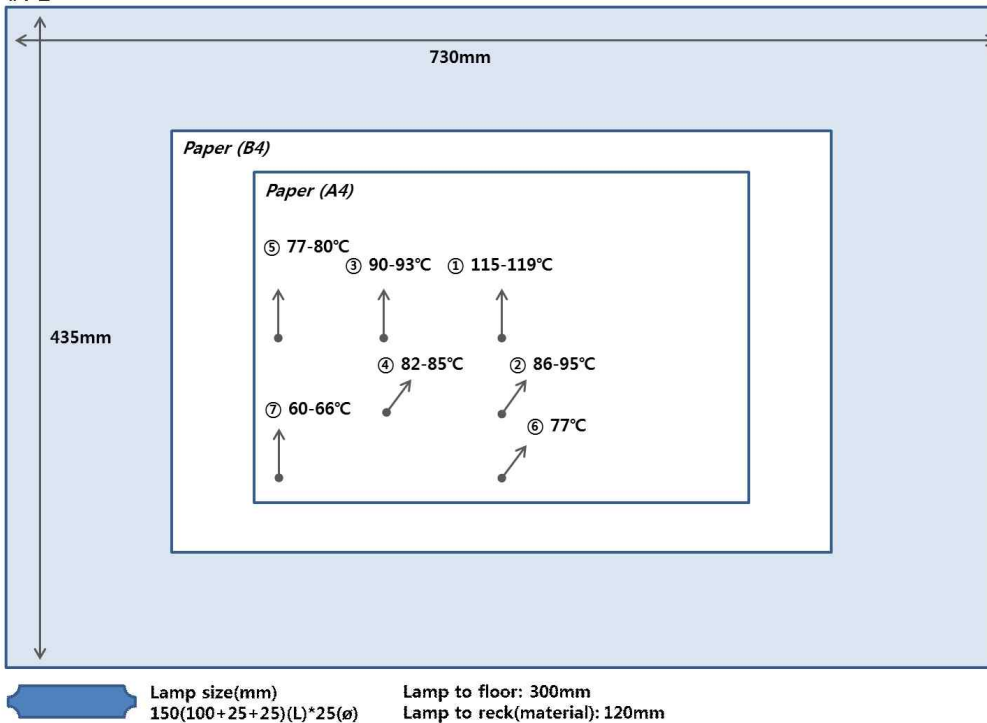
UV-A 램프와의 거리가 12cm일 경우, 코팅된 고추종자의 평균표면온도가 81.28℃로 가장 높았으며 호박, 박, 배추 종자의 경우, 각각 74.72, 70.35, 74.80℃로 타나났다. 실제 파종상에 파종하였을 때에는 가장 가까운 거리였던 12cm 거리에서 24 시간 처리한 경우 표면온도가 가장 높았던 고추의 출현율이 무처리구의 91.67%에 비해 자외선 처리구는 56.94%로 가장 낮아졌고, 박과 호박의 경우도 각각 68%와 66%로 출현율이 심하게 떨어졌다.

그러나 30cm 거리에서 24 시간 처리한 경우에는 무처리구에 비하여 다소 출현율이 떨어졌으나 큰 차이를 보이지 않았다<그림 1-57><표 1-63>.



<그림 1-55> UV-A 1kW 조사장치 내부 표면온도 분포 (광원으로부터 30cm 거리)

표면온도 측정치(광원과의 거리=12cm)
내부온도: 37°C



<그림 1-56> UV-A 1kW 조사장치 내부 표면온도 분포 (광원으로부터 12cm 거리)

<표 1-63> UV-A 1kW처리기기 박과채소 종자의 표면온도

작물	측정횟수	최고온도	최저온도	평균 ± 표준편차
호박	26	85.0	66.0	74.72 ± 6.2
박	15	76.2	58.8	70.35 ± 5.3
고추(코팅종자)	8	94.4	76.0	81.28 ± 5.7
배추	3	75.0	74.4	74.80 ± 0.3



광원과의 거리 12cm



광원과의 거리 30cm

<그림 1-57> UV-A 1kW 처리된 채소종자의 출현상태 비교(좌측이 UV-A 1kW 24 시간 처리구, 우측이 무처리구)

<표 1-64> UV-A 1kW 24 시간 처리된 채소종자의 최종 출현율(%)

작물	광원과의 거리 12cm		광원과의 거리 30cm	
	무처리	자외선 처리	무처리	자외선 처리
고추	91.67	56.94	97.22	93.06
배추	94.44	91.67	98.61	97.22
박	100.00	68.00	98.61	97.22
호박	100.00	66.00	100.00	100.00

상기와 같이 주문제작한 UV-A 처리장치를 이용하여 30cm 거리에서 처리할 경우 채소종자에서 자외선처리 피해가 거의 없음을 확인하였고, 이어서 UV-A 처리장치를 통한 CGMMV 무독화 효과를 검증하기 위하여 아래와 같은 일련의 생물검정을 실시하였고 그 결과는 <표 1-65>와 같다.

지표식물은 이병성이 강하고 병징의 발현이 확실한 전신감염주인 ‘동장군’ 박을 이용하였고, 접종원은 CGMMV 이병박 엽분말(FR-Twist)을 UV-A 1kW 조사장치내의 UV 램프와의 직선거리를 각각 12cm와 30cm로 배치하여 처리한 후, 접종원과 PBS buffer의 중량비를 1:10으로 시작하여 10^{-1} 에서부터 10^{-10} 까지 10 배 단위로 희석한 접종원을 만들어, 지표식물인 ‘동장군’ 박의 자엽이 전개된 후 본엽이 돌출되는 시점에 자엽에 카보란덤으로 상처를 낸 뒤 일괄적으로 접종하였다. 병징조사는 기상조건에 따라 병징 최적 발현시기가 다소 차이가 남에 따라 접종 후 2주 또는 4주 후에 최종조사하였다.

UV-A 1kW 램프와의 거리를 12cm로 조정하여 6시간, 1일, 3일, 5일 처리한 1차 생물검정에서는 24시간 처리구 10^{-3} 에서 1개의 지표식물에서 병징이 발견되었다. 이어서 3시간, 6시간, 12시간, 24시간으로 세분화하여 처리한 2차 생물검정에서는 12시간 처리구까지는 병징이 발견된 개체가 없었으나, 6시간과

3시간 처리구에서는 각각 16개체, 32개체에서 병징이 발견되었다.

UV-A 1kW 램프와의 거리를 30cm로 조정하여 3시간, 6시간, 12시간, 24시간으로 처리한 1차 생물검정에서는 각각 2개체, 15개체, 21개체, 23개체에서 병징이 발견되었다. 추가로 실시한 2차 생물검정은 2일, 3일, 5일, 7일 동안 처리한 접종원으로 실시하였는데, 모든 개체에서 병징이 발견되지 않았다.

그리고 UV-A 1kW 조사장치로 30cm 거리에서 처리된 접종원으로 ELISA 검정을 실시한 결과, 희석배율이 높아짐에 따라, 또한 처리시간이 늘어남에 따라 O.D. 값은 감소하는 경향을 보여 바이러스 활성의 감소를 간접적으로 제시하기도 하였다(데이터 생략).

위의 결과를 종합하여 볼 때, UV-A 1kW 처리장치로 CGMMV 이병박 엽분말을 처리하여 생물검정을 통하여 CGMMV의 활성을 검정한 결과, 광원과의 거리를 12cm 또는 30cm로 처리할 경우, 각각 최소 12 시간이상과 48 시간이상 처리함으로써 CGMMV의 불활성화가 가능함을 알 수 있었다. 그러나 이러한 결과는 이병엽 샘플로 UV-A를 처리하여 실험한 결과이므로 가지과나 배추과, 그리고 미나리과 종자에는 적용될 수 있겠지만 대립종자로 구성된 박과채소에서는 추후의 다양한 추가 실험이 요청된다.

<표 1-65> UV-A 처리된 CGMMV 이병박 엽분말의 생물검정

처리시간	희석율	광원과의 거리			처리시간	희석율	광원과의 거리		
		12cm (1차)	12cm (2차)	30cm (1+2차)			12cm (1차)	12cm (2차)	30cm (1+2차)
7 days	10 ⁻¹	-	-	0/10	24 hrs	10 ⁻¹	0/10	0/10	1/10
	10 ⁻²	-	-	0/10		10 ⁻²	0/10	0/10	0/10
	10 ⁻³	-	-	0/10		10 ⁻³	1/10	0/10	1/10
	10 ⁻⁴	-	-	0/10		10 ⁻⁴	0/10	0/10	0/10
	10 ⁻⁵	-	-	0/10		10 ⁻⁵	0/10	0/10	0/10
	10 ⁻⁶	-	-	0/10		10 ⁻⁶	0/10	0/10	0/10
	10 ⁻⁷	-	-	0/10		10 ⁻⁷	0/10	0/10	0/10
	10 ⁻⁸	-	-	0/10		10 ⁻⁸	0/10	0/10	0/10
	10 ⁻⁹	-	-	0/10		10 ⁻⁹	0/10	0/10	0/10
	10 ⁻¹⁰	-	-	0/10		10 ⁻¹⁰	0/10	0/10	0/10
5 days	10 ⁻¹	0/10	-	0/10	12 hrs	10 ⁻¹	-	0/10	8/10
	10 ⁻²	0/10	-	0/10		10 ⁻²	-	0/10	4/10
	10 ⁻³	0/10	-	0/10		10 ⁻³	-	0/10	3/10
	10 ⁻⁴	0/10	-	0/10		10 ⁻⁴	-	0/10	0/10
	10 ⁻⁵	0/10	-	0/10		10 ⁻⁵	-	0/10	0/10
	10 ⁻⁶	0/10	-	0/10		10 ⁻⁶	-	0/10	0/10
	10 ⁻⁷	0/10	-	0/10		10 ⁻⁷	-	0/10	0/10
	10 ⁻⁸	0/10	-	0/10		10 ⁻⁸	-	0/10	0/10
	10 ⁻⁹	0/10	-	0/10		10 ⁻⁹	-	0/10	0/10
	10 ⁻¹⁰	0/10	-	0/10		10 ⁻¹⁰	-	0/10	0/10
3 days	10 ⁻¹	0/10	-	0/10	6 hrs	10 ⁻¹	0/10	2/10	6/9
	10 ⁻²	0/10	-	0/10		10 ⁻²	0/10	6/10	8/10
	10 ⁻³	0/10	-	0/10		10 ⁻³	0/10	7/10	7/10
	10 ⁻⁴	0/10	-	0/10		10 ⁻⁴	0/10	1/10	0/10
	10 ⁻⁵	0/10	-	0/10		10 ⁻⁵	0/10	0/10	0/10
	10 ⁻⁶	0/10	-	0/10		10 ⁻⁶	0/10	0/10	0/10
	10 ⁻⁷	0/10	-	0/10		10 ⁻⁷	0/10	0/10	0/10
	10 ⁻⁸	0/10	-	0/10		10 ⁻⁸	0/10	0/10	0/10
	10 ⁻⁹	0/10	-	0/10		10 ⁻⁹	0/10	0/10	0/10
	10 ⁻¹⁰	0/10	-	0/10		10 ⁻¹⁰	0/10	0/10	0/10
2 days	10 ⁻¹	-	-	0/10	3 hrs	10 ⁻¹	-	8/10	7/10
	10 ⁻²	-	-	2/10		10 ⁻²	-	9/10	9/9
	10 ⁻³	-	-	0/10		10 ⁻³	-	10/10	7/10
	10 ⁻⁴	-	-	0/10		10 ⁻⁴	-	3/10	0/10
	10 ⁻⁵	-	-	0/10		10 ⁻⁵	-	2/10	0/10
	10 ⁻⁶	-	-	0/10		10 ⁻⁶	-	0/10	0/10
	10 ⁻⁷	-	-	0/10		10 ⁻⁷	-	0/10	0/10
	10 ⁻⁸	-	-	0/10		10 ⁻⁸	-	0/10	0/10
	10 ⁻⁹	-	-	0/10		10 ⁻⁹	-	0/10	0/10
	10 ⁻¹⁰	-	-	0/10		10 ⁻¹⁰	-	0/10	0/10
Non- treated	10 ⁻¹	5/5	-	10/10	Non- treated	10 ⁻⁶	-	-	1/10
	10 ⁻²	5/5	-	10/10		10 ⁻⁷	-	-	1/10
	10 ⁻³	5/5	-	9/10		10 ⁻⁸	-	-	1/10
	10 ⁻⁴	3/5	-	0/10		10 ⁻⁹	-	-	0/10
	10 ⁻⁵	3/5	-	0/10		10 ⁻¹⁰	-	-	0/10

광원과의 거리 12cm: 1차 생검 접종일: 2011.04.18. 2차 생검 접종일: 2011.06.01.
 광원과의 거리 30cm: 1차 생검 접종일: 2011.07.19. 2차 생검 접종일: 2011.08.24

(6) 접목료에서의 CGMMV 생물검정

흑종호박과 같은 CGMMV 내병성 대목을 이용시 대목과 접수간에 단순 이동을 제외한 대목내에서의 CGMMV 복제는 이루어지지 않는다는 보고(최국선 외 4인, 2009)에 따라 CGMMV 저항성과 민감성 접수와 대목간의 접목시, CGMMV 전이양상을 확인하고자 아래와 같은 실험을 진행하였다.

공시재료로 CGMMV 병징을 확실하게 보이고 있는 ‘동장군’ 박을 민감성 품종으로, 시중에 가장 인기 있는 호박대목류의 하나이자 CGMMV 병징이 거의 나타나지 않는 신토좌류인 ‘조생토좌’ 호박과 수박 품종 중에서 CGMMV 접종시 가장 이병율이 낮았던 ‘삼성SS꿀플러스’ 수박을 저항성 품종으로 두고 이들을 서로 편연합접하여 접목료를 만든 뒤, CGMMV 접종원을 접종율이 가장 높은 10^{-2} 의 희석배율로 접수 또는 대목의 자엽에 카보란덤 또는 주사접종하여 19일 후 병징조사하였다. 주사접종은 바이러스 접종에는 적합하지 않은 방법이나 카보란덤 접종과 비교해보기 위하여 실시하였다. 또한, 생물검정이 종료된 시점에 각 식물체에서 제 4분엽, 제 8분엽, 제 12분엽 중 2개 이상의 샘플을 채취하여 ELISA 검정을 실시하였다.

접목료에서의 CGMMV 생물검정 결과, 접목 조합에 따른 CGMMV 병징 발현은 일정한 양상이 없었다. 바이러스의 주사접종방법과 카보란덤 접종방법에서도 큰 차이는 나지 않았으나, 식물체 상처를 통하여 바이러스 입자의 침투가 이루어진다는 이론으로 볼 때, 접종면적이 넓은 카보란덤 접종방법이 더욱 확실할 것으로 판단되었다. 그리고 접목료가 아닌 대목 자엽에 접종한 경우 병징이 나타난 개체가 없었으나, 접수의 자엽에 접종한 경우에는 병징이 나타남을 확인할 수 있었다. 접목료에 CGMMV 생물검정 최종조사 이후, 각 식물체에서 채취한 샘플을 이용하여 ELISA 검정한 결과, 호박에 수박을 접목하여 접수에 주사접종한 샘플 1개에서 추가적인 양성반응이 나왔고 나머지 샘플은 생물검정 결과와 동일하였다.

<표 1-66> 접목료 CGMMV 생물검정 결과

대목	접수	접종위치	접종방법	발현개체수	발현엽수	발현정도	ELISA 양성반응 샘플수
신토좌호박 (저항성)	박 (민감성)	접수	주사	1/2	5/30	11	2/5
			카보란덤	1/2	3/30	7	2/6
	대목	접수	주사	0/2	0/30	0	0/6
			카보란덤	0/2	0/28	0	0/6
박 (민감성)	수박 (저항성)	접수	주사	1/2	8/39	21	2/6
			카보란덤	0/2	0/36	0	0/6
	대목	접수	주사	0/2	0/34	0	0/6
			카보란덤	0/2	0/37	0	0/6
박 (민감성)	박 (민감성)	접수	주사	1/2	4/20	10	1/4
			카보란덤	0/3	0/30	0	0/6
	대목	접수	주사	0/1	0/12	0	0/2
			카보란덤	0/1	0/12	0	0/2
신토좌호박 (저항성)	수박 (저항성)	접수	주사	0/2	0/36	0	1/6
			카보란덤	1/2	8/36	19	2/6
	대목	접수	주사	0/2	0/29	0	0/6
			카보란덤	0/2	0/40	0	0/6
접종처리			비고(대목+접수)	병징 발현 개체수			
신토좌 + 박			저항성 + 민감성	2/8			
박 + 수박			민감성 + 저항성	1/8			
박 + 박			민감성 + 민감성	1/6			
신토좌 + 수박			저항성 + 저항성	1/8			
접수접종				5/17			
대목접종				0/13			
주사접종				3/14			
카보란덤접종				2/16			

(7) 신화창조(CGMMV 감염종자)의 생물검정

본 연구팀에서는 연구과제의 진행을 위하여 인도네시아에서 CGMMV 이병종자를 채종하여 식물검역원의 관리 하에 2010년 5월 10일 경희대학교 원예생명공학과 온실 종자보관실에 입고하여 격리보관 중이다. 앞에서 언급한 바와 같이 CGMMV 감염종자인 '신화창조' 박 종자는 대체로 50%에서 60%의 감염율을 보였으나, 종자를 파종하여 감염개체를 조사하면 병징을 보이는 개체율은 불과 2% 미만으로 나타났다. 따라서 이 종자를 더 큰 규모로 파종하여 이병개체를 조사하고, 또한 UV-A 1kW 조사장치로 자외선 처리를 하였을 경우 이병개체는 얼마나 나오는지 파악하기 위한 실험을 진행하였다.

자외선 처리는 CGMMV 감염종자인 '신화창조' 박 1000립을 48 시간동안 UV-A 1kW 처리장치내에서 광원과의 거리를 30cm로 유지시키면서 임의 제작한 회전식 교반기를 통하여 종자를 회전시켜 균일한 자외선처리가 되도록 하였다. 처리가 끝난 후에는 72공 트레이에 무처리 종자와 자외선 처리 종자를 각각 1000립씩 파종하여, 파종 38일 후 최종조사 하였다.

최종조사시 확실한 병징을 보이는 개체는 없었으나 CGMMV 병징 의심 개체수는 무처리구에서 16개체, 자외선 처리구에서 7개체로 현저한 경향을 보였다. 그러나 이들 의심개체에 대한 정확한 검정을 위하여 ELISA 검정을 실시한 결과, 무처리구에서는 모두 음성반응을 보였고, 자외선 처리구에서 1개체만 양성반응을 보였다. 이로써 UV-A 1kW 조사장치로 CGMMV 감염된 종자를 처리할 경우, 48 시간 처리는 다소 부족함을 알 수 있어서 단독처리만으로는 실용성은 낮다고 판단되고는 있으나 추가적인 실험이 필요할 것으로 판단되었다.

5. CGMMV 불활성화 기초이론 수립

식물 바이러스 중에서 주로 가지과나 박과작물에 큰 피해를 유발하고 있는 tobamovirus 속에는 TMV, ToMV, CGMMV 다양한 종들이 있으며 이들 내에는 다양한 계통(strain)이 존재한다. 다양한 바이러스 중에서 tobamovirus는 가장 안정적인이어서 감염된 식물체 수년 내지 수십년 생존이 가능하고 아주 쉽게 접촉전염이 이루어지는 관계로 종자전염 외에도 후기 접촉전염 등을 통해서 막대한 손실을 초래하고 있다. 바이러스를 불활성화 하는 유일한 방법은 열처리 방법으로 바이러스 조추출액을 90℃ 이상에서 일정 시간 열처리하면 완전히 불활성화 되는데 이러한 상한온도는 모든 바이러스 중에서 가장 높은 온도이다(최장경 등, 2001).

실용적으로는 건열처리(건열처리, dry heat treatment) 기술이 개발되어 특히 박과채소를 중심으로 광범위하게 이용되고 있으나, 경우에 따라 상당히 많은 문제점도 수시로 발생하고 있는데 몇 가지 사례를 든다면, 처리기기의 오작동 또는 기능저하로 부정확한 건열처리 온도조절이 안되어 활성 바이러스가 남아있었다던가, 건열처리 표준처리지침인 72℃에서 72 시간 이상이 확실하게 처리되어야 하는데 처리기간이 짧았다던가, 처리온도를 고의적으로 낮게 조정하는 경우 등에서는 처리된 종자에 활성 바이러스가 그대로 남게 되어 문제를 야기하기도 한다. 또한 다른 문제점으로는 건열처리된 종자가 처리되지 않은 종자에 비하여 활력이나 수명이나, 정상발아나, 정상묘 육성을 등에서 불량한 결과를 보인다는 점도 크게 문제시되고 있다. 따라서 현재 거의 공통적으로 사용되고 있는 건열처리기술을 다양하게 변화시켜야만 하는 문제점이 크게 부각되어 있는 상태이다. 단편적인 예로 같은 박과에 속하는 채소작물 중 수박이나 참외, 멜론 등은 건열처리 피해를 거의 보지 않는 것에 비하여 호박이나 박 등에서는 상당히 예민하게 반응하여 큰 피해를 유발하는 경우가 빈번하다는 점이다. 따라서 박과채소의 종류에 따라 상이한 처리기술을 적용하는데 필요한 CGMMV 불활성화 기초이론을 확립하기 위하여 아래와 같은 일련의 실험들을 실시하였다.

본 실험연구를 진행하기 위하여 건열처리온도를 45℃부터 90℃까지 5℃ 간격으로 총 10대의 환기용량이 매우 높게 제작된 건조기를 가동하였고, 처리기간을 1일부터 30일까지 설정하여 온도범위에 적합하게 처리기간을 조정하였다<그림 1-58>.

No.	처리 온도	온도별 누적처리일수																													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
1	45										0					0						0					0				0
2	50							0			0					0						0				0				0	
3	55					0		0			0					0						0				0					
4	60					0		0			0					0						0									
5	65			0		0		0			0					0						0									
6	70		0	0		0		0																							
7	75	0	0	0		0																									
8	80	0	0	0																											
9	85	0	0	0																											
10	90	0	0	0																											

0: 종자시료 및 CGMMV 이병박 엽분말 처리구

<그림 1-58> CGMMV 불활성화 실험 세부 내용

가. 건열처리 온도와 처리시간에 따른 종자수분함량의 변화

건열처리 온도와 처리시간에 따른 박과채소종자의 종자수분함량의 변화를 알아보기 위하여 ‘불로장생’ 박과, ‘조생토좌’ 호박을 이용하였다. 종자를 거즈로 포장하여 건조기 내에 넣은 뒤, 처리시간이 경과한 뒤 꺼내어 종자수분의 변화를 최소한으로 하기위하여 최대한 신속하게 종자를 파쇄하여 종자수분측정기로 측정하였고, 후처리기간 동안 종자수분함량의 변화를 확인하기 위하여 7일간 후처리된 종자의 수분도 측정하였다. 종자수분측정은 15립 3반복으로 실시하였다.

종자수분함량은 저장 장소의 온습도에 따라 차이가 나는데, 본 실험에서도 실내 습도에 따라 종자수분함량 측정값이 변하는 경향을 보였다. 따라서 일관된 결과를 얻기 위하여 종자수분함량 측정 후 측정 당시의 실내 습도를 역으로 곱한 뒤, 평상시 실내 습도인 30%를 다시 곱한 값으로 통일하여 나타내었다.

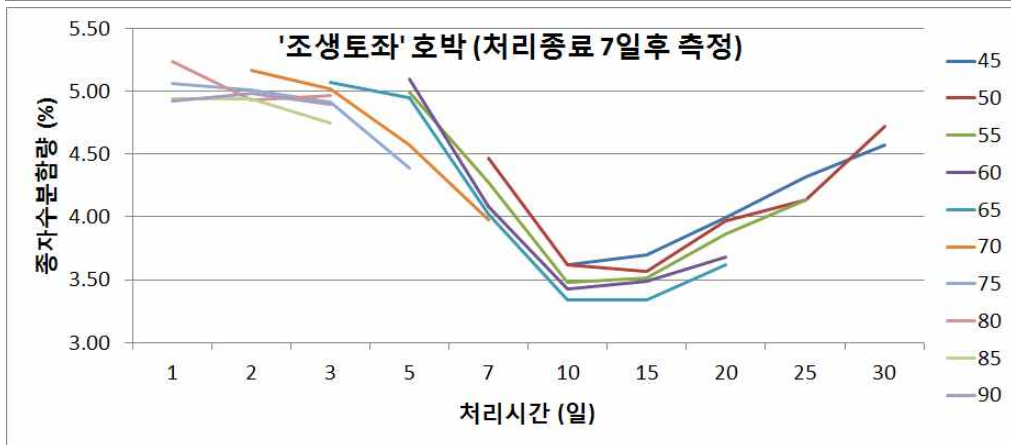
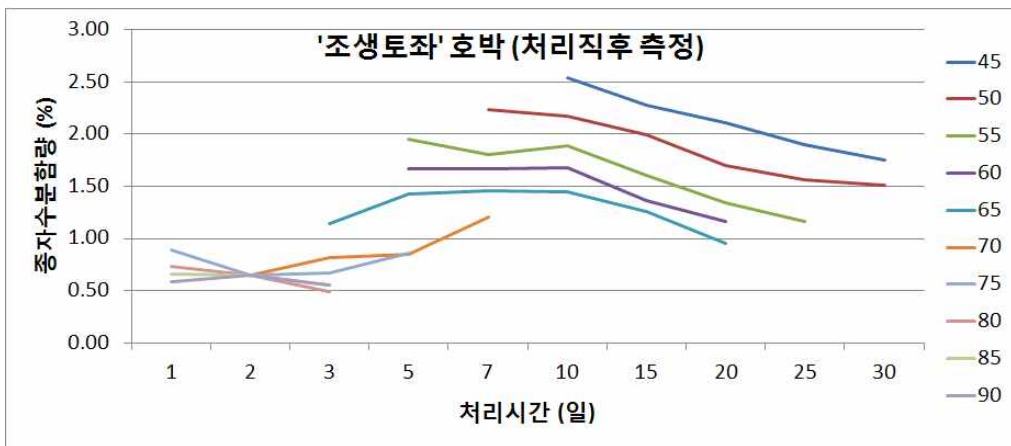
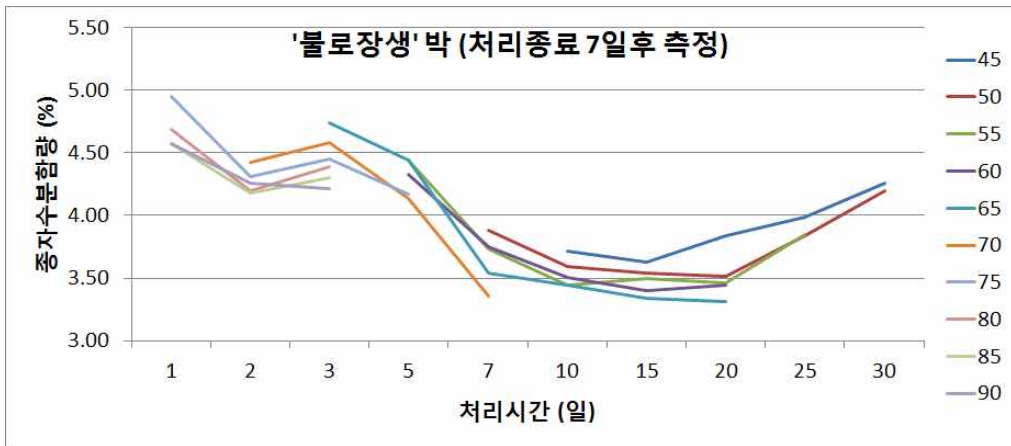
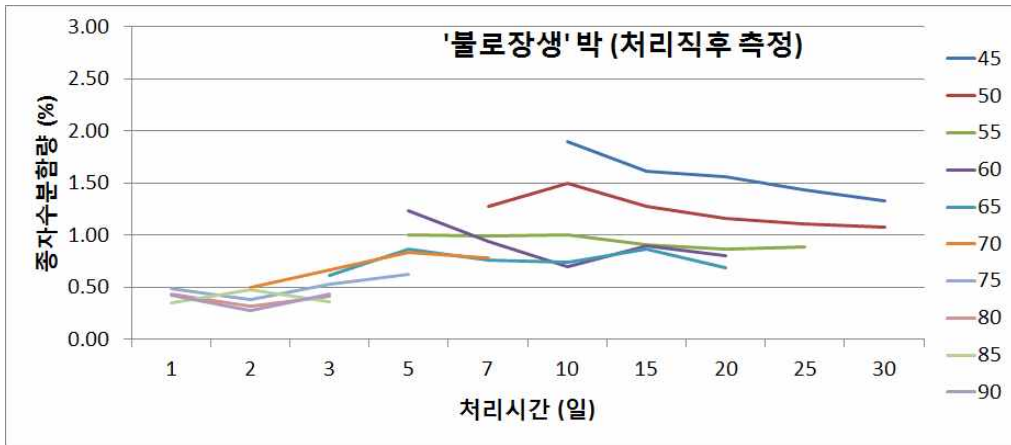
건열처리직후 종자수분의 함량은 ‘불로장생’ 박의 경우 0.31~1.90%, ‘조생토좌’ 호박의 경우 0.49~2.54%로 ‘조생토좌’ 호박의 종자수분함량이 다소 높은 것으로 나타났다. 그리고 ‘불로장생’ 박과, ‘조생토좌’ 호박 모두 건열처리온도가 높을수록, 처리기간이 길수록 종자수분함량이 낮아지는 경향을 보였다.

건열처리가 끝나고 7일간 후처리한 뒤의 종자수분함량은 ‘불로장생’ 박의 경우 3.31~4.95%, ‘조생토좌’ 호박의 경우 3.34~5.24%로 건열처리직후보다 종자수분함량이 높아졌다. 그리고 건열처리 온도와 상관없이 처리시간이 길어짐에 따라 종자수분함량이 감소하는 경향을 보이다가, 처리시간이 ‘불로장생’ 박은 20일 처리 이상, ‘조생토좌’ 호박은 15일 처리 이상에서 종자수분함량이 다시 증가하는 경향을 보였는데, 후처리기간 동안의 온습도와 같은 환경변수의 영향인지 종자생리적 특성인지는 추가 보완 연구가 필요할 것으로 판단되었다.

<표 1-67> 건열처리 온도와 처리시간에 따른 종자수분함량의 변화

(단위: %)

품종	수분함량 측정시기	처리온도	누적 처리일수									
			1일	2일	3일	5일	7일	10일	15일	20일	25일	30일
'불로장생' 박	처리직후	45℃	-	-	-	-	-	1.90	1.61	1.56	1.43	1.33
		50℃	-	-	-	-	1.28	1.50	1.27	1.16	1.10	1.08
		55℃	-	-	-	1.01	0.99	1.00	0.91	0.86	0.89	-
		60℃	-	-	-	1.24	0.94	0.70	0.89	0.80	-	-
		65℃	-	-	0.61	0.86	0.76	0.74	0.87	0.69	-	-
		70℃	-	0.50	0.67	0.83	0.78	-	-	-	-	-
		75℃	0.48	0.38	0.53	0.63	-	-	-	-	-	-
		80℃	0.43	0.31	0.42	-	-	-	-	-	-	-
		85℃	0.35	0.47	0.36	-	-	-	-	-	-	-
	90℃	0.43	0.28	0.43	-	-	-	-	-	-	-	
	처리종료 7일 후	45℃	-	-	-	-	-	3.71	3.63	3.84	3.99	4.26
		50℃	-	-	-	-	3.88	3.59	3.54	3.51	3.83	4.20
		55℃	-	-	-	4.44	3.74	3.44	3.49	3.46	3.85	-
		60℃	-	-	-	4.33	3.75	3.51	3.40	3.44	-	-
		65℃	-	-	4.74	4.44	3.54	3.45	3.34	3.31	-	-
		70℃	-	4.42	4.58	4.14	3.36	-	-	-	-	-
		75℃	4.95	4.31	4.45	4.17	-	-	-	-	-	-
		80℃	4.69	4.20	4.39	-	-	-	-	-	-	-
85℃		4.57	4.18	4.30	-	-	-	-	-	-	-	
90℃	4.57	4.26	4.21	-	-	-	-	-	-	-		
'조생토좌' 호박	처리직후	45℃	-	-	-	-	-	2.54	2.28	2.11	1.90	1.76
		50℃	-	-	-	-	2.24	2.17	1.99	1.70	1.57	1.51
		55℃	-	-	-	1.95	1.81	1.89	1.61	1.34	1.17	-
		60℃	-	-	-	1.67	1.67	1.68	1.36	1.17	-	-
		65℃	-	-	1.15	1.43	1.46	1.44	1.26	0.96	-	-
		70℃	-	0.65	0.82	0.85	1.20	-	-	-	-	-
		75℃	0.89	0.65	0.67	0.86	-	-	-	-	-	-
		80℃	0.73	0.65	0.49	-	-	-	-	-	-	-
		85℃	0.66	0.65	0.56	-	-	-	-	-	-	-
	90℃	0.59	0.65	0.55	-	-	-	-	-	-	-	
	처리종료 7일 후	45℃	-	-	-	-	-	3.62	3.70	3.99	4.32	4.58
		50℃	-	-	-	-	4.47	3.62	3.56	3.97	4.13	4.73
		55℃	-	-	-	5.00	4.27	3.48	3.51	3.87	4.13	-
		60℃	-	-	-	5.10	4.08	3.42	3.48	3.68	-	-
		65℃	-	-	5.07	4.95	4.02	3.34	3.34	3.62	-	-
		70℃	-	5.17	5.02	4.57	3.98	-	-	-	-	-
		75℃	5.07	5.01	4.92	4.39	-	-	-	-	-	-
		80℃	5.24	4.93	4.97	-	-	-	-	-	-	-
85℃		4.94	4.94	4.75	-	-	-	-	-	-	-	
90℃	4.93	4.99	4.89	-	-	-	-	-	-	-		



<그림 1-59> 건열처리 온도와 처리시간에 따른 종자수분함량의 변화

나. 건열처리 온도와 처리시간에 따른 종자활력의 변화

건열처리 온도와 처리시간에 따른 종자활력의 변화를 살펴보기 위하여 ‘불로장생’ 박과 ‘조생토좌’ 호박 종자의 건열처리가 끝나고 7일간 후처리과정을 거친 뒤에 파종상에 파종하여 출현율을 조사하였다.

건열처리 온도와 처리시간에 따라 파종상에서의 묘 출현을 조사한 결과, ‘불로장생’ 박과 ‘조생토좌’ 호박 모두 파종일자가 서로 상이하여 온도조건에 다소 차이가 남에 따라 파종 7일 후의 출현율과 평균 출현일수, T_{50} 은 일정한 경향을 보이지 않았다. 그러나 파종 14일 후의 최종발아율은 ‘불로장생’ 박의 경우, 모든 처리구가 95.56% 이상으로 무처리구에 비하여 0~4.04% 정도 묘 출현율이 감소하였고, 또한 비정상묘율도 일정한 경향이 없었다. ‘조생토좌’ 호박의 경우에는 90℃와 85℃ 처리구의 경우 처리일수가 증가함에 따라 최종출현율과 발아세가 떨어지는 경향이 나타났다. 이상의 결과를 볼 때, 본 실험을 위해 설정한 건열처리 온도와 처리시간 범위 내에서의 종자활력의 피해정도는 매우 양호한 것으로 판단되었다.

그러나 앞서서도 언급하였듯이, 처리간에 파종일자가 서로 상이하여 <표 1-69>과 같이 온실 조건에 따라 발아세의 차이가 발생하였기에, ‘불로장생’ 박과, ‘조생토좌’ 호박, ‘삼성SS꿀플러스’ 수박 종자를 이용하여 55℃, 65℃, 80℃에서 1, 3, 5, 7, 9일 동안 추가적으로 건열처리를 하여, 처리 종료일을 맞추어 같은 날 파종하여 묘 출현 검정을 실시하였다<표 1-70>.

‘불로장생’ 박의 경우 건열처리 온도와 처리시간에 따른 묘 출현율의 변화가 적었는데, 대부분의 처리구에서 무처리구에 비해 발아세가 다소 높아지는 것을 확인할 수 있었고, 출현묘 중에서 비정상묘의 비율은 무처리구는 0%인 것에 비하여 건열처리구는 4.17%~15.05%까지 다양한 비율로 비정상묘의 비율이 높아졌다.

‘조생토좌’ 호박의 경우 55℃와 65℃ 처리구에서는 묘 출현율에서 일정한 경향을 보이지 않았으나 80℃ 처리구에서 처리기간이 길어질수록 발아세와 최종출현율이 다소 감소하고 출현묘 중에서 비정상묘의 비율은 높아지는 경향을 보였는데, 특히 80℃에서 9일 동안 처리한 경우에는 비정상묘의 비율이 50.33%에 이르렀다.

수박의 경우에는 무처리구의 최종출현율도 26.39%에 이르는 등, 종자활력이 상당히 낮아 건열처리 온도와 처리시간에 따른 묘 출현율의 변화를 분석하기 불가능하였다.

위의 결과를 종합하여 보면, ‘불로장생’ 박의 경우 모든 처리구에서 묘 출현율의 변화는 크게 변화가 없었고, ‘조생토좌’ 호박의 경우 80℃ 처리구의 경우 처리기간이 길어짐에 따라 발아세와 출현율이 감소하는 경향을 보였다. 또한 ‘불로장생’ 박과 ‘조생토좌’ 호박 모두 건열처리에 따라 비정상묘의 비율이 높아졌으며, 특히 ‘조생토좌’ 호박에서 비정상묘의 비율이 건열처리 기간이 길어짐에 따라 증가하는 경향을 보였다. 따라서 ‘조생토좌’ 호박이 ‘불로장생’ 박에 비하여 건열피해가 크다는 것을 확인할 수 있었다.

<표 1-68> 건열처리 온도와 처리시간에 따른 묘 출현율의 변화(2011.11.23.~2012.01.02.)

처리	묘 출현율(%)		평균 출현 일수	T ₅₀	정상 묘율 (%)	비정 상묘 율(%)	처리	묘 출현율(%)		평균 출현 일수	T ₅₀	정상 묘율 (%)	비정 상묘 율(%)
	파종 7일후	파종 14일후						파종 7일후	파종 14일후				
‘불로장생’ 박							‘조생토좌’ 호박						
90-1	35.56	100.00	8.20	7.65	93.33	6.67	90-1	46.67	93.33	7.57	7.00	52.38	47.62
90-2	0.00	100.00	9.16	8.64	100.00	0.00	90-2	44.44	95.56	7.74	7.09	53.49	46.51
90-3	44.44	97.78	8.32	7.40	90.91	9.09	90-3	37.78	84.44	7.95	7.25	52.63	47.37
85-1	60.00	100.00	7.31	6.68	100.00	0.00	85-1	88.89	100.00	6.18	5.56	71.11	28.89
85-2	53.33	100.00	7.58	6.92	93.33	6.67	85-2	88.89	97.78	6.11	5.41	65.91	34.09
85-3	62.22	100.00	7.04	6.58	100.00	0.00	85-3	75.56	88.89	6.50	6.07	62.50	37.50
80-1	68.89	97.78	7.02	6.40	100.00	0.00	80-1	88.89	100.00	6.31	5.81	57.78	42.22
80-2	48.89	95.56	7.67	6.96	97.67	2.33	80-2	97.78	100.00	5.36	4.63	55.56	44.44
80-3	55.56	100.00	7.07	6.58	100.00	0.00	80-3	97.78	97.78	5.39	4.67	70.45	29.55
75-1	24.44	97.78	8.25	7.58	97.73	2.27	75-1	91.11	100.00	6.36	6.03	64.44	35.56
75-2	60.00	100.00	7.53	6.74	100.00	0.00	75-2	100.00	100.00	5.58	4.87	68.89	31.11
75-3	57.78	95.56	7.19	6.59	100.00	0.00	75-3	97.78	100.00	5.36	4.62	66.67	33.33
75-5	24.44	100.00	8.09	7.50	97.78	2.22	75-5	88.89	97.78	6.41	5.69	54.55	45.45
70-2	11.11	97.78	8.82	8.42	97.73	2.27	70-2	95.56	100.00	6.53	6.27	77.78	22.22
70-3	55.56	97.78	7.41	6.77	100.00	0.00	70-3	93.33	100.00	5.60	4.88	66.67	33.33
70-5	51.11	100.00	7.49	6.98	100.00	0.00	70-5	91.11	97.78	6.14	5.55	79.55	20.45
70-7	4.44	97.78	9.02	8.52	97.73	2.27	70-7	88.89	100.00	6.56	5.90	60.00	40.00
65-3	48.89	97.78	7.75	7.00	100.00	0.00	65-3	88.89	100.00	5.69	4.97	68.89	31.11
65-5	33.33	97.78	7.89	7.32	100.00	0.00	65-5	100.00	100.00	5.82	5.33	73.33	26.67
65-7	8.89	100.00	8.76	8.24	97.78	2.22	65-7	84.44	95.56	6.44	5.74	62.79	37.21
65-10	0.00	95.56	9.93	9.32	81.40	18.60	65-10	37.78	100.00	7.89	7.29	77.78	22.22
65-15	57.78	100.00	7.51	6.87	91.11	8.89	65-15	44.44	100.00	7.60	7.11	55.56	44.44
65-20	55.56	100.00	7.69	6.58	95.56	4.44	65-20	64.44	100.00	6.96	5.81	64.44	35.56
60-5	48.89	100.00	7.64	7.03	97.78	2.22	60-5	93.33	100.00	6.22	5.65	75.56	24.44
60-7	4.44	97.78	9.02	8.48	97.73	2.27	60-7	88.89	100.00	6.33	5.65	73.33	26.67
60-10	0.00	100.00	9.09	8.38	95.56	4.44	60-10	51.11	97.78	7.61	6.95	77.27	22.73
60-15	68.89	100.00	7.33	6.72	97.78	2.22	60-15	97.78	100.00	6.40	5.85	60.00	40.00
60-20	53.33	97.78	7.52	6.50	100.00	0.00	60-20	68.89	95.56	6.12	4.91	69.77	30.23
55-5	11.11	100.00	8.24	7.65	97.78	2.22	55-5	95.56	100.00	6.31	5.78	66.67	33.33
55-7	4.44	100.00	9.00	8.50	97.78	2.22	55-7	86.67	100.00	6.36	5.73	73.33	26.67
55-10	0.00	97.78	9.30	8.60	84.09	15.91	55-10	64.44	97.78	7.20	6.65	65.91	34.09
55-15	60.00	100.00	7.44	6.83	97.78	2.22	55-15	100.00	100.00	6.24	5.71	62.22	37.78
55-20	60.00	100.00	7.24	6.50	97.78	2.22	55-20	71.11	100.00	6.02	4.95	77.78	22.22
55-25	0.00	97.78	9.27	8.87	90.91	9.09	55-25	93.33	100.00	6.73	6.28	77.78	22.22
50-7	2.22	97.78	9.16	8.64	97.73	2.27	50-7	86.67	100.00	6.67	6.13	71.11	28.89
50-10	0.00	100.00	9.60	8.82	86.67	13.33	50-10	75.56	100.00	6.93	6.39	80.00	20.00
50-15	62.22	100.00	7.38	6.80	100.00	0.00	50-15	97.78	100.00	6.16	5.52	66.67	33.33
50-20	57.78	100.00	7.24	6.13	100.00	0.00	50-20	73.33	100.00	5.69	4.61	73.33	26.67
50-25	0.00	100.00	8.71	8.18	97.78	2.22	50-25	95.56	97.78	6.18	5.61	77.27	22.73
50-30	55.56	100.00	7.22	6.50	97.78	2.22	50-30	100.00	100.00	5.40	4.75	60.00	40.00
45-10	0.00	100.00	10.24	9.65	82.22	17.78	45-10	73.33	100.00	7.20	6.63	68.89	31.11
45-15	8.89	100.00	8.49	7.77	97.78	2.22	45-15	97.78	100.00	6.33	5.87	71.11	28.89
45-20	51.11	100.00	7.80	6.88	93.33	6.67	45-20	80.00	100.00	5.80	4.95	73.33	26.67
45-25	0.00	100.00	9.56	9.08	97.78	2.22	45-25	84.44	100.00	6.84	6.35	64.44	35.56
45-30	53.33	100.00	7.40	6.63	93.33	6.67	45-30	100.00	100.00	5.51	4.93	77.78	22.22
Cont.	20.10	100.00	8.69	8.05	95.11	4.89	Cont.	88.80	100.00	6.50	5.91	67.80	32.20

<표 1-69> 건열처리 온도와 처리시간에 따른 파종 7일 후 묘 출현율(%)의 변화

'볼로장생' 박										
	1일	2일	3일	5일	7일 ^z	10일 ^z	15일	20일	25일 ^z	30일
45℃	-	-	-	-	-	0.00	8.89	51.11	0.00	53.33
50℃	-	-	-	-	2.22	0.00	62.22	57.78	0.00	55.56
55℃	-	-	-	11.11	4.44	0.00	60.00	60.00	0.00	-
60℃	-	-	-	48.89	4.44	0.00	68.89	53.33	-	-
65℃	-	-	48.89	33.33	8.89	0.00	57.78	55.56	-	-
70℃	-	11.11	55.56	51.11	4.44	-	-	-	-	-
75℃	24.44	60.00	57.78	24.44	-	-	-	-	-	-
80℃	68.89	48.89	55.56	-	-	-	-	-	-	-
85℃	60.00	53.33	62.22	-	-	-	-	-	-	-
90℃	35.56	0.00	44.44	-	-	-	-	-	-	-
'조생토좌' 호박										
	1일	2일	3일	5일	7일	10일	15일	20일	25일	30일
45℃	-	-	-	-	-	73.33	97.78	80.00	84.44	100.00
50℃	-	-	-	-	86.67	75.56	97.78	73.33	95.56	100.00
55℃	-	-	-	95.56	86.67	64.44	100.00	71.11	93.33	-
60℃	-	-	-	93.33	88.89	51.11	97.78	68.89	-	-
65℃	-	-	88.89	100.00	84.44	37.78	44.44	64.44	-	-
70℃	-	95.56	93.33	91.11	88.89	-	-	-	-	-
75℃	91.11	100.00	97.78	88.89	-	-	-	-	-	-
80℃	88.89	97.78	97.78	-	-	-	-	-	-	-
85℃	88.89	88.89	75.56	-	-	-	-	-	-	-
90℃	46.67	44.44	37.78	-	-	-	-	-	-	-

^z 발아상의 조건 및 위치에 따라서 일부 박 종자에서는 파종 후 7일에 조사된 초기 출현율이 낮았지만 14일후의 조사치에서는 정상으로 나타났음<표 1-70 참조>

<표 1-70> ‘불로장생’ 박, ‘조생토좌’ 호박, ‘삼성SS꿀플러스’ 수박의 건열처리 온도와 처리시간에 따른 묘 출현율의 변화(파종일: 2012.03.17.)

품종	온도 (°C)	시간 (일)	출현율(%)				평균출현 소요일수	T ₅₀	비정상묘(%)				
			파종 7일 후		파종 14일 후								
불로장생	55	1	43.06	de	97.22	ab	7.98	bc	7.17	bcde	5.68	ab	
		3	43.06	de	98.61	ab	7.94	bcd	7.16	bcde	8.39	ab	
		5	58.33	bcd	98.61	ab	8.02	bc	6.84	def	6.94	ab	
		7	58.33	bcd	98.61	ab	7.59	cd	6.79	ef	8.46	ab	
		9	31.94	e	97.22	ab	8.53	b	7.60	bc	4.17	ab	
		65	1	37.50	de	97.22	ab	8.28	bc	7.78	b	4.35	ab
			3	73.61	ab	100.00	a	7.17	de	6.54	ef	11.11	ab
			5	58.33	bcd	94.44	ab	7.55	cd	6.78	ef	7.45	ab
			7	45.83	cde	95.83	ab	8.01	bc	7.04	bcde	5.56	ab
	9		91.67	a	98.61	ab	6.78	e	6.19	f	14.07	a	
	80	1	9.72	f	100.00	a	9.51	a	8.76	a	6.95	ab	
		3	29.17	ef	98.61	ab	8.50	b	7.56	bcd	8.46	ab	
		5	8.33	f	93.06	b	9.75	a	9.05	a	15.05	a	
		7	66.67	bc	100.00	a	7.65	cd	6.75	ef	5.55	ab	
		9	55.56	bcd	98.61	ab	7.93	bcd	6.98	cde	12.68	a	
			무처리	25.00	ef	100.00	a	8.49	b	7.70	bc	0.00	b
	조생토좌	55	1	90.28	abc	94.44	ab	4.58	cd	3.77	d	26.16	b
			3	95.83	a	95.83	ab	4.29	d	3.61	d	24.41	b
			5	94.44	a	95.83	ab	3.86	d	3.12	d	25.99	b
7			90.28	abc	94.44	ab	4.55	cd	3.64	d	27.80	b	
9			91.67	ab	95.83	ab	5.32	bc	4.85	bc	34.50	ab	
65			1	90.28	abc	98.61	a	5.80	ab	5.37	abc	29.65	b
			3	84.72	a-e	94.44	ab	5.43	bc	4.62	c	23.48	b
			5	97.22	a	100.00	a	3.97	d	3.24	d	25.00	b
			7	87.50	abcd	95.83	ab	4.64	cd	3.54	d	35.91	ab
		9	94.44	a	98.61	a	4.55	cd	3.76	d	33.70	ab	
80		1	81.94	a-e	95.83	ab	6.09	ab	5.37	abc	34.63	ab	
		3	69.44	def	83.33	bc	6.03	ab	5.03	bc	41.60	ab	
		5	72.22	cdef	88.89	ab	6.39	a	5.41	ab	40.34	ab	
		7	68.06	ef	75.00	c	6.15	ab	5.38	abc	41.19	ab	
		9	56.94	f	72.22	c	6.61	a	5.64	ab	50.33	a	
			무처리	75.00	b-f	100.00	a	6.49	a	5.89	a	20.83	b
꿀플러스		55	1	29.17	cd	34.72	def	7.23	bc	6.05	de	14.44	ab
			3	27.78	cd	45.83	cdef	7.60	bc	6.53	bcde	9.09	ab
			5	19.44	de	33.33	def	8.38	ab	7.39	abc	13.49	ab
	7		34.72	abcd	52.78	abcd	7.57	bc	6.33	cde	2.38	ab	
	9		50.00	a	75.00	a	7.14	bc	6.25	cde	9.34	ab	
	65		1	30.56	bcd	55.56	abcd	8.34	ab	7.13	abcd	12.08	ab
			3	47.22	ab	63.89	abc	7.42	bc	6.25	cde	8.11	ab
			5	31.94	bcd	70.83	ab	8.29	ab	7.58	ab	12.51	ab
			7	34.72	abcd	61.11	abc	7.33	bc	6.14	de	9.23	ab
		9	43.06	abc	68.06	abc	7.87	abc	6.61	bcde	10.00	ab	
	80	1	34.72	abcd	55.56	abcd	7.47	bc	6.00	de	7.56	ab	
		3	47.22	ab	55.56	abcd	6.54	c	5.56	e	9.58	ab	
		5	44.44	abc	54.17	abcd	6.99	bc	6.00	de	22.42	a	
		7	40.28	abc	50.00	bcde	6.98	bc	6.05	de	8.33	ab	
		9	9.72	e	29.17	ef	8.99	a	7.81	a	14.29	ab	
			무처리	19.44	de	26.39	f	6.62	c	6.00	de	0.00	b



<그림 1-60> 조생토좌 건열피해 사진

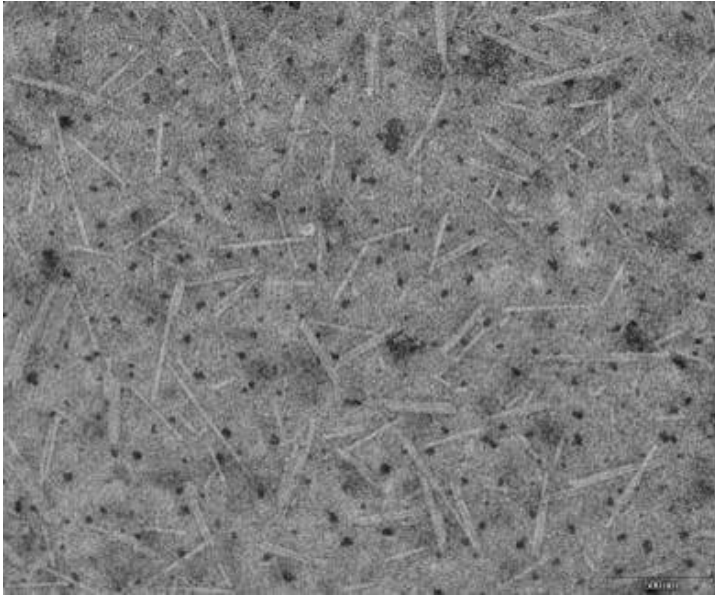
다. 건열처리 온도와 처리일수에 따른 CGMMV 접종원 활력 검정

건열처리 온도와 처리일수에 따라 CGMMV 접종원의 활력을 검정하기 위하여, 전자현미경 검경과 생물검정을 실시하였다. CGMMV 접종원은 본 과제에서 무독화 처리의 생물검정 효과를 위해 사용되었던 CGMMV 이병 'FR-Twist' 박의 이병엽 건조분말을 이용하였다.

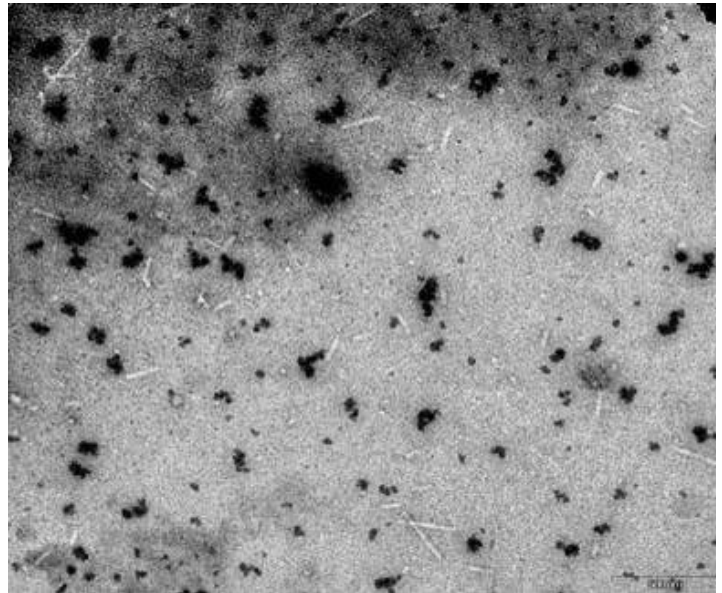
(1) 전자현미경 검경

CGMMV 접종원의 바이러스 분절 정도는 국립원예특작과학원 탐동청사 격리온실에서 실시하였다. 처리된 시료 약 0.02g에 150 μ l PBS buffer(pH 7.0)를 넣어 약하게 흔들어 주어 잘 섞이게 한 뒤, 3분간 원심분리하여 20 μ l 상등액을 취하여 PTA액(2% phosphotungstic acid, pH 7.0) 20 μ l을 가하여 잘 혼합한 후, 2 μ l의 혼합액을 전자현미경 검경용 Grid에 올려 부착이 되도록하고 여분의 PTA액을 filter paper로 제거하여 전자현미경(Carl Zeiss 906, 독일)을 이용하여 6000 배율로 한 시료당 바이러스 입자가 밀집한 지점을 중심으로 4지점 이상 검경하였다. 한 지점당 전자현미경으로 관찰된 바이러스 입자를 <그림 1-61>과 같이 온전한 입자, 분절된 입자, 그리고 분절되거나 그렇지 않은 바이러스 입자간에 서로 연결이 된 입자로 구분하여 개수를 조사하여 SAS 프로그램을 통해 통계처리하였다.

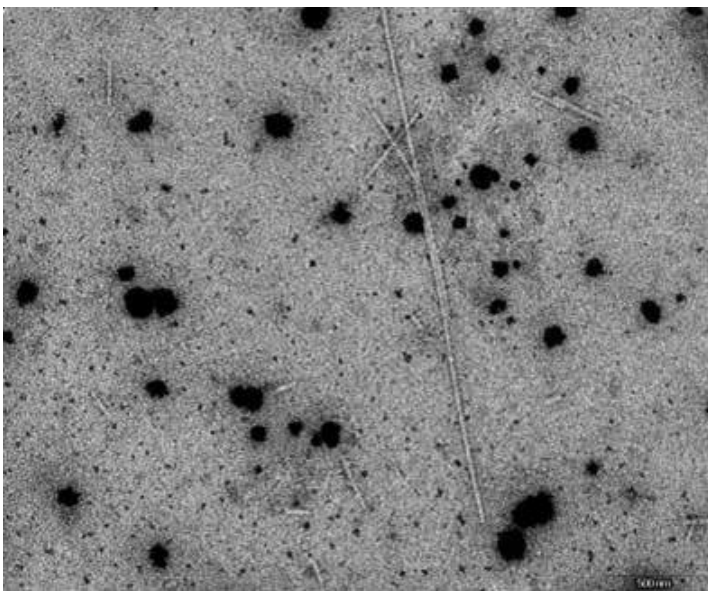
전자현미경 검경 결과는 <표 1-71>와 같이 처리온도가 높고, 처리기간이 길수록 분절되거나 연결된 바이러스 입자의 비율이 높아지는 경향을 보였다.



(a) 무처리 접종원의 전자현미경 사진



(b) 다수의 CGMMV 입자가 분절된 사진



(c) CGMMV 입자가 연결된 사진

<그림 1-61> 다양한 상태의 CGMMV 입자 사진

No.	Temp.	Time (day)																															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30		
1	45										■					■						■					■						■
2	50						■				■					■						■					■						■
3	55				■		■				■					■						■					■						
4	60				■		■				■					■						■											
5	65			■		■		■			■					■						■											
6	70		■	■		■		■																									
7	75	■	■	■		■																											
8	80	■	■	■																													
9	85	■	■	■																													
10	90	■	■	■																													

<그림 1-62> 건열처리 온도와 처리일수에 따른 CGMMV 입자의 TEM 검경사진의 동시 비교

<표 1-71> 건열처리 온도와 처리일수에 따른 CGMMV 접종원의 바이러스 분절 상태 비율

처리 온도-일수	온전한 바이러스입자 (%)	분절된 바이러스입자 (%)	연결된 바이러스입자 (%)	분절+연결된 바이러스입자 (%)
무처리	80.05 a	18.87 s	1.09 j	19.95 i
45-10	28.84 b	60.29 qr	10.87 a-f	71.16 h
45-15	23.45 bcd	65.81 n-r	10.73 a-g	76.55 fgh
45-20	21.46 b-f	74.33 g-r	4.21 f-j	78.54 d-h
45-25	13.29 c-i	76.49 c-p	10.22 a-i	86.71 a-g
45-30	20.17 b-g	62.00 pqr	17.83 a	79.83 c-h
50-7	17.35 b-h	67.31 l-r	15.35 ab	82.66 b-h
50-10	23.82 bc	59.50 r	16.68 a	76.18 gh
50-15	18.99 b-h	66.52 m-r	14.49 abc	81.01 b-h
50-20	20.13 b-g	74.66 f-r	5.21 f-j	79.87 c-h
50-25	22.22 bcde	64.66 opqr	13.12 a-e	77.78 efgh
50-30	16.83 b-h	72.73 i-r	10.44 a-h	83.17 b-h
55-5	23.43 bcd	62.49 pqr	14.08 abc	76.57 fgh
55-7	20.54 b-g	71.48 j-r	7.99 b-j	79.47 c-h
55-10	22.02 bcde	70.27 k-r	7.71 b-j	77.98 efgh
55-15	20.64 b-g	72.58 i-r	6.79 c-j	79.36 c-h
55-20	18.55 b-h	67.65 l-r	13.81 abcd	81.46 b-h
55-25	20.46 b-g	73.76 g-r	5.79 e-j	79.54 c-h
60-5	23.33 bcd	75.48 e-q	1.19 j	76.67 fgh
60-7	22.77 bcd	70.88 j-r	6.35 d-j	77.23 fgh
60-10	16.32 b-i	80.55 a-n	3.13 f-j	83.68 a-h
60-15	18.16 b-h	78.51 b-o	3.33 f-j	81.84 b-h
60-20	13.65 c-i	73.41 h-r	12.94 a-e	86.35 a-g
65-3	16.27 b-i	81.81 a-m	1.92 j	83.73 a-h
65-5	18.45 b-h	77.54 b-p	4.01 f-j	81.55 b-h
65-7	16.97 b-h	76.11 d-o	6.92 c-j	83.03 b-h
65-10	13.55 c-i	85.49 a-k	0.96 j	86.45 a-g
65-15	15.95 b-i	80.83 a-n	3.22 f-j	84.05 a-h
65-20	13.62 c-i	85.85 a-k	0.53 j	86.39 a-g
70-2	14.47 c-i	82.97 a-l	2.56 hij	85.53 a-g
70-3	9.19 e-i	87.86 a-i	2.95 ghi j	90.81 a-e
70-5	16.20 b-i	80.38 a-n	3.42 f-j	83.80 a-h
70-7	11.48 c-i	87.43 a-i	1.09 j	88.52 a-g
75-1	10.95 c-i	86.40 a-j	2.65 hij	89.05 a-g
75-2	11.98 c-i	88.02 a-i	0.00 j	88.02 a-g
75-3	10.31 c-i	89.05 a-h	0.64 j	89.69 a-g
75-5	11.76 c-i	87.43 a-i	0.81 j	88.24 a-g
80-1	9.13 e-i	90.42 a-f	0.45 j	90.87 a-e
80-2	7.29 ghi	92.71 ab	0.00 j	92.71 abc
80-3	7.32 ghi	91.95 abc	0.74 j	92.68 abc
85-1	10.14 d-i	88.90 a-h	0.96 j	89.86 a-f
85-2	6.01 hi	91.70 abcd	2.29 j	93.99 ab
85-3	9.09 e-i	90.91 a-e	0.00 j	90.91 a-e
90-1	3.32 i	95.90 a	0.78 j	96.68 a
90-2	8.03 fghi	89.51 a-g	2.46 ij	91.97 abcd
90-3	11.05 c-i	84.07 a-k	4.88 f-j	88.95 a-g

(2) 생물검정

(가) ‘불로장생’ 박을 이용한 생물검정

지표식물로 ‘불로장생’ 박을 이용하여 건열처리 온도와 처리시간에 따른 CGMMV 접종원의 불활성화 생물검정은 감염율이 가장 높았던 10^{-2} 의 희석율로 처리당 8주씩 접종하였고, 대조구로서 건열처리 되지 않은 CGMMV 접종원은 10^{-2} 과 10^{-3} 의 희석율로 각각 8주씩 접종하였으며, 접종 31일 이후에 이병개체를 조사하였다.

생물검정 결과, 85℃ 이상 처리구에서는 이병개체가 없었으며, 75℃와 80℃에서는 2일 이상, 70℃에서는 3일 이상처리구에서 이병개체가 발견되지 않았다. 65℃에서는 7일 처리구에서만 1개의 이병개체가 발견되었고, 50℃, 55℃에서는 20일 이상 처리구에서 이병개체가 발견되지 않았고, 45℃에서는 30일 처리구까지 이병개체가 발견되었다.



<그림 1-63> ‘불로장생’ 박을 이용한 건열처리 온도와 처리시간에 따른 CGMMV 접종원의 불활성화 생물검정 모습(국립원예특작과학원 탐동청사 격리온실)

<표 1-72> ‘불로장생’ 박을 이용한 건열처리 온도와 처리일수에 따른 CGMMV 접종원의 불활성화 생물검정 결과

처리온도 \ 처리일수	1일	2일	3일	5일	7일	10일	15일	20일	25일	30일
45℃	-	-	-	-	-	5/8 ²	5/8	5/8	1/8	2/8
50℃	-	-	-	-	6/8	5/8	3/8	0/8	0/8	0/8
55℃	-	-	-	5/8	1/8	2/8	1/8	0/8	0/8	-
60℃	-	-	-	1/8	1/8	2/8	2/8	0/8	-	-
65℃	-	-	0/8	1/8	0/8	0/8	0/8	0/8	-	-
70℃	-	2/8	0/8	0/8	0/8	-	-	-	-	-
75℃	1/8	0/8	0/8	0/8	-	-	-	-	-	-
80℃	2/8	0/8	0/8	-	-	-	-	-	-	-
85℃	0/8	0/8	0/8	-	-	-	-	-	-	-
90℃	0/8	0/8	0/8	-	-	-	-	-	-	-
Cont. 10^{-2}			8/8			Cont. 10^{-3}		8/8		

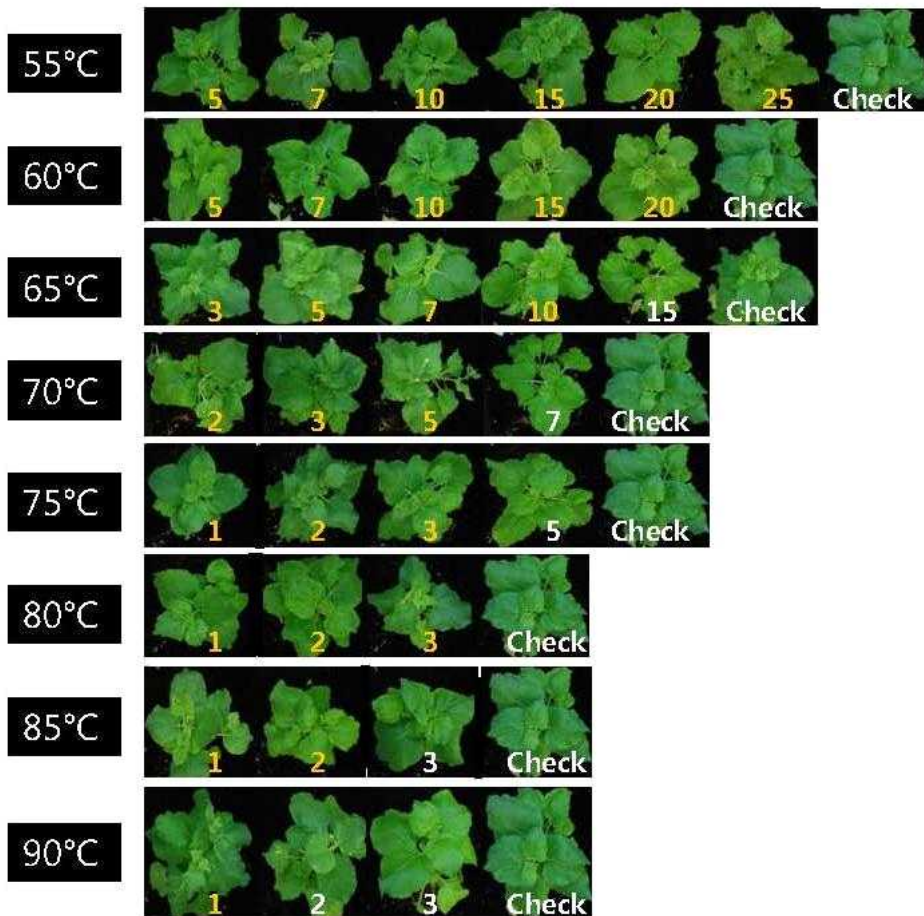
²병징발현개체수/조사개체수

(나) '*Nicotiana benthamiana*' 담배를 이용한 생물검정

지표식물로 '*N. benthamiana*' 담배를 이용하여 건열처리 온도와 처리시간에 따른 CGMMV 접종원의 불활성화 생물검정은 건열처리된 CGMMV 접종원을 제1협동 연구기관인 서울여자대학교 연구팀에 의뢰하여 실시하였다.

'*N. benthamiana*' 담배의 경우 CGMMV에 대해 매우 민감한 지표식물로서 대부분의 담배에서 CGMMV 병징이 나타났으나 병징의 정도에 따라 세분한 결과, <그림 1-64>와 같이 65°C 15일 처리구, 70°C 7일 처리구, 75°C 5일 처리구, 85°C 3일처리구, 그리고 90°C 2일, 3일 처리구에서 아주 미미하거나 약한 병징을 보였다.

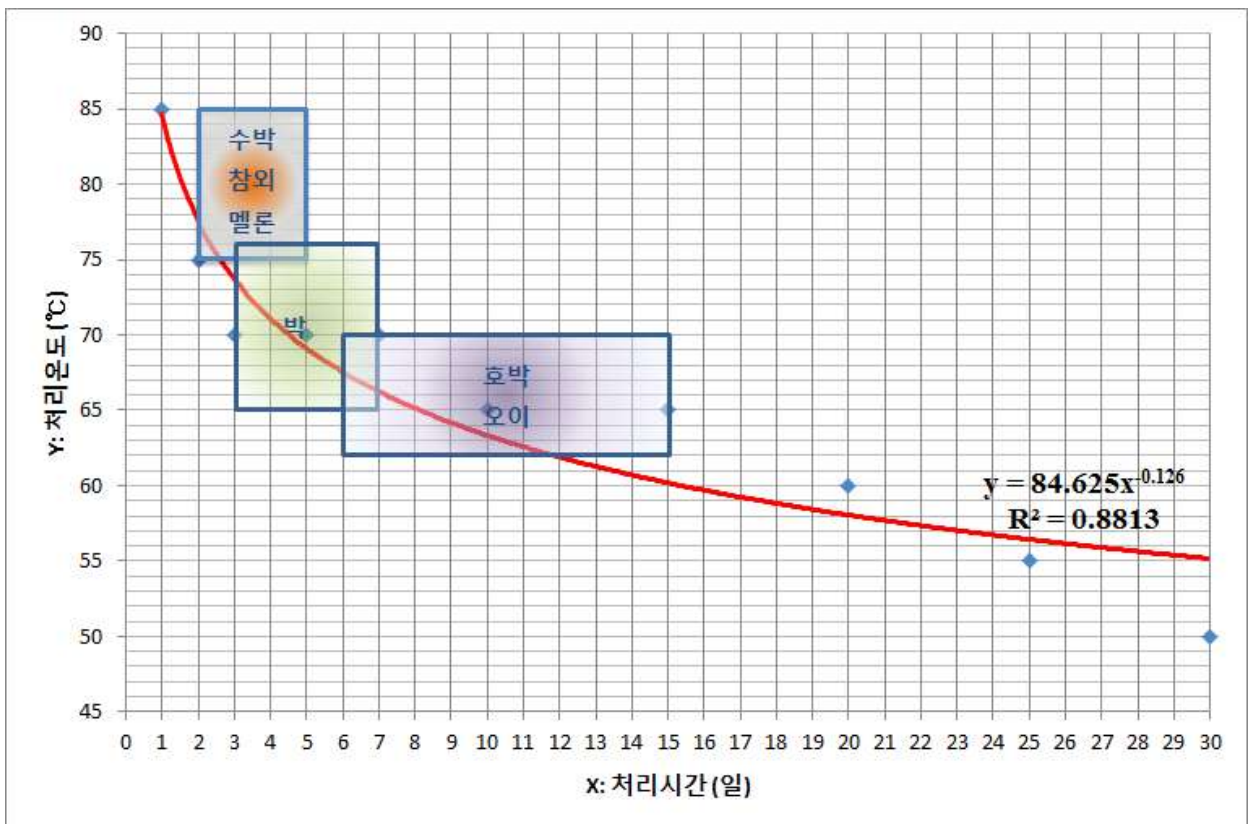
상기의 결과를 종합하여 보면, 75°C에서 2일 이상 처리하게 되면 대부분의 CGMMV의 활성이 급격하게 떨어진다는 것을 알 수 있었고, 50°C의 비교적 낮은 온도에서 20일이상의 장기간의 건열처리도 CGMMV 불활성화 효과가 있음을 알 수 있었다. 생물검정 결과를 전자현미경 검정 결과와 조합하여 보면, 정상바이러스 입자의 밀도가 9% 이상일 경우에도 발병할 수 있는 정도의 활성을 지니고 있음을 알 수 있었다. 또한, 본 실험에 쓰인 CGMMV 접종원의 바이러스 밀도와 활성이 매우 높음을 감안하여 볼 때, CGMMV 이병종자에서의 건열처리 효과도 이와 비슷한 수준이거나 더 좋을 것으로 예상되었다.



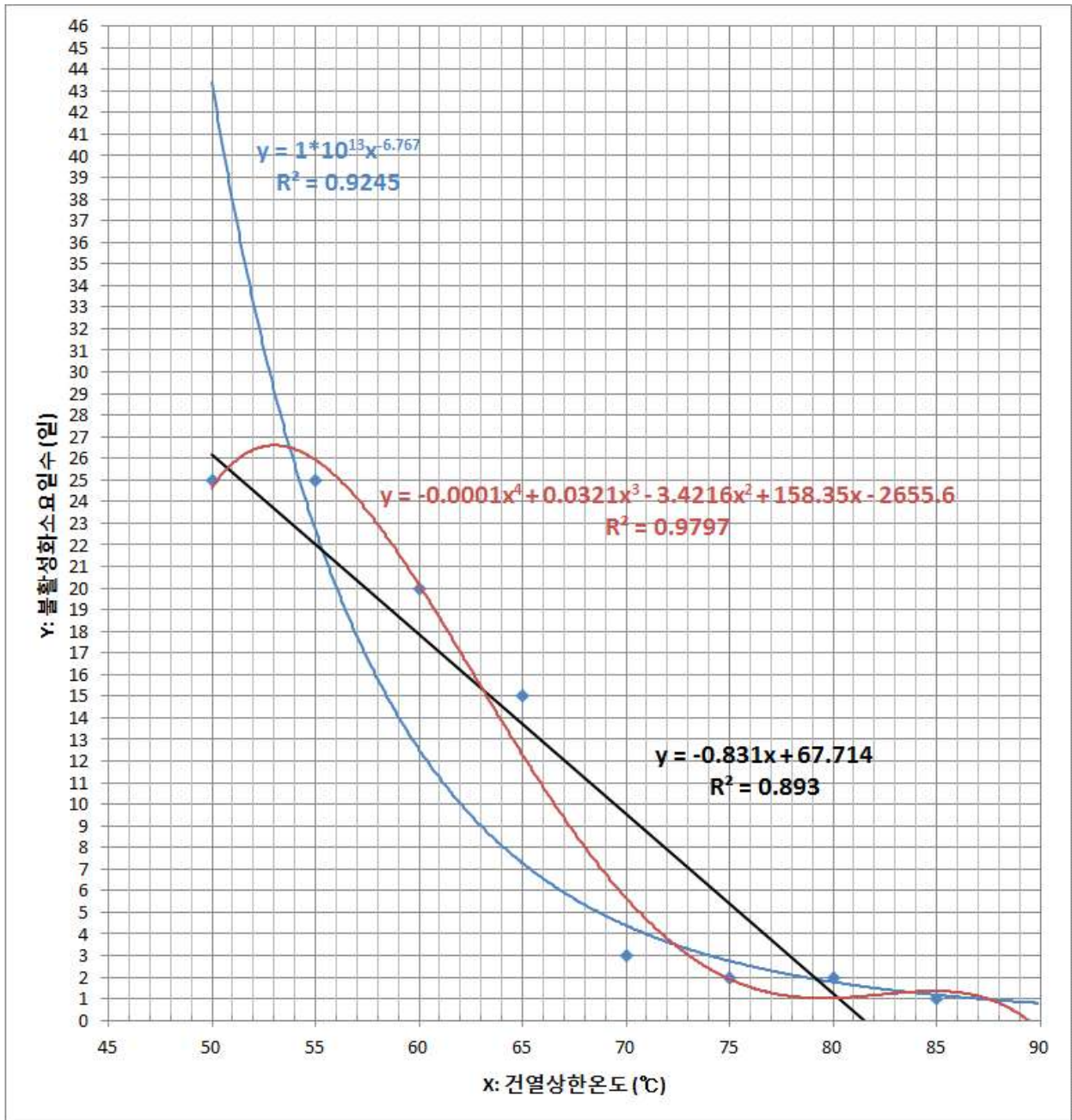
<그림 1-64> 건열처리 온도 및 처리일수에 따른 *Nicotiana benthamiana* 생물검정
(황색 숫자는 CGMMV 증상을 보인 식물체, 백색 숫자는 미미한 증상을 보이거나 증상을 보이지 않은 식물체)

이상의 일련의 실험결과를 토대로 <그림 1-65>와 같이 건열처리 처리시간을 독립변수로 하고 CGMMV 불활성화 적정 처리온도를 종속변수로 두어 최소자승법에 의한 최적 함수 $y=84.625x^{-0.126}$, $R^2=0.8813$ 을 따르는 그래프와, <그림 1-66>과 같이 건열처리 온도를 독립변수로 하고 CGMMV 불활성화 적정 처리일수를 종속변수로 두어 직선회귀(검은색), 4항곡선회귀(적색, $R^2=0.9797$), 그리고 최소자승법에 의한 최적함수(청색)를 각기 구하여 표시하였다.

산출된 함수 그래프에 따라 건열처리 온도와 처리시간을 설정하여 감염종자를 처리하게 되면 CGMMV의 활성이 매우 약해지므로, 작물에 따라 종자의 활력정도가 허용되는 범위 내에서 적정 온도와 적정 시간을 계산하여 처리하면 효과적으로 채종된 종자에서의 CGMMV 불활성화를 획기적으로 달성할 수 있을 것으로 판단되었다.



<그림 1-65> 건열처리 시간에 따른 CGMMV 불활성화 적정 처리온도 산출 함수 그래프



<그림 1-66> 건열처리 처리온도에 따른 CGMMV 불활성화 적정 처리기간 산출 함수 그래프

제2절 CGMMV의 감염경로 재확인 및 활성태와 불활성태 구분 검정기술 개발

1. CGMMV 신속정확 판별기술 개발

가. 간이신속 검정법의 개발

(1) CGMMV 항체를 이용한 진단법 개발

박과 대목 바이러스검정을 효율적인 진단은 항혈청을 이용한 ELISA 방법과 RIGS 방법을 이용하여 바이러스의 검정을 실시하였다.

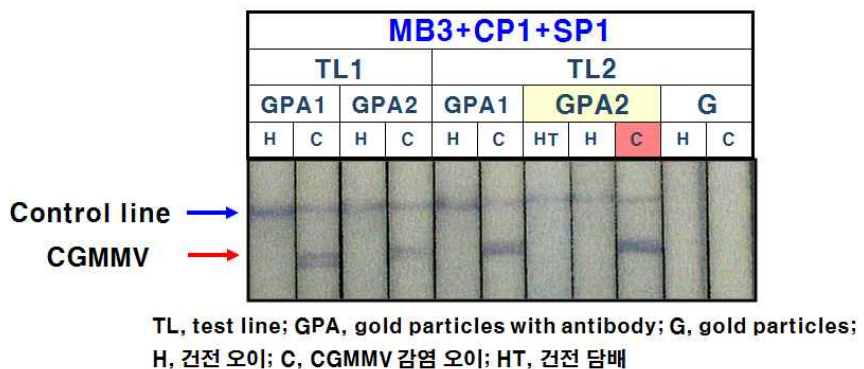
먼저, 제작된 CGMMV 항혈청을 이용하여 100배, 200배, 500배 및 1000배로 각각 희석하여 바이러스의 ELISA 검정을 실시하였다. 그 결과 비특이반응은 없었으나, 희석배수에 의한 최적조건을 검토한 결과 500배로 항혈청을 희석하는 것이 가장 양호하였다<표 2-1>. 이병즙액에서 CGMMV의 검출한계를 확인하기 위해 완충액을 이용하여 이병엽을 10⁰부터 10배씩 10⁶까지 각각 희석하여 ELISA 검정을 실시한 결과 희석농도 10⁵까지 검정이 가능하였지만 본 실험에서는 100배 정도가 적당한 것으로 판단하여 실험을 실시하였다.

<표 2-1> CGMMV 검정용 ELISA 검출조건 설정

항혈청 희석배수	Conjugate 희석배수에 따른 흡광도(OD)		
	200배	500배	1000배
100배	4<	3.843	2.530
200배	3.922	3.476	2.288
500배	3.902	3.249	1.971
1000배	3.675	2.550	1.831

건전 즙액 흡광도: 0.214, CGMMV 이병즙액 희석배수: 10배

또한 급속면역 금 나노 입자 진단(RIGS) 방법의 경우 CGMMV 감염엽을 10배 단위로 희석하여 검정한 결과 10⁴까지 검출되는 민감성을 가진 진단법으로 실제 포장에서 간단히 사용할 수 있는 검정법으로 생각되었다<그림 2-1>, <표 2-2>.



<그림 2-1> 급속면역 금 나노 입자 진단법(RIGS)에 의한 CGMMV 진단 예시

<표 2-2> CGMMV 검정용 RIGS 검출한계

바이러스 희석배수	급속면역 금나노입자법 (RIGS)		
	1반복	2반복	3반복
10배	+++	+++	+++
100배	+++	+++	+++
1000배	++	++	++
10000배	+	+	+

또한 오염 박 종자부위별 바이러스의 존재를 확인하기 위하여 오염종자의 외종피·내종피·자엽 등으로 나누어 ELISA 검정을 실시하였다. 그 결과 외종피와 내종피에서는 바이러스가 검출되었으나, 자엽에서는 바이러스가 검출되지 않았다<표 2-3>.

<표 2-3> CGMMV 오염 대목종자 부위별 ELISA 검정

종자부위	바이러스검정 ¹			*흡광도 평균치
	I	II	III	
외종피	1.943	1.739	1.829	1.827
내종피	1.623	1.380	1.283	1.429
자엽	0.156	0.157	0.159	0.157

¹ 바이러스 검정횟수

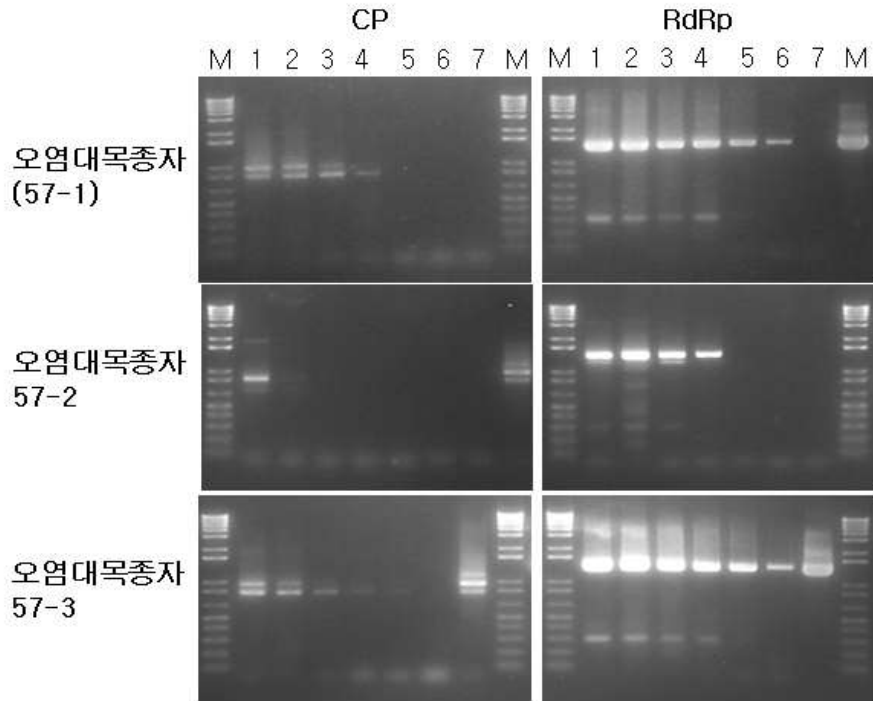
* ELISA 흡광도(405nm), 건전즙액 흡광도: 0.15, 이병 흡광도: 0.3 이상

이 결과로 볼 때 CGMMV의 감염은 종자에서 외종피과 내종피에 존재하며 자엽에는 존재하지 않는다는 기존의 결과와 일치하였으며, 향후 대량의 검정에 항혈청을 이용한 검정방법이 유용할 것으로 판단되었다.

(2) 박과채소작물 오염종자에 대한 바이러스의 RT-PCR 검정법 개발 및 실용성 검정

박과식물은 대체로 tobamovirus 그룹에 속하는 4가지 바이러스인 CGMMV, CFMMV, KGMMV, ZGMMV들에 의해 피해가 심한데 이들의 기주특성 및 범위는 박과식물로 한정되어 있는 점이 특징이어서 바이러스의 동정에 필요한 표준 기주식물의 범위가 매우 한정되어있다. 따라서 표준 검정식물에 의한 동정 및 분류는 매우 어려운 실정이어서 보고된 바이러스에 대한 염기서열의 정보를 토대로 이들 4종 바이러스에 대한 RT-PCR 검정법을 정립하기 위해 박과작물에 감염하는 tobamovirus의 프라이머를 고안 및 제작하였다.

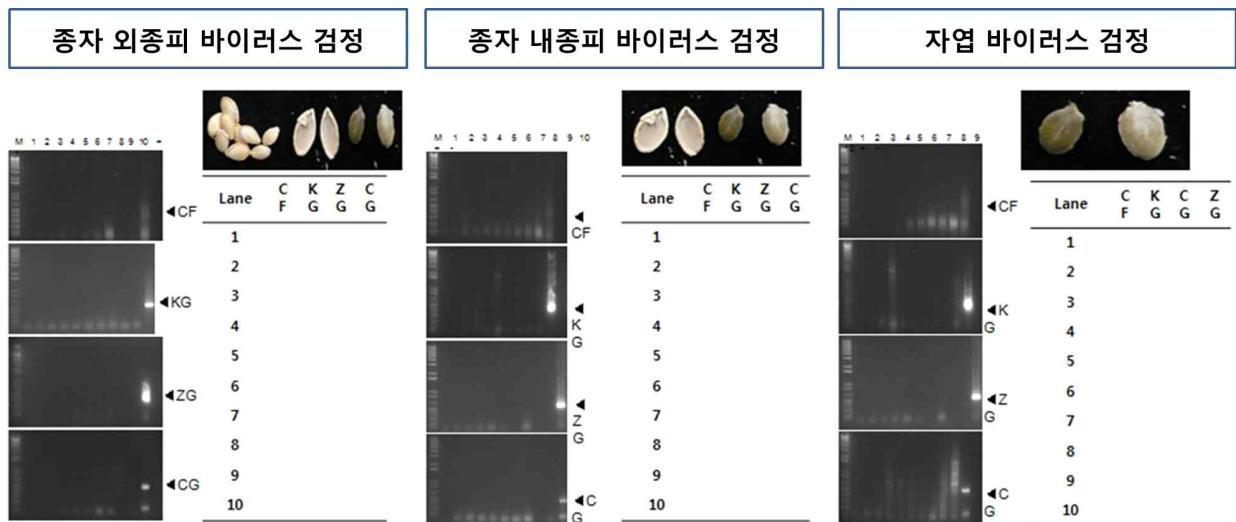
1차년도에는 박과작물에 가장 피해를 주는 CGMMV의 외피단백질 영역(CP)과 복제효소 영역(RdRp)에 대한 2종류의 프라이머를 제작하여 오염종자를 이용하여 검정을 시도하였다. 그 결과 외피단백질 영역의 프라이머에 비해 복제효소영역에 대한 프라이머를 사용한 경우 지금까지 많은 유전자검정법에서 문제시되던 비특이적 반응이 거의 없었고 목적하는 CGMMV의 바이러스의 진단 및 검정이 가능하였다 <그림 2-2>. 또한 바이러스의 검출한계에 있어서도 일반적으로 서브게놈을 갖는 특성 때문에 양적으로 우세한 CP 영역보다 복제효소영역의 검출한계가 약 1000배 정도 더 민감한 반응을 보임으로서 향후 종자 감염바이러스의 검정에 유리한 것으로 판단되었다.



<그림 2-2> 오염대목종자에 대한 CGMMV의 RT-PCR 검정 및 바이러스 유전자별 검정한계 비교

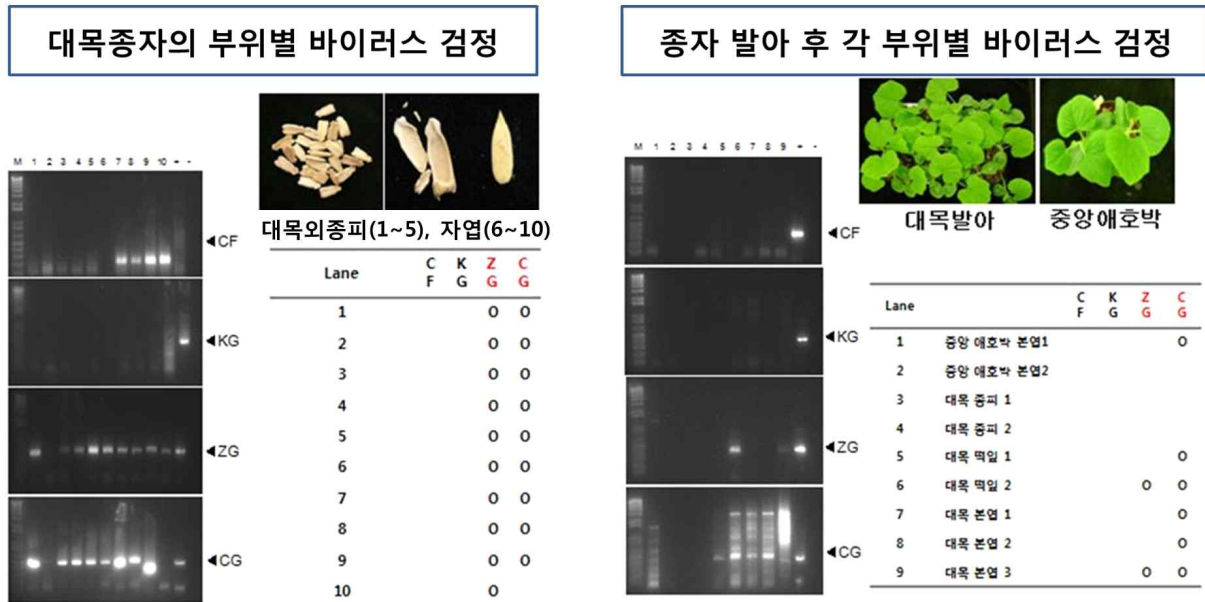
나. 오염 대목종자의 CGMMV 분포확인 및 검정

바이러스의 감염여부를 검정하기 위해 중앙애호박과 오염대목종자로부터 종자를 3 부위로 나뉘어 각각의 부위별 전체 RNA를 추출하여 RT-PCR 검정을 실시하였다. 바이러스의 검정은 각 부위에 대하여 4종의 박과감염 tobamovirus (CGMMV, ZGMMV, KGMMV, CFMMV)에 특이적인 프라이머를 제작하여 검정하였다. 각 부위별로 바이러스를 검정한 결과 중앙애호박의 경우 종자에서의 바이러스 검출은 확인되지 않았으나 오염대목종자의 경우는 외종피와 내종피에서 바이러스가 검출되었다<그림 2-3>.



<그림 2-3> 중앙애호박 종자의 부위별 바이러스 검정

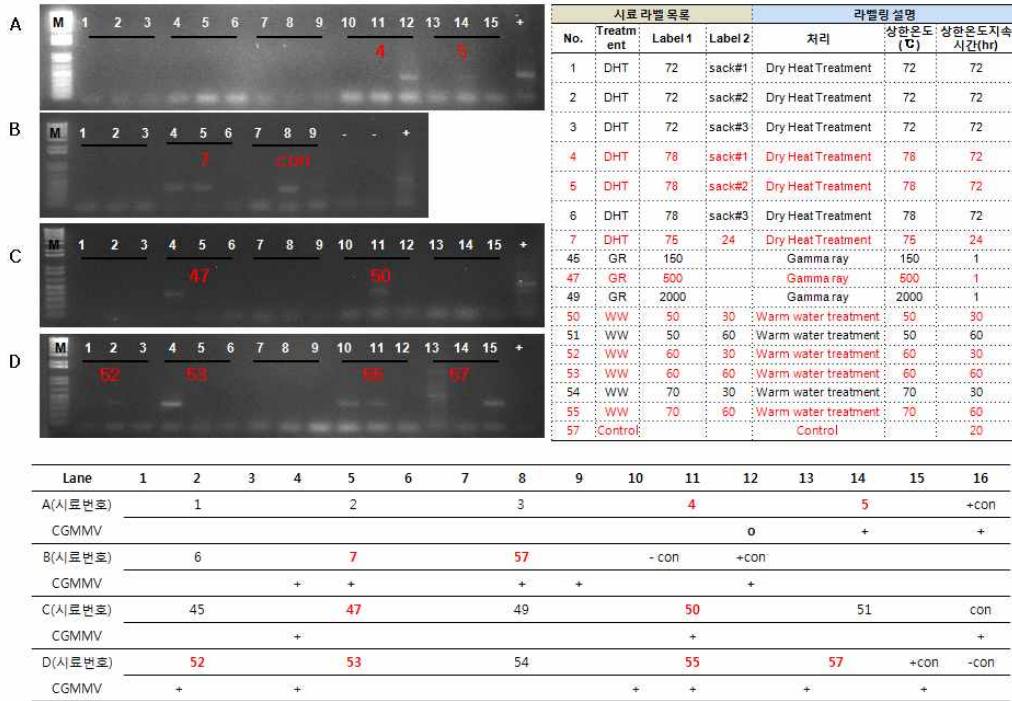
또한 대목종자의 경우 대목 외종피와 내종피 모두에서 CGMMV가 검출되었으며 주목할 만한 것은 박과작물에 감염이 보고되었던 ZGMMV도 같이 검출되었다. 이는 CGMMV와 ZGMMV가 동시에 종자로 감염될 가능성과 두 바이러스의 진화적 연관성을 연구하는 향후의 기초자료로 활용될 것으로 생각된다. 특히 중앙애호박의 경우, 종자에서는 감염이 확인되지 않았으나 종자를 발아시킨 식물체에서 CGMMV가 검출되었으며, 오염대목종자의 경우 종자를 발아시킨 식물체에서 CGMMV와 ZGMMV가 검출되었다<그림 2-4>.



<그림 2-4> CGMMV 오염 대목종자의 부위별 바이러스 검정(RT-PCR)

다. 불활성 처리 오염종자의 CGMMV 확인 및 검정

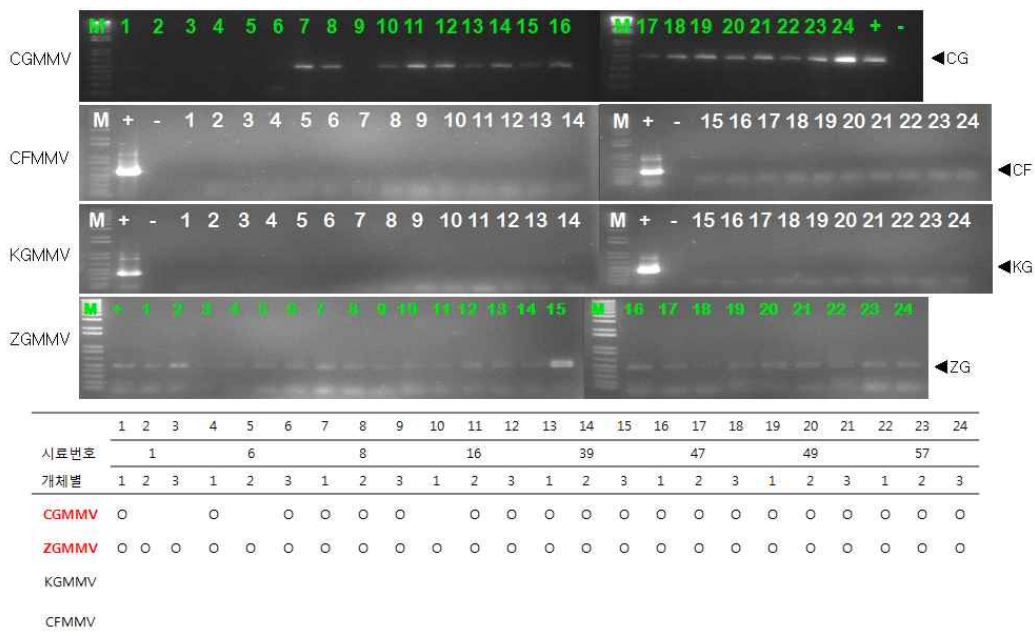
박과작물, 특히 수박의 대목으로 이용되는 대목종자를 건열처리(72℃, 75℃, 78℃ 등 7 처리구)와 감마선 처리(3 처리구) 및 습열처리(6 처리구) 등 17 가지의 처리 시료로 부터 처리당 3개씩 개별적으로 바이러스의 감염여부를 확인하기 위해 RT-PCR 검정을 시도하였다. 우선 각각의 처리종자에 대하여 1립씩 유발을 이용하여 마쇄한 후 total RNA를 추출하였다. 추출된 total RNA로부터 바이러스의 존재 유무는 우선 박과작물에서 가장 피해를 많이 주고 있는 CGMMV를 대상으로 특이 프라이머를 제작하여 바이러스의 검정에 사용하였다. 그 결과 건열처리(72℃, 75℃, 78℃)와 감마선처리(파장 3구간) 및 습열처리(50℃, 60℃, 70℃)에 관계없이 바이러스가 검출되었다<그림 2-5>. 그러나 열처리 등에 의한 바이러스의 활성 및 불활성 여부는 판단할 수 없었다.



<그림 2-5> 바이러스 불활성처리 대목종자에 대한 CGMMV의 RT-PCR 검정(1차 검정).

붉은 숫자: CGMMV가 검출된 처리종자 번호, 검은색 숫자: CGMMV 미검출된 처리종자 번호

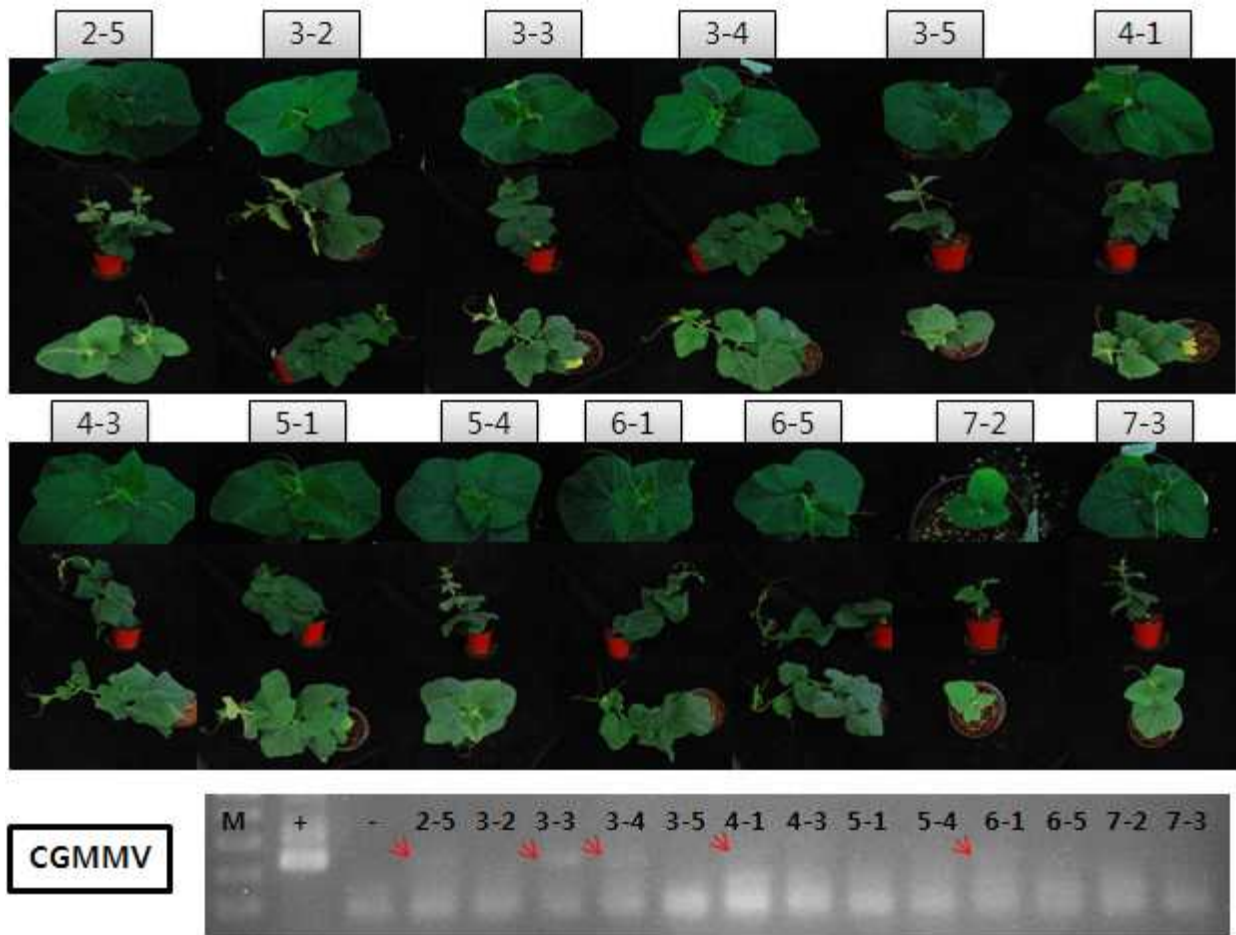
또한 CGMMV를 포함하여 박과작물에 특징적으로 감염하는 4종의 tobamovirus (CGMMV, ZGMMV, KGMMV, CFMMV)의 특이 프라이머를 제작하여 바이러스의 검정에 사용하였다. 그 결과 바이러스 불활성처리한 각 시료에 따라서는 2종의 바이러스가 동시에 감염되고 있음을 확인하였다. 특히 KGMMV와 CFMMV는 검출되지 않았으나 CGMMV와 ZGMMV가 다수 검출되었다<그림 2-6>. 이러한 결과는 CGMMV와 ZGMMV가 다른 두 종류의 바이러스에 비해 우점이거나 종자전염에 유리한 바이러스인 것으로 생각되었다.



<그림 2-6> 바이러스 불활성을 위한 처리 대목종자에 대한 박과감염 tobamovirus (CGMMV, CFMMV, KGMMV, ZGMMV) 바이러스의 RT-PCR 검정(2차 검정). o 바이러스가 검출된 종자번호.

라. 불활성처리 오염종자의 발아 후 식물체의 바이러스의 검정

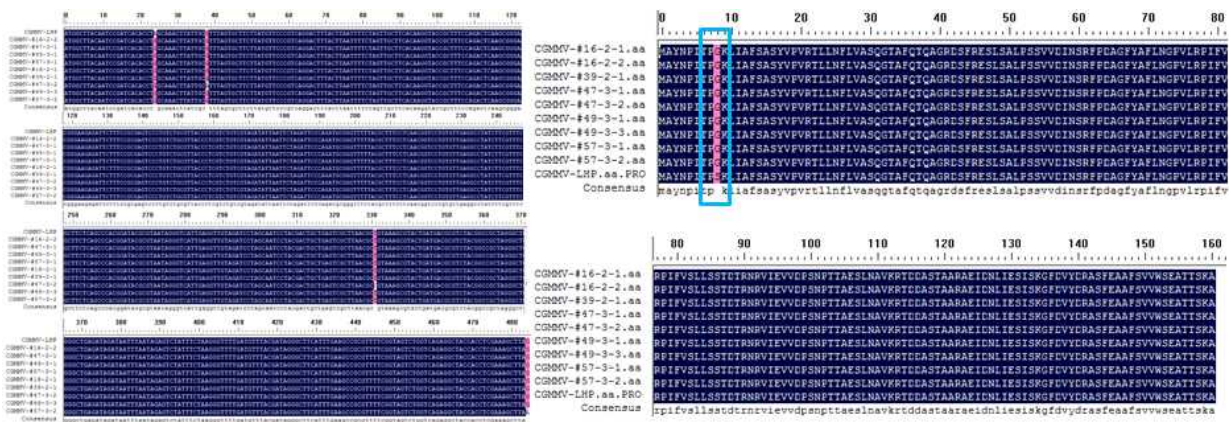
종자바이러스의 불활성을 위한 일반적인 방법인 열처리에 의한 바이러스의 제거 또는 불활성화 여부를 확인하기 위하여 대목종자를 진열처리(72°C, 75°C, 78°C 등 6 처리구)한 종자를 발아시킨 식물체로부터 바이러스의 RT-PCR 검정을 시도하였다. 그 결과 열처리(72°C, 75°C, 78°C)에 관계없이 CGMMV가 저농도로 검출되었다<그림 2-7>. 그러나 열처리 오염종자의 경우와 마찬가지로 바이러스의 활성 및 불활성 여부는 판단할 수 없었다.



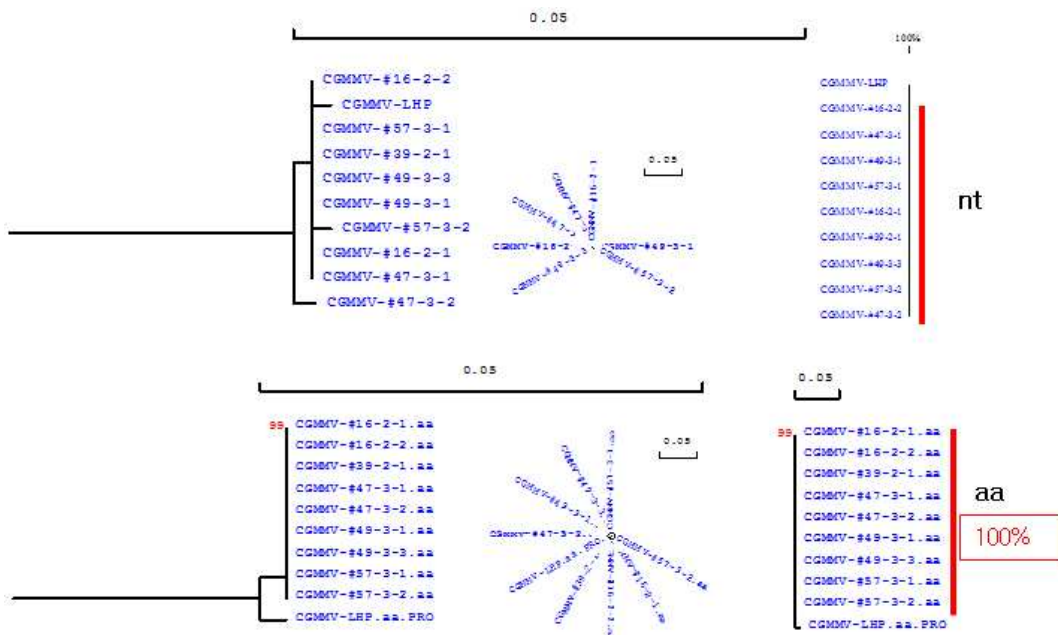
<그림 2-7> 오염종자로부터 발아시킨 식물체로부터 CGMMV의 RT-PCR 검정.

마. 오염종자로부터 분리된 CGMMV의 외피단백질 유전자의 염기 및 아미노산 서열 비교

오염된 박과종자로부터 CGMMV 분리주에 대한 변이 분포 및 계통학적 분석을 위해 CGMMV 특이 프라이머를 이용하여 RT-PCR을 실시한 후 이들 산물에 대하여 CGMMV의 변이를 확인하기 위해 염기서열을 결정하였다. 염기서열은 오염종자의 시료로부터 검출된 RT-PCR 산물을 이용하여 pGEM T easy vector에 클로닝하여 염기서열을 결정하였고 서열을 기초로 아미노산 서열을 추정하였다<그림 2-8>. 결정된 염기 및 아미노산 서열은 기존에 종자에서 유래한 CGMMV의 염기서열을 토대로 각 서열의 비교와 계통학적 분석을 병행하여 실시하였다. 그 결과 대목종자에서 분리한 CGMMV의 외피단백질에 대한 염기 및 아미노산 서열은 비교적 안정적으로 보존되어 있음을 확인할 수 있었다. 이러한 결과로 볼 때 박과식물의 종자에 존재하는 CGMMV는 비교적 안정된 형태로 존재하고 있는 것으로 판단되었다<그림 2-8, 2-9>.



<그림 2-8> 오염 대목종자로부터 분리한 CGMMV 외피단백질 유전자 염기 및 아미노산서열 비교



<그림 2-9> 오염 대목종자로부터 분리한 CGMMV 외피단백질 유전자의 염기 및 아미노산 서열의 계통학적 분석

2. RT-PCR 기술의 보완 및 실용화 기법 개발

가. RT-PCR 기술을 이용한 박과감염 바이러스의 검출한계 검정

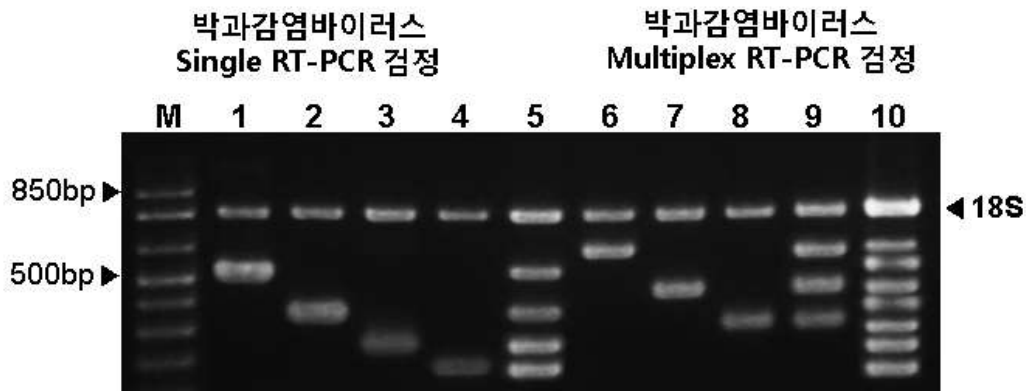
오이, 박, 수박 호박, 멜론 등 박과식물은 대체로 tobamovirus 그룹에 속하는 4가지 바이러스인 *Cucumber green mottle mosaic virus* (CGMMV), *Cucumber fruit mottle mosaic virus* (CFMMV), *Kyuri green mottle mosaic virus* (KGMMV), 그리고 *Zucchini green mottle mosaic virus* (ZGMMV)들에 의한 피해가 심한데 이들의 기주특성 및 범위는 박과식물로 한정되어 있는 점이 특징이어서 바이러스의 동정에 필요한 표준 기주식물의 범위가 매우 한정되어 있다. 또한 분자적 검정 방법인 RT-PCR 등의 기존의 실험들은 바이러스의 농도와 실험조건에 따라서 결과가 달라지거나 실험 조건을 잡기 매우 힘들다. 최적의 primer 디자인과 PCR 환경의 최적조건은 target PCR, multiplex PCR, genotyping PCR, SNP PCR, 진단용 PCR과 같은 PCR을 기초로 하는 실험에서는 가장 공통된 문제점으로 남아있다. 기존 primer의 한계와 단점을 보완한 primer 디자인과 PCR 최적화가 보다 중요한 요건으로 남아있다. 따라서 표준 검정식물에 의한 동정 및 분류는 매우 어려운 실정이어서 보고된 바이러스에 대한 염기서열의 정보를 토대로 이들 4종 바이러스의 동시(multiplex RT-PCR)검정법을 정립하기 위해 박과작물에 감염하는 tobamovirus의 프라이머를 고안 및 제작하였다<표 2-4>.

<표 2-4> 개발한 프라이머 서열, 증폭 크기 및 바이러스의 게놈상 위치

Virus	Primer sequences	PCR Product size(bp)	Target Gene
18S rRNA	F 5'-GACGGAGAATTAGGGTTCGATTIIIIIGAGGGAGCC-3' R 5'-CTCCACTCCTGGTGGTGC CIIIIIGTCAATTCC-3'	813	Plant rRNA
CFMMV	F 5'-TGGATCTACTACGTGGCGTGIIIIITCAAAGTC-3' R 5'-ACAGGTCCACTCCGAGAAGIIIIICGACCTTTAG-3'	535	Movement Protein
KGMMV	F 5'-CGGAATAACAGTCACGGGCIIIIIIGCAAAGTCG-3' R 5'-TGAGATGGATCTTCTCACGGIIIIIIATATCATCG-3'	389	Replicase
ZGMMV	F 5'-CTGTTACTGAGCTATGCGAGCIIIIICGGGTAGTC-3' R 5'-GGTATCTCTGTTCTCAGCGCIIIIICCGGGTAGC-3'	288	Replicase
CGMMV	F 5'-TGGGTCGATAAGTTGCTCCTIIIIITTTTTCCATTC-3' R 5'-AACCAGAGCAACAGTAGCACCAIIIIACAGGATTC-3'	225	Movement Protein
WMV	F 5'-GGTAATTTTGTGGGGCGAACIIIIIAAGCATTCC-3' R 5'-GCGTGATCAACTAAAATGCGTGGIIIIICAGCATTCC-3'	623	HC-Pro
PRSV	F 5'-CGGAAATGATGTGCTCACTAGCACIIIIICTGGAGAGAG-3' R 5'-ATGCTTCTGCCGCGTTACIIIIITGAGCCATAATTTG-3'	458	Coat Protein
ZYMV	F 5'-GTTACAGGCTCCGGCTCAIIIIIGAAAACAGTAG-3' R 5'-TCCATTAATGTCGGGTGAAGTGC CIIIIICAATGCACC-3'	345	Coat Protein

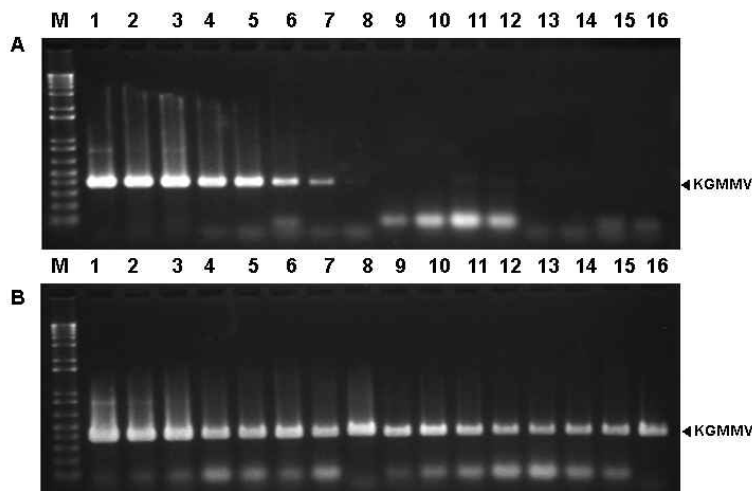
우선 각각의 바이러스에 대하여 유발을 이용하여 식물조직을 마쇄한 후 total RNA를 추출하였다. 추출된 total RNA로부터 바이러스의 존재 유무는 우선 박과작물에서 가장 피해를 많이 주고 있는

CGMMV를 포함하는 tobamovirus 및 potyvirus를 대상으로 특이 프라이머를 제작하여 바이러스의 검정에 사용하였다. 그 결과 박과에 감염하는 7종의 바이러스에 대하여 단독바이러스의 경우 뿐만아니라 복합 감염되어 있는 경우에도 동시에 검출되었다<그림 2-10>. 이러한 결과는 포장의 경우 대부분의 경우 여러 바이러스가 중복으로 복합 감염되어 있는데 이를 동시에 검출할 수 있는 방법으로 활용될 수 있을 것으로 판단되었으며 실제 포장에서 검정한 결과 적게는 1종의 바이러스가 많게는 5종의 바이러스가, 동시에 감염되어 있는 것으로 확인되었다<표 2-5>.



<그림 2-10> 박과감염 바이러스의 단독 및 동시 검정법 개발
 화살표: Plant 18S rRNA, Lane 1-5: CFMMV, KGMMV, ZGMMV, CGMMV, Lane6-10: WMV, PRSV, ZYMV 단독 및 복합바이러스, M: Size marker

제작된 프라이머를 가지고 검정해 본 결과 지금까지 많은 유전자검정법에서 문제시되던 비특이적 반응이 없었고 동시에 목적하는 7종의 바이러스를 동시 진단 검정이 가능하였다<그림 2-10>. 또한 바이러스의 검정농도 한계를 조사하여 민감도를 확인하기위해 바이러스를 정제하여 정량화한 후 희석하여 검정한계를 검정하였다. 일반 프라이머와 본 연구과제를 통하여 제작한 프라이머를 활용하여 정제바이러스를 검정한 경우 약 10^{-4} ng/ μ l의 농도까지 검출이 가능하였으며 일반 프라이머의 경우보다 약 1000 배 이상의 민감도를 가지고 있는 것으로 확인되었다<그림 2-11>.



<그림 2-11> 개발한 프라이머를 이용한 박과감염 바이러스(KGMMV)의 희석농도 한계 검정
 A: 일반 프라이머를 사용한 RT-PCR 검정사진, B: DPO primer를 사용한 RT-PCR 검정사진

본 연구를 통하여 개발된 DPO primer를 이용하여 박과에 감염되는 3종의 potyvirus와 4종의 tobamovirus를 multiplex RT-PCR을 이용해서 비특이적인 반응이 없이 검정대상 바이러스들을 성공적으로 진단할 수 있었으며 농도가 매우 낮을 경우에도 대상 바이러스를 검정할 수 있었다. 본 연구에서 제작된 분자진단법으로 농가에서 채집한 박과(오이, 서양호박, 수박)와 감염이 의심되는 종자를 이용하여 실험을 진행한 결과 복합 바이러스 감염을 검정할 수 있었다. <표 2-5> 결과에서 보는 바와 같이 현재 국내에서 보고되지 않은 PRSV나 CFMMV 등이 농가 시료에서 발견되었고 저농도의 바이러스 수치에서도 감지할 수 있는 장점을 가지고 있다고 판단되었으며 다양한 작물에서 바이러스의 진단에 유용하게 활용 가능할 것으로 생각된다.

특히 CGMMV의 경우 대부분의 박과작물에 특이적으로 감염하는 바이러스로 확인되었는데 이는 박과작물에 특이적으로 적응되어 대부분의 작물품종에 감염되어 피해를 주는 대표적 바이러스로 판단되며 향후 대목의 선별에 있어 무독묘 및 저항성 대목의 선별에 있어 바이러스를 검정하는 방법으로 매우 유용하게 활용될 것으로 생각되었다.

<표 2-5> 포장으로부터 채집한 박과작물에 대한 바이러스 검정

Plant	Sample No.	Tobamovirus				Potyvirus			
		CFMMV	KGMMV	ZGMMV	CGMMV	WMV	PRSV	ZYMV	
Zucchini	1	+	+		+		+	+	
	2	+	+		+		+	+	
	3	+	+		+		+	+	
	4	+	+		+		+	+	
	5		+		+		+	+	
	6		+		+		+	+	
	7		+		+		+		
	8				+		+		
	9				+				
	10				+				
	11				+				
	12				+				
	13				+				
Cucumber	1	+	+		+			+	
	2	+	+		+			+	
	3	+	+		+			+	
	4	+	+		+			+	
	5	+	+		+			+	
	6				+			+	
	7				+				
	8				+				
	9				+				
	10		+		+				
	11	+	+		+	+	+		
	12		+		+	+	+		
	13		+		+	+	+		
Watermelon	1				+		+		

나. RT-PCR을 이용한 불활성 처리 감염종자의 CGMMV 확인 및 검정

박과작물, 특히 수박의 대목으로 이용되는 '신화창조' 박 종자를 건열처리(상한온도 72℃, 78℃) 2 가지의 처리 시료로부터 처리당 10립씩 개별적으로 바이러스의 감염여부를 확인하기 위해 RT-PCR 검정을 시도하였다. 우선 각각의 처리종자에 대하여 1립씩 유발을 이용하여 마쇄한 후 total RNA를 추출하였다. 추출된 total RNA로부터 바이러스의 존재 유무는 우선 박과작물에서 가장 피해를 많이 주고 있는 CGMMV를 대상으로 특이 프라이머를 제작하여 바이러스의 검정에 사용하였다. 그 결과 재료로 사용한 인도네시아산 '신화창조' 감염종자의 경우 10립 중 4립에서 바이러스가 검출되어 약 40%의 감염율을 나타내는 것으로 확인되었으며 두 건열처리구(72℃, 78℃)에서는 바이러스가 검출되지 않았다<그림 2-12>. 이러한 결과는 1차년도 건열처리구에서 바이러스가 검출된 것과는 다른 양상으로 대목 종자의 품종에 따라 다소 차이가 있는 것으로 판단되었다.

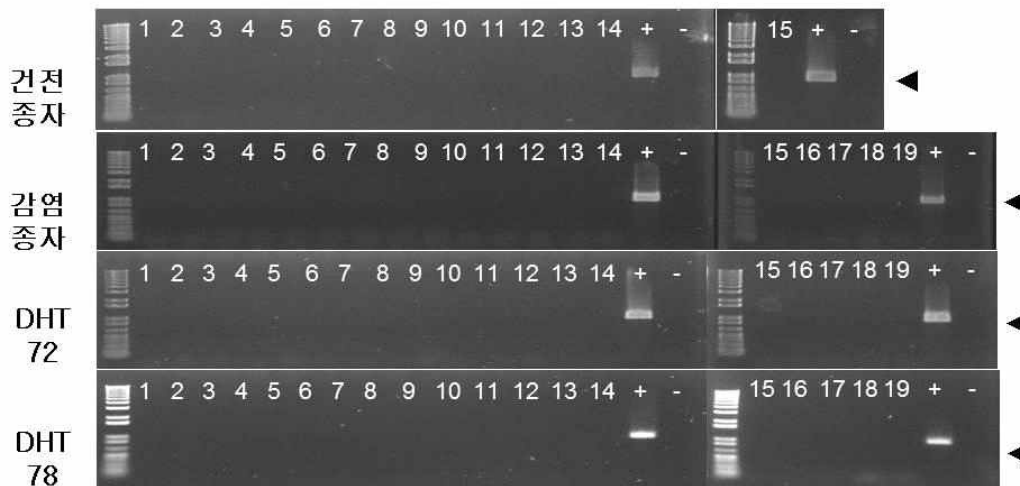
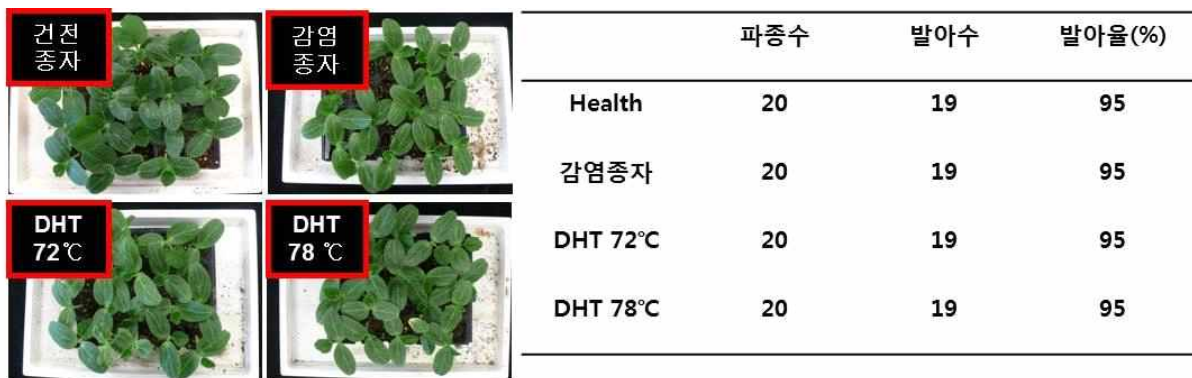


<그림 2-12> 바이러스 불활성 처리후 '신화창조' 박 종자에 대한 CGMMV의 RT-PCR 검정

붉은 화살표: CGMMV가 검출된 종자 번호, +, - : positive and negative control

다. 불활성처리 감염종자의 발아 후 식물체의 바이러스의 검정

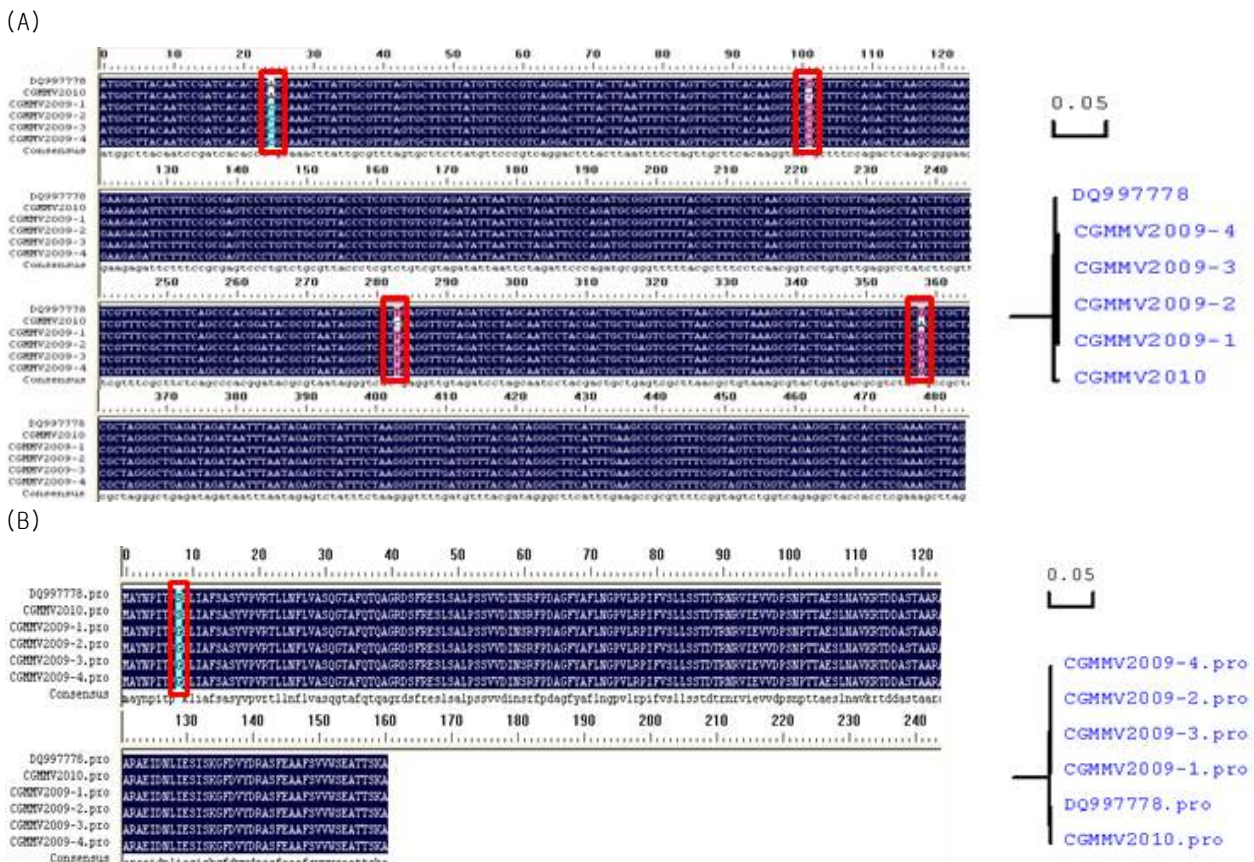
종자로 전염되는 종자바이러스의 불활성을 위한 일반적인 방법인 건열처리에 의한 바이러스의 제거 또는 불활성화 여부를 확인하기 위하여 2010년에 건열처리(72℃, 78℃ 등 2 처리구)한 ‘신화창조’ 박 종자를 발아시킨 19개체의 식물체로부터 total RNA를 추출하여 RT-PCR 검정을 시도하였다. 그 결과 건열처리(72℃, 78℃)에 관계없이 감염종자를 발아시킨 후 바이러스의 검정에서 CGMMV는 검출되지 않았다<그림 2-13>. 발아율은 대부분 95% 이상으로 나타났으며 또한 건전종자와 모든 무처리 감염종자 및 건열처리 감염종자에서 바이러스는 검출되지 않았다. 이러한 결과는 1차년도에 검출된 ‘FR King II’ 감염된 종자에 비해 ‘신화창조’ 박 종자의 경우 발아 후 바이러스의 전염은 매우 적은 수로 전염되고 있는 것으로 판단되었다.



<그림 2-13> 감염종자 및 불활성 처리된 ‘신화창조’ 박 종자에서 발아시킨 식물체의 CGMMV의 RT-PCR 검정

라. 감염종자로부터 분리된 CGMMV의 외피단백질 유전자의 유전적 안정성 비교

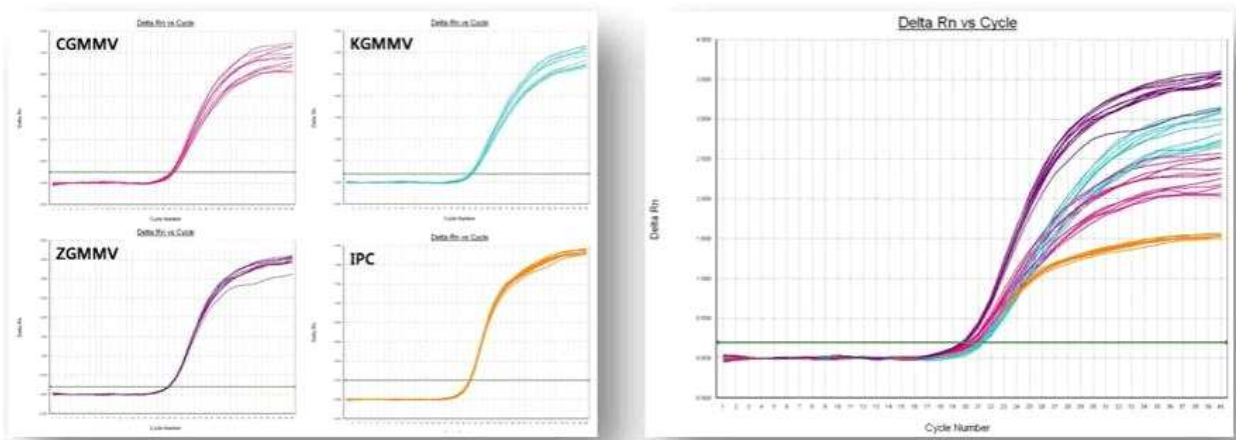
감염종자로 부터 분리되어 검정된 CGMMV의 외피단백질 유전자를 바이러스에 감염된 ‘신화창조’ 박대목으로부터 CGMMV 분리주에 대한 변이 분포 및 계통학적 분석을 위해 CGMMV 외피단백질 특이 프라이머를 이용하여 RT-PCR을 실시한 후 이들 산물에 대하여 CGMMV의 변이를 확인하기 위해 염기서열을 결정하였다. 염기서열은 감염종자의 시료와 감염종자를 기주식물인 *N. benthamiana*에 접종하여 검출된 RT-PCR 산물을 이용하여 pGEM T easy vector에 클로닝하고 염기서열을 결정하였고 서열을 기초로 아미노산서열을 추정하였다<그림 2-14>. 결정된 염기 및 아미노산서열은 기존에 종자에서 유래한 CGMMV의 염기서열과 1차년도에 검출되어 분석한 염기서열을 토대로 각 서열의 비교와 계통학적 분석을 병행하여 실시하였다. 그 결과 ‘FR King II’ 및 ‘신화창조’ 박 종자에서 분리한 CGMMV의 외피단백질에 대한 염기에서 전체적으로 4부위가 치환되어 있었으며 아미노산 서열은 한곳의 서열에서 차이가 확인되어 비교적 안정적으로 보존되어 있음을 확인할 수 있었다. 특히 변이가 확인된 부분은 모든 분리주에서 동일한 위치에서 변이가 있는 것으로 확인되었다. 이러한 결과로 볼 때 서로 다른 박과식물의 종자에 존재하는 CGMMV는 염기에서 다소 변이가 있었으나 아미노산에서는 비교적 안정된 형태로 존재하고 있는 것으로 판단되었다<그림 2-14>.



<그림 2-14> 감염 ‘신화창조’ 박대목 종자로부터 분리한 CGMMV 외피단백질 유전자 염기(A) 및 아미노산(B) 서열 비교 및 계통학적 분석

마. 실시간 PCR(Real time PCR)을 이용한 감염종자의 바이러스 검정법 개발

현재까지 바이러스의 검출방법은 항체를 이용한 혈청학적방법과 바이러스유전체의 일부를 프라이머로 하여 핵산을 검출하는 분자생물학적 방법으로 PCR을 활용한 분자검정방법이 주로 활용되고 있다. 1차년도에 RT-PCR (reverse transcription polymerase chain reaction)을 이용하여 바이러스를 검정하는 방법을 개발하여 감염종자와 불활성화 처리된 종자를 대상으로 바이러스를 검정하는 방법을 개발하였다. 최근 민감도와 정확성에서 각광받고 있는 실시간 PCR의 활용이 점차 실용화되고 있는 추세로 이에 따라 실시간 PCR을 통한 종자바이러스 검출법을 개발하였다<그림 2-15>. 대상바이러스로 박과식물에 감염하는 3종의 바이러스(CGMMV · KGMMV · ZGMMV)를 공시하여 단독 및 복합바이러스 검정을 목적으로 실시간 PCR을 실시하였다. 그 결과 단독으로 검정한 경우는 물론 3 종류의 바이러스를 동시에 검정하였을 경우도 정확하게 검출되는 특성을 보였다. 이는 향후 종자감염 바이러스의 검정 및 진단에 유용하게 활용될 것으로 판단되었다.



<그림 2-15> 박과감염 바이러스에 대한 단독 및 다중 실시간 PCR 검정
 공시바이러스: CGMMV, KGMMV, ZGMMV, IPC: inter positive control
 왼쪽: 단독바이러스 실시간 PCR, 오른쪽: 복합바이러스 실시간 PCR

바이러스에 대한 RNA 추출은 기존에 발표된 방법을 변형한 방법과 현재 광범위하게 쓰이고 있는 RNA 추출 키트(kits)을 사용하여 바이러스 핵산을 추출하여 실시간 PCR을 실시하였다. 그 결과 공시한 감염종자 1/2립, 1립, 3립을 이용하여 바이러스를 검정한 결과 ct 값(ct 값이 31이하의 경우 바이러스가 존재하는 것을 의미함)의 경우 모두 무난하게 나오는 것을 확인하였다. CGMMV 분석의 경우 결과가 동일한 패턴이 나타나지 않음을 알 수 있었는데 이는 박 종자의 경우 하나의 종자에서 배가 차지하는 부분이 타 종자에 비해 많음으로서 RNA 추출 과정에서 inhibitor나 secondary metabolite가 완전히 제거되지 못하게 되어 분석결과에 고른 경향을 나타내지 못하는 것으로 판단되었다. 이는 반복실험에서도 동일한 패턴을 보여주었다<표 2-6, 2-7>.

<표 2-6> 감염종자에 대한 실시간 PCR 1차 실험(ct 값*)

공시 바이러스	건전종자			감염종자			72℃			78℃		
	1/2립	1립	3립	1/2립	1립	3립	1/2립	1립	3립	1/2립	1립	3립
IPC	19	18	21	21	19	16	17	22	21	16	18	14
CGMMV	32	21	X	33	13	28	13	23	28	23	21	24

*바이러스 검출 판정: (ct 값) 31 이하 숫자

<표 2-7> 감염종자에 대한 실시간 PCR 2차 실험(ct 값)

공시 바이러스	건전종자			감염종자			72℃			78℃		
	1/2립	1립	3립	1/2립	1립	3립	1/2립	1립	3립	1/2립	1립	3립
IPC	18	19	18	20	20	22	18	29	19	19	20	14
CGMMV	30	29	36	37	26	36	13	26	23	32	27	22

*바이러스 검출 판정: (ct 값) 31 이하 숫자

또한 RNA 추출에서 보다 효율적이고 정확한 데이터의 산출을 위해 하나의 종자에서 1/4을 절단 후 종자를 extraction buffer에 한 시간 침지 후 종자의 외종피부분만을 긁어내어 stainless beads를 이용하여 마쇄 후 RNA 추출 키트를 이용하여 핵산을 추출한 후 분석을 진행하였다. 그 결과 RNA 추출 키트를 이용한 샘플들의 IPC의 ct 값이 manual로 추출한 IPC의 ct 값과 크게 다르지 않으며 고르게 나오는 것을 확인할 수 있었다. CGMMV 분석의 경우 건전종자에서는 ct 값이 모두 높게 나오는 것을 확인하였으나 감염종자와 72℃, 78℃ 처리군의 경우 3 집단의 ct 값의 차이나 감소하는 경향이 없음을 확인할 수 있었다<표2-8>.

<표 2-8> 감염종자 1/4립에 대한 CGMMV 분석 ct 값

공시 바이러스	건전				감염종자				72℃				78℃				Control	
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	+	-
IPC	22	24	24	26	25	23	27	25	23	23	25	24	25	24	24	24	15	37
CGMMV	32	33	31	35	28	21	24	24	20	19	27	25	27	29	22	16	22	-

*바이러스 검출 판정: (ct 값) 31 이하 숫자

한편 3 종류의 박과감염 바이러스를 동시에 검정 가능한 프라이머 세트를 이용한 실시간 PCR을 수행한 결과 전체 16개 분석개체들에서 50%(8개 개체)가 KGMMV에 감염된 것으로 확인되었으며 동시에 분석된 ZGMMV는 검정되지 않았던 것으로 확인되었다. 이들 바이러스이 상호간 어떠한 경로로 감염되었는지는 확인할 수 없었으나 박과식물의 종자에 한 종류 이상의 바이러스가 복합감염되어 전염될 수 있는 것으로 판단되었다<표 2-9>.

<표 2-9> IPC외 3종의 바이러스들에 대한 동시분석 ct 값

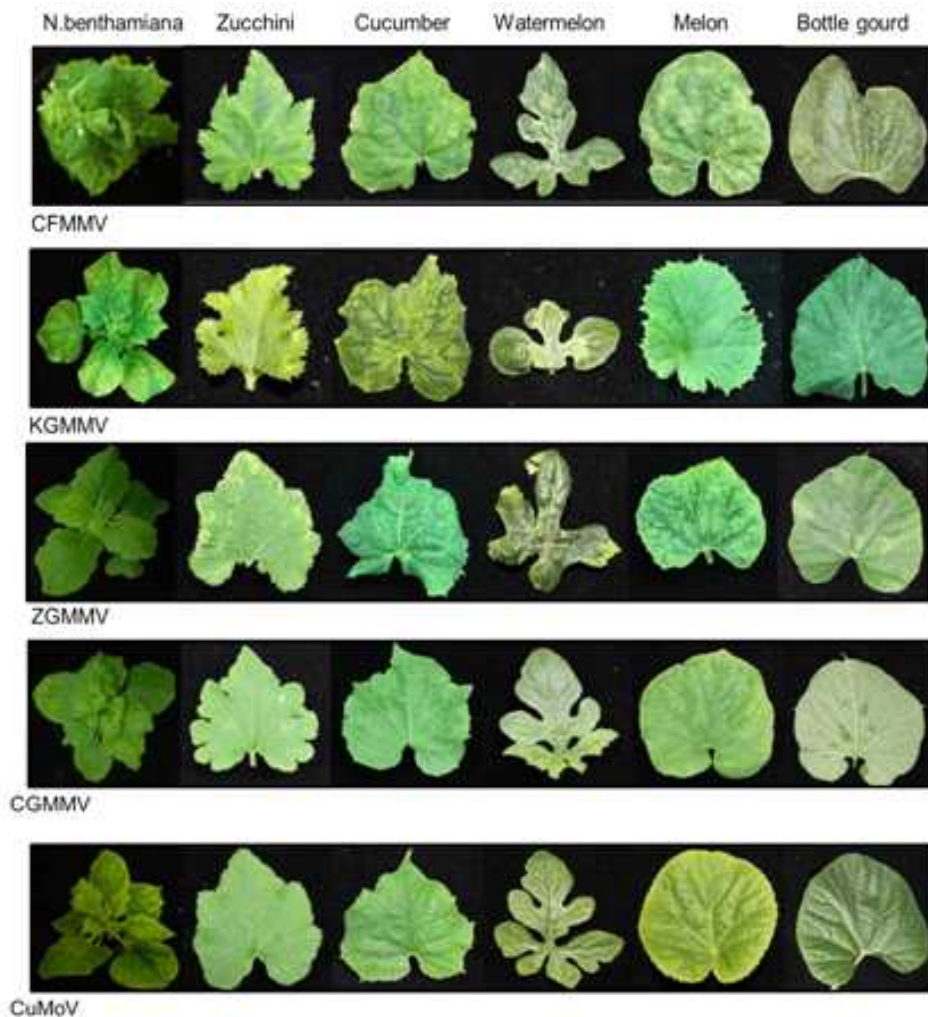
공시 바이러스	건전				감염종자				72℃				78℃				Control	
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	+	-
IPC	24	24	24	26	25	24	28	25	24	24	25	24	26	24	24	24	24	37
CGMMV	31	31	31	34	26	19	23	23	17	17	27	24	25	27	21	15	18	-
KGMMV	-	-	30	-	26	20	-	-	-	16	26	24	-	27	-	-	-	-
ZGMMV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*바이러스 검출 판정: (ct 값) 31 이하 숫자

3. 지표식물을 이용한 바이러스 활성 및 불활성 생물검정 적용시험

가. 지표식물을 이용한 바이러스 활성 및 불활성 검정

박과식물에 감염하는 바이러스는 주로 tobamovirus 그룹에 속하는 CGMMV · CFMMV · CuMoV · KGMMV · ZGMMV들에 의해 피해가 심한데 이들의 기주특성 및 범위는 박과식물로 한정되어 있는 점이 특징이어서 바이러스의 동정에 필요한 표준 기주식물의 범위가 매우 한정되어 있다. 따라서 표준 검정식물에 의한 동정 및 분류는 매우 어려운 실정이어서 박과작물별로 5종의 tobamovirus를 접종하여 바이러스와 기주와의 생물적 특성을 비교하고자 5종류의 박과식물(오이, 호박, 수박, 멜론, 수세미, 박)에 대한 병원성을 검정하였다<그림2-16, 표 2-10>. 그 결과 오이와 수박에서는 대부분의 tobamovirus가 전신감염되는 특성을 보였으며 그 중 특히 중자감염이 잘되는 특성을 보이는 CGMMV의 경우 일반 호박을 제외한 대부분의 박과식물에 감염이 잘되는 특성을 나타내었다. 이들 결과를 토대로 박과식물과 감염바이러스간의 병원학적 상호관계분석에 용이하게 활용될 것으로 판단되었다.



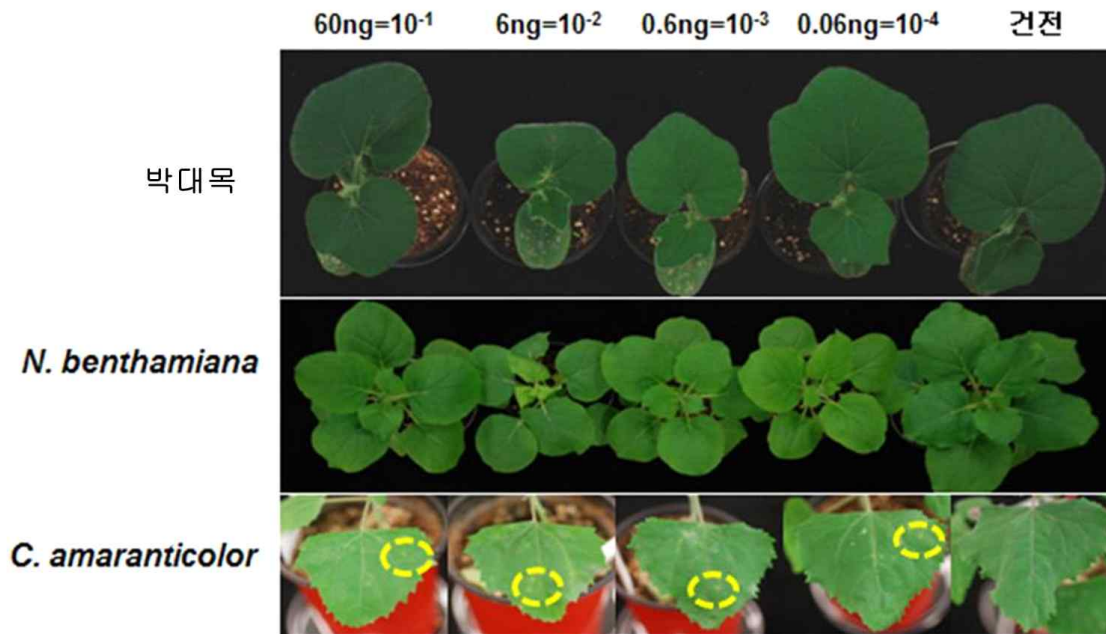
<그림 2-16> 박과작물에 감염하는 tobamovirus의 병징 패턴

<표 2-10> 담배 및 박과식물에 감염하는 tobamovirus의 기주반응

바이러스명	<i>N. benthamiana</i>	Zucchini	Cucumber	Watermelon	Melon	Bottle gourd
CFMMV	M	Y	M	Mal	Y	Mal
KGMMV	M	Y	M	Mal	-	Mo
ZGMMV	M	Y	Mo	Mal	V	Mo
CGMMV	M	-	Pr	M	M	Pr
CuMoV	M	-	Mo	-	-	-

M: mosaic, Y: yellowing, Mo: mottle, Mal: malformation, Pr: leaf press, -: symptomless

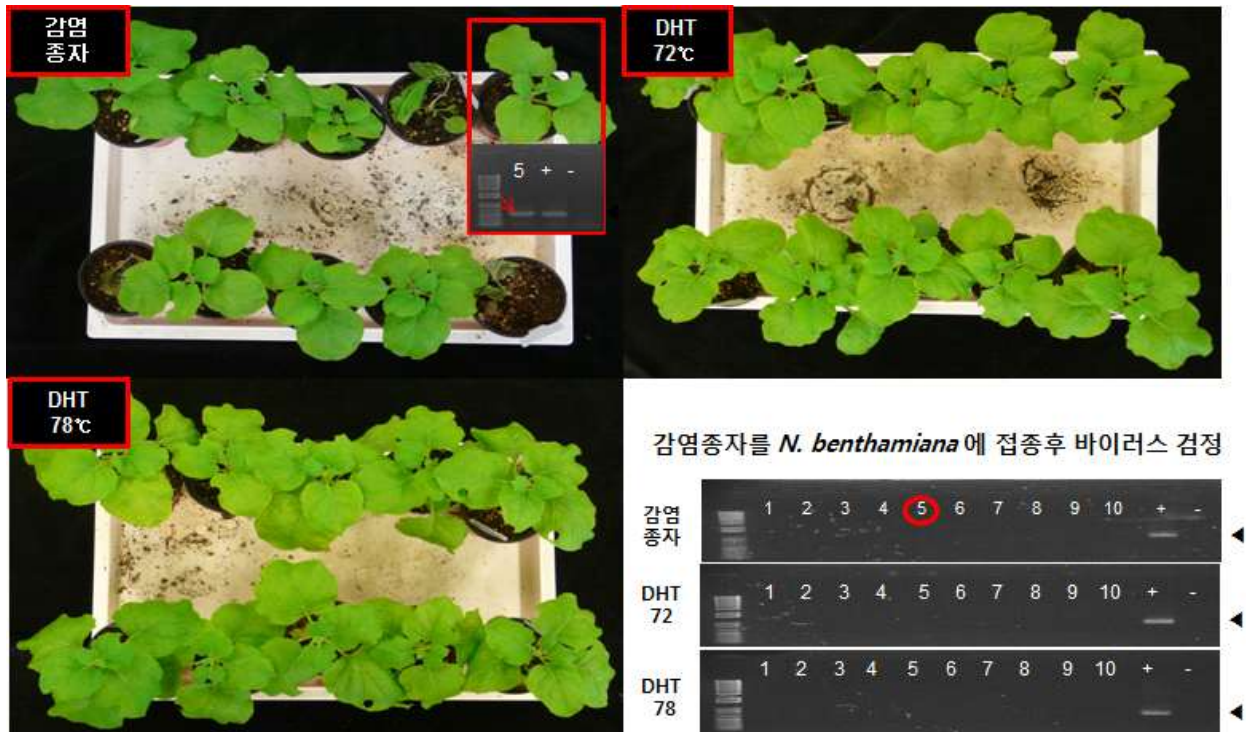
또한 감염된 종자로부터 바이러스의 활성 및 불활성태의 구분 검정을 위한 일환으로 바이러스의 감염력 한계 농도를 알아보고자 정제된 CGMMV를 적정한 완충용액을 활용하여 희석한 후 희석배수별로 지표식물(전신 감염 기주인 *Nicotiana benthamiana* 및 국부병반 기주인 *Chenopodium amaranticolor*)에 정제바이러스를 접종하였다. 그 결과 접종 10일 후 *N. benthamiana* 와 *C. amaranticolor*에서 병징이 나타나기 시작하였으며, 특히 국부병반기주인 *C. amaranticolor*의 경우 바이러스가 0.06ng의 농도까지 감염력이 있음을 확인하였다<그림 2-17>. 또한 정제바이러스로부터 추출된 바이러스 유전체의 농도에 따른 감염력 한계에 대한 추가실험이 요구된다. 이 결과는 향후 감염종자의 생물검정에 있어 종자 감염과 바이러스농도에 대한 기초자료로 유익하게 활용될 것으로 생각된다.



<그림 2-17> CGMMV의 기주식물 감염력 한계 검정

한편 대목종자의 생물검정을 위해 불활성 처리한 감염종자를 유발을 이용하여 전신감염기주인 *N. benthamiana*에 접종하고 바이러스의 존재 유무를 검정하기 위해 CGMMV에 대한 특이 프라이머를 활용하여 RT-PCR 검정을 실시하였다. 그 결과 감염종자를 접종한 *N. benthamiana*의 경우 감염종자 10립 중 4립에서 바이러스 병징이 나타나는 것을 확인하였다<그림 2-18>. 생물검정을 통해 병징이 확인된 4개의 식물체 중 3개체는 고사하여 바이러스의 유무를 검정할 수 없었으나 모자이크 병징이 보이는 1개의 식물에서 CGMMV를 검출할 수 있었으며 증폭된 PCR 산물을 클로닝하여 염기서열을 결정하였다. 특히 감염종자 이외에 불활성처리구의 경우 바이러스가 검출되지 않았으며 이는 불활성처리에 의한

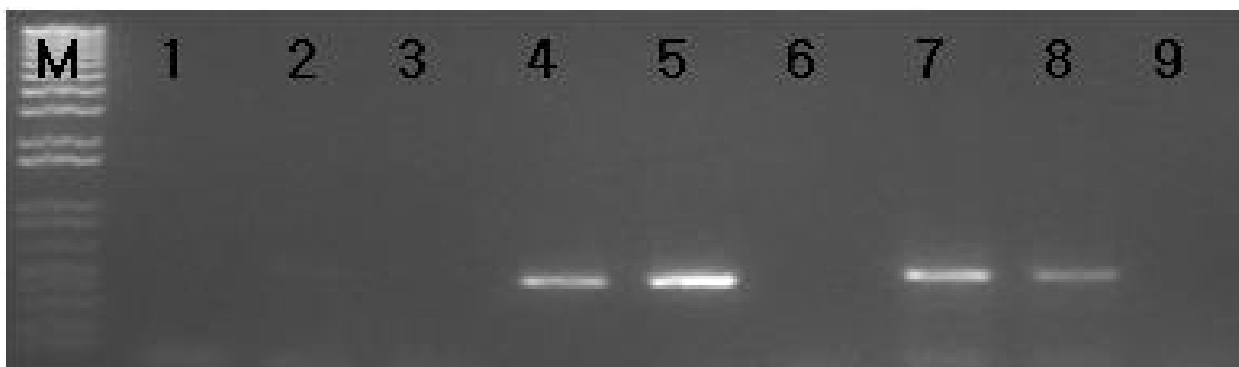
바이러스의 감염력이 상실된 것으로 생각되었다.



<그림 2-18> 무처리 및 불활성처리된 ‘신화창조’ 박 대목종자에 대한 바이러스 생물검정 및 RT-PCR 검정

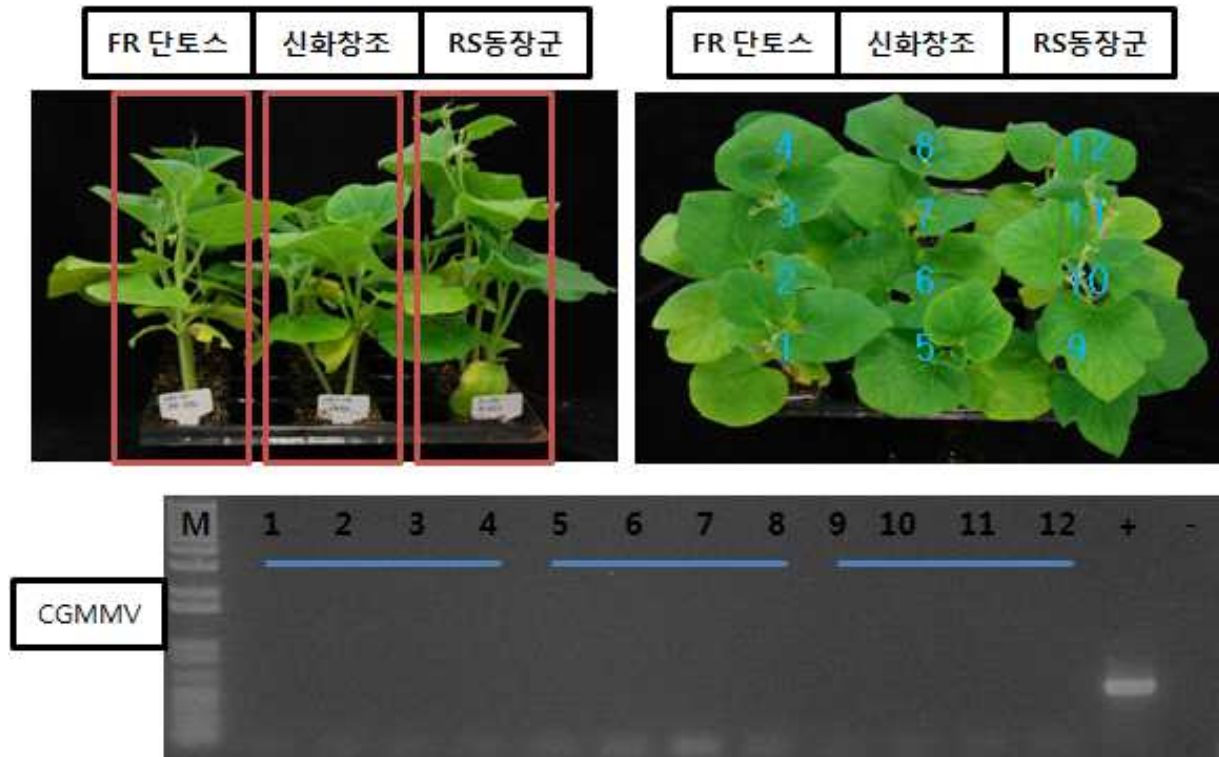
나. 건전 채종종자에서의 바이러스 검정

한편 건전종자 채종에 대한 오염을 확인하기 위한 일환으로 건전종자로 채종된 3종류의 대목종자(신토좌, 단토스, 동장군)에 대하여 종자 자체와 종자를 발아시킨 후 식물체로부터 각각 바이러스를 검정한 결과, 종자 자체에서는 동장군과 신화창조에서는 CGMMV가 검출되었으나 단토스에서는 검출되지 않았다<그림 2-19, 2-20>.



<그림 2-19> 건전 채종종자에서의 CGMMV에 대한 RT-PCR 검정.

Lane 1-4: 동장군, 5-8: 신화창조, 9-12: 단토스, M: size marker



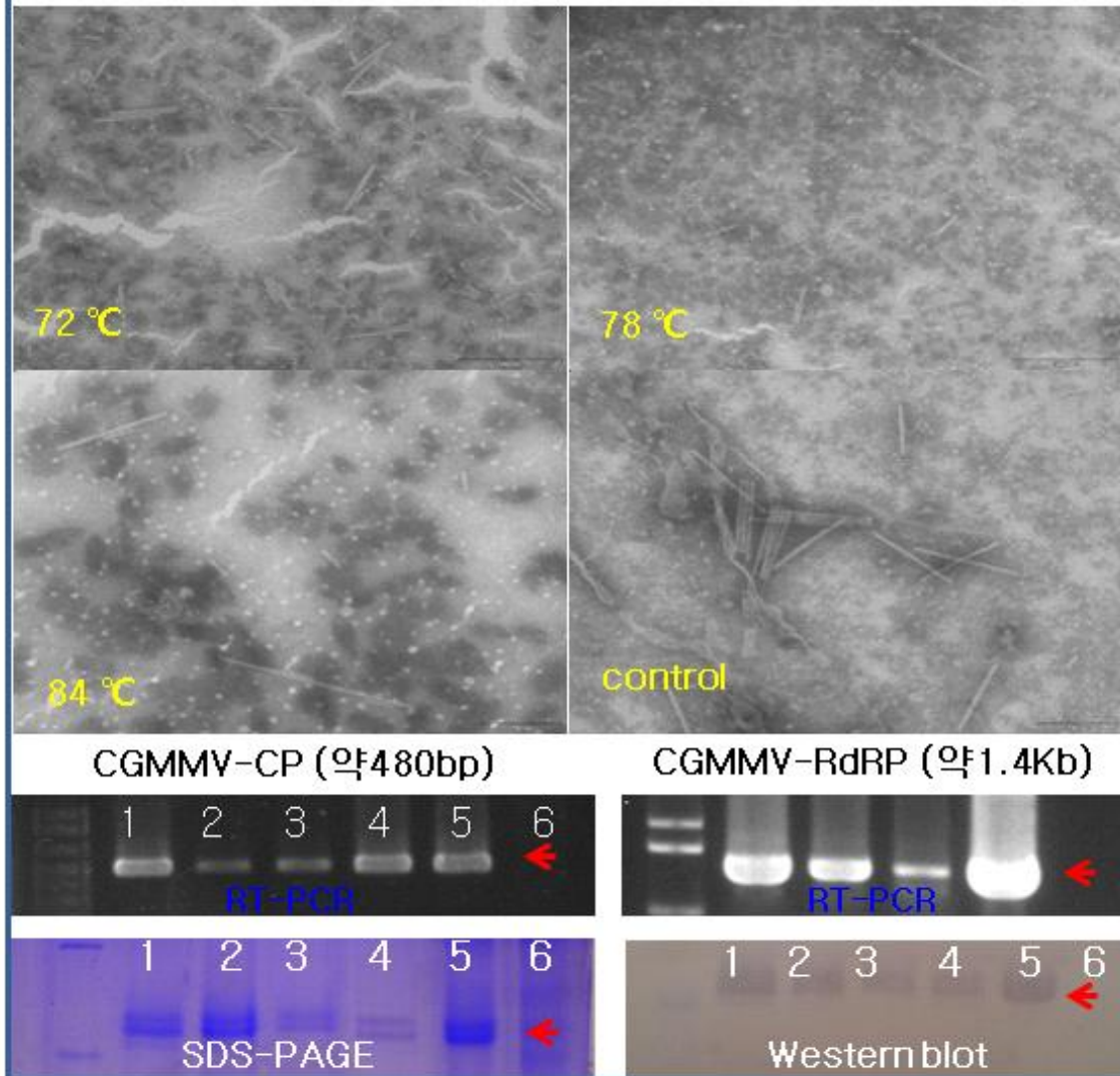
<그림 2-20> 건전 채종종자를 발아시킨 식물체에 대한 CGMMV에 대한 RT-PCR 검정.

Lane 1-4: 단토스, 5-8: 동장군, 9-12: 신화창조 M: size marker

다. 건열처리 CGMMV 이병박 엽분말의 활성 및 불활성태 검정을 위한 전자현미경 검정

바이러스에 감염된 식물체로부터 종자와 같은 방법으로 CGMMV에 감염된 이병박의 잎을 재료로 하여 무처리 및 건열처리(72℃, 78℃, 84℃)한 시료로부터 바이러스의 감염성과 농도의 상관관계를 알아보기 위해 우선 바이러스의 활성태를 확인하고자 전자현미경으로 관찰하였다. 각 건열처리구별 시료에 대한 전자현미경 검정 결과 온도별로 바이러스 형태는 다소 차이는 있었으나 바이러스의 완전한 형태인 활성태가 존재하고 있는 것으로 확인되었다. 이는 건열처리에 의한 바이러스입자가 깨지는 현상은 있으나 일부 완전한 형태인 바이러스입자로 인해 완전한 불활성화는 이루어지지 않은 것으로 판단되었으며 박과 작물에 감염하는 tobamovirus인 CGMMV의 특성으로 볼 때 열에 매우 안정된 형태의 바이러스로 판단되었다. 또한 바이러스의 입자의 존재 여부를 확인하기 위해 핵산검정을 병행하여 확인하였다. 핵산검정은 이병엽의 건열처리구별 시료의 total RNA를 추출하여 CGMMV 특이 프라이머를 사용하여 RT-PCR 검정을 실시하였으며 동일한 시료로부터 단백질을 추출하여 Western blot을 실시한 결과 CGMMV의 외피단백질에 대한 항체에 특이적으로 반응하는 밴드를 확인할 수 있었다<그림 2-21>. 이러한 결과는 종자의 건열처리에 의한 병원체의 불활성화 유도는 한 가지 방법으로는 어려울 것으로 판단되며 건열처리 이외의 방법을 병행하여 종자처리를 수행해야 할 것으로 생각되었다.

CGMMV 감염 분말의 온도처리별 전자현미경 검정

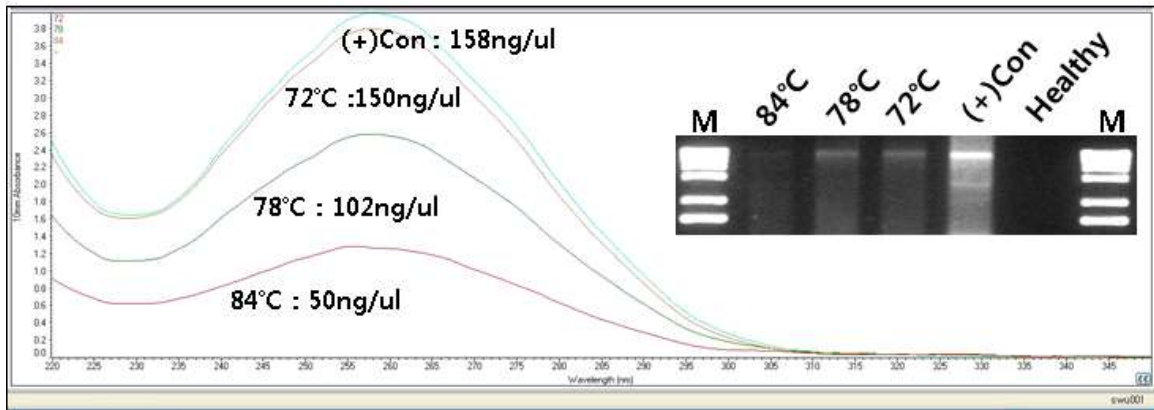


<그림 2-21> CGMMV 이병박 잎분말의 전자현미경, RT-PCR 및 Western blot 분석

라. CGMMV 이병박 엽분말의 온도처리별 바이러스 활성태와 불활성태 농도 검정법 개발

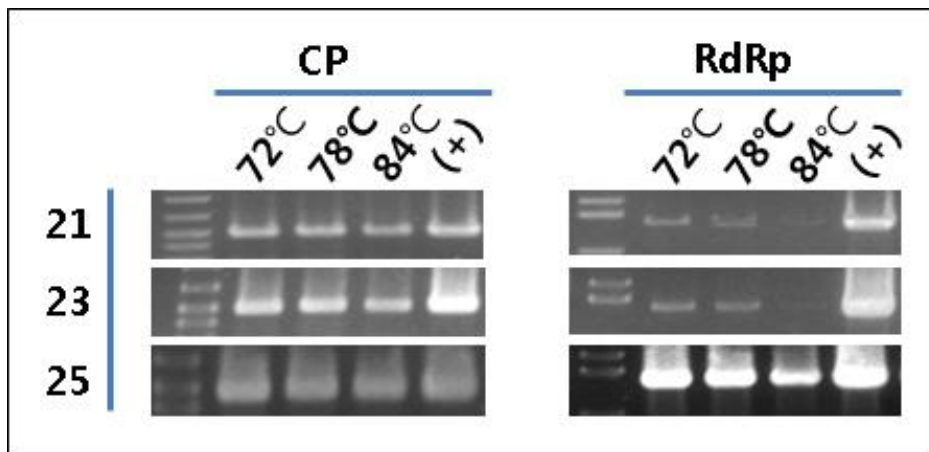
건열처리에 의한 바이러스의 불활성 정도를 판단하기 위해 CGMMV 이병박 엽분말을 사용하여 건열처리별(72°C, 78°C, 84°C)로 바이러스의 농도를 측정하였다. 바이러스 농도 측정은 바이러스가 증식할 때 중간형으로 double stranded RNA (dsRNA)의 형태를 취하게 되는데 이를 활용하여 바이러스의 dsRNA 추출하여 분광광도계를 사용하여 핵산의 농도를 측정하였다. 그 결과 전자현미경 검정 결과에서 일부 바이러스가 활성태로 존재하는 것을 토대로 상대 비교를 하였으며 전자현미경 검정 결과와 일치하는 결과를 나타내었다. 특히 온도별로 바이러스의 농도가 상대적으로 낮아지는 경향을 보이는데 이는 건열처리에 의한 바이러스의 불활성화에 의한 농도 감소로 판단되었다. 특히 온도별로 바이러스의 농도가 상대적으로 낮아지는 경향을 보이는데 72°C의 경우 건열처리전의 경우와 비교하였을 때 약 1%,

78°C의 경우 15.4%, 84°C의 경우 32%의 비율로 감소하는 경향을 보였다. 이는 건열처리에 의한 바이러스의 불활성화에 의한 농도 감소로 판단되었다<그림 2-22>.



<그림 2-22> 건열처리 CGMMV 이병박 엽분말의 온도에 따른 활성태 바이러스 농도분석

한편 건열처리구별 시료로부터 추출한 dsRNA를 주형으로 정량 PCR을 수행한 결과, 이중가닥 RNA 농도에 의해 높은 온도에서 처리한 시료의 경우가 낮은 온도에서 처리한 시료보다 바이러스가 낮은 농도로 존재하고 있는 것으로 확인되었다<그림 2-23>.

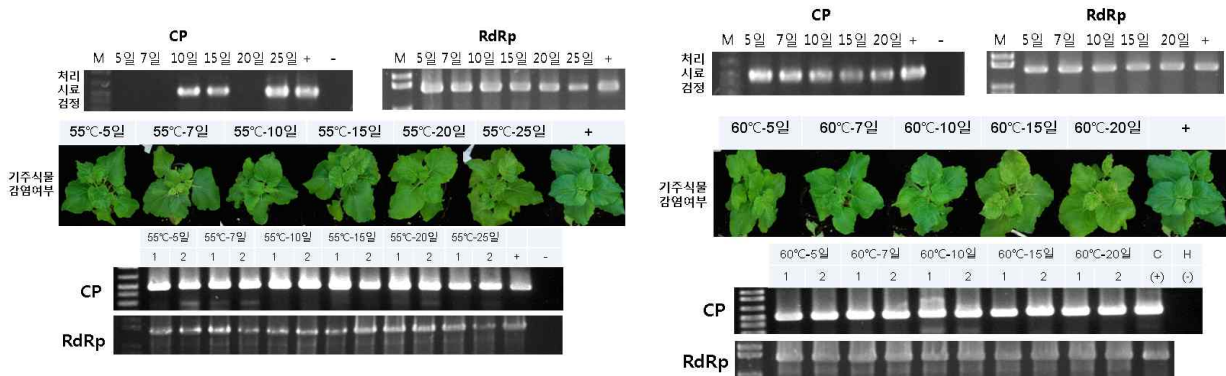


<그림 2-23> 건열처리 온도별 CGMMV 농도검정을 위한 semi-quantitative PCR

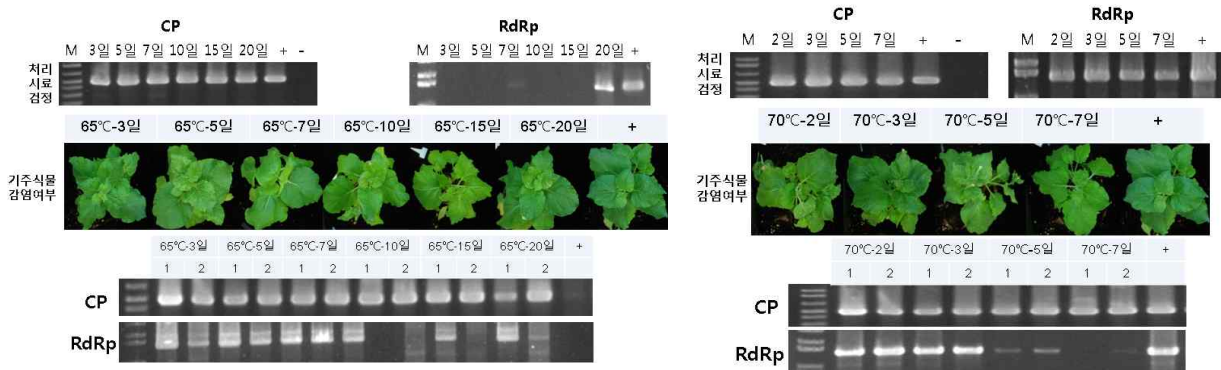
마. CGMMV 이병박 엽분말의 온도처리별 바이러스의 감염성확인 및 생물검정

지금까지 대부분의 박과작물 종자는 건열처리에 의한 바이러스의 불활성을 유도하여 종피에 오염된 바이러스를 제거 및 확인할 목적으로 건열처리 후 바이러스의 감염성 여부를 조사하기 위해 바이러스에 가장 민감한 기주식물로 알려진 담배에 온도 및 시간별로 건열처리된 시료를 토대로 생물검정을 실시하였다. 일반적으로 CGMMV의 경우 95°C 이상에서도 바이러스의 활성이 있는 것으로 보고되어져 있으나 온도처리일수별로 조사한 예는 없는 실정이다. 따라서 낮은 온도에서 처리기간에 따라 감염성의 변화를 예측하고자 55°C부터 90°C까지 다양한 조건으로 건열처리기간과 감염성의 관계를 조사하였다<그

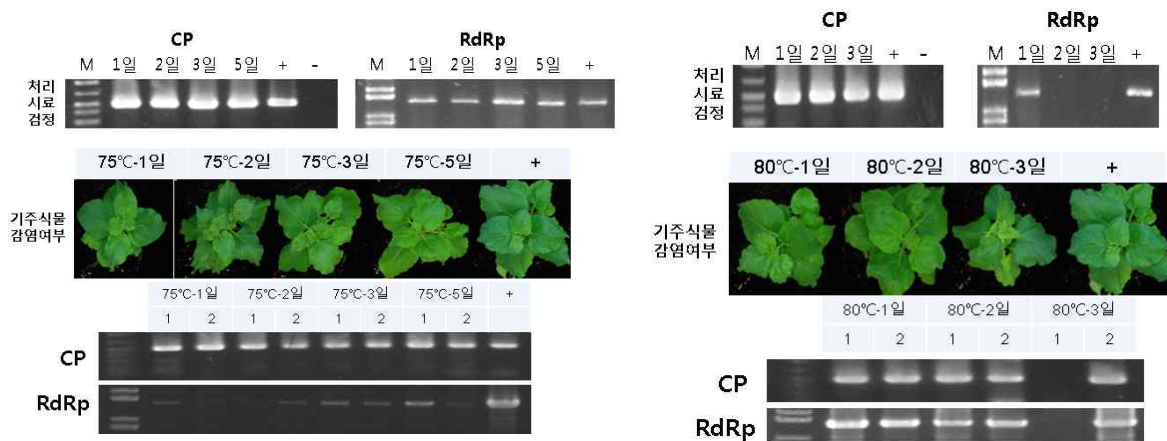
림 2-24, 2-25, 2-26, 2-27>. 그 결과 온도 및 처리일수에 따라 증상 발현 정도에는 차이가 있었으나 바이러스의 감염여부에는 변화가 없는 것으로 판단되었다.



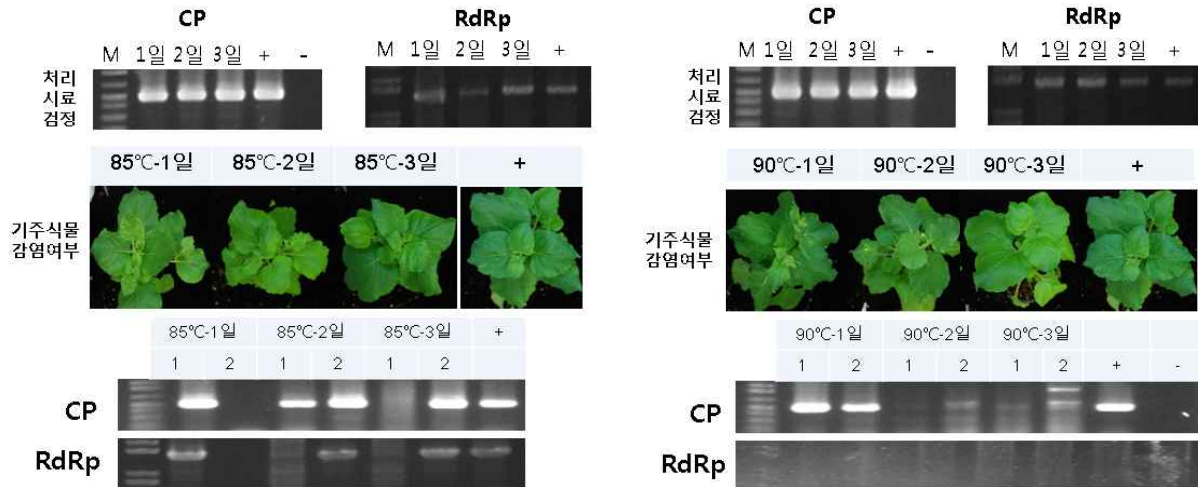
<그림 2-24> 건열처리 이병박 엽분말의 온도(55°C 및 60°C) 및 처리일수(20일~25일간)에 따른 바이러스의 감염성 조사



<그림 2-25> 건열처리 이병박 엽분말의 온도(65°C 및 70°C) 및 처리일수(2일~7일간)에 따른 바이러스의 감염성 조사



<그림 2-26> 건열처리 이병박 엽분말의 온도(75°C 및 80°C) 및 처리일수(1일~5일간)에 따른 바이러스의 감염성 조사



<그림 2-27> 건열처리 이병박 엽분말의 온도(85℃ 및 90℃) 및 처리일수(1일~3일간)에 따른 바이러스의 감염성 조사

이들 결과를 토대로 종합해 볼 때 종자에 감염되어있는 바이러스는 건열처리에 의해 대부분 분절되어진다고 할 수 있으나 일부 활성형의 바이러스 입자가 잔존해 있는 것으로 확인되었으며 이들 바이러스는 활성형의 입자로 감염력을 유지하고 있는 것으로 판단되었다. 건열처리에 의한 대부분의 바이러스는 분절되어 파괴되지만 일부는 활성태로 존재할 수도 있으므로 오염 정도에 따라 선택적 건열처리 처방을 적용하는 것이 바람직한 것으로 판단되었다. 이론적으로는 완전 무독종자의 대량생산 및 공급이 이상적이지만 현재까지의 분석결과로 보면 완전 무독종자의 대량 생산이 가능할 것인지에 대한 의문점은 남는다.

제3절 박과채소 무병 종자의 품질향상 관련기술 개발

1. 유통종자처리 현황 파악

가. 박과채소 대목종자 수집

(1) 2009년 유통종자 수집

2009년 국내에서 유통된 14품종의 박과 8품종의 신토좌를 포함하여, 6개의 종자회사에서 총 22종의 박과채소 대목을 수집하였다. 생산지는 대부분 외국의 채종포로 확인 되었으며(일본 2, 중국 1종, 태국 2, 인도네시아 1), 2007년에 생산된 'FR-501'을 제외하면, 대부분이 2008년 말에서 2009년 초에 포장되어 시판된 것을 수집하였다<표 3-1>.

(2) 2010년 유통종자 수집

2010년 현재 유통되고 있는 15종의 박과 16종의 신토좌를 포함 9개의 종자회사에서 총 31점의 박과채소 대목을 수집하였다(1월말 경 3품종 추가 수집 예정). 2009년과 마찬가지로 국내에서 생산된 종자는 1종에 불과하였고, 대부분 외국의 채종포에서 생산된 것으로 확인되었다(일본 4, 중국 17, 태국 6). 작물별로 보면 신토좌는 생산지를 밝히지 않은 한 품종과 우리나라에서 생산한 다른 한 품종을 제외하고는 전부 중국에서 생산되어 생산지의 변동이 없이 중국에서 채종하는 것으로 나타났다. 그러나 박의 경우에는 일본, 중국, 태국 등으로 채종지가 다변화 되었으며, 2009년에 비해 중국에서 채종하는 회사가 줄어드는 반면 태국 등 CGMMV가 비교적 덜 감염된 지역으로 채종지가 옮겨가는 것으로 나타났다. 그리고 2007년에 생산된 1종(FR-501)을 제외하면 모두 2009년에 채종된 것으로 나타났다<표 3-1>.

(3) 2011년 유통종자 수집

2010년 유통되는 박 16종, 신토좌 15종, 신토좌와 신토좌 교잡종 1종(RS-111)을 포함 9개의 종자회사에서 총 32점, 2011년도에 박 4종과 신토좌 6종을 구입하여 총 박 20종, 신토좌 21종, 신토좌와 신토좌 교잡종 1종의 박과채소 대목을 12개 종자회사에서 수집하였다. 수집된 종자는 중국(22종), 태국(8종), 일본(7종)과 한국(2종) 등에서 채종되었다<표 3-1>.

나. 종자처리 현황 파악

(1) 2009년 유통종자

2009년 국내에서 유통된 종자의 종자처리(브러싱, 코팅 등) 유무를 육안으로 조사하고, 건열처리 여부를 조사하였다. 그 결과 '신토좌' 호박의 경우는 100% 코팅 되었고 박은 14개 제품 중 57%가 브러싱,

그리고 29%는 코팅이 되어 있었다. 건열처리 여부는 포장지의 표기내용을 근거로 조사하였는데, 22개 제품 중 10개에서 건열처리를 표시하였고, 1개의 제품은 소독필로, 나머지 11품종은 건열처리 여부가 표시되어 있지 않았다<표 3-1>.

(2) 2010년 유통종자

2009년 유통종자와 마찬가지로 2010년 시판되고 있는 대목종자의 브러싱, 코팅의 유무 그리고 건열처리 여부를 같은 방법으로 조사하였다. 그 결과 신토좌의 경우는 100% 코팅된 반면 브러싱은 하지 않은 것으로 나타났다. 박은 15개 제품 중 60%가 브러싱이, 그리고 33%는 코팅이 되어 있었다. 건열처리 여부는 31개 제품 중 21개에서 건열처리를 보장하였고 소독제를 사용하거나 소독 필이라고 기재한 것이 7개, 그리고 나머지 3개의 제품은 건열처리 여부를 표시하지 않았다<표 3-1>. 따라서 유통종자의 처리에 있어서 신토좌는 이미 종자처리 방법이 확립된 것으로 나타났으나(건열처리 종자를 브러싱은 하지 않고 코팅처리) 박은 건열처리와 약제로 CGMMV를 방제하지만 브러싱과 코팅처리는 회사에 따라 상이하여 표준처리 방법이 없는 것으로 판단되었다.

(3) 2011년 유통종자 수집

2011년 유통된 박대목 종자의 종자처리(브러싱, 코팅 등) 유무를 조사하고, 건열처리 여부를 조사하였다. 그 결과 ‘신토좌’ 호박의 경우는 한 점을 제외하고 14점 모두 코팅되었고 박은 4개 제품 중 코팅된 품종은 없었으며 브러싱은 한 점을 제외하고 처리되었다. 건열처리 여부는 포장지의 표기내용을 근거로 10개 제품 중 4개에서 건열처리를 표시하였고, 5개의 제품은 소독필로, 나머지 1개 제품은 건열처리 여부가 표시되어 있지 않았다<표 3-1>.

<표 3-1> 2009~2012년 유통된 박과채소 대목종자의 종자처리 현황

수집년도	No.	품명	작물	생산지	건열처리	브러싱	코팅
09	1	FR 트위스트	박	미기재	미기재	N	N
	2	선봉장	박	중국	건열	N	N
	3	FR 커플	박	중국	미기재	P	P
	4	팔강	박	미기재	미기재	P	N
10	5	FR-으뜸	박	직영농장	건열	P	불량
	6	FR-잉꼬	박	미기재	건열	P	불량
10-11	7	흥농신토좌	신토좌	중국	소독제	N	P
	8	장수호박	신토좌	중국	소독제	N	P
	9	농우신토좌	신토좌	중국	건열	N	P
	10	장수토좌	신토좌	중국	건열	N	P
	11	오복토좌	신토좌	중국	건열	N	P
	12	활력토좌골드	신토좌	중국	건열	N	P
	13	용암토좌	신토좌	중국	건열	N	P
	14	슈퍼FR파워	박	태국	건열	P	N
	15	헤라클래스	박	일본	미기재	P	N
	16	RS333	신토좌	중국	건열	N	P
	17	겨울파워	박	중국	건열	N	N
18	여름파워	박	중국	건열	N	N	
09-12	19	FR-501	박	일본	건열	N	N
	20	튼튼	신토좌	미기재	미기재	N	P
	21	조생토좌	신토좌	중국	미기재	N	P
	22	블로장생	박	태국	건열	N	N
	23	RS111	신토좌	중국	미기재	N	P
	24	RS동장군	박	태국	건열	P	N
	25	명품토좌	신토좌	중국	미기재	N	P
	26	강세	박	태국	건열	P	N
	27	독심토좌	신토좌	중국	건열	N	P
	28	신화창조	박	인니	건열	N	N
	29	수문장토좌	신토좌	중국	건열	N	P
	30	RS파워	신토좌	중국	건열	N	P
	31	천만토좌	신토좌	중국	건열	N	P
	32	FR 스트롱	박	중국	미기재	P	P
33	방패	박	일본	미기재	P	P	
34	FR 단토스	박	태국	미기재	N	N	
35	강박	박	태국	미기재	P	N	
36	대력3호	박	일본	소독필	P	P	
12	37	신FR불사조	박	일본	건열	P	N
	38	FR설강	박	태국	소독필	P	N
	39	FR보디가드	박	일본	건열	P	N
	40	FR-루트파워	박	일본	소독필	N	N
	41	세계일토좌	신토좌	중국	미기재	N	P
	42	친구토좌	신토좌	중국	건열소독	N	P
	43	내병토좌	신토좌	중국	소독필	N	P
	44	다조아토좌	신토좌	중국	건열소독	N	P
	45	에이스	신토좌	중국	소독필	N	P
	46	아시아신토좌	신토좌	한국	소독필	N	N

(P : Positive, N: Negative)

2. 대목 유전자원의 수집 및 평가

가. 대목 유전자원의 발아특성 비교

(1) 대목 유전자원의 특성비교

수집한 종자를 이용하여 발아율과 종자의 형태적 특성을 비교하였다. 종자의 발아특성을 비교하기 위하여 발아지에 50립씩 치상하여 18℃, 30℃에서 2반복 발아 조사를 하였으며, 2011년 수집 종자는 30℃에서만 발아 조사하였고, 치상 후 4일, 8일, 11일에 발아 조사하였다. 30℃에서는 발아율이 낮은 ‘FR-으뜸참박’, ‘FR-잉꼬참박’을 제외하고는 박과 신토좌 공히 모든 품종의 발아율이 높게 나타났으나, 18℃에서는 신토좌에 비해 박의 초기발아율이 떨어지는 것을 알 수 있었다. 18℃에서 박은 치상 4일 후 ‘대력3호’, ‘여름파워’를 제외하고는 발아되지 않았다. 신토좌는 모든 처리에서 발아율이 낮은 품종이 없었으나 ‘RS333’은 저온에서 초기 발아율이 낮은 것으로 나타났다. 박에서는 ‘FR-으뜸참박’과 ‘FR-잉꼬참박’이 모든 온도에서 발아율이 낮은 것으로 나타났다. 2011년도에 새로 수집한 10종에 대한 발아조사 결과 발아가 낮은 품종은 없었으나 ‘FR보디가드’의 발아율이 약간 낮은 것으로 나타났으며 ‘FR-불사조’는 초기 발아율은 낮았으나 최종 발아율은 낮지 않았다<표 3-2, 3-3, 3-4>, <그림 3-1>. 종자의 형태적 특성은 종자 길이, 폭, 두께, 100립중, 종자와 배의 비율을 조사하였는데 길이, 폭, 두께의 경우 ‘FR-으뜸참박’을 제외하고 표준편차 1 내외로 고른 편이었다. 종자에서 배의 비율을 조사한 바, 신토좌가 박에 비하여 배가 큰 것으로 나타났다. 한편, 신토좌와 홍토좌 간 교잡종인 ‘RS-111’은 신토좌에 비해 종자의 크기가 작아 확연하게 구분이 가능하였다<표 3-5>.

<표 3-2> 유통 중인 박 대목의 발아특성

품종	18℃			30℃		
	4일	8일	11일	4일	8일	11일
FR 스트롱참박	0 b ¹	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
FR-단토스	0 b	88 ab	97 a	94 a	96 a	96 a
강박	0 b	99 a	99 a	99 a	99 a	99 a
대력3호	39 a	98 a	98 a	97 a	97 a	97 a
RS 동장군	0 b	60 c	81 b	92 a	99 a	100 a
불로장생	0 b	67 bc	98 a	95 a	99 a	99 a
강세대목	0 b	83 ab	92 a	98 a	98 a	98 a
FR-으뜸참박	0 b	5 d	43 d	21 b	68 bc	73 b
FR-잉꼬참박	0 b	12 d	57 c	17 b	61 c	73 b
신화창조	1 b	95 a	100 a	97 a	97 a	98 a
슈퍼FR파워	0 b	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
헤라클래스	0 b	87 ab	97 a	88 a	96 a	99 a
FR-501	0 b	57 c	93 a	98 a	99 a	100 a
방패	0 b	100 a	100 a	38 b	75 b	93 a
겨울파워	0 b	95 a	96 a	95 a	97 a	97 a
여름파워	3 b	96 a	96 a	93 a	97 a	97 a

¹ Mean separation in columns by Duncan's multiple range test at 5%.

<표 3-3> 유통중인 신토좌 대목의 발아특성

품종	처리	18℃			30℃		
		4일	8일	11일	4일	8일	11일
흥농 신토좌		73 ab ¹	100 a	100 a	97 a	99 a	99 a
장수대목호박		69 ab	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
RS-111 ²		33 ab	92 abcd	94 abc	78 bcd	80 b	87 bc
조생토좌		66 ab	97 abc	97 ab	100 a	100 a	100 a
명품토좌		59 ab	91 bcd	92 bc	76 d	88 ab	90 abc
농우신토좌		29 ab	91 bcd	93 abc	92 abc	93 a	93 ab
장수토좌		57 ab	99 ab	100 a	94 ab	96 a	97 a
오복토좌		36 ab	93 abcd	93 abc	94 ab	96 a	96 ab
독심토좌		67 ab	95 abcd	95 abc	94 ab	97 a	98 a
활력토좌골드		18 ab	90 cd	92 bc	87 abcd	90 ab	90 abc
수문장토좌		40 ab	99 ab	99 ab	95 a	98 a	99 a
용암토좌		42 ab	88 d	88 dc	77 dc	80 b	83 c
천만토좌		55 ab	100 a	100 a	94 ab	97 a	97 a
RS파워		86 a	98 abc	98 ab	95 a	99 a	99 a
튼튼대목		58 ab	97 abc	97 ab	97 a	98 a	99 a
RS333대목		6 b	78 e	84 d	85 abcd	91 ab	92 abc

¹ Mean separation in columns by Duncan's multiple range test at 5%.

² 신토좌와 흥토좌 교잡종

<표 3-4> 2011년 수집 대목의 발아특성

품종명	4일	8일	11일
FR보디가드	67	84	87
루트파워	100	100	100
FR설강	86	94	94
FR-불사조	47	94	95
아시아신토좌	94 ab	100 a	100 a
다조아	84 b	90 b	90 b
내병토좌	93 ab	98 a	98 a
친구토좌	100 a	100 a	100 a
에이스	99 a	100 a	100 a
세계일토좌	88 ab	99 a	99 a

¹ Mean separation in columns by Duncan's multiple range test at 5%.



FR 스트롱 참박



장수대목호박



FR-잉꼬참박

<그림 3-1> 치상 8일 후 발아지에서 발아한 모습

<표 3-5> 유통 중인 박 및 신토좌 대목 종자의 형태적 특성

	품종명	길이 (mm)	폭 (mm)	두께 (mm)	100립중 (g)	배/종자 (%)
박	FR 스트롱참박	14.0± 0.9	7.1± 0.2	2.9± 0.2	14.13	49.46
	FR-단토스	13.6± 0.8	6.4± 0.4	2.8± 0.2	12.20	49.95
	강박	14.9± 0.8	7.1± 0.3	3.2± 0.3	16.56	46.91
	대력3호	14.6± 0.8	7.2± 0.4	3.0± 0.1	16.18	50.97
	RS 동장군	14.6± 0.7	7.0± 0.3	3.1± 0.2	16.17	45.88
	불로장생	14.4± 0.7	7.0± 0.1	3.4± 0.2	17.00	41.08
	강세대목	14.2± 0.6	6.7± 0.3	3.1± 0.1	13.49	46.85
	FR-으뜸참박	13.0± 2.9	6.5± 0.5	2.8± 0.2	13.11	49.21
	FR-잉꼬참박	13.7± 1.1	6.7± 0.5	2.9± 0.1	13.29	50.24
	신화창조	16.3± 1.0	7.9± 0.4	3.3± 0.2	19.91	41.90
	슈퍼FR파워	13.6± 0.8	6.6± 1.0	2.7± 0.2	11.89	48.36
	헤라클래스	16.3± 0.8	6.9± 0.5	2.8± 0.3	14.51	45.36
	FR-501	14.0± 0.7	6.9± 0.3	2.9± 0.2	11.70	49.88
	방패	14.7± 0.9	7.1± 0.4	3.0± 0.1	16.23	49.60
	겨울파워	14.2± 0.8	7.0± 0.3	3.1± 0.2	14.12	52.39
	여름파워	14.3± 0.8	6.5± 0.4	2.8± 0.2	12.45	52.15
	신FR불사조	15.5± 0.9	7.4± 0.4	3.0± 0.2	17.09	48.39
	FR설강	15.2± 0.8	7.0± 0.3	3.1± 0.2	20.80	45.34
	FR보디가드	14.7± 0.8	7.0± 0.5	2.8± 0.2	20.64	46.80
	FR-루트파워	16.5± 1.0	7.7± 0.4	3.1± 0.2	15.86	45.21
신토좌	흥농 신토좌	16.7± 0.8	10.1± 0.5	4.0± 0.3	22.15	69.98
	장수대목호박	17.2± 0.9	10.0± 0.4	4.0± 0.2	22.81	71.09
	RS-111	13.3± 0.7	7.0± 0.2	2.9± 0.2	10.50	77.69
	조생토좌	16.0± 1.1	9.1± 0.7	3.9± 0.3	18.94	72.27
	명품토좌	17.3± 0.9	9.7± 0.4	3.9± 0.3	21.45	67.79
	농우 신토좌	17.8± 0.7	10.7± 0.3	4.2± 0.3	24.87	68.82
	장수토좌	16.3± 1.0	9.0± 0.4	3.6± 0.4	17.18	69.48
	오복토좌	13.3± 0.7	7.1± 0.1	3.1± 0.1	11.13	64.69
	독심토좌	14.9± 0.6	8.9± 0.1	3.3± 0.3	16.00	77.22
	활력토좌골드	16.9± 0.9	9.4± 0.4	3.9± 0.3	19.97	67.81
	수문장토좌	13.6± 0.9	7.6± 0.3	3.2± 0.2	12.09	63.24
	용암토좌	16.9± 1.0	9.2± 0.2	3.9± 0.2	20.25	69.58
	천만토좌	13.6± 0.8	7.5± 0.4	3.3± 0.4	12.36	63.46
	RS파워	17.1± 0.9	9.9± 0.5	4.0± 0.2	22.58	69.82
	튼튼대목	16.7± 1.0	9.6± 0.6	3.9± 0.4	19.63	70.42
	RS333대목	16.7± 0.9	9.2± 0.4	3.9± 0.2	18.36	67.25
	세계일토좌	16.7± 0.7	9.5± 0.4	4.0± 0.4	20.80	71.65
	친구토좌	16.6± 1.1	9.9± 0.8	4.1± 0.2	20.64	72.09
	내병토좌	14.9± 1.1	8.6± 0.4	3.6± 0.3	15.86	71.36
	다조아토좌	16.2± 0.9	9.2± 0.9	4.1± 0.4	16.90	70.47
	에이스	16.3± 0.9	9.1± 0.3	3.9± 0.4	18.80	73.07
	아시아신토좌	16.7± 0.9	9.2± 0.6	3.9± 0.3	13.07	71.05

¹ 신토좌와 흥토좌 교잡종

(2) 대목 종자의 형태적 특성과 발아의 상관관계

발아율은 박과 신토좌 모두에서 종자의 길이, 폭, 두께, 100립중, 종자에서의 배의 비율과 상관성이 매우 낮은 것으로 나타나, 종자의 형태적 특성이 발아에 미치는 영향이 미미하다는 것을 알 수 있다. 종자에서 배의 비율이 높을수록 발아가 잘 될 것으로 예상했으나 발아율과 상관관계가 없는 것으로 나타났다. 한편, 배의 비율은 박에서는 종자길이, 종자폭, 종자두께, 100립중과 부의 상관을 보여 종자가 크다고 배의 비율이 커지는 것이 아님을 보여주었으며, 신토좌는 이들 어느 특성과도 상관관계가 없었다<표 3-6, 3-7>.

<표 3-6> 박대목의 발아율과 종자의 형태적 특성 사이의 상관

	발아율	종자길이	종자폭	종자두께	100립중	배비율
발아율	1					
종자길이	0.332	1				
종자폭	0.238	0.717**	1			
종자두께	0.241	0.422	0.674**	1		
100립중	0.117	0.696**	0.868**	0.801**	1	
배비율	-0.248	-0.548*	-0.488*	-0.637**	-0.623**	1

¹ *,** Significant at P=0.05, 0.01, respectively.

<표 3-7> 신토좌대목의 발아율과 종자의 형태적 특성 사이의 상관

	발아율	종자길이	종자폭	종자두께	100립중	배비율
발아율	1					
종자길이	0.024	1				
종자폭	0.200	0.959**	1			
종자두께	0.163	0.959**	0.945**	1		
100립중	0.136	0.968**	0.985**	0.964**	1	
배비율	-0.220	0.088	0.140	-0.050	0.102	1

¹ *,** Significant at P=0.05, 0.01, respectively.

나. 대목 유전자원의 출현 특성 비교

(1) 유통종자 신토좌의 초기출현율과 최종출현율 검정

유통 중인 박과채소 대목품종의 성능을 파악하기 위해 수집한 유통종자의 초기출현율, 발아율, 접목 가능묘 획득률 등을 조사하였다. 대목의 성능과 밀접하게 관련되는 초기출현율을 정확하게 평가하기 위해 공시 종자를 인위 노화처리하여 무처리와 비교하였다. 본 실험은 2009년 9월 15일 한국농수산대학 온실에서 수행되었다. 종자는 노화처리와 처리하지 않은 종자(무처리)를 준비하였다. 노화처리(artificial aging treatment, AA처리)는 종자를 극히 불량한 저장조건에 두어 인위적으로 종자를 노화시켜 활력 및 저장능력의 변화를 신속하게 추정하는 처리이다. 노화처리는 노화처리용 망에 종자를 겹치지 않게 올려놓은 뒤 노화처리용 플라스틱 박스에 증류수 60mL를 넣고(상대습도: 100%)<그림 3-2>, 43℃의 항온조건에서 3일간 처리하였다. 노화처리한 종자와 무처리 종자를 10시간 침지 후 5시간 음건하여 원 예용 상토와 질석을 3:1로 혼합한 배양토에 파종하여 23~29℃ 온도 조건에서 20립씩 3반복으로 파종하였다<그림 3-3>. 초기출현율은 중간 조사일인 5일째에 자엽이 완전히 전개된 묘의 백분율로 하였고, 최종출현율은 최종 조사일인 파종 9일 후 출현한 묘의 백분율과 파종 9일 후 접목 가능한 묘의 백분율

2가지로 나누어 조사하였다. 그 결과 무처리의 경우 초기출현율은 평균 89%, 최종출현율은 99% 그리고 접목가능묘는 96%로 매우 우수한 결과를 나타내었다. 노화처리의 경우에는 초기출현율이 평균 20%로 낮았으나, 노화처리에도 불구하고 최종출현율은 평균 91%, 접목가능묘는 78%로 유통되는 박과채소 대목품종의 성능이 대체적으로 우수한 것으로 나타났다<표 3-8>.



<그림 3-2> 노화처리 실험 방법

좌측 하단 : 노화처리용 플라스틱 케이스, 우측 하단 : 노화처리용 망

<표 3-8> 인위 노화처리와 처리하지 않은 '신토좌'의 초기출현율, 최종출현율 및 접목 가능묘 획득률

No.	품종명	초기출현율(%) ¹		최종출현율(%) ²		접목 가능묘(%) ³	
		무처리	노화처리	무처리	노화처리	무처리	노화처리
1	튼튼	97	40	100	100	100	90
2	조생토좌	88	10	98	95	97	82
3	RS111	78	15	98	73	95	40
4	명품토좌	95	20	100	93	93	72
5	똑심토좌	92	22	100	92	98	90
6	수문장토좌	98	33	100	97	98	88
7	RS파워	80	2	97	90	97	77
8	천만토좌	83	17	97	88	92	82

¹파종 5일 후 자엽이 완전히 전개된 묘의 백분율, ²파종 9일 후 출현한 묘의 백분율, ³파종 9일 후 접목 가능한 묘의 백분율



<그림 3-3> 발아조사 전경. 좌측 : 신토좌, 우측 : 박

(2) 유통종자 박의 초기출현율과 최종출현율 검정

박의 경우도 위와 같은 방법으로 무처리와 노화처리를 통해 유통종자의 초기출현율, 최종출현율 및 접목 가능묘 획득률 등을 조사하였다. 그 결과 무처리의 경우 초기출현율은 평균 90%, 최종출현율 99%, 그리고 접목가능묘가 96%로 나타나 신토좌와 비슷한 결과를 나타내었고, 노화처리의 경우에는 초기출현율은 평균 44%로 낮았으나, 노화처리에도 불구하고 최종출현율 평균 87%, 접목 가능묘 74%로 나타나 국내에서 유통되는 박 대목도 성능이 대체로 우수한 것으로 나타났다. 하지만 일부 품종(신화창조, 농우바이오)의 경우 노화처리 후 최종출현율이 거의 0%에 가까웠는데 이는 채종 lot의 문제로 확인되었고 시중에 유통이 되지 않은 것으로 확인되었다. 그리고 일본 도입품종인 ‘방패’(남농종묘)는 다른 품종에 비해 초기출현율과 최종출현율이 비교적 낮은 것으로 나타났다<표 3-9>.

<표 3-9> 인위 노화처리와 처리하지 않은 박 대목의 초기출현율, 출현율 및 접목 가능묘 획득률

No.	품종명	초기출현율(%) ¹		최종출현율(%) ²		접목 가능묘(%) ³	
		무처리	노화처리	무처리	노화처리	무처리	노화처리
1	FR-501	92	12	100	98	100	90
2	불로장생	97	77	100	95	100	93
3	RS동장군	100	27	100	98	100	98
4	강세	97	20	100	70	97	10
5	신화창조	82	0	100	2	98	0
6	선봉장	85	8	100	97	93	82
7	FR트위스트	73	0	98	83	92	75
8	FR 커플	90	58	100	100	92	97
9	FR 스트롱	93	60	100	97	93	88
10	방패	58	45	85	78	75	18
11	FR 단토스	100	95	100	100	100	100
12	팔강	100	37	100	95	100	87
13	강박	98	88	98	100	98	100
14	대력 3호	100	92	100	100	100	97

¹파종 7일 후 자엽이 완전히 전개된 묘의 백분율, ²파종 12일 후 출현한 묘의 백분율, ³파종 12일 후 접목 가능한 묘의 백분율

결과를 요약하면, 박과채소 대목으로 쓰이는 유통종자는 초기출현율, 최종출현율, 접목가능묘 획득률 등에서 우수한 것으로 나타나 성능이 대체로 양호한 것으로 판단되었다. 그러나 일부 품종의 경우는 초기출현율이 80%에 미치지 못해 채종이나 채종 후 종자처리에 문제점이 있을 것으로 유추되었다. 한편, 일본 수입종 1품종은 타 품종에 비해 성능이 떨어지는 것으로 나타나 일본수입종이 좋을 것이라는 일반적인 인식에 반하는 결과를 보여주었다. 이상의 결과는 일반적으로 대목을 과중하는 저온기에 얻은 결과가 아니기 때문에 저온기에 동일한 시험을 통해 국내 유통종자의 성능을 조사하고 종자처리(건열소독 및 약제처리)가 초기출현율, 최종출현율 등에 미치는 영향을 파악하여야 할 것이다.

다. 대목용 유통종자의 저온발아 및 유표특성

(1) 대목용 유통종자의 저온 발아성

유통 중인 박과채소 대목품종의 저온 하에서의 득묘율 등을 조사하였다. 본 실험은 2010년 2월~4월 까지 한국농수산대학 온실에서 두 차례 수행되었다. 종자는 2010년도 구입 종자 32종(박 16종, 신토좌 15종, 신토좌와 홍토좌 교잡종 1종)을 사용하였으며, 온실바닥에 온열선을 설치하여 온도를 유지하도록 하였다. 각각의 품종은 30립씩 2반복으로 원예용 상토와 질석을 3:1로 혼합한 배양토에 파종하여 토양 온도가 8℃, 18℃가 되도록 하였다. 출현율은 파종 후 14일 후에 조사하였으며 득묘율은 파종 14일 후 접목이 가능하다고 판단되는 묘를 조사하였다. T₅₀은 파종한 종자의 50%가 출현할 때까지 소요된 일수로 계산하였다. 8℃보다는 18℃가, 박보다는 신토좌가 출현율이 높고 T₅₀이 빠른 것으로 나타났다. 특히 T₅₀의 경우 저온보다 적온일 때 2~3일 빨랐으며 신토좌가 박보다 2~3일 빠른 것으로 나타났다. 'FR-으뜸참박'과 'FR-잉꼬참박'의 경우 각각 저온에서 27%, 18%로 현저하게 출현율이 떨어질 뿐만 아니라 T₅₀까지 17, 18일이 걸려 다른 품종에 비하여 장시간이 소요되었다<표 3-10, 3-11>, <그림 3-4>.

<표 3-10> 대목용 박 종자의 저온 발아특성 비교

품종	처리	하우스내 설치 전열상의 최저야간온도					
		8℃			18℃		
		출현율 (%)	득묘율 (%)	T ₅₀ (일)	출현율 (%)	득묘율 (%)	T ₅₀ (일)
FR 스트롱참박		62.5 abc ¹	38.3	14 abc	95.8	94.2	10 a
FR-단토스		55.8 abc	39.2	13 bc	90.8	85.8	10 a
강박		76.7 ab	42.5	13 bc	80.0	73.3	10 a
대력3호		93.3 a	65.8	11 c	93.3	90.0	9 a
RS 동장군		68.3 abc	35.0	13 bc	93.3	84.2	10 a
블로장생		50.8 abc	30.8	14 abc	78.3	75.0	12 a
강세대목		90.8 a	56.7	13 bc	93.3	87.5	10 a
FR-으뜸참박		26.7 bc	5.8	17 ab	72.5	64.2	13 a
FR-잉꼬참박		17.5 c	0.8	18 a	78.3	70.0	13 a
신화창조		85.8 a	40.8	13 bc	85.8	75.8	12 a
슈퍼FR파워		62.5 abc	28.3	14 abc	83.3	80.8	10 a
헤라클래스		85.0 a	34.2	13 bc	98.3	96.7	10 a
FR-501		67.5 abc	30.0	14 bc	97.5	94.2	11 a
방패		84.2 a	43.3	13 bc	89.2	83.3	10 a
겨울파워		95.0 a	69.2	12 c	88.3	80.0	10 a
여름파워		80.8 ab	47.5	13 bc	95.0	89.2	9 a

¹ Mean separation in columns by Duncan's multiple range test at 5%.

<표 3-11> 대목용 신토좌 종자의 저온 발아특성 비교

품종	처리	하우스내 설치 전열상의 최저야간온도					
		8℃			18℃		
		출현율 (%)	득묘율 (%)	T ₅₀ (일)	출현율 (%)	득묘율 (%)	T ₅₀ (일)
흥농 신토좌		100.0 a ¹	99.2 a	11	97.5	92.5 ab	9
장수대목호박		98.3 a	94.2 ab	11	95.8	92.5 ab	9
RS-111		89.2 abc	87.5 ab	11	93.3	90.8 ab	9
조생토좌		95.0 ab	85.0 abc	11	100.0	95.8 ab	9
명품토좌		88.3 abc	82.5 abc	11	98.3	95.0 ab	9
농우 신토좌		78.3 cd	70.8 bc	12	93.3	92.5 ab	9
장수토좌		93.3 abc	93.3 ab	10	96.7	94.2 ab	9
오복토좌		78.3 cd	74.2 bc	12	90.0	83.3 ab	10
독심토좌		80.8 bcd	75.0 abc	12	89.2	89.2 ab	9
활력토좌골드		98.3 a	94.2 ab	11	86.7	78.3 b	9
수문장토좌		68.3 d	62.5 c	13	90.0	88.3 ab	9
용암토좌		95.0 ab	92.5 ab	11	96.7	95.8 ab	9
천만토좌		78.3 cd	75.0 abc	11	98.3	95.0 ab	8
RS파워		100.0 a	99.2 a	10	98.3	98.3 a	8
튼튼대목		96.7 ab	93.3 ab	11	100.0	99.2 a	8
RS333대목		94.2 ab	81.7 abc	12	97.5	97.5 ab	9

¹ Mean separation in columns by Duncan's multiple range test at 5%.



<그림 3-4> 파종 14일 후 저온발아 박 대목 출현모습

(2) 대목용 유통종자의 유묘특성

과중 14일 후 대목용 박종자의 유묘를 조사하였다. <표 3-12>와 <표 3-13>에서 나타난 저온 하에서의 출현율이 높았던 두 품종과 낮았던 두 품종, 그리고 중간 정도의 두 품종을 선택하여 자엽장, 하배축장, 하배축경 및 생체중을 측정하였다. 자엽장은 자엽이 시작하는 부분에서 자엽의 끝까지, 하배축장은 뿌리가 시작되는 부분에서 자엽이 전개되기 시작하는 부위까지를 측정하였다. 하배축경은 하배축의 중간부위를 측정하였고, 생체중은 흙을 털어낸 후 물기를 제거하고 측정하였다. 신토좌는 출현율에 따른 유묘생육의 차이가 없었으나 박대목의 경우 모든 온도처리구에서 출현율이 낮은 품종의 자엽장과 하배축장이 짧아지는 것을 알 수 있었다<표 3-12, 3-13>. 한편, 18℃ 처리구에서는 저온 하에서 발아율이 중간정도인 '겨울파워'와 'RS-동장군'이 하배축경과 생체중이 큰 경향으로서 접목에 유리할 것으로 판단되었다.

<표 3-12> 최저야간온도 설정에 따른 박대목의 유묘 생육

최저온도	출현정도	품종	자엽장 (cm)	하배축장 (cm)	하배축경 (cm)	생체중 (g)
8℃	상	대력3호	4.36 a ¹	3.12 b	0.33 a	9.90 a
		겨울파워	3.83 ab	3.56 a	0.30 ab	6.05 b
	중	RS-동장군	3.34 bc	3.00 b	0.29 ab	6.45 bc
		FR-501	3.54 b	2.94 b	0.29 ab	6.50 bc
	하	FR-으뜸참박	2.89 cd	2.51 c	0.27 b	5.30 cd
		FR-잉꼬참박	2.67 d	2.69 c	0.26 b	4.85 d
18℃	상	헤라클래스	4.49 ab	3.59 ab	0.31 b	8.95 abc
		FR-501	4.76 a	3.67 a	0.34 ab	11.45 a
	중	겨울파워	4.76 a	3.55 ab	0.39 a	11.00 ab
		RS-동장군	4.60 a	3.67 a	0.36 ab	11.13 ab
	하	FR-으뜸참박	3.72 ab	2.85 bc	0.30 b	7.38 c
		FR-잉꼬참박	3.96 b	3.18 c	0.31 b	8.23 bc

¹ Mean separation in columns by Duncan's multiple range test at 5%.

<표 3-13> 야간온도 차이에 따른 신토좌 대목의 유묘 생육

최저온도	출현정도	품종	자엽장 (cm)	하배축장 (cm)	하배축경 (cm)	생체중 (g)
8℃	상	흥농신토좌	4.77 b ¹	3.05	0.36 b	13.83 b
		RS파워	5.47 a	3.04	0.41 a	19.20 a
	중	RS333대목	4.26 bc	2.82	0.30 c	9.90 cd
		RS-111	4.01 c	2.38	0.34 bc	12.45 bc
	하	수문장도좌	3.65 c	2.84	0.31 c	8.90 d
		농우신토좌	4.23 bc	3.35	0.34 bc	11.20 bcd
18℃	상	조생토좌	4.70 a	2.94	0.32	13.30 b
		튼튼대목	5.03 a	3.55	0.40	21.35 a
	중	장수대목호박	4.81 a	3.05	0.35	16.50 ab
		RS-111	4.39 a	2.77	0.37	13.30 b
	하	활력토좌골드	4.89 a	3.51	0.34	15.60 ab
		독심토좌	4.17 a	2.54	0.38	15.95 ab

¹ Mean separation in columns by Duncan's multiple range test at 5%.

라. 수집 대목종자의 CGMMV 이병률 검정

유통되는 박과채소 대목종자의 CGMMV 이병 정도를 알아보기로 ELISA(Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) 검정을 하였다.

(1) ELISA 검정 방법(CGMMV)

검정 시료의 준비 : 유산지로 종자를 잘 봉한 후 망치를 이용해 마쇄하고 1X PBS (Phosphate Buffered Saline) 1mL를 넣어 시료를 추출한다.

DAS-ELISA(<그림 3-5> 참조)

- ㉠ 0.05M SCBB(Sodium Carbonate-Bicarbonate Buffer)에 IgG(ug/mL)를 넣어 혼합한 뒤 96Well에 200uL씩 분주하여 준비한다.
- ㉡ 준비된 plate를 잘 sealing 한 뒤 37℃에서 4시간 동안 반응하여 항체를 코팅한다.
- ㉢ 1X PBST(1X PBS, Tween-20)용액을 이용하여 여분의 항체액을 제거하기 위해 3회 washing 한다.
- ㉣ 준비한 시료를 200uL씩 분주한다.
- ㉤ Humid box안에 넣어 상온에서 4시간 혹은 4℃에서 overnight 시킨다.
- ㉥ 1X PBST(1X PBS, Tween-20)용액을 이용하여 3분 3회 washing 한다.
- ㉦ 효소결합항체 분주 : conjugated antibody(IgG)를 PBS-TPB에 희석 후 200uL씩 분주
- ㉧ Humid box안에 넣어 상온에서 4시간 혹은 4℃에서 overnight 시킨다.
- ㉨ 1X PBST(1X PBS, Tween-20)용액을 이용하여 3분 3회 washing 한다.
- ㉩ 효소 기질 분주 : well당 100uL씩 분주한다. 사용직전 p-nitrophenyl phosphate를 DS (10%)기 질용액에 희석(1mg/mL)하여 사용한다.
- ㉪ 기질의 광분해를 방지하기 위해 암상태에서 60분간 반응 후 405nm에서 흡광도를 측정하거나, 육안으로 결과를 확인한다.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
B	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
C	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
D	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
E	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
F	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72
G	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84
H	85	86	87	88	89	90	B	B	PB	NC	PC SE	PC

<그림 3-5> CGMMV용 DAS-ELISA 측정 시 시료와 각 control 배치

B, Blank 즙액추출완충액; PB, PBST 세척완충액; NC, Negative control 건전오이 즙액; PCSE, Positive control of seed CGMMV 감염 박 종자; PC, Positive control CGMMV 감염 오이 잎 즙액

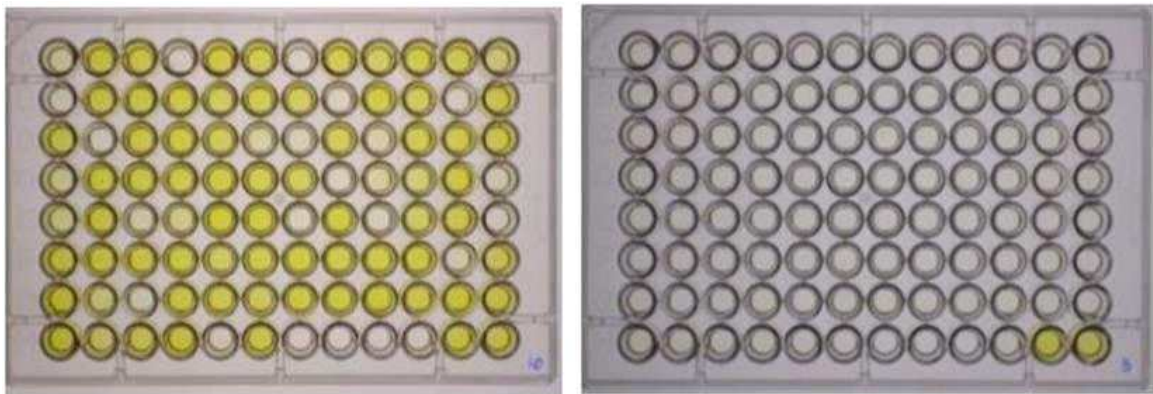
(2) 2009년 수집 대목종자의 CGMMV-ELISA 검정

박과채소 대목품종 22점의 CGMMV-ELISA 검정 결과, 'FR-501' 등 16품종은 음성으로 나타났으나 6품종은 양성으로 나타났다<그림 3-6>. 양성으로 나타난 품종 중 5품종은 양성으로 나타난 것이 1~4% 정도인 반면에 인도네시아에서 채종된 '신화창조' 품종은 양성으로 나타난 것이 85.6%로 극히 높게 나타났다. 그러나 '신화창조' 품종은 생산회사에 확인한 결과 유통된 종자가 아니라고 하며, 유통종자 중인 동일한 품종을 수집하여 재검정하였다.

한편, 검정결과 바이러스 감염율(양성 판정율)이 높았던 '신화창조'(85.6% 양성), 낮은 감염율을 보인 'RS동장군'(1.1% 양성)과 감염율이 0%인 'FR단토스'를 이용하여 PCR을 이용한 바이러스 유무를 검정하였다. 검정은 제1협동과제 책임자인 홍진성 교수(서울여자대학교) 연구팀에서 CGMMV의 외피단백질 유전자를 primer로 사용하여 실시하였다. 그 결과, 감염율의 고저와 상관없이 모든 품종에서 CGMMV 바이러스가 검출됨을 확인하였다.

제1협동과제연구팀은 위의 연구결과를 다시 확인하기 위하여 '신화창조', 'RS동장군', 'FR단토스'의 3 품종을 파종하여 식물체에서 바이러스가 검출되는지 다시 시험하였고, 그 결과 모든 품종이 바이러스에 감염되지 않은 것을 PCR을 통해 확인하였다.

이상의 연구결과를 종합하면, 1) ELISA를 이용하여 국내에 유통되는 신토좌, 박 대목 품종의 CGMMV 바이러스 감염 여부를 검정하면 전혀 감염이 안 된 것부터 낮은 정도의 감염을 보이는 것까지 검정이 되나, 대부분은 품종은 감염이 안 된 것으로 나타나며, 2) PCR을 이용하여 같은 검정을 하면 감염의 고저에 상관없이 모든 품종에서 바이러스가 감염된 것으로 나타나고, 3) 종자를 받아서 식물체를 검정하면 바이러스에 감염되지 않은 것으로 나타났다. 이 연구결과를 해석하면, ELISA에 비하여 PCR 검정이 바이러스 검출 감도가 훨씬 높으나, 두 방법 모두 불활성화 된 바이러스에 대해서도 양성 반응을 보이기 때문에 공시된 품종이 활성이 있는 바이러스를 가진 것인지 불활성화 된 바이러스를 가진 것인지 확실하지 않았다. 한편 이 종자에서 발아한 식물체에서 바이러스가 검출되지 않았다는 것은 활성 바이러스가 있었다면 식물체로 전이되지 않았다는 것이다. 이에 관한 확실한 결론은 생물검정 결과가 보완되어야 얻을 수 있을 것으로 판단되었다.



<그림 3-6> ELISA 반응 결과. 좌측: 양성반응(노랑 cells), 우측 : 음성반응(무색)

(3) 2010년 수집 대목종자의 CGMMV-ELISA검정

2010년 수집 대목종자의 CGMMV 감염정도를 파악하기 위하여 위의 방법을 이용하여 감염정도를 파악하였다. 수집한 31품종의 대목품종 중에서 4품종은 1~4% 정도의 낮은 양성반응을 보였고, 3품종은 미약한 양성 반응을 보였으며 24품종은 음성 반응을 보여 대체로 CGMMV에 감염되지 않은 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 대목품종을 무병 채종지를 선정하여 채종하고, 채종된 종자를 수입할 경우 감염된 종자를 통관하지 않았거나 통관된 종자라도 감염율이 높은 경우에는 업체 스스로 폐기하는 등의 노력이 이루어진 결과로 보인다.

3. 충실종자 선별법 개발

가. TTC 처리를 통한 충실종자 생산 및 선별기술 개발









(1) TTC 처리 방법 개발

TTC(2,3,5-triphenyltetrazolium chloride) 검정은 흡습한 종자의 호흡 여부로 배의 살아있는 조직과 죽은 조직을 구별하여 종자의 발아잠재력을 평가하고자 실시하였다. TTC 염색을 통하여 발아력을 알아보기 위해서는 전처리 및 염색농도가 중요하다. 이번 실험에서는 전처리를 다르게 하여 크게 두 가지의 실험이 실시하였다. 이 실험에 사용된 품종은 발아율특성 비교 실험을 통하여 조사된 발아율을 기준으로 선정하였으며 발아에 문제가 있는 박대목 품종으로 조사하였다. 먼저 40℃에서 암상태로 1시간 동안 흡습상태로 한 후 침종 없이 40℃에서 30분 동안 0.05%, 0.1%의 TTC 용액에서 염색을 실시하였으며 두 번째로 30℃ 암상태에서 한 시간 동안 흡습상태를 만든 후 40℃의 물에서 30분 동안 침종시키고 40℃에서 1 시간 동안 0.05%, 0.1%, 0.5%에서 염색을 실시하였다. 첫 번째 실험에서는 모든 처리구에서 염색정도의 차이가 거의 나타나지 않았다. 두 번째 실험을 통하여 선명한 염색정도의 차이를 얻을 수 있었다. 발아율이 현저하게 낮은 'FR-으뜸참박'과 'FR-잉꼬참박'의 경우 0.1%로 염색시 이전 실험보다 명확한 차이를 보이는 것을 알 수 있었다.

(2) 노화처리 후 TTC 처리효과

발아율이 좋은 두 품종을 이용하여 밀폐용기를 이용하여 상대습도를 100%로 만들고 45℃에서 1, 3, 5일간 인공 노화처리를 실시하였다. 노화처리 후 발아율을 조사하였으며 TTC 처리 방법에 따라 TTC 검정을 실시하였다. 'FR스트롱참박'의 경우 '슈퍼FR과워'보다 노화가 진행될수록 발아율이 빠르게 감소하였는데 발아보증 시한의 차이에 의한 것으로 생각된다. 노화가 진행될수록 발아율이 떨어지며 염색정도가 낮아지는 것을 알 수 있었으며 이는 종자가 노화되어 종자의 발아력이 떨어지고 이를 TTC 검정을 통해 확인이 가능할 것으로 판단할 수 있었다<표 3-14>.

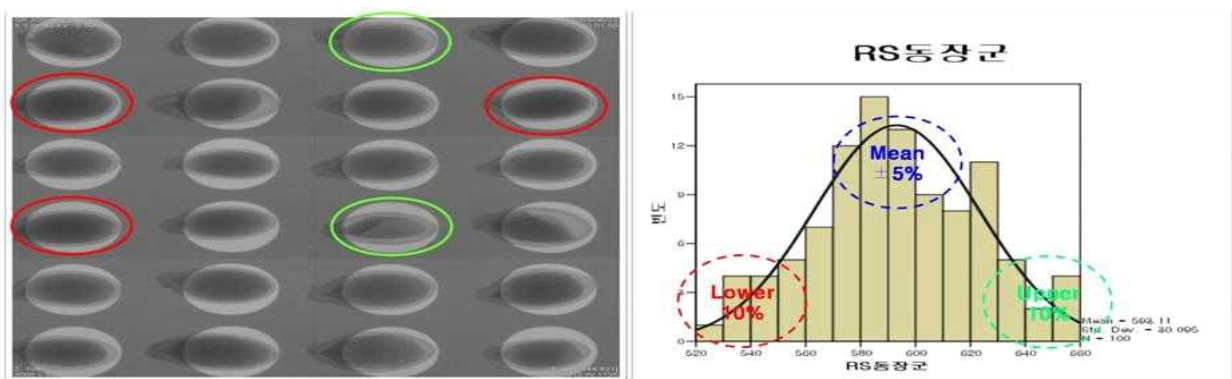
<표 3-14> 노화처리 후 발아율 및 TTC검정 결과

품종	발아율 (%)	무처리	노화 1일	노화 3일	노화 5일
FR스트롱참박		100	95	72	41
					
슈퍼FR파워		100	100	98	56
					

나. X선 투과기를 이용한 충실종자 생산 및 선별기술 개발

(1) 2009년 X선 투과기를 이용한 충실종자 생산 및 선별

본 시험은 비파괴적인 방법을 이용하여 충실한 박과채소 대목종자를 선별하기 위한 기술을 개발하기 위한 타당성과 기초 조사를 목적으로 수행되었다. 실험 원리는 X선 투과기를 이용하여 X선의 투과량과 종자의 충실도의 상관관계를 구명하여 충실한 종자를 선별하는 방법이다. 종자의 충실도를 검정하기 위한 실험 장비는 농촌진흥청 농업유전자원센터에서 보유하고 있는 종자용 X선 장비인 ‘X-eye Harmony 50((주)SEC)’을 이용하였다. 검정 방법은 X선의 투과량의 표준분포 산출한 후 상위 10%, 평균 10% 그리고 하위 10%에 해당하는 종자를 각각 선정한 후 이 투과량의 차이가 발아에 미치는 영향을 무처리와 노화처리 2가지로 조사하였다<그림 3-7>.



<그림 3-7> X-ray 장비를 이용한 종자 선별

좌측: X선 촬영 후 종자의 모습 빨간 원은 밀도가 높은 종자, 녹색 표시는 밀도가 낮은 종자. 우측: 종자의 밀도에 따른 분포와 표본 추출 범위

가) 실험 재료

① 신토좌 2종(RS111, 똑심토좌), 박 4종(동장군, 커플, 방패, 신화창조)등 총 6종.

나) 실험 방법

- ① X-eye Harmony 50을 이용하여 종자의 투과도를 측정한다.
- ② 투과도에 따라 충실도를 3가지로 나누어 종자를 선별한다. (투과도가 낮은 쪽 10%, 평균구간 10% 그리고 높은 구간 10%)<표 3-15>
- ③ 3가지 종자 충실도 별로 종자의 발아세와 발아율 그리고 생육조사를 실시하여 투과율과 충실도와의 상관관계를 구명한다. (전체 조사는 무처리와 노화처리 2가지로 수행)

<표 3-15> 6개 대목종자의 투과율 결과

No.	품명	품종	표준편차	평균	상위 10%	평균 ±5%	하위 10%
1	RS111	신토좌	46.1	616.6	675.7	610.9 ~ 622.4	557.6
2	똑심	신토좌	30.3	559.3	598.1	555.5 ~ 563.1	520.4
3	RS동장군	박	30.1	593.1	631.7	589.3 ~ 596.9	554.5
4	FR커플	박	25.7	588.9	621.9	585.7 ~ 592.2	556.0
5	방패	박	30.2	592.0	630.7	588.2 ~ 595.8	553.3
6	신화창조	박	35.2	647.1	692.2	642.7 ~ 651.5	602.0

다) 실험결과

① 신토좌의 발아율, 발아세 및 생육조사 결과

2009년 수집한 박과채소 대목 중 신토좌 2가지(RS111, 똑심토좌)를 임의로 선정하여 X선을 이용 종자의 비파괴적 선별이 가능한 지 테스트 하였다. 그 결과 두 품종 모두에서 무처리와 노화처리구에서 X선의 투과율이 낮을수록 발아세와 발아율이 약간 상승하는 경향을 보였으나 처리간 차이는 크지 않았다. 그러나 생체중, 자엽장, 하배축장, 하배축경에서 보이는 생육의 차이에서는 투과율이 낮을수록 상승하는 경향이 뚜렷하였다.

② 박의 발아율, 발아세 및 생육조사 결과

2009년 수집한 박 대목품종 4가지(동장군, FR 커플, 방패, 신화창조)를 조사한 결과 ‘동장군’의 경우 노화처리구에서 투과율이 낮을수록 발아세가 약간 상승하는 경향이 보였고, 생육조사 결과도 노화처리의 경우 전체적으로 약간 상승하는 경향을 보여 ‘신토좌’와 비슷한 경향을 보였다. 그러나 ‘FR 커플’에서는 투과율에 따른 경향이 뚜렷하지 않거나 신토좌의 경우와 반대로 투과율이 높은 쪽이 생장이 좋은 경향이 있었다. 또한 ‘방패’와 ‘신화창조’에서는 투과율이 높을수록 발아율과 생육이 좋아지는 경향이 뚜렷하였다. 한편, ‘신화창조’의 경우에는 노화처리한 종자는 전혀 발아하지 않았다<표 3-16, 3-17, 3-18, 3-19>.

③ 종합결론

2009년 수집한 박과채소 대목 중 신토좌와 박의 6 품종을 임의로 선정해서 X선의 투과율과 종자의 충실도의 상관관계를 조사한 결과 일부 품종에서는 발아세와 생체중, 자엽장, 하배축장, 하배축경에서 처리구 별로 차이가 없는 경우도 있었으나, 대체로 신토좌와 박이 상이한 결과를 보였다. 신토좌의 경우는 무처리 종자나 노화처리한 종자 모두에서 투과율이 낮을수록(충실도가 높을수록) 발아세, 생체중, 자엽장, 하배축장, 하배축경 등의 조사항목에서 높은 값을 보였다. 따라서 신토좌는 X-ray에 의한 충실도를 이용하여 발아세가 높은 종자를 선별할 가능성이 높은 것으로 나타났다.

그러나 박의 경우에는 공시한 네 품종 중에서 '동장군'은 위의 신토좌와 같은 결과를 보였으나 '커플' 등 나머지 세 품종은 '신토좌'와 반대의 경향이거나 뚜렷한 경향을 나타내지 않았다. 이러한 결과는 좀더 자세한 연구를 해보아야 확실할 것으로 보이나, 박종자의 매우 두터운 종피가 호박이 얇은 종피에 비해서 X선 투과량에 영향을 미치기 때문으로 생각된다.. 한편 노화처리에서 전혀 발아를 하지 않은 '신토좌'는 X선 투과량이 타 품종에 비해 현저하게 높아서 종자의 충실도가 떨어지는 것으로 나타났고 이와 같은 종자의 충실도 저하가 노화처리에 따라 발아능력을 잃은 것으로 판단되었다.

위의 결과를 종합하면, X선 투과기를 이용한 종자충실도의 검정은 어느 정도 가능한 것으로 보이며 좀더 활용성이 높은 성적을 얻으려면, 1) 감도가 높은 X선 투과기의 개발과, 2) 종자 선별처리 등을 하지 않은 종자를 표본으로 이용하며, 3) 속도와 후숙 기간에 차이를 두고 채종한 종자를 가지고 면밀한 조사를 해야 할 것으로 판단되었다.

<표 3-16> X-ray 투과율에 따른 'RS 동장군' 박의 발아세, 발아율 및 주요 생육

종자처리 ¹		발아세 (%) 4일차	발아율 (%) 9일차	생체중 (g)	자엽장 (cm)	자엽폭 (cm)	하배축장 (cm)	하배축경 (mm)
무처리	상	7 abc ²	100 a	2.75 b	6.23 bc	3.67 ab	9.52 ab	3.3
	중	100 a	100 a	3.17 a	6.52 ab	3.82 a	10.16 a	3.3
	하	97 ab	100 a	3.11 a	6.63 a	3.71 ab	9.54 ab	3.2
노화처리	상	3 d	100 a	2.47 c	6.16 c	3.49 c	8.58 c	3.1
	중	63 bc	100 a	2.85 b	6.59 ab	3.65 b	9.19 bc	3.1
	하	50 c	100 a	2.97 ab	6.64 a	3.66 ab	9.14 bc	3.0

¹ X-ray 투과율 상: 상위 10%, 중: 평균±5%, 하: 하위 10%.

² Mean separation in columns by Duncan's multiple range test at 5%.

<표 3-17> X-ray 투과율에 따른 'FR 커플' 박의 발아세, 발아율 및 주요 생육

종자처리 ¹		발아세 (%) 4일차	발아율 (%) 9일차	생체중 (g)	자엽장 (cm)	자엽폭 (cm)	하배축장 (cm)	하배축경 (mm)
무처리	상	60	93	2.34 abc ²	5.94	3.62	7.99 ab	3.4
	중	50	93	2.63 a	6.09	3.77	8.19 a	3.6
	하	27	93	2.45 ab	5.90	3.48	7.96 ab	3.5
노화처리	상	23	87	2.00 bc	5.34	3.44	7.02 bc	3.3
	중	10	87	1.90 c	5.41	3.29	7.18 bc	3.3
	하	3	87	2.05 bc	5.49	3.25	6.88 c	3.2

¹ X-ray 투과율 상: 상위 10%, 중: 평균±5%, 하: 하위 10%

² Mean separation in columns by Duncan's multiple range test at 5%

<표 3-18> X-ray 투과율에 따른 '방패' 박의 발아세, 발아율 및 주요 생육

종자처리 ¹		발아세 (%) 4일차	발아율 (%) 9일차	생체중 (g)	자엽장 (cm)	자엽폭 (cm)	하배축장 (cm)	하배축경 (mm)
무처리	상	30	90 a ²	2.29 a	5.94 a	3.36 a	7.09 ab	3.4 a
	중	23	70 ab	2.08 a	5.68 a	3.21 ab	6.38 b	3.4 a
	하	13	73 ab	2.37 a	5.93 a	3.39 a	6.82 ab	3.5 a
노화처리	상	7	53 bc	1.84 ab	4.28 b	2.52 bc	8.69 a	2.8 b
	중	10	43 c	1.14 c	2.98 b	1.88 c	5.23 b	2.8 b
	하	0	47 c	1.27 bc	2.93 b	1.88 c	5.72 b	2.7 b

¹ X-ray 투과율 상 : 상위 10%, 중 : 평균±5%, 하 : 하위 10%

² Mean separation in columns by Duncan's multiple range test at 5%

<표 3-19> X-ray 투과율에 따른 '신화창조' 박의 발아세, 발아율 및 유묘 생육

종자처리 ¹		발아세(%)	발아율(%)	생체중 (g)	자엽장 (cm)	자엽폭 (cm)	하배축장 (cm)	하배축경 (mm)
		4일차	9일차					
무 처리	상	77 a ²	100 a	2.57 a	6.26 a	3.52 a	8.33 a	3.4
	중	47 b	100 a	2.73 a	6.26 a	3.55 a	8.15 a	3.5
	하	7 c	97 a	2.32 a	5.73 b	3.17 b	6.87 b	3.5
노화 처리	상	0 c	10 b					
	중	0 c	0 c					
	하	0 c	0 c					

¹ X-ray 투과율 상 : 상위 10%, 중 : 평균±5%, 하 : 하위 10%

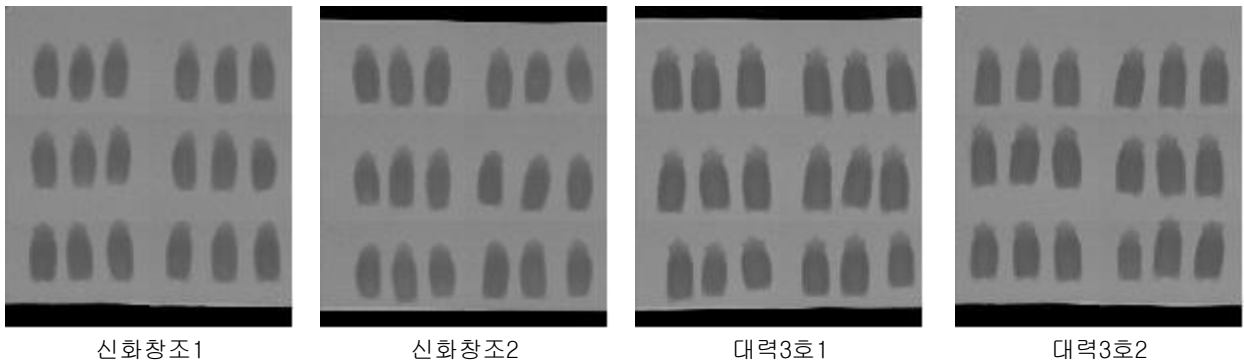
² Mean separation in columns by Duncan's multiple range test at 5%

(2) 2011년 X선 투과기를 이용한 충실종자 생산 및 선별

종자의 충실도를 검정하기 위하여 2009년 실험과 같은 농촌진흥청 농업유전자원센터의 종자용 X선 장비인 'X-eye Harmony 50((주)SEC)'을 이용하였다. 공시재료 3품종 중 신화창조는 종자회사로부터 수집하였고 나머지 대력3호는 한국농수산대학에서 직접 채종한 종자를 사용하였다. 파종은 한국농수산대학 식물 성장상에서 실시하였으며 한 립씩 발아유무를 파악하였다. 투과율이 높을수록 배가 충실하지 못한 것으로 투과율을 상중하 3단계로 나누어 발아율을 비교하였으나 투과율에 따른 발아율의 차이가 없는 것으로 나타났다<표 3-20>. 좀 더 정밀한 X선 장비가 필요할 것으로 보인다<그림 3-8>.

<표 3-20> X-ray 투과율에 따른 박 대목의 발아율(%)

품종	투과율	X-선 투과율		발아율 (%)
		최고값	최저값	
신화창조	상 30%	1362.0	1316.8	40.0
	중 30%	1316.8	1302.8	53.3
	하 30%	1302.5	1269.6	46.7
대력3호	상 30%	1303.4	1265.7	83.3
	중 30%	1264.9	1257.5	91.7
	하 30%	1257.4	1243.0	91.7



<그림 3-8> X-ray를 이용한 종자 촬영 모습

다. 비중선을 이용한 충실종자 생산 및 선별기술 개발

에칠알콜을 이용하여 종자의 비중에 따른 종자의 충실도를 평가하여 발아율을 비교하였다. 에칠알콜의 농도는 20, 80, 90, 100%로 하였으며 2010년 채종한 3품종의 종자와 종자회사에서 수집한 신화창조를 사용하였다. 에칠알콜에 침하 후 침하한 종자와 부유한 종자를 나누어 바로 수세하고 28℃ 인큐베이터에서 발아시켰다. 에칠알콜 농도를 90%로 처리하였을 때 대력3호와 RS-501 두품종의 무처리에서 침하종자가 부유종자보다 발아율이 높게 나타났다<표 3-21>. 에칠알콜의 농도가 높으면 발아율이 떨어지는데 에칠알콜이 종자의 발아에 영향을 미친 것으로 보인다. 종자의 발아에 영향을 미치지 않고 물보다 비중이 낮은 물질관련 추가 실험이 가능할 것으로 생각된다.

<표 3-21> 에칠알콜의 농도에 따른 부유종자와 침중종자의 발아율(%)

8일	무처리	20		80		90		100		
		침하	부유	침하	부유	침하	부유	침하	부유	
대력3호	무처리	99.0	0	98.0	33.3	80.4	44.0	18.8	10.2	12.2
	건열처리	97.0	0	97.0	0.0	37.1	41.3	44.4	16.4	11.1
방패	건열	87.0	0	86.0	0	42.0	0	5.0	0	18.0
RS-501	무처리	99.0	0	93.0	52.2	54.5	20.5	8.3	-	-
	건열처리	25.0	0	15.0	14.0	0.0	2.0	0.0	5.1	0.0
신화창조		90.0	0.0	75.8	4.7	10.5	1.7	2.5	1.2	0.0

4. 시험용 종자 채종

가. 실험용 종자생산

(1) 실험용 종자생산

실험용 박 종자를 생산하기 위하여 박 품종의 발아율을 상·중·하로 나누어 두 품종씩 선정하였다. 발아율이 좋은 품종으로 ‘대력3호’와 ‘방패’, 발아율이 중간인 것으로 ‘RS-동장군’과 ‘FR-501’, 발아율이 낮은 것으로 ‘FR-으뜸참박’, ‘FR-잉꼬참박’을 선발하였다. 재배는 한국농수산대학 실험포에서 4월 12일 파종, 6월 23일에 정식을 하여 1.5m 간격으로 4줄기 재배를 실시하였다. 본격적으로 꽃이 피기 시작하는 7월 말부터 8월초까지 인공수정을 실시하였으며 수확은 8월 27일부터 10월 15일까지 수확시기별로 수확하였다. 수정 시 다른 화분의 침입을 막기 위하여 종이고깔을 씌우고 수정이 완료된 후 제거하였다. 박의 형태는 ‘대력3호’, ‘방패’, ‘RS-동장군’의 경우 긴 타원형으로 속이 부드러웠으며 ‘FR-501’, ‘FR-으뜸참박’, ‘FR-잉꼬참박’은 둥근 모양으로 속이 딱딱했다. 특히 ‘FR-501’의 경우 두 가지 형태의 박이 나타났다. 박은 수정 24, 31, 50, 70일 후에 수확하였고 후숙 없이 바로 채종한 것과 후숙 5일 후, 각각 62, 55, 35, 15일 동안 후숙 시킨 후 채종하였다. 또한 발아력이 좋은 품종과 중간, 나쁜 품종을 교배하여 교배조합별로 수정 70일 후에 15일 동안 후숙한 후 채종하였다. 이렇게 채종된 종자는 저장 및 여러 가지 실험에 활용되었다<그림 3-9, 3-10, 3-11>, <표 3-22, 3-23>.



포장 정식 모습



수꽃 모습

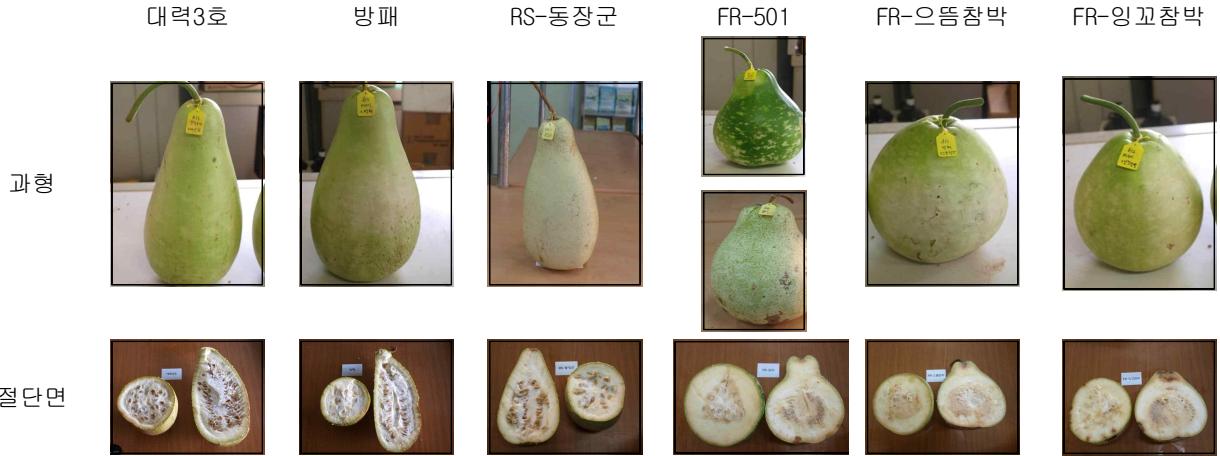


암꽃모습

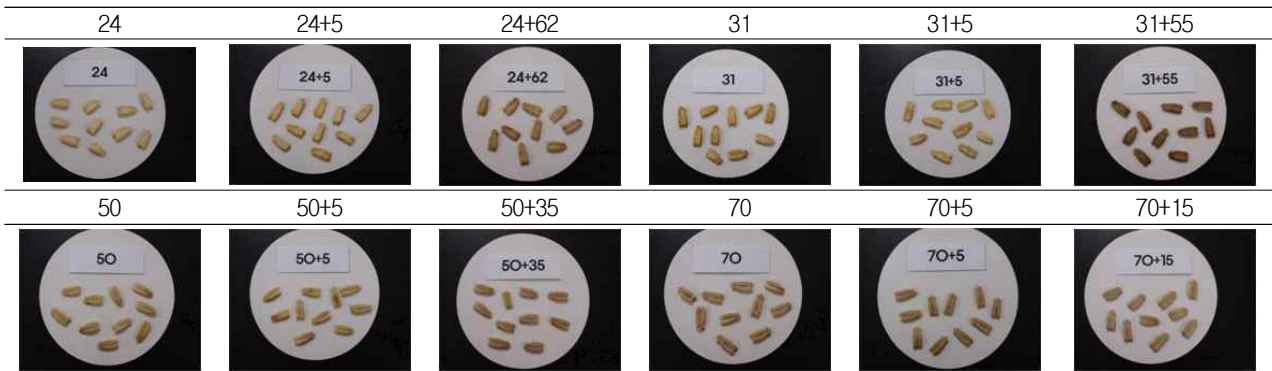


수정 후 처리

<그림 3-9> 노지 박 재배 및 수정



<그림 3-10> 품종별 수확한 박의 형태



<그림 3-11> 대력3호 박 대목의 채종시기별 종자의 모습

<표 3-22> 수확 및 후숙처리 별 채종 종자수

수확 및 후숙일 수	대력3호	방패	RS-501	으뜸참박	잉꼬참박
24일	514	451	312	212	324
24+5일	898	872	359	371	293
24+62일	959	654	507	191	352
31일	892	374	417	281	529
31+5일	613	650	382	214	297
31+55일	498	672	409	394	405
50일	1009	1168	663	534	398
50+5일	814	612	317	285	830
50+35일	692	701	392	472	338
70일	721	849	452	324	221
70+5일	504	-	517	91	-
70+15일	879	917	392	123	612

<표 3-23> 교배조합별 채종 종자수

모 \ 부	대력3호	방패	동장군	RS-501	으뜸참박	잉꼬참박
대력3호	-	-	172	571	813	332
방패	-	-	1097	507	918	491
동장군	792	671	-	-	911	781
RS-501	375	452	-	-	412	329
으뜸참박	429	267	-	392	-	-
잉꼬참박	324	261	307	218	-	-

나. 2011년 채종과의 속도 및 후숙처리에 따른 발아특성 비교

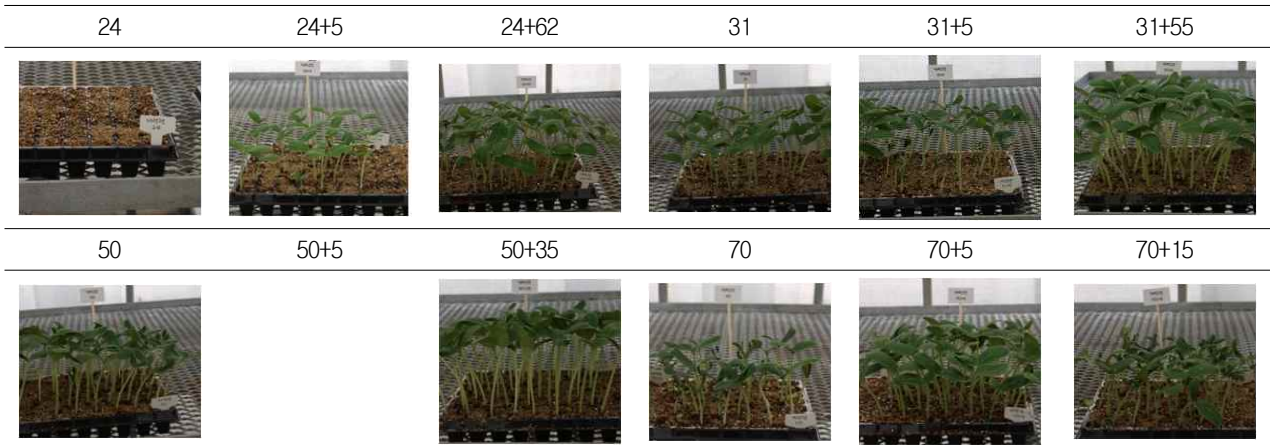
(1) 채종과의 속도 및 후숙처리에 따른 종자 처리별 출현율 비교

2010년 한국농수산대학에서 정식하여 채종한 대목용 박 5품종을 이용하였다. 종과의 수확시기는 수분 후 각각 24, 31, 50, 70일로 하였으며 후숙기간은 수확 후 5일과 수확일과 후숙일을 더하여 85일이 되도록 각각 62, 55, 35, 15후에 채종하였다. 처리구는 건열처리와 무처리로 실시하였으며 건열처리는 경희대학교에서 일주일간(75℃) 실시하였다. 파종은 한국농수산대학 비닐온실에서 105공 트레이에 50립씩 2반복으로 무처리는 8월 8일, 건열처리는 9월 20일에 실시하였다<그림 3-12>. 무처리와 건열 모두 수분 후 24일 후에 채과한 종자는 전혀 발아하지 않았으며, 31+5일과 50+5일의 경우 발아율이 다른 처리에 비하여 낮았다. 수분 후 31일 후 채과하고 55일 간 후숙한 것이 발아율이 가장 높았으며, 수분 후 50일 및 70일 후에 채과한 것은 후숙하였을 때 발아율이 높았다. 일반적으로 시행되는 70+15일 처리구에서는 발아율은 높으나 한 품종을 제외하고 T₅₀이 31+55일보다 늦는 것으로 나타났다. 건열처리는 무처리보다 발아율이 낮았으며 T₅₀도 늦는 것으로 나타났다<표 3-24, 3-25>.

<표 3-24> 채종과의 속도 및 후숙처리에 따른 종자 처리별 출현율(%)

수확+ 후숙 일수	대력3호		방패		RS-501		FR-으뜸참박		FR-잉꼬참박	
	무처리	건열 처리	무처리	건열 처리	무처리	건열 처리	무처리	건열 처리	무처리	건열 처리
24	0.0 f ¹	0.0	0.0 e	0.0 f	0.0 e	0.0 e	0.0f	0.0 e	0.0 e	0.0 e
24+5	54.0 e	34.0	78.0 b	26.0 d	72.0 b	24.0 cd	42.0d	36.0 d	58.0 c	52.0 c
24+62	78.0 cd	72.0	94.0 a	94.0 a	100.0 a	98.0 a	79.2c	84.0 b	78.0 b	94.0 ab
31	74.0 d	30.0	68.0 c	52.0 c	66.0 c	42.0 c	44.9d	46.0 d	94.0 a	94.0 ab
31+5	58.0 e	40.0	14.0 d	14.0 e	8.0 e	4.0 d	12.0e	8.0 e	0.0 e	4.0 e
31+55	100.0 a	100.0	100.0 a	100.0 a	100.0 a	76.0 b	98.0a	98.0 a	100.0 a	100.0 a
50	88.0 b	50.0	98.0 a	76.0 b	64.0 c	12.0 d	82.0ab	70.0 c	44.0 d	6.0 e
50+5	-	-	96.0 a	14.0 e	22.0 d	0.0 e	12.0e	26.0 d	-	-
50+35	100.0 a	96.0	98.0 a	96.0 a	90.0 ab	84.0 ab	100.0a	100.0 a	98.0 a	90.0 b
70	84.0 bc	48.0	98.0 a	46.0 c	100.0 a	76.0 b	88.0ab	68.0 c	64.0 c	18.0 d
70+5	100.0 a	84.0	-	-	91.8 ab	92.0 a	-	-	-	-
70+15	100.0 a	62.0	94.0 a	52.0 c	94.0 ab	96.0 a	92.0ab	88.0 b	-	-

¹ Mean separation in columns by Duncan's multiple range test at 5%.



<그림 3-12> 대력3호 박 대목의 채종시기별 출현 모습

<표 3-25> 채종과의 속도 및 후숙처리에 따른 종자 처리별 T₅₀(일)

수확+ 후숙 일수	대력3호		방패		RS-501		FR-으뜸참박		FR-잉꼬참박	
	무처리	건열 처리	무처리	건열 처리	무처리	건열 처리	무처리	건열 처리	무처리	건열 처리
24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24+5	7	10	7	0	7 abc ¹	0	0	0	9 a	9
24+62	5	7	5	7	5 c	8	6	8	5 b	7
31	6	0	8	9	8 ab	10	0	10	5 b	8
31+5	9	10	0	0	0	0	0	0	0	0
31+55	5	7	5	8	6 bc	8	5	7	5 b	7
50	6	9	5	9	9 a	0	7	8	0	0
50+5	-	-	6	0	0	0	0	11	-	-
50+35	5	8	6	8	7 abc	9	5	9	6 b	8
70	8	10	6	10	5 c	8	6	9	8 ab	0
70+5	6	9	-	-	8 ab	8	-	-	-	-
70+15	7	9	6	9	5 c	8	5	9	-	-

¹ Mean separation in columns by Duncan's multiple range test at 5%.

(2) 채종과의 속도 및 후숙처리에 따른 유묘특성 비교

과중 14일 후 처리별 유묘의 특성을 조사하였다<표 3-26>. 무처리 5품종 중 대력3호와 FR-으뜸참박을 선택하여 자엽장, 하배축장, 하배축경 및 생체중을 측정하였다. 자엽장은 자엽이 시작하는 부분에서 자엽의 끝까지, 하배축장은 뿌리가 시작되는 부분에서 자엽이 전개되기 시작하는 부위까지를 측정하였으며 하배축경은 하배축의 중간부위를 측정하였다. 대력3호에서 24+5일에 채종한 종자의 경우 배축장, 배축경, 자엽장이 낮은 것으로 나타났으며 FR-으뜸참박의 경우도 같은 경향을 보였다.

<표 3-26> 채종과의 속도 및 후숙처리에 따른 종자 처리별 유묘 생육

수확+ 후숙일수	대력3호			FR-으뜸참박		
	배축장(cm)	배축경(cm)	엽장(cm)	배축장(cm)	배축경(cm)	엽장(cm)
24	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
24+5	11.34 f ¹	0.94 d	4.09 d	13.56 c	0.90 e	4.26
24+62	15.10 d	1.80 c	6.08 a	13.96 bc	1.40b c	5.46
31	15.20 cd	1.06 d	5.28 c	12.90 cd	0.96 e	4.60
31+5	15.82 bcd	1.94 bc	5.68 abc	11.46 d	1.18 de	4.62
31+55	17.00 abc	2.20 ab	5.94 a	14.34 bc	1.68 bc	4.56
50	13.70 de	1.90 bc	5.34 bc	15.00 ab	1.96 ab	16.36
50+35	15.28 bcd	1.84 bc	5.68 abc	15.06 ab	1.86 ab	5.60
70	14.22 cde	2.06 bc	5.86 ab	16.62 a	2.12 a	5.94
70+5	17.44 a	2.56 a	6.10 a	16.78 a	2.00 ab	5.50
70+15	12.94 ef	2.06 bc	5.58 abc	16.36 a	2.02 ab	5.52

¹ Mean separation in columns by Duncan's multiple range test at 5%.

(3) 시판종자와 채종과의 배 및 종피 비율(%)

시판종자와 채종시기별 배 및 종피의 비율의 차이를 알아보기 위하여 각 처리별 10립씩 3반복으로 종피를 제거하고 정밀 전자저울을 이용하여 무게를 측정하였다. 발아율과 종피와 배의 비율을 비교하였을 때 배의 비율이 30%를 넘으면 발아가 가능한 것으로 나타났다<표 3-27>.

<표 3-27> 채종과의 속도 및 후숙처리에 따른 배 및 종피의 비율(%)

수확+ 후숙일수	대력3호		RS-501		FR-으뜸참박	
	종피	배	종피	배	종피	배
시판종자	48.9 b ¹	51.0	50.1 b	49.9 a	50.6 b	49.2
24	82.1 a	17.5	76.5 a	22.6 c	81.0 a	18.3
24+5	67.4 ab	32.2	66.3 ab	33.3 c	65.5 ab	33.9
24+62	57.3 b	42.1	50.1 b	49.6 a	54.1 b	45.6
31	66.5 ab	32.9	63.8 ab	35.8 c	67.5 ab	31.8
31+5	60.6 ab	39.1	55.4 b	42.2 ab	62.0 ab	37.9
31+55	54.0 b	46.0	52.4 b	50.5 a	51.7 b	48.2
50	55.8 b	43.3	51.3 b	48.1 a	55.6 b	44.2
50+5	55.0 b	43.3	51.4 b	48.1 a	54.7 b	45.0
50+35	53.6 b	46.3	54.7 b	47.2 a	52.0 b	47.8
70	56.0 b	43.6	50.0 b	49.5 a	52.5 b	47.0
70+5	52.5 b	47.2	51.1 b	48.5 a	53.3 b	46.7
70+15	54.8 b	44.5	48.9 b	50.6 a	53.6 b	46.1

¹ Mean separation in columns by Duncan's multiple range test at 5%.

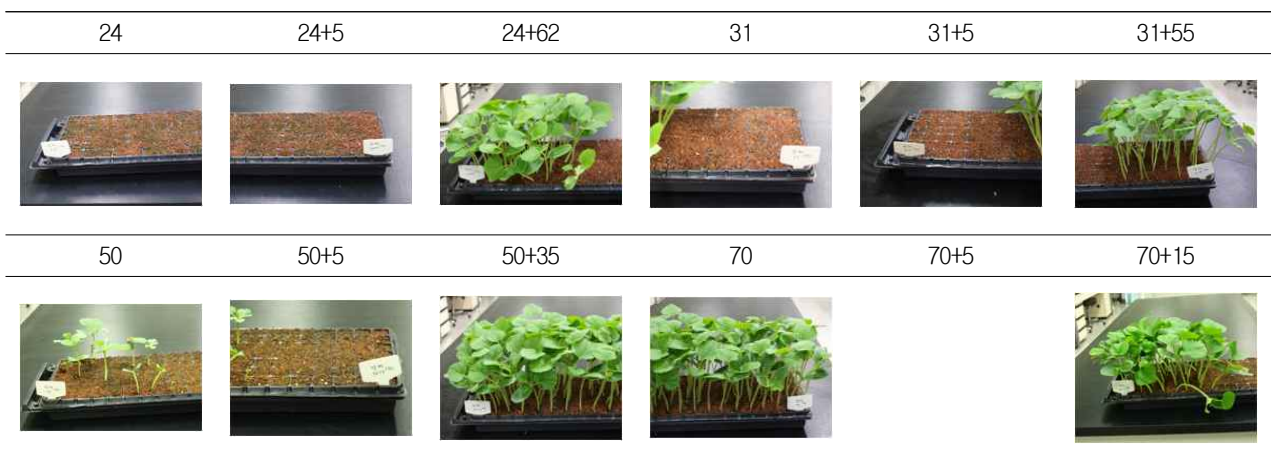
다. 2012년 채종과의 속도 및 후숙처리에 따른 발아특성 비교

(1) 채종과의 속도 및 후숙처리에 따른 종자 처리별 발아(출현)율 비교

2010년 한국농수산대학에서 정식하여 채종한 종자 중 3품종을 이용하였다. 과종은 한국농수산대학의 식물 성장상에서 105공 트레이에 50립씩 2반복으로 무처리는 2월 6일, 건열처리는 1월 20일에 실시하였다. 성장상의 환경은 온도 28℃, 습도 65%, 8시간동안 암상태로 처리하였다<그림 3-13>. 수분 후 24일 후에 채과한 종자는 전혀 발아하지 않았으며, 두 품종은 수분 후 31일 후 채과하고 55일 간 후숙한 것과 24일 후 채과하여 62일 후 채과한 종자의 발아율이 높았으며, FR-으뜸참박의 경우 수분 50일 후 채과하여 35일간 후숙한 종자의 발아율이 가장 높았다. 무처리는 건열처리보다 발아율이 높았으며 2011년에 했던 결과보다 발아율이 낮은 것으로 나타났다. T₅₀은 무처리와 건열처리에서 큰 차이가 없는 것으로 나타났다<표 3-28>.

<표 3-28> 채종과의 속도 및 후숙처리에 따른 종자 처리별 출현율(%) 및 T₅₀(일)

수확+ 후숙일수	방패				RS-501				FR-으뜸참박	
	무처리		건열처리		무처리		건열처리		건열처리	
	출현율	T ₅₀	출현율	T ₅₀	출현율	T ₅₀	출현율	T ₅₀	출현율	T ₅₀
24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24+5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24+62	96	8	86	9	100	8	98	9	0	0
31	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0
31+5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
31+55	98	8	82	9	54	10	0	0	14	0
50	60	9	0	0	2	0	2	0	4	0
50+5	24	0	0	0	-	-	-	-	0	0
50+35	14	0	98	9	36	11	14	0	86	9
70	58	10	52	10	10	0	22	13	0	0
70+5	-	-	-	-	0	0	10	0	-	-
70+15	30	11	56	10	42	11	18	0	32	11



<그림 3-13> 건열처리 방패 박 대목의 채종시기별 출현 모습

(2) 채종과의 속도 및 후숙처리에 따른 자엽의 손상정도 비교

과종 12일 후 자엽 손상 정도를 1,2,3 단계로 나누어 조사하였다<그림 3-14>. 무처리 보다 건열처리를 했을 때 자엽의 손상정도가 심하였고 발아율이 좋은 '방패'가 다른 품종보다 자엽의 손상 정도가 낮았다<표 3-29>.



<그림 3-14> 손상정도 비교

<표 3-29> 채종과의 속도 및 후숙처리에 따른 자엽의 손상율(%)

품종	수확+ 후숙일수	1		2		3	
		무처리	건열	무처리	건열	무처리	건열
방패	24	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	24+5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	24+62	2.1	8.3	4.2	4.2	6.3	6.3
	31	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	31+5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	31+55	2.0	4.2	0.0	6.3	0.0	6.3
	50	2.6	8.3	0.0	16.7	0.0	41.7
	50+5	11.8	0.0	5.9	0.0	0.0	0.0
	50+35	6.7	6.0	6.7	4.0	6.7	4.0
	70	8.1	8.2	10.8	4.1	8.1	6.1
	70+15	8.3	8.5	2.8	2.1	0.0	0.0
RS-501	24	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	24+5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	24+62	4.0	2.0	0.0	2.0	0.0	4.0
	31	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	31+5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	31+55	8.3	0.0	5.6	14.3	0.0	71.4
	50	0.0	50.0	0.0	0.0	0.0	50.0
	50+35	5.1	12.5	2.6	9.4	2.6	6.3
	70	0.0	4.9	15.4	9.8	15.4	7.3
	70+5	16.7	9.1	16.7	6.8	0.0	11.4
	70+15	6.3	7.7	3.1	11.5	3.1	15.4
FR- 으뜸참박	24		0.0		0.0		0.0
	24+5		0.0		0.0		0.0
	24+62		0.0		0.0		50.0
	31		0.0		0.0		0.0
	31+5		0.0		0.0		0.0
	31+55	-	9.5	-	9.5	-	23.8
	50		0.0		0.0		100
	50+5		0.0		0.0		0.0
	50+35		4.2		6.3		4.2
	70		28.6		28.6		42.9
	70+15		8.8		5.9		17.6

라. 저장조건에 따른 대목용 박 종자의 발아특성 비교

(1) 저장조건에 따른 대목용 박 종자 발아(출현)율

발아율이 낮은 품종(FR-잉꼬참박)과 높은 품종(대력3호)을 선발하여 수분 후 50일에 수확하여 5일간 후숙한 미숙종자와 수분 후 70일에 수확하여 5일간 후숙한 완숙종자로 실험하였다. 저장환경은 상온, 정온 25℃, 정온상태에서 각기 다른 습도환경(32%, 43%, 52%, 75%, 84%)에 45일, 90일 저장하였다. 한국농수산대학 온실에서 105공 트레이에 50립씩 2반복으로 실시하였다<그림 3-15>. 공시한 두 품종 모두에서 미숙종자가 완숙종자보다 발아율이 떨어졌다. 저장 상대습도가 75%보다 높을 경우 완숙종자와 미숙종자 모두에서 발아율이 저하되었으며, 특히 건열처리를 한 경우에 저장습도가 높을수록 발아율이 현저하게 저하되었다. 과습상태(75% 이상)에서 장기간(90일) 보관할 경우 건열처리한 종자는 발아하지 않았다<표 3-30, 3-31>.

<표 3-30> 저장 습도에 따른 45일 저장 종자의 출현율(%)

종자	습도	대력3호				FR-잉꼬참박			
		무처리		건열		무처리		건열	
		12일	19일	12일	19일	12일	19일	12일	19일
완숙	무처리(상온)	36.3	96.3	0.0	90.0a ¹	13.8	62.5	0.0	87.5 a
	무처리(25℃)	26.3	90.0	6.3	95.0a	32.5	85.0	0.0	93.8 a
	25℃+32.78%	31.3	91.3	10.0	88.8a	32.5	87.5	15.0	90.0 a
	25℃+43.16%	41.3	97.5	2.5	98.8a	22.5	81.3	8.8	95.0 a
	25℃+52.89%	11.3	100.0	2.5	95.0a	22.5	61.3	1.3	92.5 a
	25℃+75.29%	1.3	90.0	0.0	17.5b	11.3	68.8	0.0	38.8 b
	25℃+84.34%	0.0	80.0	0.0	0.0b	12.5	78.8	0.0	0.0 b
미숙	무처리(상온)	0.0	13.8	0.0	53.8	0.0	65.0	0.0	63.8 a
	무처리(25℃)	6.3	56.3	0.0	87.5	5.0	81.3	0.0	50.0 a
	25℃+43.16%	0.0	53.8	0.0	83.8	0.0	71.3	1.3	67.5 a
	25℃+75.29%	0.0	50.0	0.0	3.8	1.3	75.0	0.0	10.0 b

¹ Mean separation in columns by Duncan's multiple range test at 5%.

<표 3-31> 저장 습도에 따른 90일 저장 종자의 출현율(%)

종자	습도	대력3호				FR-잉꼬참박			
		무처리		건열		무처리		건열	
		10일	16일	10일	16일	10일	16일	10일	16일
완숙	무처리(상온)	61.3 a ¹	82.5 ab	3.8 bc	67.5 c	73.8	92.5 a	1.3	81.3 a
	무처리(25℃)	51.3 ab	80.0 abc	13.8 abc	83.8 b	61.3	87.5 a	3.8	67.5 a
	25℃+32.78%	47.5 ab	77.5 abc	36.3 ab	96.3 a	516.3	97.5 a	2.5	87.5 a
	25℃+43.16%	56.3 ab	92.5 ab	47.5 a	93.8 ab	85.0	93.8 a	6.3	86.3 a
	25℃+52.89%	56.3 ab	95.0 a	33.8 abc	93.8 ab	95.0	98.8 a	7.5	81.3 a
	25℃+75.29%	26.3 bc	75.0 bc	0.0 c	0.0 d	36.3	83.8 a	0.0	0.0 b
	25℃+84.34%	0.0 c	61.3 c	0.0 c	0.0 d	7.5	58.8 b	0.0	0.0 b
미숙	무처리(상온)	0.0 b	40.0	0.0	25.0	17.5 b	53.8	0.0	35.0 ab
	무처리(25℃)	1.3 b	63.8	0.0	51.3	33.8 a	61.3	1.3	26.3 ab
	25℃+43.16%	25.0 a	67.5	0.0	61.3	48.8 a	82.5	0.0	63.8 a
	25℃+75.29%	1.3 b	40.0	0.0	0.0	40.0 a	72.5	0.0	0.0 b

¹ Mean separation in columns by Duncan's multiple range test at 5%.



대력3호 무처리
미숙



대력3호 건열처리
미숙



FR-잉꼬참박 무처리
미숙



FR-잉꼬참박 건열처리
미숙

<그림 3-15> 대력3호 박 대목의 저장환경별 출현 모습

(2) 저장조건에 따른 대목용 박 종자의 자엽 손상정도 비교

파종 20일 후 자엽손상 정도를 1, 2, 3단계로 나누어 조사하였다<그림 3-16>. 자엽 손상은 미숙종자에서 발생이 많았으며, 특히 건열처리 후에는 발생량과 발생정도가 심하였다. 발아율이 상대적으로 낮은 품종에서 더 심하게 나타났으며, ‘대력3호’의 경우에는 손상을 받은 묘가 생장함에 따라 회복하는 양상을 보였다. 건열처리를 한 종자에서 나타나는 자엽의 손상은 건열처리를 하지 않은 완숙종자에서는 나타나지 않았으나 건열처리를 하였을 때 발생하였다<표 3-32, 3-33>.



<그림 3-16> 손상정도 비교

<표 3-32> 90일 저장 대력3호 종자의 저장처리 별 자엽 손상정도(%)

저장처리	무처리				건열			
	4월29일		5월 4일		4월29일		5월 4일	
	2	3	2	3	2	3	2	3
대력3호(완숙)								
무처리(상온) I	0.0	0.0	0.0	0.0	6.9	3.4	6.2	1.8
무처리(정온) I	0.0	0.0	0.0	0.0	8.8	11.8	14.4	0.0
25℃+32.78% I	0.0	0.0	0.0	0.0	2.5	2.5	4.8	0.0
25℃+43.16% I	0.0	0.0	0.0	0.0	2.6	0.0	0.0	0.0
25℃+52.89% I	0.0	0.0	0.0	0.0	2.6	0.0	8.6	0.0
25℃+75.29% I	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	11.1	8.7	0.0
25℃+84.34% I	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
대력3호(미숙)	2	3	2	3	2	3	2	3
무처리(상온) I	4.3	4.3	0.0	0.0	33.3	0.0	9.1	18.2
무처리(정온) I	3.0	0.0	12.5	0.0	19.4	41.9	12.5	41.7
25℃+43.16% I	3.1	0.0	6.1	0.0	21.4	14.3	7.1	7.1
25℃+75.29% I	4.8	0.0	8.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

<표 3-33> 90일 저장 FR-잉꼬참박 종자의 저장처리 별 자엽 손상정도(%)

저장처리	무처리				건열			
	4월29일		5월 4일		4월29일		5월 4일	
	2	3	2	3	2	3	2	3
FR-잉꼬참박(완숙)	2	3	2	3	2	3	2	3
무처리(상온) I	0.0	0.0	0.0	0.0	13.5	10.8	6.3	12.5
무처리(정온) I	0.0	0.0	0.0	0.0	14.3	14.3	11.4	14.3
25℃+32.78% I	0.0	0.0	0.0	0.0	2.6	0.0	0.0	5.9
25℃+43.16% I	0.0	0.0	0.0	0.0	2.5	0.0	0.0	0.0
25℃+52.89% I	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.3	0.0
25℃+75.29% I	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	14.3	7.1	22.9
25℃+84.34% I	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
FR-잉꼬참박(완숙)	2	3	2	3	2	3	2	3
무처리(상온) I	17.4	0.0	13.6	9.1	11.1	66.7	14.3	71.4
무처리(정온) I	4.2	0.0	3.8	0.0	7.1	42.9	9.1	72.7
25℃+43.16% I	0.0	0.0	2.8	0.0	10.0	73.3	0.0	84.0
25℃+75.29% I	0.0	0.0	3.6	0	0.0	0.0	0.0	0.0

마. 채종부위별 출현특성 비교

원에특작과학원에서 수집한 박을 과병, 중앙, 꽃자리 부위로 나누어 채종하였다, 처리는 건열처리와 무처리로 하였으며 건열처리는 50립씩 경희대학교에서 일주일간(75℃) 처리하였다. 한국농수산대학 식물 성장상에서 105공 트레이에 각각 50립씩 파종하였으며 성장상의 환경은 온도 28℃, 습도 65%, 8시간동안 암상태로 처리하였다<그림 3-17>. 채종부위별 발아율은 꽃자리 부위의 발아율이 가장 높았으며 무처리가 건열처리보다 발아율이 높았다<표 3-34>. 자엽의 손상정도는 과병부위에서 건열처리 하였을 때 가장 높았다<표 3-35>.

<표 3-34> 채종부위 별 종자 발아(출현)율(%)

채종부위	6일		9일	
	무처리		건열	
	무처리	건열	무처리	건열
과병 부위	34	14	80	48
중앙 부위	88	16	96	70
꽃자리 부위	100	18	100	86



<그림 3-17> 채종부위별 주요 출현모습

<표 3-35> 채종부위 별 자엽 손상정도(%)

채종부위	1		2		3	
	무처리	건열	무처리	건열	무처리	건열
과병 부위	5.0	4.2	6.3	8.3	15.0	20.8
중앙 부위	4.2	4.3	3.1	4.3	3.1	8.6
꽃자리 부위	4.0	3.5	0.0	4.7	3.0	11.6

5. 국내의 채종지 현황 조사

가. 국내 채종지 현황 조사

국내에 유통되는 박과채소 대목품종의 생산과 종자처리 현황을 알아보기 위해 민간종자회사 관계자를 면담하고 국내 채종지를 현지 답사하였다. 우리나라에서 수입하는 외국의 박과채소 채종지는 크게 중국과 동남아(태국, 인도네시아)로 나누어져 있어, 신토와 품종은 중국에서 대부분 채종하고 있으며 박 대목 품종은 중국과 동남아에서 채종하여 수입하고 있다.

(1) 채종

국내에서 박과채소 대목을 생산하는 2개 종자회사의 채종지를 방문하고 현황을 파악하였다. 두 회사 모두 국내에서는 박 종자 생산을 중단하고 외국에서 생산하기 때문에 국내에서 생산하는 신토와 생산포장을 방문하였다. 2개 회사 모두 전문으로 생산하는 농가를 선정하여 오랫동안 종자를 생산하여왔기 때문에 채종농민은 포장관리와 교배 등의 작업에 정통한 것으로 파악되었다. 채종지는 2개 회사가 각각 충남과 충북에 가지고 있으며 면적은 500평 정도로 적은 편이었다. 교배가 끝난 시점에서 바이러스 병징을 보이는 개체는 발견되지 않았으나, 7월 하순 경에는 바이러스 증상을 보이는 개체들이 발견되었다

<그림 3-18>.

바이러스 증상을 보이는 개체에서 감염된 잎을 수집하여 국립원예특작과학원 원예특작환경과에서 전자현미경 검정과 유전자 진단 방법으로 검정한 결과 주키니황화모자이크바이러스(ZYMV), 파파야원형 반점바이러스(PRSV), 수박모자이크바이러스(WMV2) 등이 동정되었고, 이들 바이러스는 단독 또는 복합 감염되어 있었다. 이 바이러스들은 모두 진딧물이 전염을 하는 사상형 바이러스이다.

채종은 농가에서 채과한 후 후숙하여 탈종하며 건조 종자를 납품하는 형식을 따른다고 한다. 채종지에 따라서는 ‘쓰나미’라는 약제(소독제로 알고 있음)를 탈종과정에서 처리한다.

한편, 박은 중국에서 채종을 해왔으나 CGMMV 등의 바이러스 감염율이 높아 접촉한 회사 모두 태국 등으로 채종지를 변경하였다고 하며, 신토좌는 아직 중국에서 채종한다고 하였다. 그러나 일부 회사는 아직도 박을 비롯한 박과채소 대목품종을 중국에서 채종하고 있으며 주 채종지대는 감숙성, 사천성이다.



<그림 3-18> 국내 '신토좌' 채종지에서 보이는 바이러스 증상

(2) 종자처리

마대에 담아 납품된 종자는 우선 병 검정과 발아 검정을 거친 후 처리에 들어가는데, CGMMV의 경우에는 ELISA 검사로 표본 중에 하나라도 이병된 것으로 나타나면 그 마대에 든 모든 종자를 폐기한다. 이후 크기별 선별과 건열처리(72℃, 72시간)를 하며, 건열처리 후에는 발아력 회복을 위해 프라이밍을 한다. 박의 경우에는 박피처리(브러싱)와 종자코팅 처리는 각각의 처리가 종자에 스트레스를 주는 것으로 알려져 있기 때문에 하지 않는다고 한다. 납품과 동시에 실시했던 발아 검정은 프라이밍 처리 후와 출하 전에 각각 다시 한다.

(3) 외국 채종 현황

태국(Ubon Rachatani, Mukdahan 지역)에 위치한 국내 N종자회사의 박 대목종자 채종지를 방문하고 현황을 파악하였다. 채종지는 벼 생산지역에 위치하고 있으며, 벼를 생산하지 않는 기간 동안 물이 확보되는 일부 지역에 생산단지가 형성되어 있다. 물의 가용성 때문에 생산포장이 밀집하여 있지 않고, 300평 정도의 포장이 5-6개 모여 있는 곳이 많았다. 국내와 같이 멀칭재배를 하고 있으며, 포장은 국내 포장보다 더 청결하게 관리되는 것으로 보였다. 바이러스 등 병해 피해를 예방하기 위해 포장입구에 소

독약 발판을 비치하였고, 특히 바이러스의 유입과 전반을 방지하기 위해 탈지우유를 넣은 스프레이를 입구에 비치하여 출입시에 손 소독을 하도록 하였다<그림 3-19>. 또한 탈지우유는 생육 중인 식물체에 도 살포한다고 하였다<그림 3-20>.

돌아본 포장 중에는 바이러스에 감염된 증상을 보이는 식물체가 있어<그림 3-21>, 식물체를 채취하여 국립원예특작과학원에 분석을 요청한 바, 바이러스가 발견되지 않았다.

채종은 농가에서 후숙을 한 후에 탈종하며, 탈종한 종자는 채종회사의 본부로 옮겨 바이러스 이병 여부를 검정하고, 추가 건조 등의 조치를 취한다고 한다. 한편, 바이러스 감염 여부를 떠나 모든 종자는 건열소독을 하여 수출을 하게 되는 데, 건열처리 시 온도는 각 회사별로 다르다고 한다.



<그림 3-19> 태국 박 대목종자 채종지의 소독제(좌) 및 소독용 발판 설치 모습(우)



<그림 3-20> 태국 박 대목종자 채종지에서 소독제의 식물살포 모습



<그림 3-21> 태국 박 대목종자 채종지에서 보이는 바이러스 증상

나. 중국 채종지 현황 조사<그림 3-22, 3-23, 3-24, 3-25>

우리나라 수박생산에 이용되는 박 대목을 채종하는 주요 채종지인 중국 감숙성 주천(中國 甘肅省 酒泉) 일대의 채종현황을 파악하고, 규제비검역병인 오이녹반모자이크바이러스(CGMMV)의 현지 감염 정도와 감염예방 조치 등을 파악하고자 현지 출장 조사하였다.

(1) 출장일정 : 2010년 7월 12일 ~ 7월 18일(6일)

(2) 출장 조사자 : 한국농수산대학 오대근(조사 책임자), 한국종자연구회장 윤진영(조사원, 통역 및 안내)

(3) 주요 접촉인물

薛萬銀 董事長

酒泉市中大種業科技有限公司

中國 甘肅省 酒泉市 肅州區 郵電街 45號

전화 : 0937-2628606, Fax : 0937-2628501, E-mail : zhongdaseed126.com

(4) 주요 수집정보 및 관련정보 분석

- 중국 감숙성 주천시는 7개 현으로 이루어져 있으며 2개 현은 목축을, 나머지 5개 현은 농업을 주로하고 있으며 전체 약 100만, 주천시내에는 약 30만이 살고 있음. 주천의 면적은 10만 km²로 우리나라 남한의 면적과 비슷함.
- 목축을 하는 농가는 대개 양을 키우며 60~200두를 키움.
- 감숙성은 매우 건조하여 일년 강수량이 156~200mm에 불과하여 채종산업에 좋은 조건을 갖고 있음. 농업용수는 근처에 있는 설산(鏡鐵山 등)에서 만년설이 녹아내리는 물을 이용하며 부족함이 없다고 함.
- 채종지 환경
 - 감숙성은 평지로 주로 옥수수, 밀, 콩, 채소, 아마, 해베라기 등을 재배하는데, 국제적으로 좋은 채종지로 알려져 있어서 위의 작물을 제외하고는 거의 채종농업을 하는 것으로 볼 수 있음
 - 감숙성에서 채종하는 작물은, 호박, 수박, 고추, 피만, 양파, 당근, 해베라기, 토마토, 가지, 고과, 십자화과 채소(배추, 양배추), 줄콩, 근대, 셀러리 등임.
 - 채종재배 면적은 교배작업 가용인원에 따라 정해지며, 가족 노동력에 주로 의존하나 전문 교배수를 쓰기도 함. 전문 교배수는 타지(다른 省)에서 온 사람을 2달 정도 고용하는데 숙식을 제공하고 100 圓의 급료를 지급함.
 - 감숙성의 채종지는 국제적으로 많은 종자회사에서 채종을 요청하기 때문에 한 채종지 옆에서 다른 작물을 채종하거나 심지어는 작물이 같은 다른 채종지가 연이어 있는 상태임. 따라서 한 채종지에서 병이 발생하면 다른 채종지로 급속하게 번질 수 있는 소지가 있음.
 - 겨울에는 매우 추워서 영하 34℃까지 내려가며 눈도 3cm 정도 쌓이기 때문에 충해가 적은 편임

- 감숙성은 매우 건조하여 곰팡이 병은 발생이 거의 없었고, 일부 밭에서 바이러스와 유사한 증상이 발견되었음.
- 관수는 10~15일에 한번씩 하며 한번 관수 비용은 200평에 30圓임.
- 박 채종재배
 - 박 채종지는 약 400평의 크기로서, 180cm의 이랑에 재식거리 45-50cm로 심으며, 파종은 4월 10일 직파하였고 채과는 개화 70일 후에 하고 15일 간 후숙처리를 함. 각 식물체에는 손만 2개를 내고, 2과 착과를 목표로 함.
 - 투명비닐 멀칭재배
 - 채종 후 건조처리는 채종회사가 72-75℃에서 72시간 처리하고 건조처리 전후에 발아율을 조사함
 - 식물은 본사에서 포장을 순시할 때 병 발생 여부를 면밀하게 관찰한다고 하며 병든 포기는 완전히 제거한다고 함. 그러나 본사 기술진의 병 감별능력은 높지 않은 것으로 보임.
 - 교배과의 과병에 빨간 줄, 노랑 줄로 교배일을 표시하여 수확기를 판단함.
 - 고랑 관수
 - 뿌리 부분을 흑색 비닐로 멀칭함(폭 50cm)
 - 식물은 병 발생이 거의 없이 매우 청결하게 관리하고 있고, 착과 절위가 일정한 것으로 보아 일시에 교배작업을 한 것으로 보임.
- 박 채종 포장 관리
 - 한 농가에서 바이러스 감염이 의심되는 박 개체 2주를 발견, 샘플 채취함. 귀국 후 국립원예특작과학원 원예특작환경과에 의뢰하여 박과 채소에 감염하는 9종의 바이러스에 대하여 감염여부를 검정하였으나 모두 CGMMV에는 감염되지 않은 것으로 나타났고 추키니녹반모자이크바이러스(ZGMMV)에 감염된 것으로 나타났음. 한편, 추키니 호박 채종지에서 바이러스에 이병된 것으로 보이는 식물체 3점의 샘플을 채취하여 검정한 것에서도 ZGMMV와 수박모자이크바이러스가 검출되었음.
- 표본 종류 : 1~2번. 바이러스 유사증상(박), 3~5번. 바이러스 유사 증상(추키니호박)
- 진단 방법 : 유전자 진단
- 진단 바이러스 종류 : 오이모자이크바이러스(CMV) · 잠두위조바이러스(BBWV2) · 스퀴시모자이크바이러스(SqMV) · 오이녹반모자이크바이러스(CGMMV) · 추키니녹반모자이크바이러스(ZGMMV) · 규리녹반모자이크바이러스(KGMMV) · 수박모자이크바이러스(WMV) · 추키니황화모자이크바이러스(ZYMV) · 파파야원형반점바이러스(PRSV)
- 진단 결과 : 1번: ZGMMV, 2번: ZGMMV, 3번: ZGMMV, 4번: ZGMMV+WMV2, 5번: ZGMMV+WMV2
- 따라서 현지에서 CGMMV에 감염된 개체는 없었으나, 유사한 바이러스인 ZGMMV가 발견됨에 따라 완전하게 청결한 지역이라고는 판단 할 수 없음.

(5) 출장지 사진



<그림 3-22> 전형적인 채종지의 모습

평지에 채종포가 연이어 있음. 앞의 박 채종지 옆에 다른 회사의 박 채종지가 보임



<그림 3-23> 박에 나타난 바이러스 증상. 검정결과 ZGMMV로 판명됨



<그림 3-24> 바이러스 감염증상을 보인 박 식물체에 대한 현지 바이러스 감염여부 검정 모습



<그림 3-25> 바이러스 검정키트에 나타난 바이러스 감염 의심 식물체의 반응

(6) 출장 조사 주요 결과

- 가) 중국 감숙성의 채종지를 방문하여 수박의 대목으로 이용되는 박의 현지 채종실태를 조사하였음.
- 나) 국내에서 우려하는 CGMMV 바이러스의 발생은 발견되지 않았으나, 바이러스 병징을 보이는 식물체 잎 표본에 대하여 감염여부를 조사하였으며 주키니모자이크바이러스에 감염된 것으로 나타나 채종지로서 완전하게 청결한 지역은 아닌 것으로 판명됨.
- 다) 중국 감숙성은 박과 채소에 감염하는 ZGMMV와 WMV가 발병하고 있는 것으로 나타나, 채종재 배지를 주기적으로 방문하여 CGMMV의 발병여부를 확인하고 수입시에는 고온건열처리를 통하여 바이러스를 사멸하여야 할 것으로 판단되었음.

다. 태국 채종지 현황 조사 <그림 3-26, 3-27, 3-28, 3-29>

중국 감숙성 채종단지가 전세계 종자회사의 채종지로 이용되어 각종 병해가 집적될 우려가 커짐에 따라 박과채소의 채종지로 새로 주목을 받는 태국의 채종현황을 파악하고, 규제비검역병인 오이녹반모자이크바이러스(CGMMV)의 현지 감염 정도와 감염예방 조치 등을 파악하고자 현지 출장 조사하였다.

(1) 출장일정 : 2010년 3월 2일 ~ 3월 5일(4일)

(2) 출장 조사자 : 한국농수산대학 오대근(조사 책임자), 한국종자협회 신현호(조사원, 안내)

(3) 주요 접촉인물

Mr. Somchai Wattanakiattikul / Senior Manager
HSIN SEEDS CO., LTD.

No.16/78-80 Pradit Rd., T. Naimuang, Amphur Muang, Kalasin 46000, Thailand

Tel : (66) 43-812310, Fax : (66) 43-813691, MP : (081) 8717261

E-mail : somchai@kknet.co.th

(4) 주요 수집정보 및 관련정보 분석

- 태국 동북부 지역에 위치한 Mukdahan은 건조한 지역으로, 주요 쌀 생산지역이나 건기에는 농지 활용이 불가능하여 대도시로 출향하여 노동으로 소득을 보충하여야 하므로 이 지역을 채종지로 개발하게 되었음.
- 태국의 주요 채종지대는 우본 라차타니-니콘사콘, 콘캔-우돈타니로서 콘캔 지역에서는 토마토와 수박이 채종됨(Ubon 지역은 차아타이 종자회사가 채종하고 있음).
- Mukdahan 지역은 해발 150-200m에 위치하며 주로 단고추, 매운 고추, 박, 화훼종자를 채종함. 중국 감숙성과 비교하면 감숙성은 건조하여 병이 적은 반면 등숙기에 기온이 낮아 종자의 충실도가 떨어지는 경우가 있음.
- Mukdahan 지역은 평야지이나 채종지가 낮은 구릉으로 격리되어 채종에 적합하며, 건기에는 비가 오지 않아 수분작업과 종자의 등숙이 원활하고 병 발생이 적은 등 종자생산에 좋은 환경을 가지고 있음.
- 채종을 하는 밭은 우기에는 쌀 생산을 하는 논이나, 물 웅덩이가 있어 건기에도 관수에 이용되는 수량이 충분한 곳이 선정됨. 물이 부족한 곳은 카사바, 사탕수수, 고무나무를 재배함.
- Tsin Seeds사 박 종자생산 현황
 - 콘캔에 본사가 있어 실험실과 건열소독기가 있으며, 수확된 종자는 본사로 수송하여 열처리를 한 후 발송을 하게 됨. 건열소독은 채종을 요청한 회사의 요구에 따라 온도와 처리기간을 조절하며 대체로 72-75℃에서 72시간 처리하나 80℃가 넘게 건열처리를 요청하는 경우도 있음. 건열처리 전후에 발아율을 조사함.
 - 약 2,500 채종 농가를 관리하며, 여러 회사에서 채종 위탁을 받아 종자를 생산함.
 - 박 채종재배 일정은 12월에 포장을 조성(12월 벼 수확)하고, 10-12일 된 묘를 1월 정식하며 4월에 수확 예정임.
 - Mukdahan 지역은 CGMMV 청정지역으로 판단하고 있으나 작업 전후에 skim milk로 손, 교배도구 등을 세척하며, 밭의 입구에 생석회를 넣은 담판을 놓아 출입시에 밟게 하며 출입문에도 skim milk 스프레이를 비치하여 손에 뿌리게 하는 등의 조치를 취하고 있음.
 - 식물은 본사에서 포장을 순시할 때 병 발생 여부를 면밀하게 관찰한다고 하며 병든 포기는 완전히 제거한다고 함.
- 박 채종재배 방법
 - 박 채종재배 방법은 각 포장에 동일한 것으로 보아 표준재배 방법을 따르는 것으로 보임.
 - 이랑의 폭 2m, 포기사이 50cm로 재식
 - 12월 17일 파종, 1월 3일 정식, 2월 21~27일 교배, 교배 후 50일 경 수확 예정(큰과는 교배 후 15일 정도 되었으며, 35일 후 수확 예정).
 - 교배과의 과병에 빨간 줄, 노랑 줄로 교배일을 표시하여 수확기를 판단함.
 - 1주 2줄기 재배, 4화 교배, 1.5과 수확 기대(150-200g), 400-600립/과

- 고랑 관수
- 뿌리 부분을 흑색 비닐로 멀칭함(폭 50cm).
- 식물은 병 발생이 거의 없이 매우 청결하게 관리하고 있고, 착과 절위가 일정한 것으로 보아 일시에 교배작업을 한 것으로 보임.
- 박 채종 포장 관리
 - 품종번호, 채종농가 번호를 기입한 라벨을 포장에 비치함.
 - 기본적으로 각 포장마다 관수용 물 웅덩이를 확보하고 있으며, 줄로 포장 외곽을 표시함.
 - 채종 포장 내에 부계 식물을 별도 재배함. 대부분 교배가 완료되어 식물체를 고사시켰음.
 - 포장입구에서 생석회 담판이 준비되어 있어서 신발을 소독하고 채종포장으로 들어가게 됨. 일부 농가에는 탈지분유 스프레이를 입구에 비치함.
- * 고추 채종포에는 제3인산소다, 생석회를 비치.
 - 관리자가 휴대한 알코올로 필요시 손, 도구를 소독함.
 - 한 농가에서 바이러스 감염 의심 개체 1주와 충해로 보이는 개체 1주를 발견, 샘플 채취함. 귀국 후 국립원예특작과학원 원예특작환경과에 의뢰하여 박과 채소에 감염하는 9종의 바이러스에 대하여 감염여부를 검정하였으나 모두 감염되지 않은 것으로 나타났음.
 - 표본 종류 : 1. 바이러스 유사증상 1점, 2. 충해로 의심되는 증상
 - 진단 방법 : 유전자 진단
 - 진단 바이러스 종류 : 오이모자이크바이러스(CMV) · 잠두위조바이러스(BBWV2) · 스쿼시모자이크바이러스(SqMV) · 오이녹반모자이크바이러스(CGMMV) · 추키니녹반모자이크바이러스(ZGMMV) · 규리녹반모자이크바이러스(KGMMV) · 수박모자이크바이러스(WMV) · 추키니황화모자이크바이러스(ZYMV) · 파파야원형반점바이러스(PRSV)
 - 진단 결과 : 바이러스가 검출되지 않음.
 - 일부 농가는 박 채종과 함께 고추, 토마토도 채종함.
(토마토, 고추 채종포를 청색 그물망으로 격리 채종함)
 - 박은 과거에는 방임 채종하였으나(인도는 심지어 직파함) 현재는 일반종만 방임채종하고 일대잡종 품종은 인공교배하여 종자 생산함.

(5) 출장지 사진



<그림 3-26> 전형적인 채종지의 모습으로서 낮은 구릉으로 타 채종지와 격리되어 있고, 물 웅덩이가 있는 논임



<그림 3-27> 채종포장 입구에 설치된 문에 생석회를 넣어 신발을 소독하는 담판과 skim milk를 넣은 스프레이



<그림 3-28> 박 채종포장에서 발견된 바이러스 이병 의심주. 9개 바이러스에 대하여 이병여부를 검정한 결과 이병되지 않은 것으로 판명됨



<그림 3-29> 바이러스 감염을 방지하기 위해 Skim milk를 살포한 포장

(6) 출장 조사 주요 결과

- 가) 태국 북동부에 위치한 Mukdahan 지역을 방문하여 수박의 대목으로 이용되는 박의 현지 채종실태를 조사하였음.
- 나) 국내에서 우려하는 바이러스의 발생은 거의 발견되지 않았으며, 바이러스에 감염되어 병징을 보이는 식물체 잎 표본에 대하여 바이러스 감염여부를 조사하였으나 9종의 바이러스에 대하여 모두 감염되지 않은 것으로 나타났음.
- 다) 태국 북동부의 Mukdahan 지역을 박 채종지로서 바이러스 감염이 거의 없고 현지 채종업체도 CGMMV 등 바이러스 발생과 제거에 노력을 경주하는 것으로 나타났음.

제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제1절 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

세부과제명	세부연구내용	주요결과	목표달성도 (%)	기여도 (%)
<p><제1세부> 건열처리 효과 극대화, 건열피해 최소화 기술과 CGMMV 등 바이러스 무독화 기술 개발 및 부분 보완</p>	건열처리 문제점 파악 및 개선	다양한 건열처리 온도조건과 처리기간 재설정 대상작물에 따른 맞춤형 차등 건열처리 기술 확립 건열처리 조건에 따른 종자 수분함량, 활력 및 CGMMV 활력 검정	100	120
	건열처리 이외의 무독화 기술 개발	자외선, 감마선, Microwave 및 온탕 처리 등의 효과 조사 각 처리에 따른 효과 생물검정	100	90
	건열처리 종자의 후처리기술 개발	건열 후처리 기간에 따른 발아력 및 유묘활력 파악 다양한 LED 조사에 의한 발아력 제고	100	100
	건열처리 종자의 장기저장 기술 개발	종자의 다양한 포장 방법 및 저장조건에 따른 차이 조사 프라이밍에 의한 장기저장 종자의 발아율 향상	100	100
<p><제1협동> CGMMV의 감염경로 재확인 및 활성태와 불활성태 구분 검정기술 개발</p>	CGMMV 신속정확판별기술 개발	분자적 기술을 도입한 바이러스의 진단 및 동시 검출방법개발	100	100
	CGMMV 활성-불활성 판별기술 개발	바이러스 특이 핵산검출방법을 통한 활성바이러스의 검출법 확립 및 활성-불활성 비율의 검정법 확립	100	85
	생물검정기술적용 및 매개원 탐색	바이러스 이병엽의 건열처리 기간에 따른 바이러스의 기주식물 감염성확인 및 검정법 확립	100	100
<p><제2협동> 박과채소 무병 종자의 품질향상 관련기술 개발</p>	유통종자처리 현황 파악	46종(신토좌 22종, 박 24종) 수집 건열, 브러싱, 코팅 처리 파악	100	100
	대목 유전자원의 수집 및 평가	대목 유전자원의 발아특성 비교 대목 유전자원의출현특성 비교 저온에서 발아특성 및 유묘 특성비교 수집 대목종자의 CGMMV 이병률 검정	100	100
	총실종자 선별법 개발	TTC 처리를 통한 총실종자 선별기술 개발 X선 투과기를 이용한 총실종자 선별기술 개발 비중선을 이용한 총실종자 선별기술 개발	100	100
	시험용 종자 채종	채종과의 속도 및 후속처리에 따른 발아특성 비교 저장조건에 따른 대목용 박 종자의 발아특성 비교 채종부위별 발아(출현)특성 비교	100	85
	국내외 채종지 현황 파악	국내 채종지 현황 조사 중국 채종지 현황 조사 태국 채종지 현황 조사	100	100

제5장 연구개발 성과 및 성과활용계획

제1절 연구개발 성과

국내 채소에 발생하여 막대한 피해를 주는 바이러스병의 결정적 발생요인의 하나는 바이러스 이병종자 또는 이병종자가 완전하지 않게 불활성화 처리된 종자를 사용하기 때문이므로 이에 대한 종합적·근본적 대책수립을 수립하고, 이에 수반된 효과적 건열처리 및 기타 무독화기술 개발, 바이러스 활성 여부의 신속·정확한 판별 기술 개발, 처리종자의 활력 제고 및 처리기술의 세계화 등을 목표로 하였으며, 연구개발 성과는 다음과 같다.

<정성적 성과>

1. 해외 채종되어 국내로 유입되는 박과 채소 종자에서는 여전히 많은 표본에서 CGMMV 오염이 보고되어 폐기 및 반송처리가 취해지고 있었다.
2. 국내에서 시판되고 있는 대목 종자에서도 상당 비율의 CGMMV 양성반응을 보이는 것이 있었지만 그 정도는 검출방법에 따라 대단히 큰 차이를 보이고 있었다.
3. 수집된 시판 종자의 발아 및 유묘 활력 평가에서도 매우 큰 차이가 나타나고 있었는데 종래의 박 종자보다는 오히려 호박류(주로 대립종 신토좌계)와 수박(특히 3배체 수박류)에서 더 크게 나타나고 있었다.
4. 외국에서의 적극적인 건열처리 기술의 적용에 비하면 국내 종자회사 중에서는 건열처리 장치를 유효 적절하게 활용하고 있는 회사는 극히 일부분에 그치고 있었다.
5. 기존의 건열처리(35℃→50℃→72℃→50℃ 또는 24 시간 이상 기기 내에 방치 후에 종자를 꺼냄)를 그대로 적용하더라도 작물의 종류 및 종자의 상태에 따라서 종자활력 감소 및 유묘 피해증상발생의 문제점이 지속적으로 보고되고 있는 실정인데 이에 대한 원인의 추가적인 분석이 필요한 시점으로 판단된다.
6. 상기 건열처리의 문제점을 보완하기 위하여 건열처리 효과를 최대한으로 유지하면서도 종자에 최소한의 부정적 영향을 미치는 건열처리 이론을 정립하여 이에 준한 일련의 실험을 실시하여 새로운 방법의 맞춤형(진단처방형) 건열처리기술을 개발하였다.
7. 상기의 새로운 기술을 개발하기 위한 일련의 실험들은 상한온도·처리지속기간·단계별 처리온도 상승 및 하강 program의 설정 변경하여 실시하고 일련의 실험을 통해서 처리된 종자 및 CGMMV 이병엽 내의 CGMMV의 활성은 전자현미경·ELISA·RT-PCR·생물검정(박·*Nicotiana benthamina*)로 각각 대조 확인 하였다.

8. 상기 일련의 실험에서 얻어진 결과의 일부만을 여기에 표기한다면 건열처리 상한온도를 기존의 75℃에서 60~65℃로 낮추어 처리하더라도 기간만 연장한다면 충분한 실용적 무독화 종자를 얻을 수 있어서 고온 장해를 쉽게 보이는 호박이나 오이 등의 안전 처리로 활용될 수 있음이 증명되었다.
9. 건열처리 기간이 기존의 3일에서 5~7 일로 연장되더라도 처리된 종자의 발아나 활력에는 하등의 영향을 끼치지 않았을 뿐 더러 상당 경우 오히려 3일 처리보다도 더 좋은 종자활력을 보였다.
10. 극단적으로 심하게 오염된 박의 이병엽을 시료로 하여 다양한 건열처리를 실시하고 생검과 RT-PCR로 불활성화 정도를 검정하였을 때에는 모든 처리에서 활성을 띠는 바이러스가 검출되었다. 즉, 90℃까지의 상한온도 건열로는 모든 바이러스를 완벽하게 불활성화할 수는 없었는데 이러한 사실은 고압멸균 시에도 일부 바이러스를 증식능력을 유지한다는 기존의 연구 결과와도 유사하였다. 그러나 이러한 결과는 생물검정 방법에 따라 다소 상이하게 나타났다.
11. 강하게 오염된 박 이병엽이 아니고 채종된 이병종자로 불활성화 처리를 실시하고 이들 종자에서의 침출물로 생검 및 RT-PCR 검정을 하였을 경우에는 모두 불활성화가 이루어지는 것을 확인하였다. 이러한 상반된 결과는 이병조직 내의 바이러스의 밀도(농도) 차이에서 기인된 것으로 판단되며 아울러 침출물 내의 이물질의 존재 여부도 다소간의 영향을 끼쳤던 것으로 판단되었다.
12. 건열처리 이외에 다른 방법으로 종자에 오염된 바이러스를 불활성화 하는 기술을 기존의 연구 보고서 등을 참고 하여 실시하였는데 자외선 처리, 특히 파장이 다소 긴 UV-A 처리가 종자에 피해를 끼치지 않으면서도 불활성화를 할 수 있음이 밝혀졌으며 방사선 처리·습열처리·microwave 처리 등은 종자에 피해를 유발하여 실용성이 없음이 밝혀졌다.
13. 상기 UV-A 처리는 처리기간이 1~2 일로 짧아서 고추나 배추류와 같은 소립종자에는 효과적으로 적용될 수 있을 것으로 판단되고는 있지만, 박이나 호박과 같은 대립종자에서는 광선의 투과성 때문에 자외선만의 단독처리로 100% 불활성화를 기대할 수는 없는 것으로 판단되었으며 따라서 자외선과 열처리의 혼용처리가 바람직한 것으로 판단되고 있다.
14. 본 연구를 통하여 얻어진 진단맞춤형 건열처리 기술은 종자전염 바이러스의 불활성화에 더 효과적으로 적용될 수 있을 뿐만 아니라 다른 유해한 종자전염병(과실부패병 등의 세균성병 및 시들음병이나 키다리병 등의 곰팡이병 포함)에도 효과적으로 적용될 수 있을 것으로 판단되어 이에 관한 추후 세밀한 연구도 시급히 요청된다.
15. RT-PCR을 이용한 tobamovirus 감염정도의 판별은 외피단백질(CP)과 복제효소(RdRP)를 이용하여 가능하였지만, 복제효소 검출방법이 약 1000배 정도 더 민감하였다.
16. 다양한 박과채소류의 종자에서 다양한 CGMMV 및 유사바이러스가 검출되어 실제적으로 바이러스 무병종자를 확보하는데 어려움이 많았다.

17. 종자내의 바이러스분포를 보면 외종피와 내종피에서만 검출이 되었고 내부의 떡잎(子葉: cotyledon)에서는 검출되지 않았다.
18. 심하게 오염된 박 이병엽 분말로 건열처리 한 결과 건열처리에 의해 활성 바이러스의 밀도감소가 이루어짐이 전자현미경과 생물검정으로 확인되었지만 공시된 처리조건(90℃ 상한온도) 하에서는 실험시기 및 방법에 따라 차이가 크게 나타났고, 활성바이러스가 상당수 남아 있었다.
19. RT-PCR로는 동일 샘플에서 활성태와 불활성태 바이러스의 상대적인 비율을 판별할 수 없었다. 이를 보완하기 위해 바이러스의 dsRNA를 추출하여 건열처리 전과 후의 상대비교를 한 결과 처리 온도별로 바이러스가 상대적으로 감소하는 경향을 보여줌으로써 이 기술이 차후의 불활성화 정도의 검출기술로 이용될 수 있을 것으로 판단되었다(72℃: 1%, 78℃: 15.4%, 84℃: 32%).
20. 외관으로는 증상을 보이지 않는 개체들에서도 바이러스가 다양하게 검출되고 있었는데 대부분은 CGMMV 이었고 CFMMV와 KGMMV도 상당수의 샘플에서 확인되었다.
21. 2009~2012년 동안 46종(신토좌 22종, 박 24종) 수집하여 분석한 결과 전체의 54%에 건열처리를 한 것으로 조사되었다.
22. 박과채소 대목으로 쓰이는 유통종자의 발아율 및 유묘 출현율은 신토좌 1품종, 박 2품종을 제외하고 대부분 우수한 것으로 나타났다.
23. TTC, X선, 비중선 등의 비파괴적 선별기술은 종자의 과중 전 충실도 파악에 활용가능 할 것으로 생각되었다. 그러나 작물별로 보다 적절한 기술 보완이 요구되었다.
24. 채종과는 공시조건 하에서는 수분 31일 후 채과하고 55일간 후숙한 것으로 꽃자리 부위의 발아율이 가장 양호하였다.
25. 해외 박과채소 채종지역의 현황을 조사하고자 중국과 태국을 방문하여 조사한 결과를 보면, 대부분의 지역이 바이러스 및 기타 종자전염병 방제를 위해 청결하게 관리되고 있었다. 그러나 진단결과 tobamovirus인 ZGMMV 등이 발견되었다.
26. 식물검역원에서의 검역결과 CGMMV 오염이 확인된 종자는 통관이 보류되어 대부분 폐기처분되고 있어 매년 막대한 손실을 초래하고 있으므로 이에 대한 적극적인 대책 수립이 필요한 것으로 생각 된다.
27. 현재로써의 가장 실용적인 CGMMV 오염 종자 대처방법은 국가지정업체를 지정하여(국내소재업체 및 경우에 따라 채종지역의 업체) 건열처리를 실시하고 이에 대한 확인서 발급으로 대처해야 할 것으로 판단된다.

<정량적 성과>

1. 교육 및 지도활용 성과

교육명	주요내용	활용년도
International Workshop on Development and Adoption	Recent Progress in Vegetable Grafting	2009
종자기술워크숍	종자전염균의 친환경적 제어 및 우량묘생산기술	2009
全國西瓜菜蔬育苗集約化生產現況研修會	박과채소 현황, 육묘방법 및 생산 효율성	2011
Conference Agenda of the Second International Seminar of Chinese Agricultural Sage Culture	농업재배 교류, 최신농업기술 및 이론 교류 및 협력 관련 지도 및 자문	2011
박과채소연구회 워크숍	박과채소 시장동향, 품종육성방향 주요 병 및 방제기술 기능성 물질의 효능 및 이용 유전체 연구 기반 분자육종	2011
China watermelon growth and control of disease	Seed treatments and disease control of cucurbits; control of CGMMV Grafting and disease control of cucurbits	2011
박과채소연구회 워크숍	채소 접목재배의 세계적 동향 분석 초음파와 자외선을 이용한 종자발아 개량처리 및 종자소독기술 분지표지를 활용한 박과채소 품종육성 참외 산업 발전 방향	2012

2. 논문 게재 성과

논문명	주저자명	발표국	학술지 게재일	SCI 구분
Current status of vegetable grafting: Diffusion, grafting techniques, automation	Jung-Myung Lee	네덜란드	2010-12-08	SCI
Leaf Gas Exchanges and Mineral Ion Composition in Xylem Sap of Iranian Melon Affected by Rootstocks and Training Methods	Reza Salehi, Jung-Myung Lee	미국	2010-05-01	SCI
Horticultural research and development in Korea: A review	Geun-Won Choi, Jung-Myung Lee	인도	2011-08-01	비SCI
Application of a Reassortant CMV Vector for Gene Silencing in Tomato and Chili Pepper Plants	Jin Sung Hong	대한민국	2012-02-20	SCI

3. 국내 및 국제학술회의 발표 성과

발표제목	발표자	발표일시	장소, 국명
노화촉진 처리한 시판 대목종자의 발아세와 발아율	전진우, 이활진, 오대근	2009-10-23	서울, 서울시립대학교
A subgroup IB isolate of Cucumber mosaic virus isolated from <i>Lagenaria leucantha</i> var. gourd	홍진성, 류기현	2009-10-28	제주도, KAL hotel
TTC 검정을 이용한 박종자 발아세 검정	문자영, 이활진, 오대근	2010-10-22	청주, 충북대학교
건열처리 상한온도에 따른 박대목 종자의 저온 조건하에서의 초기 발아에 미치는 영향	최병순, 임해봉, 이정명, 최근원	2010-05-28	수원, 경희대학교
건열처리 후처리기간 및 파종 방향이 박과채소 종자의 유묘 출현율 및 묘소질에 미치는 영향	최병순, 이정명, 최근원	2010-05-28	수원, 경희대학교
Increasing role of China in global vegetable production and research	Jung-Myung Lee	2010-04-27	Shandong, China
Seed Germination and Seedling Growth of 'Josaengtozwa' Squash Rootstock as Affected by Storage Period after Dry Heat Treatment and Solid Matrix Priming	황현정, 이정명, 최근원	2011-05-26	제주, ICC Jeju
건열처리된 '동장군' 박 종자의 solid matrix priming 기간 중 LED 광질 조사가 발아 및 유묘출현에 미치는 영향	황현정, 최병순, 이정명, 최근원	2011-05-26	제주, ICC Jeju
건열처리 후 장기저장된 박 대목종자의 발아 및 출현 검정	최병순, 최근원, 이정명	2011-05-26	제주, ICC Jeju
건열, 감마선, 자외선 처리에 따른 CGMMV 불활성화 정도의 생물검정	최병순, 최근원, 이정명	2011-05-26	제주, ICC Jeju
채종시기에 따른 대목용 박종자의 발아율	문자영, 이활진, 오대근	2011-10-29	목포, 국립목포대학교
완숙 및 미숙종자의 저장환경에 따른 대목용 박종자의 발아율	문자영, 이활진, 오대근	2011-10-28	목포, 국립목포대학교
LED 광질이 '동장군' 박의 종자 발아와 유묘 출현에 미치는 영향	최병순, 최근원, 이정명	2011-10-28	목포, 국립목포대학교
박종자의 저온처리시 LED 처리가 종자발아, 유묘출현 및 묘소질에 미치는 영향	최병순, 이정명, 최근원	2011-10-28	목포, 국립목포대학교
Factors affecting the quality of grafted vegetable transplants	Jung-Myung Lee	2011-10-04	Italy, Viterbo
Production and handling of virus-inactivated seeds for raising high quality grafted transplants in cucurbits	Jung-Myung Lee, Byung-Soon Choi	2011-10-03	Italy, Viterbo
A Novel Multiplex PCR for Simultaneous Detection of Seven cucurbit-infecting Viruses	권지연, 홍진성, 이성남, 최장경, 김민재, 류기현	2011-10-20	덕유산 리조트(전남 무주)
채종시기와 채종부위가 다른 대목용 박종자의 발아율	오대근 문자영	2012-05-17	경북대학교

4. 홍보실적

홍보유형	매체명	제목	일시
지방TV방송	YTN	으뜸과채 전시회 및 소비자 품평회	2010-06-23
중앙TV방송	KBS, MBC, 연합뉴스	세계희귀수박전시회	2010-07-27
지방TV방송	YTN	박과채소 챔피언 선발대회	2010-10-08
기타	박과채소연구회	박과채소 연구회 회보 No.1	2011-07-11

5. 전시회 등 참여

유형	행사명칭	전시품목	장소	활용연도
전시회	으뜸과채 전시회 및 소비자 품평회	박, 축사 및 홍보	목동, 서울	2010
전시회	세계희귀수박전시회	박 유전자원, 축사, 테이 프커팅, 언론홍보	전주, 전라도	2010
전시회	박과채소챔피언선발대회	박, 축사	수원, 경기도	2010
전시회	탐과채 프로젝트 품질평가회	수박, 참외	수원, 경기도	2011
전시회	탐과채 프로젝트 전시 판매행사	수박, 참외	목동, 서울	2011

6. 기타 활용 실적

일자	활용명칭	활용내역
2011-11-11	Pumpkin (Fall in love with pumpkins)	호박관련 분류, 이용, 연구 소개(단행본)

7. 연구인력활용/양성 성과

인력양성명	인력양성연도	인력양성대상수
최병순	2009	1
임해봉	2009	1
송경아	2010	1

8. 국제화 협력 성과

유치기간	유치국적	유치자 학위	유치자 전공	파견국
1개월	중국	박사	채소원예	중국

제2절 성과활용 계획

1. 실용화 계획(기술실시 등)

- 새로운 복합적 진단처방형 다기능 건열처리 기술 개발
- 건열처리 장치(기계)의 개발 및 수출 기여
- 대상작물에 따른 맞춤형 건열처리 기술 개발
- 자외선(UV-A) 처리에 의한 바이러스 무독화 기술 개발
- 저온흡습저장에 의한 건전묘 생산 기술 개발
- 파종방향에 따른 건전묘 생산 기술 개발
- 건열처리 관련 전처리 및 다양한 후처리 기술의 작물별 응용
- 바이러스 병원성 및 저항성 기전의 해석을 통한 새로운 방제기술 개발과 타 작물로의 응용가능
- 박과채소류 재배 농가의 주요한 현장애로 사항인 바이러스 방제기술 보급
- 주요 작물 바이러스 방제에 활용 가능한 기반기술력 제공
- 바이러스 감염 및 이동 경로 등 기전 규명을 통한 신개념 기술 개발
- 목표 지향적 target screening을 통한 바이러스 방제법의 개발
- 박과감염 바이러스 병 관련 고유유전자 확보에 따른 특허 획득
- 고유 유전자의 분자 육종에 이용하여 바이러스 저항성 신품종 육종 가능
- 확보된 고유 유전자와 상호 작용하는 다른 박과 채소 유전자나 주요 박과 채소 바이러스 유전자 파악에 추가 연구재료로 이용
- 생명공학기술을 이용한 약독바이러스의 제작 및 선발과 관련 산학연으로의 기술보급 및 기술이전
- TTC, X선 및 비중선을 이용한 파종 전 비파괴적 건전종자의 선별 기술 현장 보급

2. 교육-지도-홍보 등 기술확산 계획

- 본 연구에서 얻어진 결과를 취합, CGMMV 불활성화 및 건열처리 guide book을 발간하고 이에 준하여 종자 산업 관계자, 육묘업자, 및 재배 농민에게 폭 넓은 홍보 및 지도를 실시할 예정임
- 본 연구결과의 일부 실용화에 따른 기술개발로 2010년-2012년 2년간 건열처리 전용장치(기계)가 외국으로 15대 이상이 수출되었고 국내 보급도 확산되고 있음
- 본 연구로 얻어진 기술과 장치는 세계적으로도 독창적이라고 할 수 있으므로 이를 대외적(국외)으로 적극 홍보할 필요성이 절실함

3. 특허, 품종, 논문 등 지식재산권 확보 계획

- 본 연구를 통하여 얻어진 이러한 일련의 결과는 현재까지 어느 누구로 부터도 연구-보고된 바 없는 결과로 다양한 특허 출원을 고려하고 있음
- CGMMV 활성태와 불활성태 구분 검정기술 관련, 저농도로 존재하는 바이러스를 효율적으로 검정하기 위한 검정법에 대한 특허를 신청할 예정임

4. 추가연구, 타 연구에의 활용계획

- 주요한 종자전염병인 바이러스 병에서 세균성병(*Pseudomonas*, *Acidovorax*)이나 곰팡이병(*Fusarium*, *Gibberella*)에 대하여서도 동일한 건열처리를 실시하여 이들 모두를 동시에 불활성화할 수 있는 기술을 박과채소 및 기타 채소의 종류별로 제시- 대상종자의 정밀진단에 따르는 맞춤형 건열처리(Selective Dry heat Therapy)을 제시하여 최근에 대량 발생이 문제시되고 있는 박과류의 과실부패병(*Acidovorax citrulli*)이나 박 만할병(*Fusarium lagenari*) 등에 대하여도 상한온도와 처리기간을 종합하여 불활성화가 가능한 진단 처방형 건열처리요법(Diagnosis-Based Dry heat Therapy) 이론을 정립하고자 함

제6장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

- 해외에서의 박과채소류의 접목재배는 유기농산물 · 친환경산물의 생산 · 보급이 확대되면서 급속히 증가하고 있고, 이에 따라 접목용 접수는 물론 대목 종자에서의 바이러스 무병성이 크게 강조되고 있음(Lee 등, 2010).
- 종자전염 바이러스를 무독화 할 수 있는 가장 효과적인 처리기술은 건열처리장치(dry heat treatment chamber)를 이용하는 것이므로 농림기술개발사업의 연구과제로 개발된 바 있는 건열처리장치(2002년)가 해외로 다수 수출되어 이용되고 있음
- 한국의 주요 채종지역에서도 tobamovirus가 발생하여 차후 종자 수급에 영향을 미칠 것으로 판단됨
- 유럽국가 중에서는 화란아세 건열처리장치를 한국의 제품을 참고로 하여 2005년부터 시판하고 있지만 공급단가가 한국제품에 비해 2배 정도 높은 것으로 판단됨
- 해외 특히 중국의 수박이나 멜론 재배단지에서 CGMMV의 발생이 급증하여 이에 대한 대책수립이 시급함
- 다양한 종자전염병 무독화를 위한 건열처리의 이론 및 기술의 수준은 본 연구팀이 가장 우수한 것으로 조사되었음
- 한동안 CGMMV와 관련, 일본의 무독화 기술이 앞서 있다고 평가되었으나, 현재 한국의 기술이 가장 앞선 것으로 판단됨
- 최근 일본에서 제작된 건열처리 전용장치에서 상당한 성능차이(조절온도의 정확성 등)가 보고된 바 있음(Kubota 등, 2010)
- 자외선을 이용한 TMV 불활성화 연구가 최근 보고되기 시작하였으나 종자나 이병엽이 아닌 isolates를 이용하였기에 실용성과는 거리가 있음

제7장 참고문헌

- Agrios, G. N. 2005. *Plant Pathology*. Academic Press.
- Ainworth, G. C. 1935. Mosaic disease of cucumber. *Annals of Applied Biology* 22:55-67.
- Albrechtsen, S. E. Testing methods for seed transmitted viruses. *Principles and Protocols*. CABI
- Al-Shanhwan, I. M. and O. A. Abdalia. 1992. A strain of cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV) from bottle gourd in Saudi Arabia. *J. Phytopathol.* 134(2):152-156.
- Antignus, Y., Pearlsman, M., Ben Joseph, R. and Cohen, S. 1990. Occurrence of variant of cucumber green mottle mosaic virus in Israel. *Phytopathologica* 18:50-56.
- Ashraf M, MR Foolad. 2005. Pre-sowing seed treatment - a shotgun approach to improve germination, plant growth, and crop yield under saline and non-saline conditions. *Adv. Agron.* 88:223-271.
- Avgelis, A. D. and V. I. Manios. 1992. Elimination of cucumber green mottle mosaic tobamovirus by composting infected cucumber residues. *Acta Hort.* 302:311-314.
- Bang H. J., S. J. Hwang, H. S. Ham, J. M. Lee. 1999. Solid matrix priming of gourd seeds for fast and uniform germination. *Hortscience* 34:481.
- Battle J. P., W. J. Whittington. 1969. The influence of genetic and environmental factors on the germination of sugar beet seed. *J. agric. Sci., Camb.* 73: 329-335
- Bayer. CropScience Ceres Seed Technology. 2003. Film-coating: Effective and innovative way to enhance treated seeds. *Asian Seed* 10(2): 17.
- Beachy, R. N. 1999. Coat-protein-mediated resistance to tobacco mosaic virus: discovery mechanisms and exploitation. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 354:659-664.
- Blancard, D., H. Lecoq, and M. Pitrat. 1994. *A Colour Atlas of Cucurbit Diseases. Observation, Identification & Control*. Printed and Published in Korean.
- Briggs W. R. E. Huala. 1999. Blue-light photoreceptors in higher plants. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 15:33-62.
- Cantliffe, D. J. 1997. Industrial processing of vegetable seeds. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 38:441-455.
- chili pepper plants. *Plant Pathol. J.* 28:0-0.
- Choi, G. S. 2001. Occurrence of two tobamovirus diseases on cucurbits and control measures in Korea. 10th Annual Meeting & Workshop Report. Korea-Japan Joint Symposium on Plant Virology. pp.17-30.
- Choi, G. S., Choi, Y. M., Won, S. Y. and Yiem, M. S. 1998. Detection of cucumber green mottle mosaic virus using rapid immunofilter paper assay. *RDA J. Crop Protection* 40:115-119.
- Choi, G. S., Kim, J. H., Chung, B. N., Kim, H. R. and Choi, Y. M. 2001. Simultaneous detection of three tobamoviruses in cucurbits by rapid immunofilter paper assay. *Plant Pathol. J.* 17:106-109.
- Choi, G. W. and J. M. Lee. 2011. Horticultural research and development in Korea: A review *Progressive Hort.* Vol. 43: 1-10.
- Choi, H. S., S. H. Lee, M. K. Lee, H. R. Kwak, J. S. Kim, J. D. Choi, and G. S. Choi. 2010. Occurrence of virus diseases on major crops in 2009. *Res. Plant Dis.* 16(1):1-9.
- Choi, S. K., Yoon, J. Y., Ryu, K. H., Choi, J. K., Palukaitis, P. and Park, W. M. 2002. Systemic movement of a movement-deficient strain of Cucumber mosaic virus in zucchini squash is facilitated by a cucurbit-infecting potyvirus. *J. Gen. Virol.* 83:3173-3178.
- Clough, G. H. and Hamm, P. B. 1995. Coat protein transgenic resistance to watermelon mosaic and

- zucchini yellow mosaic virus in squash and cantaloupe. *Plant Dis.* 79:1107-1109.
- Cohen, S., and R. Ben-Joseph. 2000. The dynamics of viruses affecting cucurbits in Israel: 40 years since 1960. *Proc. Cucurbitaceae 2000 (Acta Hort. 510)*: 321-325.
- Copeland LO., MB McDonald. 2001. *Principles of seed science and technology*. Kluwer Academic Publishers. Norwell, MA, USA. p. 277-281.
- Davis, A. R., Perkins-Veazie, P., Sakata, Y., López-Galarza, S., Maroto, J. V., Lee, S. G., Huh, Y. C., Sun, Z., Miguel, A., King, S. R., Cohen, R., Lee, J. M., 2008. Cucurbit grafting. *Critical Rev. Plant Sci.* 27, 50-74.
- Desai, B. B., P. M. Kotecha, and D. K. Salunkhe. 1997. *Seeds Handbook, Biology, Production, Processing, and Storage*. Marcel Dekker. p. 503-520.
- Dimmock, N. J., A. J. Easton, and K. N. Leppard. 2007. *Introduction to Modern Virology*. p. 466 tobamovirus
- Evans, N. A. and A. D. McLaren. 1969. Quantum yields for inactivation of tobacco mosaic virus nucleic acid by ultraviolet radiation (254 nm). *J. gen. Virol.* 4:55-63.
- Fletcher, J. T., A. J. George and D. E. Green. 1969. Cucumber green mottle mosaic virus, its effect on yield and its control in the Lea Vallay, England. *Plant Pathology* 18(1):16-22.
- G. P. Lee. 2012. Application of a reassortant CMV vector for gene silencing in tomato and
- George, R. A. T. 2009. *Vegetable Seed Production*. CABI Publishing. Oxon, Wallingford, UK.
- Greathead, A. S. 2003. Prevention and management of disease on vegetable transplants. *HortTechnology* 13:55-57.
- Halmer, P. 2003. Enhancing seed performance for better yield and quality. *Asian Seed* 10(2):4-7.
- Harper, G., Hull, R., Lockhart, B. and Olszewski, N. 2002. Viral sequences integrated into plant genomes. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40:119-136.
- Heydecker W., H. Wainwright. 1976. More rapid uniform germination of *Cyclamen persicum* L. *Sci. Hort.* 5:183 - 189.
- Hong, J. S., 2, S. J. Rhee, E. J. Kim, T. S. Kim, K. H. Ryu, C. Masuta and
- Horvath, J. 1995. Reaction of *Cucurbita pepo* L.(zucchini, crook-neck, and straight-neck) plants to eleven viruses. *Kerteszetit-Tudomány* 27:73-75.
- Hull, R. 2009. *Comparative Plant Virology*. Academic Press.
- Inoue, T., Inoue, N., Asatani, M. and Mitsuhata, K. 1967. Studies on cucumber green mottle mosaic virus in Japan (in Japanese). *Nogaku Kenkyu* 51:175-186.
- Ioannou, N. 2001. Integrating soil solarization with grafting on resistant rootstocks for management of soil-borne pathogens of eggplant. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 76, 396-401.
- ISTA 2010. *International rules for seed testing edition 2010*. The International Seed Testing Association (ISTA). Bassersdorf, Switzerland.
- Jang, I. J. 1998. Evaluation of seed vigor of cucurbitaceous vegetables by accelerated aging treatment. MS Diss., Kyung Hee Univ.
- Jang, W. S. 1998. Effect of dry heat treatment on germination and seedling vigor of cucurbitaceous vegetables. MS Diss., Kyung Hee Univ.
- Joung, Y. B., J. M. Lee, and S. H. Rho. 2001. Development of multipurpose dry heat treatment machine for sterilizing tobamovirus (in Korean; English summary). Final Report to Ministry of Agriculture and Forestry, Republic of Korea. p. 100).
- Kami, C., S. Lorrain, P. Hornitschek, C. Fankhauser. 2010. Light-regulated plant growth and

- development. *Current Topics Develop. Biol.* 91:29-66.
- Kang, J. H., S. Y. Kang, B. S. Jeon. 2000. Effect of light quality during priming and germination temperature on pepper seed germinability. *Kor. J. Plant Res.* 13:18-24.
- Kang, J. S. 2004. Identification of pelleting materials and effect of nutrient addition on the germination of pelleted lettuce seeds. *J. Bio-Environ. Control* 13:8-15.
- Kang, J. S., J. L. Cho. 1999. Seed treatment and germinability for gourd and watermelon seed. Symposium for cucurbitaceous crop in Korea, *Kor. Cucurbitaceous Crop Res. Assn.*1:57-84.
- Khan, A. A., J. D. Maguire, G. S. Abawi, S. Ilyas. 1992. Matricconditioning of vegetable seeds to improve stand establishment in early field planting. *J. Amer. Soc. Hort.* 117:41-47.
- Khan, A. A. 1992. Preplant physiological seed conditioning. *Hort. Rev.* 13:131-181.
- Khan, A. A., A. Szafirowska, I. Satriyas, and W. Ptasznik. 1995. Presowing seed conditioning to improve stand establishment and yield of vegetables. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 36:438-451.
- Kim, D. H. and J. M. Lee. 2000. Seed treatment for cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV) in gourd (*Lagenaria siceraria*) seeds and its detection. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 41:1-6.
- Kim, D. H., S. W. Jeong. 2009. Effect of solid matrix priming on germinability of seeds of peppers (*Capsicum annuum* L.) I. Duration and Temperature. *J. Agri. Life Sci.* 43:1-8.
- Kim, H. J. 2000. Germination enhancement of cucurbitaceous crop seeds by solid matrix priming and presowing treatments. MS Thesis, Kyung Hee Univ., Korea.
- Kim, S. E., C. K. Kang, J. M. Lee. 2001. Effects of SMP treatment and storage after priming on germination and seedling growth in watermelon. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 42:43-47.
- Kim, S. E., J. E. Song, H. Jung, and J. M. Lee. 1998. Germination promotion of watermelon seeds using solid matrix priming treatment. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 16:344-346.
- Kim, S. E., J. E. Song, H. Jung, J. M. Lee. 1998. Germination promotion of watermelon seeds using solid matrix priming (SMP) treatment. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.*16:344-346.
- Kim, S. M., J. M. Lee, K. O. Yim, M. H. Oh, J. W. Park, and K. H. Kim. 2003. Nucleotide sequences of two Korean isolates of Cucumber green mottle mosaic virus. *Mol. Cells* 16(3):407-412.
- Kim, S. M., S. H. Nam, J. M. Lee, K. O. Yim, and K. H. Kim. 2003. Destruction of cucumber green mottle mosaic virus by heat treatment and rapid detection of virus inactivation by RT-PCR. *Mol. Cells* 16(3):338-342.
- Kleczkowski, A. and A. D. McLaren. 1967. Inactivation of infectivity of RNA of tobacco mosaic virus during ultraviolet-irradiation of the whole virus at two wavelengths. *J. gen. Virol.* 1:441-448.
- Kubota, M., T. Shirakawa, and N. Nishi. 2010. Temperature in various ovens for seed sterilization with dry heat. *Ann. Rept. Kansai Pl. Prot.* 52:27-34.
- Lee, B. Y. 2000. Vegetable crop science. Hyang-Mun Press, Seoul, Korea. p.76-90.
- Lee, J. M., C. Kubota, J. Tsao, Z. Bie P. HoyosEchevarria, L. Morra and M. Oda. 2010. Current status of vegetable grafting: Diffusion, grafting techniques, automation *Sci. Hort.* 127:97-105.
- Lee, J. M. 2003. Advances on vegetable grafting. *Chronica Horticulturae* 43(2):13-19.
- Lee, J. M. 2004. Advances in seed treatments for horticultural crops. *Chronica Hort.* 44(2):11-20.
- Lee, J. M. 2008. Vegetable grafting: A powerful aid for cultivation of environmentally-friendly produce. *KAST Rev. Modern Sci. Technol.* 4, 68-85. The Korean Academy of Science & Technology.

- Lee, J. M., and M. Oda. 2003. Grafting of herbaceous vegetable and ornamental crops. Hort. Rev. 28:61-124.
- Lee, J. M., C. Kubota, S. J. Tsao, Z. Bie, P. H. Echevarria, L. Morra, M. Oda. 2010. Current status of vegetable grafting: Diffusion, grafting techniques, automation. Sci. Hort. 127: 93-105.
- Lee, K. W., Lee, B. C., Park, H. C. and Lee, Y. S. 1990. Occurrence of cucumber green mottle mosaic virus disease of watermelon in Korea. Korean J. Plant Pathol. 6(2):250-255.
- Lee, S. H. and Lee, K. W. 1981. Incidence of watermelon mosaic virus in cucurbits. Korean J. Plant Prot. 20:191-195.
- Lee, S. W., Y. K. Lee, J. W. Park, H. S. Choi, Y. T. Kim, J. U Cheon and K. W. Lee. 2000. Nucleotide sequence of coat protein gene of Kyuri green mottle mosaic virus isolate from zucchini. Plant Pathol. J. 16:118-124.
- Lin, H. X., Rubio, L., Smythe, A., Jiminez, M. and Falk, B. W. 2003. Genetic diversity and biological variation among California isolates of Cucumber mosaic virus. J. Gen. Virol. 84:249-258.
- Liu, Y., Y. A. Wang, X. F. Wang, and G. H. Zhou. 2009. Molecular characterization and distribution of Cucumber green mottle mosaic virus in China. J. Phytopathology 157:393-399.
- Lovic, B. R. and D. L. Hopkins. 2003. Production steps to reduce seed contamination by pathogens of cucurbits. HortTechnology 13: 50-54.
- Lovisol, O. 1980. Virus and viroid diseases of cucurbits. Acta Hort, 88:33-82.
- Mathews, R. E. F. 1993. Seed-borne viruses is confined to 7 virus groups; *Cryptovirus*, *Hordeivirus*, *Iarvirus*, *Nepovirus*, *Potyvirus*, *Tobamoviruses*, *Tobravirus*, and viroids.
- McDonald, M. B., L. O. Copeland, and L. O. Copeland. 2001. Principles of Seed Science and Technology (4th ed.). Kluwer Academic Publ. Dortrecht, The Netherlanads.
- Nakamura, H. 1980. Effects of dry heat treatment for seed disinfection on germination in vegetables. JARQ 15(4):243-247.
- Nerson, H. 2007. Seed production and germinability of cucurbit crops. Seed Sci. Biotechnol. 1:1-10.
- Parera, C. A., D. J. Cantliffe. 1994. Pre-sowing seed priming. Hort. Rev.16:109-141.
- Provvident, R. 1993. Resistance to Viral Disease of Vegetables. In Breeding for Viral Disease of Cucurbits (Kyle, M.M. ed.). Timber Press, Portland. Pp. 44-60.
- Provvidenti, R. 1989. Sources of resistance to viruses in cucumber, melon, squash and watermelon. Pp. 29-36 in Proceedings of Cucurbitaceae 89: Evaluation and Enhancement of Cucurbit Germplasm (C.E. Thomas, ed.) Charleston, South Carolina, USA.
- Provvidenti, R. 1990. Viral diseases and genetic sources of resistance in Cucurbita species. Pp. 427-435 in Biology and Utilization of the Cucurbitaceae (D.M. Bates, R.W. Robinson and Ch. Jeffrey eds.). Comstoc Publ. Assoc., Cornell University Press, Ithaca and London.
- Purdy, L. H., J. E. Harmond, and G. B. Welch. 1961. Special processing and treatment of seeds. USDA 1961 Yearbook, p. 322-329.
- Quiberoni, A., Suarez, V. B. and Reinheimer, J. A. 1999. Inactivation of Lactobacillus helveticus bacteriophages by thermal and chemical treatments. J. Food Prot. 62(8): 894-898.
- Report on the VIIIth international plant virus epidemiology symposium-First steps into the new millennium. 2002. Aschersleben, Germany.
- Ryu, K. H.. 2001. Genomic and phylogenetic analysis and taxonomic status of cucurbit-infecting tobamoviruses. 10th Annual Meeting & Workshop Report. Korea-Japan Joint Symposium on Plant Virology. pp.31-42.

- Sakata, Y., Ohara, T., Sugiyama, M., 2007. The history and present state of the grafting of cucurbitaceous vegetables in Japan. *Acta Hort.* 731, 159–170.
- Salehi R., A, Kashi, J. M. Lee, M. Babalar, M. Delshad, S. G. Lee and Y. C. Huh. 2010. Leaf gas exchanges and mineral ion composition in xylem sap of Iranian melon affected by rootstocks and training Methods. *Hortscience* 45:766–770.
- Salehi-Mohammadi, R., Khasi, A., Lee, S. G., Huh, Y. C., Lee, J. M., Delshad, M., 2009. Assessing survival and growth performance of Iranian melon to grafting onto *Cucurbita* rootstocks. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 27 (1), 1–6.
- Schneider, W. L. and Roossinck, M. J. 2001. Genetic diversity in RNA virus quasispecies is controlled by host–virus interactions. *J. Virol.* 75:6566–6571.
- Seo, S. T., J. H. Park, J. S. Lee, K. S. Han and S. R. Cheong. 2006. Bacterial fruit blotch of melon caused by *Acidovorax avenae* subsp. *Citrulli*. *Res. Plant Dis.* 12(185–188).
- Song, J. E. 1997. Matriconditioning of gourd seeds with Micro-Cel E. MS Thesis, Kyung Hee Univ., Korea.
- Song, W. S., H. M. Kim, I. Y. So and Y. K. Kang. 1991. *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *Citrulli*: The casual agent of bacterial fruit blotch rot in watermelon. *Korean J. Plant Pathol.* 7(3):177–182.
- Sun, R. 2009. Vegetable Production and seed industry in China. *Hort. Environ. Biotechnol.* 50(3):175–180.
- Taylor, A. G. 1997. Seed storage, germination and quality. In: *The Physiology of Vegetable Crops* (H.C. Wien, (ed.), CAB Intern. Oxon, Wallingford, UK.
- Taylor, A. G., PO. S. Allen, M. A. Benet, K. J. Bradford, J. S. Burris, and M. Misra. 1998. Seed enhancements. *Seed Sci. Res.* 8: 245–265.
- Tsen, R. T., S. D. Tsen, Q. Fu, C. F. Hung, T. C. Wu and J. C. Kiang. 2007. Inactivation of viruses by laser-driven coherent excitations via impulsive stimulated raman scattering process. *Jour. Biomedical Optics* 12(6):1–6.
- Tsen, R. T., S. D. Tsen, Q. Fu, S. M. Lindsay, K. Kibler, B. Jacobs, T. C. Wu, Zhe Li, Hao Yan, S. Cple, S. Variana and J. C. Kiang. 2010. Photonic approach to the selective inactivation of viruses with a near-infrared ultraviolet pulse laser. *Proc. of SPIE* vol. 7561 75610W–1.
- Tsrer, L., M. Aharon, and O. Erlich. 1999. Survey of bacterial and fungal seedborne diseases in imported and domestic potato seed tubers. *Phytoparasitica* 27(3):1–12.
- Tsuda, S., M. Kameya-Iwaki, K. Hanada, Y. Kouda, M. Hikata, and K. Tomaru. 1992. A novel detection and identification technique for plant viruses: Rapid Immunofilter Paper Assay (RIPA). *Plant Dis.* 76:466–469.
- Vance, V. and Vaucheret, H. 2001. RNA silencing in plants–defense and counterdefense. *Science* 292:2277–2280.
- Variar, A, A. K. Vari, M. Dadlani. 2010. The subcellular basis of seed priming. *Current Sci.* 99:450–456.
- Walkey, D. G. A. and Cooper, V. C. 1975. Effect of temperature on virus eradication and growth of infected tissue cultures. *Ann. Appl. Biol.* 80(2): 185–90.
- Welbaum, G.E., Z. Shen, M. O. Oluoch, L. W. Jett. 1998. The evolution and effects of priming vegetable seeds. *Seed Technol.* 20:209–235.
- Yoon. J. Y., G. S. Choi, S. K. Choi, J. S. Hong, J. K. Choi, W. Kim, G. P. Lee and K. H. Ryu. 2008.

- Molecular and biological diversities of Cucumber green mottle mosaic virus from cucurbitaceous crops in Korea. *J. Phytopathol.* 156:408-412.
- Zhang, Y. J., G. F. Li and M. F. Li. 2009. Occurrence of Cucumber green mottle mosaic virus on cucurbitaceous plants in China. *Amer. Pathol. Soc.* 93(2):200.
- 이정명, 고관달, 양승균. 1999. 침단가공 및 종자처리에 따른 박과채소종자의 활력극대화 및 우량집목묘 양산기술 개발에 관한 연구. 농림부 최종연구보고서.
- 이정명, 김국형, 최용문, 윤진영. 2003. 채소종자의 건열처리 기술 개발. 농림부 최종보고서.
- 정용봉, 이정명, 노상하. 2002. Tobamovirus 무독화를 위한 다기능 건열처리기기 개발. 농림부 최종연구 보고서.

주 의

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